

Farmacevtski vestnik

STROKOVNO GLASILO SLOVENSKE FARMACIJE • PHARMACEUTICAL JOURNAL OF SLOVENIA

Š T . 4 • D E C E M B E R 2 0 0 7 • L E T N I K 5 8

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 / Address 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 4 do 6 krat letno.

Letna naročnina je 70 EUR.

Za tuje naročnike 100 US\$.

Avtor fotografije na naslovnici, Maj Klemenčič

Tiska: COLLEGIUM GRAPHICUM

Naklada: 4.200 izvodov

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

Novosti polno leto 2007 se počasi izteka, kar se nedvomno kaže tudi v množici vesti in prispevkov s strokovnega, znanstvenega in društvenega delovanja farmacevtov v tem letu. Bogatejši smo za nova spoznanja, pa ne samo iz področja farmacije, ampak tudi širše. Še enkrat je farmacevtska stroka v Sloveniji pokazala natančnost, tokrat v primeru prikaza dejanskega stanja, ki je bilo zaradi pavšalnih obtožb s strani medijev izkrivljeno. Slovenski mediji so spomladi kar tekmovali med seboj v odkrivanju nepravilnosti v farmaciji in odmevno oblikovali negativno javno mnenje o slovenski farmaciji in še posebej lekarništvu. Novinarji RTV Slovenija se verjetno niso zavedali, da farmacevti z enako mero natančnosti, kot jo sicer uporabljamo v strokovnem delovanju, spremljamo tudi povzetke svojih izjav v medijih. Vsebinska oddaja Tarča je namreč globoko prizadela člane Slovenskega farmacevtskega društva in interese društva, ki v okviru svoje primarne dejavnosti izvaja in investira v izobraževanje. Samo najboljši se zavedamo, da se investicija v znanje vedno povrne. Škoda, ker jih je tako malo, ki nas posnemajo!

Društvo in generalna sekretarka sta po pravni poti zahtevala objavo resnice, ki jo pravna praksa pozna kot metodo, ki jo izraža latinski rek *audiatur at altera pars* (naj se sliši tudi druga stran). Sodišče je na vseh stopnjah ugodilo tej zahtevi. Dokončno je Vrhovno sodišče RS zavrnilo tudi pritožbo RTV Slovenija, ki je zahtevala revizijo postopka, kar lahko štejemo kot uspeh slovenske farmacije v ohranjanju ugleda, a žal na račun mnogih neprespanih noči.

Pa si pogledajmo še vsebino te številke: v prispevku o debelosti, ki se razraža v pravo pandemijo, nas mag. Lundrova seznaja z novimi farmakološkimi pristopi k zaježitvi naraščanja prekomerne teže. Drug prispevek je namenjen seznanjanju stroke o pomenu proteaz in inhibitorjev kot diagnostičnih tumorskih kazalcev pri nekaterih rakavih obolenjih, sledi pa članek o vedno aktualnem dopingu. Približujejo se olimpijske igre v Pekingu, kjer že lahko pričakujemo prve primere genskega dopinga. Sodelavci farmakognosti v članku o flavonoidih prikazujejo pomen obširne skupine rastlinskih sekundarnih metabolitov, raziskovalci iz področja farmakogenomike pa opisujejo uporabnost te novo razvijajoče se veje farmacije. Zelo informativen za najširšo strokovno javnost je brez dvoma članek o učinkovitosti različnih statinov pri zmanjšanju vrednosti holesterola LDL, ki povzema rezultate obširnih kliničnih opazanj in meta analiz. Zanimivo in razgibano pa je bilo tudi društveno življenje, kar je prikazano v zadnjem delu te številke.

In kot se za konec leta spodobi, mi dovolite, da se kot odgovorni urednik zahvalim vsem soustvarjalcem Farmacevtskega vestnika in vsem članom in prijateljem Slovenskega farmacevtskega društva za skrb za stroko in uveljavljanje slovenske farmacije. Želim uspešno, farmacije polno leto 2008.

Prof. dr. Borut Štrukelj, mag. farm.
Odgovorni urednik

Originalni znanstveni članki – Scientific articles

Mojca Lunder

Farmakološki pristopi pri zdravljenju debelosti II
Pharmacological approaches for the treatment of obesity II

127

Suzana Vozelj, Nataša Obermajer, Janko Kos

Proteaze in njihovi inhibitorji v telesnih tekočinah kot diagnostični in prognostični tumorski kazalci
Proteases and their inhibitors in body fluids as diagnostic and prognostic tumour

133

Lovro Žiberna, Klemen Žiberna, Borut Štrukelj, Irena Mlinarič-Raščan

Možnosti uporabe genskega dopinga in problemi njegove detekcije
An overview of gene doping applications and problems of its detection

139

Nina Kočevár, Igor Glavač, Samo Kreft

Flavonoidi
Flavonoids

145

Teja Čelhar, Polonca Ferk, Irena Mlinarič Raščan

Genetska raznolikost kot osnova uporabnosti farmakogenomike v klinični praksi
Genetic variability as the basis of pharmacogenomic applications in clinical practice

149

Raziskovalni članki – Research articles

Mitja Kos, Marko Obradović, Jernej Kristl

Sistematični pregled učinkovitosti statinov pri zmanjševanju vrednosti holesterola LDL
Systematic review of statin efficacy in reducing LDL cholesterol values

155

Iz društvenega življenja

Jelka Dolinar

32. skupščina SFD

166

Razpis za podelitev društvenih priznanj v letu 2008

166

Lucija Peterlin Mašič

Joint Meeting on Medicinal Chemistry (JMMC 2007)

174

Saša Baumgartner

19. simpozij Sekcije farmacevtskih tehnologov

175

Nina Pisk, Jelka Dolinar

3. Dan slovenskih lekarn

176

Tanja Šegula

Poročilo s simpozija Homeopatske sekcije

177

Knjižne novice

179

Zahvala glavne urednice

180

Letno kazalo

181

Farmakološki pristopi pri zdravljenju debelosti II

Pharmacological approaches for the treatment of obesity II

Mojca Lunder

Povzetek: Debelost lahko obravnavamo kot bolezen, na katero vplivajo tako centralni kot periferni mehanizmi. Farmakološki pristopi pri zdravljenju debelosti vključujejo poleg delovanja na zmanjšanje apetita preko centralnega živčevja tudi delovanje preko perifernih mehanizmov. Telesno maso zmanjšamo preko delovanja na gastrointestinalni trakt, tako da zmanjšamo vnos energije v telo. Preko delovanja na termogenezo povečamo porabo energije. Preko delovanja na adipocite in sintezo trigliceridov pa dosežemo povečano mobilizacijo maščob in zmanjšanje maščobnega tkiva. V članku predstavljamo periferne potencialne tarče in farmakološke pristope pri zdravljenju debelosti.

Ključne besede: debelost, farmakoterapija, ciljne molekule

Abstract: Obesity can be addressed as a disease influenced by central as well as peripheral mechanisms. Pharmacological intervention in therapy of obesity includes besides suppression of appetite via central nervous system also peripheral approaches. Reduction of body mass can be achieved through decrease of energy intake in gastrointestinal tract. Increased thermogenesis enhances energy expenditure. Stimulation of fat mobilization and metabolism reduces fat mass by decreasing triacylglycerol synthesis and deposition in fat stores. Here, we review potential peripheral targets and pharmacological approaches in treatment of obesity.

Keywords: obesity, pharmacotherapy, drug targets

1 Uvod

V prvem delu smo govorili o debelosti na splošno in se lotili prvega od štirih možnih pristopov pri farmakoterapiji debelosti. V drugem delu opisujemo še ostale tri pristope, in sicer: zmanjšanje absorpcije maščob oziroma vnosa energije preko perifernega, gastrointestinalnega (GIT) mehanizma, povečanje porabe energije preko vpliva na termogenezo in zmanjšanje mase maščobnega tkiva preko perifernega delovanja na adipocite in sintezo trigliceridov.

2 Zmanjšanje absorpcije maščob oziroma vnosa energije preko perifernega, gastrointestinalnega mehanizma

Preden vstopijo zaužiti trigliceridi v enterocite in nato v krvni obtok, so podvrženi vrsti kompleksnih biokemijskih procesov. Čeprav večina teh procesov še ni popolnoma razjasnjena, predstavlja bogat vir potencialnih terapevtskih tarč za zdravljenje debelosti in drugih metabolnih motenj.

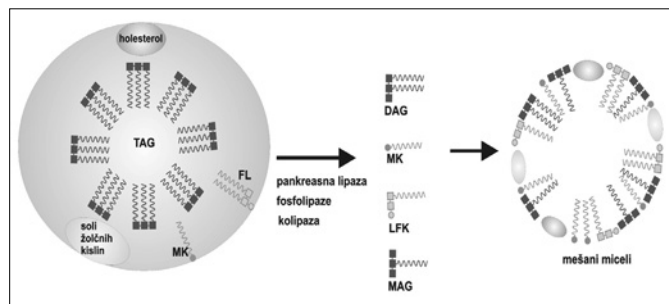
Gastrična in pankreasna lipaza razgradita trigliceride iz hrane na mono- in diacilglicerol in proste maščobne kisline ter omogočita njihovo absorpcijo (slika 1). Za zdravljenje debelosti se uporablja že v prvem delu omenjeni zaviralec obeh encimov orlistat ali tetrahidrolipstatin, ki za 30 % zmanjša absorpcijo maščob. V II. fazi kliničnih preskušanj pa je novi lipazni zaviralec ATL 962 (cetilistat), ki

ima drugačno zgradbo kot orlistat. Enako učinkovito zavira obe lipazi, vendar, kot se je pokazalo, z manj neželenimi učinki (1).

Pankreasna fosfolipaza A2 (pPLA2) hidrolizira fosfolipide v prebavnem traktu, kar olajša tvorbo mešanih micelov, ki omogočijo učinkovito absorpcijo trigliceridov in holesterola (slika 1). Pri miših brez gena za pPLA2 so ugotovili odpornost na visokokalorično prehrano (2). Pankreasna PLA2 ima tudi intrinzično aktivnost pri sproščanju sekretina, hormona, ki uravnava pankreasno in gastrično sekrecijo kot tudi gastrično motiliteto, kar lahko dodatno vpliva na razgradnjo maščob (3). Kljub temu, da je pPLA2 dobro raziskana v smislu zgradbe in mehanizma delovanja, njen potencial kot farmacevtska tarčna molekula še ni dobrega izkoriščen v primerjavi z drugimi fosfolipazami, ki so udeležene pri lipidnih signalnih poteh in vnetnih procesih. Zaviralci za različne izoforme pPLA2, ki se ne bi absorbirali iz prebavil, bi omogočili varno zdravljenje debelosti brez centralnega delovanja (4).

Membranski transportni proteini. Kljub intenzivnim raziskavam je molekularni mehanizem, s katerim se maščobne kisline in monoacilglicerol transportirajo preko membrane enterocitov, še vedno nejasen. Pri absorpciji sta pomembna tako pasivna difuzija kot tudi aktivni transport, ki omogoči učinkovito absorpcijo, kadar je koncentracija lipidov majhna. Pri transportu dolgih maščobnih kislin preko intestinalnih epitelnih celic sodelujejo vsaj trije različni membranski proteini, ki jih označujemo s kraticami IFABP, CD36 in FATP4. Močni kompenzatorni mehanizmi so razlog, da pri miših brez

genov za IFABP (ang. *intestinal fatty acid binding protein*) in CD36 ne dosežemo zmanjšane absorpcije lipidov. Izbitje gena za protein FATP4 (ang. *fatty acid binding protein 4*) pa povzroči smrt zarodka (4).



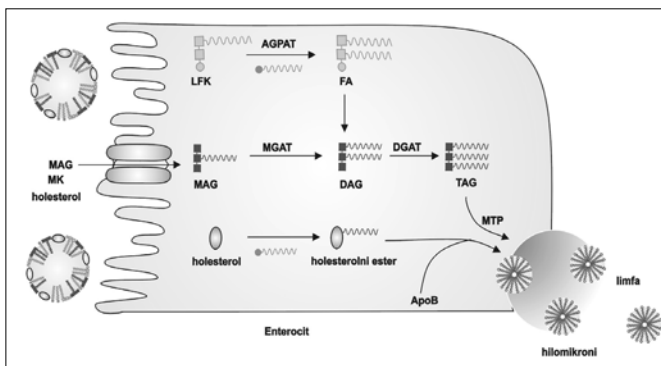
Slika 1: Razgradnja lipidov se prične v želodcu, kjer nastanejo večje maščobne kapljice s hidrofolno sredico trigliceridov (TAG), obdano s polarnimi molekulami fosfolipidi (FL), holesterolom, z maščobnimi kislinami (MK) in nabitimi proteini. V lumnu tankega črevesa, kjer se emulzija teh maščobnih kapljic pomeša s solmi žolčnih kislin in pankreasnimi encimi nastanejo drobne kapljice z veliko skupno površino, ki je izpostavljena delovanju pankreasne lipaze. Nastanejo molekule monoacilglicerola (MAG), diacilglicerola (DAG) in proste maščobne kisline, ki se pomešajo s solmi žolčnih kislin, holesterolom, z lizofosfatidno kislino (LFK) in vitamini, topnimi v maščobah, v mešane micelle, ki so ključni za absorpcijo (4).

Figure 1: Dietary lipid digestion begins in the stomach, where large fat globules are formed with triacylglycerol (TAG) cores surrounded by polar molecules, including phospholipids (PL), cholesterol, fatty acids (MK) and ionized proteins. In the intestinal lumen where large emulsions of fat globules are mixed with bile salts and pancreatic enzymes, aqueous suspension of small fatty droplets is formed to maximize exposure to pancreatic lipase. Monoacylglycerol (MAG), diacylglycerol (DAG) and free fatty acids (MK) released by lipid hydrolysis join bile salts, cholesterol, lysophosphatidic acid (LFK) and fat soluble vitamins to form mixed micelles that provide absorption at the membranes of enterocytes (4).

Monoacilglicerol-aciltransferaza (ang. *monoacylglycerol-acyltransferase* - MGAT) katalizira prvo stopnjo pri re-sintezi triacilglicerola v enterocitih (slika 2). Vsi trije geni za MGAT (MGAT1, MGAT2 in MGAT3) se izražajo v glavnem v gastrointestinalnem traktu. Izražanje MGAT2 v tankem črevesu inducira z maščobami bogata hrana. Encim je torej zanimiva tarča za zaviranje absorpcije maščob iz hrane. Zaostajanje monoacilglicerola in maščobnih kislin namesto triacilglicerola v prebavnem traktu bi povzročilo blažje neželene učinke, kot jih srečamo pri orlistatu. Ni pa še jasno, kakšen učinek bi sploh imela zvečana količina teh snovi tako na enterocite kot tudi na bakterijsko fermentacijo (4).

Mikrosomski transportni protein trigliceridov (ang. *microsomal triglyceride-transfer protein* - MTP) omogoči transport lipidov in holesterola od lumna endoplazemskega retikuluma do lipoproteinov

in je pomemben za sestavljanje hilomikronov v enterocitih in VLDL v jetrih. Je zanimiva tarča za zdravljenje dislipidemije. Za nekatere zaviralce se je že pokazalo, da zmanjšajo koncentracijo holesterola, trigliceridov in VLDL pri eksperimentalnih živalih in ljudeh. Glavni



Slika 2: Maščobne kisline (MK) in monoacilglicerol (MAG) vstopajo v enterocite s pasivno difuzijo in preko membranskih transportnih proteinov. S pomočjo encima monoacilglicerol-aciltransferaze (MGAT) in diacilglicerol-aciltransferaze (DGAT) se v endoplazemskem retikulumu ponovno zaestrijo v triacilglicerol (TAG). Fosfolipidi iz hrane in žolča se acilirajo z encimom 1-acil-glicerol-3-fosfat-aciltransferazo (AGPAT) in tvorijo fosfatidno kislino (FK), ki se pretvori v TAG. Holesterol se pretvori v holesterolni ester. Mikrosomski transportni proteini olajšajo združevanje TAG, holesterola in apolipoproteina B (ApoB), da nastanejo hilomikroni, ki preko limfe vstopijo v krvni obtok.

Figure 2: Fatty acids (MK) and monoacylglycerol (MAG) enter the enterocytes by passive diffusion and are facilitated by membrane transporters. They are then re-esterified by monoacylglycerol acyltransferase (MGAT) and diacylglycerol acyltransferase (DGAT) to form triacylglycerol (TAG). Phospholipids from the diet and bile are acylated by 1-acyl-glycerol-3-phosphate acyltransferase (AGPAT) to form phosphatidic acid (FK), which is also converted into TAG. Dietary cholesterol is acylated to cholesterol esters. Facilitated by microsomal triglyceride transfer protein (MTP), TAG joins cholesterol and apolipoprotein B (ApoB) to form chylomicrons that enter circulation through the lymph.

neželeni učinek je kopičenje lipidov v jetrih, kar močno zmanjšuje potencial teh učinkovin (4).

3 Povečanje porabe energije preko vpliva na termogenezo

3.1 Proteini UCP

Povečanje porabe energije preko fizične aktivnosti ali povečanja bazalnega metabolizma in/ali termogeneze je pomemben del zniževanja telesne mase. Centralno živčevje uravnava termogenezo v glavnem preko simpatičnega živčnega sistema in rjavem maščobnem

tkivu in skeletnih mišicah. Pri glodalcih in majhnih sesalcih se nahajajo adrenoceptorji β_3 v rjavem maščobnem tkivu, ki je bogato z mitohondriji in skrbi za termoregulacijo. Preko adrenoceptorjev β_3 se aktivirajo mitohondrijski proteini rjavega maščobnega tkiva UCP1 (ang. *uncoupling protein 1* - UCP1), ki katalizirajo uhajanje protonov preko notranje mitohondrijske membrane med celičnim dihanjem. Pride do razdruževanja procesa oksidativne fosforilacije in sinteze ATP in do nastanka toplote oziroma procesa, kjer se troši gorivo, energija pa se ne pretvarja v ATP. Preko receptorjev β_3 se stimulira tudi lipoliza. Dolgoročno pride še do drugih učinkov, kot so aktivacija transkripcije UCP1, mitohondriogeneza in hiperplazija rjavih adipocitov.

Pri človeku je rjavo maščobno tkivo prisotno le pri novorojenčkih, nato pa z razvojem atrofira in postane podobno belemu maščobnemu tkivu. Funkcijo termoregulacije prevzamejo skeletne mišice. Na osnovi molekulskih in morfoloških raziskav naj bi tudi pri odraslem človeku obstajali diseminirani otočki rjavega maščobnega tkiva med belim. Kljub temu, da pri odraslih ljudeh ni disketnih območij rjavega maščobnega tkiva, zmorejo nekatera tkiva (mišice, jetra), ki sicer nimajo UCP1, ravno tako razklopiti oksidativno fosforilacijo od nastanka ATP in povečati porabo energije. Pri človeku se pojavljajo analogi UCP1. In sicer UCP2, ki se pojavlja v različnih tkivih pri ljudeh in glodalcih, in UCP3, ki se pri ljudeh pojavlja v skeletnih mišicah, pri glodalcih pa v rjavem maščobnem tkivu. Raziskave kažejo, da njuna funkcija ni povezana s termogenezo. UCP2 in UCP3 ravno tako katalizirata uhajanje protonov, vendar njuna fiziološka funkcija še ni razjasnjena. Oba naj bi ščitila celice pred oksidativnim stresom. UCP2 ima vlogo negativnega regulatorja izločanja inzulina. Podatki kažejo tudi, da je disfunkcija beta celic ob prisotni hiperglikemiji in debelosti posledica aktivacije UCP2, ki nastopi zaradi oksidativnega stresa. Tako bi zaviranje UCP2 lahko služilo zdravljenju disfunkcije beta celic in diabetesa tipa 2. Primernost teh proteinov kot tarč za terapijo debelosti je precej nedoločena in mehanizem najverjetneje ni povezan s pospeševanjem termogeneze (5, 6).

3.2 Agonisti adrenergičnih receptorjev β_3

Agonisti adrenergičnih receptorjev β_3 predstavljajo skupino učinkovin, ki imajo skupen mehanizem delovanja in so zelo zanimive za zdravljenje debelosti. Veliko že prej omenjenih zaviralcev apetita, ki delujejo na adrenergične receptorje, ima tudi vpliv na porabo energije in termogenezo. Preko receptorjev β_3 deluje efedrin, alkaloid iz rastline *Efedra sinica*, ki je še posebej učinkovit v kombinaciji z metilksantini (s kofeinom), ki zavirajo fosfodiesterazo in podaljšajo delovanje cAMP v adrenergičnih poteh.

Te učinkovine žal pogosto delujejo tudi na druge receptorje β in povzročijo neželene učinke, kot je tahikardija. Selektivnost agonistov β_3 ni edini problem pri iskanju ustreznih učinkovin. Stalna izpostavljenost agonistom privede tudi do zmanjšanja števila adrenoceptorjev β_3 , glavni problem pa je izrazita razlika med glodalskim in človeškim adrenoceptorjem β_3 v strukturi in mehanizmu odzivnosti na učinkovine (7). Ni še jasno, ali je termogeno delovanje pri človeku posledica delovanja na otočke rjavega maščobnega tkiva ali na druga tkiva (mišice), ki vsebujejo te receptorje (8).

Kljub temu se raziskave, da bi našli selektivne učinkovine, ki bi pospešile oksidacijo maščobnih kislin v maščobnem tkivu brez

kardiovaskularnih neželenih učinkov, nadaljujejo. Nova generacija visokoselektivnih peroralnih agonistov β_3 je v kličnih preizkušanjih (9).

3.3 Tiroidni hormoni in analogi

Tiroidni hormoni zvečajo termogenezo, vendar pa imajo odmerki, višji od fizioloških, nevarne neželene učinke, kot so kardiovaskularna toksičnost, miopatije in pospešena osteoporoza, in so za zdravljenje debelosti neprimerni. Učinkovine, ki aktivirajo le določene receptorje tiroidnih hormonov in se s tem izognejo neželenim učinkom, so v razvoju za zdravljenje debelosti in dislipidemij (hiperholesterolemij). Pri agonistih teh receptorjev (TR beta) bo potrebno zagotoviti izgubo telesne mase na račun maščobnega tkiva, ne pa tudi drugih tkiv, vključno z mišičnim in kostnim (10).

4 Neposredni učinki na shranjevanje in porabo v perifernih tkivih

4.1 Encimi, udeleženi v shranjevanje in mobilizacijo maščob v adipocitih

Ker je nastajanje trigliceridov v enterocitih in adipocitih nujno za kopičenje maščobnega tkiva, bi z zaviranjem sinteze trigliceridov lahko omejili razvoj debelosti in njenih posledic.

1-acil-glicerol-3-fosfat-aciltransferaza (ang. *1-acyl-glycerol-3-phosphate acyltransferase* - AGPAT) katalizira acilacijo lizofosfatidne kisline na položaju sn-2 (slika 2) v različnih tkivih. Nastane fosfatidna kislina, ki je pomemben intermediat v *de novo* sintezi triacilglicerola in glicerofosfolipidov. Do sedaj so določili že sedem genov za AGPAT, katerih fiziološke funkcije pa še niso dodobra razjasnili. Miši brez AGPAT6, ki se nahaja v rjavem in belem maščobnem tkivu ter v jetrih, so odporne na visokokalorično prehrano in imajo manjšo telesno maso, kar kaže na pomembno vlogo tega encima pri regulaciji vsebnosti trigliceridov in sestave maščobnega tkiva, ki je ne more nadomestiti nobeden od drugih encimov iz te družine (11).

Diacilglicerol-aciltransferaza (ang. *diacylglycerol acyltransferase* - DGAT) katalizira zadnjo stopnjo pri sintezi triacilglicerola. DGAT1 in DGAT2 se izražata v različnih tkivih. Polimorfizmi DGAT1 so pri človeku povezani z določenimi oblikami debelosti. Miši brez gena za DGAT1 imajo manj maščobnega tkiva, so bolj občutljive na leptin in inzulin in odporne na visokokalorično prehrano. Pri delnem pomanjkanju tega proteina je njihov fenotip normalen. Zaradi tega bi lahko bili zaviralci encima DGAT1 zelo učinkoviti pri zdravljenju debelosti in diabetesa tipa 2 (12).

Cilj vseh vrst zdravljenja debelosti je zmanjšati zaloge maščob v adipocitih. Glavni encim, ki skrbi za mobilizacijo prostih maščobnih kislin iz adipoznega tkiva (lipolizo), je **hormonsko občutljiva lipaza** (*hormon sensitive lipase* - HSL). Miši brez gena za HSL so odporne na gensko povzročeno debelost kot tudi debelost zaradi visokokalorične prehrane, pojavijo pa se številne spremembe v morfologiji maščevja in izražanju proteinov vpletenih v metabolizem v adipocitih. S prekinitvijo lipolize pride do izrazitega zmanjšanja lipogeneze in sprememb v metabolizmu maščob. Z razjasnitvijo procesov, ki so

vpleteni v metabolizem na nivoju adipocita, bo tudi jasno, kako primerna tarča za terapijo debelosti je HSL (13).

Perilipin sodi v družino proteinov PAT, ki obdajajo lipidne delce v celicah in nadzorujejo dostop do teh delcev. Protein-kinaza A, ki se aktivira preko adrenergičnega receptorja $\beta 3$, fosforilira HSL in molekule perilipina na površini lipidnih delcev, kar je nujno za translokacijo HSL iz citosola do površine lipidnega delca in posledično lipolizo (14, 15). Miši brez perilipina imajo nizko telesno težo, so hipermetabolne in odporne na debelost povzročeno z visokokalorično hrano (16, 17). Razvoj nizkomolekularskih zaviralcev perilipina zavira nepoznavanje tridimenzionalne zgradbe in katalitičnih domen. Pomanjkanje perilipina pri miših pa spremljata tudi hiperglikemija in hiperinzulinemija, kar lahko ustavi razvoj zaviralcev perilipina (4).

4.2 Encimi, vpleteni v sintezo in oksidacijo maščobnih kislin

Sinteza in metabolizem maščobnih kislin sta procesa, ki ju koordinirajo metabolični encimi, te pa uravnavajo nutričnijski in hormonski signali, ki se sprožijo kot odziv na stradanje, fizično aktivnost in presežek energije.

Glicerol-3-fosfat-aciltransferaza (ang. *glycerol-3-phosphate acyltransferase* - GPAT) katalizira začetni korak v *de novo* sintezi TAG. Acilira glicerol-3-fosfat na položaju sn-1. Večina sesalskih tkiv vsebuje vsaj dve izoobliki: mitohondrijsko mtGPAT (GPAT1) in erGPAT endoplazemskega retikuluma. Povečano izražanje mtGPAT, ki se nahaja predvsem v jetrih, pospeši biosintezo trigliceridov in zavre oksidacijo maščobnih kislin. Pojavita se hepatična steatoza in dislipidemija. Obratno pa inaktivacija mtGPAT pri miših zavre naraščanje telesne mase in zmanjša vsebnost TAG v jetrih in plazmi ter zmanjša izločanje LDL. Čeprav miši brez gena za GPAT1 niso kazale očitne patofiziološke motnje, je problem zaviranja tega encima nepoznavanje tridimenzionalne zgradbe in njegovega delovanja na sintezo fosfolipidov (npr. kardiolipina, ki je nujen za normalno delovanje mitohondrija) (18, 19).

Sintaza maščobnih kislin (ang. *fatty-acid synthase* - FAS) pri sesalcih katalizira *de novo* sintezo nasičenih maščobnih kislin. Deluje kot homodimer multifunkcijskega proteina, ki vsebuje sedem katalitičnih domen in mesto za prostetično skupino. Izraža se predvsem v lipogenih tkivih (jetrih, maščobnem tkivu, prsih med dojenjem). Pri ohranjanju energetske homeostaze sodeluje tako, da presežek hrane shranjuje v obliki lipidov. Poznavanje vloge FAS izhaja predvsem iz raziskav dveh zaviralcev: cerulenina in C75 (α -metilen- δ -butirolaktona). Zaviranje encima z enim ali drugim zaviralcem zmanjša vnos hrane in povzroči zmanjšanje telesne mase. C75 hkrati stimulira karnitin-palmitoil transferazo in posledično poveča beta oksidacijo. Centralno ti dve spojini spremenita ekspresijski profil neuropeptidov, povezanih s hranjenjem (zmanjšanje izražanja oreksigenih peptidov). Vse to kaže na pomembno vlogo FAS v zaznavanju in uravnavanju energijskega ravnovesja. Encim ima tudi zelo pomembno vlogo v embrionalnem razvoju, saj pri odstranitvi tega gena mišji zarodki ne preživijo. Poleg tega le 50 % heterozigotov preživi obdobje embrionalnega razvoja. Pri zaviralcih FAS tako obstaja potencialna nevarnost za teratogeno delovanje (20, 4).

Karnitin-palmitoil transferaza (ang. *carnitine palmitoyl transferase* - CPT) Encim katalizira pretvorbo palmitoil-CoA v palmitoilkarnitin, stopnjo, ki omejuje hitrost prehoda dolgih maščobnih kislin iz citosola v mitohondrij, kjer poteka beta oksidacija. Aktivnost encima zavira alosterični zaviralec malonil-CoA, ki nastane iz acetil-CoA z encimom acetil-CoA-karboksilazo (ACC). CPT1 se nahaja pretežno v skeletnih mišicah in srcu, ima pomembno vlogo pri kontroli hitrosti beta oksidacije in je v primerjavi s CPT2 in CPT3 bolj občutljiva na zaviranje z malonil-CoA. Vedno boljše poznavanje zgradbe encima in mest, ki so pomembna za katalitično aktivnost, za vezavo malonil-CoA, karnitina in zaviralca etomoksirja, je pospešilo racionalno načrtovanje aktivatorjev CPT. C75 je do sedaj edina molekula s takšnim delovanjem. Deluje pa tudi kot zaviralec sintaze maščobnih kislin. Pri miših povzroči povečanje oksidacije maščobnih kislin in zmanjšanje telesne mase (21, 22, 23).

Acetil-CoA-karboksilaza (ang. *acetyl-CoA carboxylase* - ACC) ACC pretvarja acetil-CoA v malonil-CoA, ki zavira delovanje CPT1 in s tem beta oksidacijo v skeletnih in srčni mišici. Pri sesalcih sta prisotni dve izoobliki, ACC1 in ACC2. ACC1 je citosolni encim in se nahaja predvsem v lipogenih tkivih, kjer uravnava sintezo maščob. ACC2 je povezan z mitohondrijsko membrano in prevladuje v oksidativnih tkivih (srčni in skeletnih mišicah), kjer preko tvorbe malonil-CoA nadzoruje hitrost lipidne oksidacije. Aktivnost teh encimov uravnava citrat, ki je alosterični aktivator, in AMP-kinaza, ki s fosforiliranjem zavira aktivnost. Miši brez gena za ACC2 imajo normalen fenotip, normalno življenjsko dobo in nobene očitne patofiziološke motnje. Odporne so na visokokalorično prehrano, na diabetes, imajo povečano hitrost beta oksidacije in zmanjšano koncentracijo malonil-CoA v skeletnih mišicah in srcu ter nizko koncentracijo maščobnih kislin v krvi. V maščevju, srcu in mišicah se pojavi povečana količina proteinov UCP, kar še dodatno doprinese k povečani porabi energije. Razvili so nekaj zaviralcev rastlinske ACC, ki jih uporabljamo kot herbicide, in nekaj nespecifičnih zaviralcev sesalskih ACC. Specifičnih zaviralcev ACC2, ki bi ustavili nastajanje malonil-CoA in s tem pospešili oksidacijo maščobnih kislin, še niso odkrili. Predstavljajo pa pomembno možnost intervencije pri debelosti. K razvoju zaviralcev bo pripomoglo poznavanje tridimenzionalne strukture karboksiltransferazne domene ACC kvasovk, ki je verjetno zelo podobna vsem evkariontskim (24, 25, 26, 27, 28, 29).

Stearoil-CoA-desaturaza (ang. *stearoyl-CoA desaturase* - SCD) Encim katalizira najpomembnejšo stopnjo v sintezi enkrat nenasičenih maščobnih kislin (oleata 18:1 in palmitoleata 16:1), ki sodelujejo pri izgradnji membranskih fosfolipidov, holesterolnih estrov, voskov in triacilglicerola. Transgene miši brez SCD1 imajo nizko telesno maso, so hipermetabolne in odporne na visokokalorično prehrano. Vendar pa bi lahko imeli zaviralci SCD1 neželene učinke, ki bi se kakor pri transgenih miših odražali kot atrofične spremembe lojnih žlez na koži in meibonovih žlez v očesu (30, 31).

4.3 Proteini PPAR (ang. peroxisome proliferator activated receptor - PPAR)

Gre za receptorje jedra, ki imajo pomembno vlogo pri metabolizmu lipidov, proliferaciji in diferenciaciji adipocitov, adipogenezi in posredovanju vnetnih signalov. Receptorji PPAR α so v jetrih in so

tarča učinkovin za zniževanje lipidov v krvi (fibratov). PPAR γ se nahajajo pretežno v maščobnem tkivu in so tarča učinkovin za zdravljenje diabetesa tipa 2 (tiazolidindionov). Agonisti PPAR γ zmanjšajo količino prostih maščobnih kislin v krvi, uravnavajo metabolizem glukoze, zmanjšajo vnetni odziv maščobnega tkiva in s tem izboljšajo stanje pri diabetesu tipa 2. So tudi močni induktorji adipogeneze, kar je lahko koristno v smislu nastajanja metabolno zdravega maščobnega tkiva, vendar hkrati povzroči zvečanje telesne mase. Antagonisti PPAR γ bi morda zavrli diferenciacijo in nastajanje maščobnega tkiva in s tem prispevali k zmanjševanju telesne mase, vendar bi obrnili ostale pozitivne učinke na disfunkcionalno maščobno tkivo in pospešili nastanek diabetesa tipa 2.

Pri heterozigotnih miših s pomanjkanjem PPAR γ ali pri polimorfizmu Pro-12-Ala pri človeku se ne pojavi rezistenca na inzulin, hkrati pa se pojavi odpornost na debelost. Pri miših, ki so dobivale antagoniste PPAR γ , je prišlo do zmanjšanja količine trigliceridov v maščobnem tkivu, mišicah in jetrih, odporne so bile na visokokalorično hrano. Nekateri antagonisti in vivo zmanjšajo hipertrofijo adipocitov in tudi rezistenco na inzulin, zato bi bilo kljub temo možno razviti spojino, ki bi bila učinkovita tako pri debelosti kot pri diabetesu tipa 2 (32, 33, 34).

5 Zaključek

Možnosti za farmakološko zdravljenje debelosti so v tem trenutku zelo omejene, kljub temu da je veliko raziskav usmerjenih v raziskovanje mehanizmov delovanja učinkovin in različnih pristopov za intervencijo. Nekateri strokovnjaki menijo, da bo področje zdravljenja debelosti v naslednjih petih do desetih letih doseglo takšne razsežnosti kot zdravljenje kardiovaskularnih bolezni in hipertenzije (1). Zaradi kompleksnosti uravnavanja telesne mase je malo verjetno, da bo za trajno izgubo odvečnih kilogramov dovolj le ena učinkovina. Prihodnost zdravljenja debelosti bo zelo verjetno združevala nekaj različnih, neodvisnih farmakoloških pristopov, ki bodo združeni s kalorično restrikcijo in fizično aktivnostjo.

6 Reference

- Melnikova I, Wages D. Anti-obesity therapies. *Nat Rev Drug Discov* 2006; 5(5): 369-70.
- Huggins KW, Boileau AC, Hui DY. Protection against diet-induced obesity and obesity-related insulin resistance in Group 1B PLA2-deficient mice. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2002; 283(5): 994-1001.
- Chang TM, Chang CH, Wagner DR et al. Porcine pancreatic phospholipase A2 stimulates secretin release from secretin-producing cells. *J Biol Chem* 1999; 274(16): 10758-64.
- Shi Y, Burn P. Lipid metabolic enzymes: emerging drug targets for the treatment of obesity. *Nat Rev Drug Discov* 2004; 3(8): 695-710.
- Krauss S, Zhang CY, Lowell BB. The mitochondrial uncoupling-protein homologues. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2005; 6(3): 248-61.
- Starkov AA. Protein-mediated energy-dissipating pathways in mitochondria. *Chem Biol Interact* 2006; 161(1): 57-68.
- Fernandez-Lopez JA, Remesar X, Foz M et al. Pharmacological approaches for the treatment of obesity. *Drugs* 2002; 62(6): 915-44.
- Campfield LA, Smith FJ. Leptin and other appetite suppressants. In: Hofbauer KG, Keller U, Boss O. *Pharmacotherapy of obesity*. CRC Press, 2004: 321-344.
- Chiesi M, Huppertz C, Hofbauer KG. Pharmacotherapy of obesity: targets and perspectives. *Trends Pharmacol Sci* 2001; 22(5): 247-54.
- Grover GJ, Mellstrom K, Ye L et al. Selective thyroid hormone receptor-beta activation: a strategy for reduction of weight, cholesterol, and lipoprotein (a) with reduced cardiovascular liability. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2003; 100(17): 10067-72.
- Vergnes L, Beigneux AP, Davis R et al. Agpat6 deficiency causes subdermal lipodystrophy and resistance to obesity. *J Lipid Res* 2006; 47(4): 745-54.
- Chen HC, Farese RV Jr. Inhibition of triglyceride synthesis as a treatment strategy for obesity: lessons from DGAT1-deficient mice. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2005; 25(3): 482-6.
- Kraemer FB, Shen WJ. Hormone-sensitive lipase knockouts. *Nutr Metab (Lond)* 2006; 3: 12.
- Tansey JT, Sztalryd C, Hlavin EM et al. The central role of perilipin a in lipid metabolism and adipocyte lipolysis. *IUBMB Life* 2004; 56(7): 379-85.
- Londos C, Sztalryd C, Tansey JT et al. Role of PAT proteins in lipid metabolism. *Biochimie* 2005; 87(1): 45-9.
- Tansey JT, Sztalryd C, Gruia-Gray J et al. Perilipin ablation results in a lean mouse with aberrant adipocyte lipolysis, enhanced leptin production, and resistance to diet-induced obesity. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001; 98(11): 6494-9.
- Martinez-Botas J, Anderson JB, Tessier D et al. Absence of perilipin results in leanness and reverses obesity in *Lepr(db/db)* mice. *Nat Genet* 2000; 26(4): 474-9.
- Linden D, William-Olsson L, Ahnmark A et al. Liver-directed overexpression of mitochondrial glycerol-3-phosphate acyltransferase results in hepatic steatosis, increased triacylglycerol secretion and reduced fatty acid oxidation. *FASEB J* 2006; 20(3): 434-43.
- Thuresson ER. Inhibition of glycerol-3-phosphate acyltransferase as a potential treatment for insulin resistance and type 2 diabetes. *Curr Opin Investig Drugs* 2004; 5(4): 411-8.
- Ronnett GV, Kim EK, Landree LE et al. Fatty acid metabolism as a target for obesity treatment. *Physiol Behav* 2005; 85(1): 25-35.
- Jogl G, Hsiao YS, Tong L. Structure and function of carnitine acyltransferases. *Ann N Y Acad Sci* 2004; 1033: 17-29.
- Yang N, Kays JS, Skillman TR et al. C75 [4-methylene-2-octyl-5-oxo-tetrahydro-furan-3-carboxylic acid] activates carnitine palmitoyltransferase-1 in isolated mitochondria and intact cells without displacement of bound malonyl CoA. *J Pharmacol Exp Ther* 2005; 312(1): 127-33.
- Thupari JN, Kim EK, Moran TH et al. Chronic C75 treatment of diet-induced obese mice increases fat oxidation and reduces food intake to reduce adipose mass. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2004; 287(1): E97-E104.

24. Hardie DG, Pan DA. Regulation of fatty acid synthesis and oxidation by the AMP-activated protein kinase. *Biochem Soc Trans* 2002; 30(6): 1064-70.
25. Zhang H, Yang Z, Shen Y et al. Crystal structure of the carboxyltransferase domain of acetyl-coenzyme A carboxylase. *Science* 2003; 299(5615): 2064-7.
26. Ha J, Lee JK, Kim KS et al. Cloning of human acetyl-CoA carboxylase-beta and its unique features. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996; 93(21): 11466-70.
27. Seng TW, Skillman TR, Yang N et al. Cyclohexanedione herbicides are inhibitors of rat heart acetyl-CoA carboxylase. *Bioorg Med Chem Lett* 2003; 13(19): 3237-42.
28. Weatherly SC, Volrath SL, Elich TD. Expression and characterization of recombinant fungal acetyl-CoA carboxylase and isolation of a soraphen-binding domain. *Biochem J* 2004; 380(1): 105-10.
29. Harwood HJ Jr, Petras SF, Shelly LD et al. Isozyme-nonselective N-substituted bipiperidylcarboxamide acetyl-CoA carboxylase inhibitors reduce tissue malonyl-CoA concentrations, inhibit fatty acid synthesis, and increase fatty acid oxidation in cultured cells and in experimental animals. *J Biol Chem* 2003; 278(39): 37099-111.
30. Ntambi JM, Miyazaki M. Recent insights into stearoyl-CoA desaturase-1. *Curr Opin Lipidol* 2003; 14(3): 255-61.
31. Miyazaki M, Kim YC, Ntambi JM. A lipogenic diet in mice with a disruption of the stearoyl-CoA desaturase 1 gene reveals a stringent requirement of endogenous monounsaturated fatty acids for triglyceride synthesis. *J Lipid Res* 2001; 42(7): 1018-24.
32. Rieusset J, Touri F, Michalik L et al. A new selective peroxisome proliferator-activated receptor gamma antagonist with antiobesity and antidiabetic activity. *Mol Endocrinol* 2002; 16(11): 2628-44.
33. Kadowaki T. PPAR gamma agonist and antagonist *Nippon Yakurigaku Zasshi* 2001; 118(5): 321-6.
34. Bays HE. Current and investigational antiobesity agents and obesity therapeutic treatment targets. *Obes Res* 2004; 12(8): 1197-211.



Proteaze in njihovi inhibitorji v telesnih tekočinah kot diagnostični in prognostični tumorski kazalci

Proteases and their inhibitors in body fluids as diagnostic and prognostic tumour markers

Suzana Vozelj, Nataša Obermajer, Janko Kos

Povzetek: Odkrivanje novih tumorskih kazalcev je postalo pomemben del raziskav raka. Njihova uporabnost je v diagnozi, spremljanju napredovanja bolezni, pri napovedi ponovitve in izida bolezni ter spremljanju učinkovitosti zdravljenja. Med mnogimi biološkimi molekulami, ki so vpletene v procese razvoja in napredovanja raka, nam lahko prisotnost proteaz in njihovih inhibitorjev v tumorjih ali telesnih tekočinah omogoči nove diagnostične in prognostične informacije za bolnike z rakom. Rezultati kliničnih raziskav telesnih tekočin bolnikov z rakom dojke, jajčnikov, materničnega vratu, maternice, mehurja, pljuč, jeter, glave in vratu, prostate in črevesja kažejo na možne prednosti pred metodami, ki se trenutno uporabljajo.

Ključne besede: proteaze, rak, diagnostični kazalci, prognostični kazalci

Abstract: In recent years the discovery of new cancer biomarkers has become an important part in cancer research. Biomarkers are useful for diagnosis, monitoring disease progression, and predicting disease recurrence and outcome and therapeutic treatment efficacy. Among various biomolecules involved in cancer development and progression, proteases and their inhibitors in tumors as well as in some body fluids may provide new diagnostic and prognostic information for cancer patients. The results of their clinical investigations in body fluids of human breast, ovarian, uterine cervix, uterus, bladder, lung, liver, head and neck, prostate and colorectal cancer show possible advantage over currently existing techniques.

Key words: proteases, cancer, diagnostic markers, prognostic markers

1 Uvod

Proteaze, lahko tudi proteinaze oz. peptidaze, so encimi, ki katalizirajo razgradnjo beljakovin v manjše peptide oz. popolno razgradnjo do aminokislinskih preostankov (1).

Proteaze so selektivno delujoče, kajti posamezna proteaza razgradi polipeptidno verigo glede na specifično zaporedje aminokislin in pod določenimi pogoji okolja. Poznamo 561 genov, ki kodirajo za različne proteaze pri človeku, kar predstavlja približno 2% človeškega genoma.

Proteaze spadajo v razred hidrolaz, ki pri delovanju uporabljajo molekule vode za nukleofilni napad na karbonilno skupino v amidni vezi. Glede na mesto hidrolize peptidne vezi v polipeptidni verigi jih delimo na endopeptidaze in eksopeptidaze. Eksopeptidaze delimo glede na mesto delovanja (aminopeptidaze, karboksipeptidaze) ter glede na velikost odcepljenih fragmentov. (2).

Proteaze omogočajo znotrajcelično in zunajcelično razgradnjo proteinov, regulirajo aktivacijo pro-encimov in pro-hormonov, sodelujejo pri predstavitvi antigenov, preoblikovanju kostnega tkiva,

razgradnji in preoblikovanju zunajceličnega matriksa (ECM), sodelujejo pri procesu razvoja embria, pri ovulaciji, zdravljenju ran, migraciji monocitov, kaskadi strjevanja krvi, imunskem odzivu in pri procesu programirane celične smrti ali apoptoze.

Povečano delovanje proteaz so dokazali pri številnih tumorjih, vključno pri raku dojk, pljučnem raku, možganskih tumorjih, raku črevesja, raku glave in vratu ter melanomih. Poleg rakavih obolenj pa igrajo vlogo tudi pri vnetnih boleznih, revmatoidnem artritisu, periodontitisu, kardiovaskularnih boleznih, nevroloških boleznih, ulkusu, emfizemu, pri motnjah v strjevanju krvi, malariji, ipd.

V malignih procesih imajo proteaze vlogo pri invaziji, metastaziranju, angiogenezi in tudi pri rasti tumorjev, hkrati pa tudi v procesih, ki lahko povzročijo remisijo maligne bolezni (apoptoza tumorskih celic, protitumorski imunski odziv) (3, 4, 5).

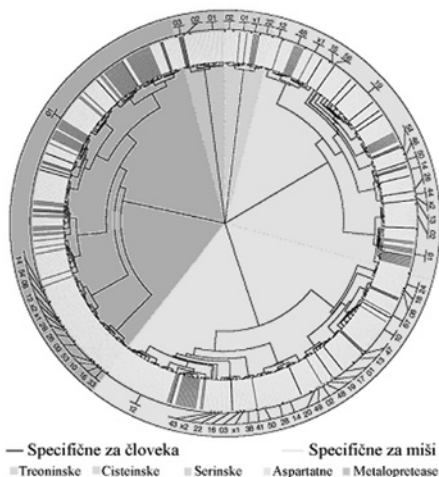
V medicini predstavljajo proteaze zaradi njihove regulatorne vloge ter udeležnosti pri patoloških procesih potencialne tarče za terapijo. V klinični rabi in različnih fazah testiranja so številni inhibitorji proteaz

Suzana Vozelj, mag. farm., Krka d.d., Novo mesto, Dunajska 65, 1000 Ljubljana
Nataša Obermajer, mag. farm., Univerza v Ljubljani, Fakulteta za farmacijo, Aškerčeva 7, 1000 Ljubljana
prof. dr. Janko Kos, univ. dipl. kem., Univerza v Ljubljani, Fakulteta za farmacijo, Aškerčeva 7, 1000 Ljubljana; Inštitut Jožef Stefan, Oddelek za biokemijo in molekularno biologijo, Jamova 39, 1000 Ljubljana

(inhibitorji virusnih HIV proteaz, inhibitorji ACE (angiotenzin konvertaza encima) za zniževanje povečanega krvnega tlaka, inhibitorji serinskih proteaz (trombina, faktorja X) za zdravljenje tromboze, inhibitorji renina za zdravljenje hipertenzije, inhibitorji dipeptidil peptidaze IV (DPPIV) za zdravljenje sladkorne bolezni tipa 2, inhibitorji katepsina K za zdravljenje osteoporoze, inhibitorji treoninske proteaze (inhibitorji proteosoma) v terapiji raka, inhibitorji metaloproteaz (MMP) za zdravljenje rozaceae, aken, periodontalnih bolezni in raka (6). Hkrati pa kažejo proteaze velik potencial kot diagnostični in/prognostični dejavniki pri številnih boleznih, zlasti pa rakavih obolenjih.

2 Razdelitev

Sodobna delitev proteaz temelji na evolucijski podobnosti in mehanizmu delovanja. Po encimski klasifikaciji sodijo proteaze v podrazred hidrolaz. Proteaze so razvrščene v posamezne razrede in klane. Klane sestavljajo družine, sestavljene iz proteaz, ki imajo skupnega prednika, vendar so se med evolucijo tako spremenile, da se več ne ujemajo v celotnem ali delnem aminokislinskem (AK) zaporedju, ki je odgovorno za katalitsko aktivnost. Družine, združene v klan, so si podobne predvsem v terciarni strukturi, vendar se podobnosti lahko kažejo tudi v položaju AK, ki so pomembne za katalitsko aktivnost, polipeptidini verigi ter omejenem ujemanju AK zaporedja v bližini teh AK (7). Glede na katalitski mehanizem delimo proteaze na več razredov.



Slika 1: Proteazno kolo: Filogenetsko drevo človeških in mišjih proteaz. Proteaze so razdeljene v pet katalitskih razredov in 63 različnih družin. Kodna številka vsake družine je napisana na zunanem krogu (8).

Picture 1: Protease wheel. Phylogenetic tree of human and mouse proteases. Proteases are divided into five catalytic classes and 63 different families. Code number of every family is written on the outer circle (8).

2.1 Cisteinske proteaze

Cisteinske proteaze so pogosto prisotne v telesu (od vseh 561 genov, ki kodirajo za proteaze, je 148 tistih, ki kodirajo za cisteinske proteaze). Najbolj poznane človeške cisteinske proteaze so katepsini, ki se v aktivirani obliki najpogosteje nahajajo v lizosomih. Pri cisteinskih proteazah poznamo 16 različnih družin, cisteinski katepsini spadajo v klan CA in so

vklučeni v procese v celici kot so proteinsko procesiranje, reprodukcija, MHC-II antigenska predstavitev, resorpcija kosti, apoptoza, diferenciacija keratinocitov (8). Hkrati sodelujejo v patoloških procesih kot so rak, vnetje, nevrodegeneracija, ateroskleroza, artritis, psoriza, pankreatitis, itn. (9). V razred cisteinskih proteaz spadajo katepsini B, C, F, H, K, L, O, S, V, W in X. Njihovo aktivnost kontrolirajo njihovi endogeni proteinski inhibitorji, med njimi najbolj poznani cistatini, tiropini in inhibitor proteaz $\alpha 2$ -makroglobulin (10).

2.2 Aspartatne proteaze

Aspartatne proteaze so relativno majhna, vendar zanimiva skupina, kajti imajo pomembno vlogo pri patoloških stanjih, kot so povišan krvni tlak (renin), rak (katepsin D-metastaziranje raka dojke), Alzheimerjeva bolezen (β sekretaza), malarija (plazemski pepsin), AIDS (HIV-1 peptidaza), infekcije s kandido (Candida Albicans), idr. (11). Aspartatne proteaze spadajo v pepsinsko družino in so pri katalitični aktivnosti neposredno odvisne od kislega aspartatnega preostanka. Delimo jih v tri družine: A1-pepsinska, A2-retropepsinska in A3-encimi pararetrovirusov.

Pri človeku dobro poznamo vloge treh sekretornih aspartatnih proteaz: pepsin, gastricisin, renin. Drugi dve manj poznani pa sta katepsin D, ki se nahaja v lizosomih (12) in katepsin E, ki se nahaja v endosomih med endoplazmatskim retikulumom (ER) in Golgijevim aparatom (GA) (13).

2.3 Serinske proteaze

Serinske proteaze, delimo jih v 14 različnih družin, so dobro raziskane na področju fibrinolize in koagulacije krvi (trombin), sodelujejo pa tudi pri prebavnih procesih (tripsin, kimotripsin in elastaze), razvojnih procesih in vnetju. V centralnem živčnem sistemu imajo pomembno vlogo pri celični migraciji, preoblikovanju sinaps, celični vzdražnosti, pri glialnemu in celičnemu preživetju celic (14, 15). Serinske proteaze aktivirajo prekursorje rastnih faktorjev, razgrajujejo ECM ali pa se vežejo na receptorje na celični površini in s tem sprožijo znotrajcelične signalne kaskadne reakcije. Njihova aktivnost je močno nadzorovana tudi z različnimi endogenimi serinskimi inhibitorji (serpini) (16). Poznamo dva glavna inhibitorja plazminogenih aktivatorjev: PAI-1 in PAI-2 iz družine serpinov.

Poznamo tudi dva tipa plazminogenega aktivatorja: tkivni (t-PA) in urokinazni (uPA) tip. Oba sta sposobna katalizirati pretvorbo plazminogena v plazmin. Primarna vloga tPA je aktivacija plazmina pri trombolizi, medtem ko je vloga uPA pomembna pri aktivaciji plazmina v dogodkih, povezanih z razgradnjo ECM in posledično v procesu migracije in invazije tumorja.

Receptor urokinaznega plazminogenega aktivatorja (uPAR) je receptor na površini celice in nanj se veže pro-uPA.

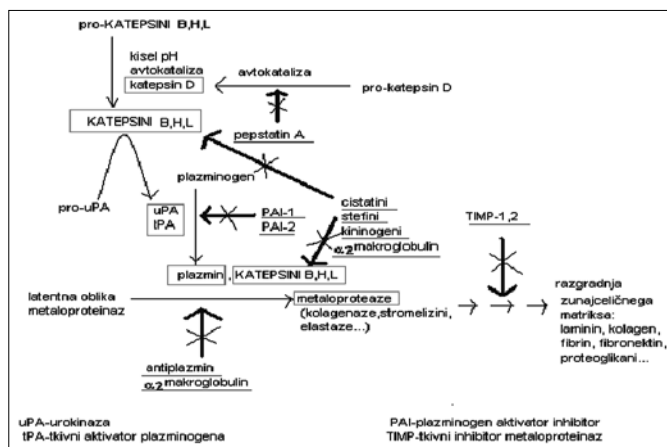
2.4 Metaloproteaze (MMP)

MMP se skrajšano imenujejo tudi matriksini, delimo jih v 26 različnih družin. Imajo pomembno vlogo v procesih razgradnje zunajceličnega matriksa (ECM). Ta proces opazimo pri razvoju zarodka, morfogenezi, reprodukciji in resorpciji ter remodeliranju tkiv (17). MMP imajo pomembno vlogo tudi v patoloških procesih: artritis, rak, kardiovaskularne bolezni, nevrolške bolezni, ulkus, jetrna fibroza, emfizem, idr. (18). Med MMP spadajo kolagenaze, gelatinaze, stromelizin, stromelizinu podobne MMP in membranski tip MMP (19).

Aktivne MMP inhibirajo specifični tkivni inhibitorji (TIMP). Poznamo 4 različne tipe, to je TIMP-1,-2,-3,-4. Sodelujejo pri razgradnji in preoblikovanju tkiv in se vežejo tako na aktivno obliko, kot na proMMP in lahko inhibirajo avtokatalitsko aktivacijo.

3 Vloga proteaz v mehanizmi nastanka in napredovanja raka

Proteaze so udeležene na številnih stopnjah razvoja ter napredovanja raka, pri tem pa ne igrajo pomembne vloge le proteaze v tumorskih celicah, temveč tudi v tumorski stromi, ki jo predstavlja tumorski ECM in tudi celične komponente, kot so fibroblasti, imunske ter vnetne celice ter celice krvnih žil. Sodelovanje transformiranega tkiva s svojim mikrookoljem ustvari pogoje, v katerih je mogoča tumorska invazija, angiogeneza in metastaziranje. Ekspresija proteaz ali njihova aktivnost je v tumorjih spremenjena in proteaze so vključene v številne tumorske procese. V procesu invazije sodelujejo cisteinske proteaze (predvsem katepsina L in B), aspartatne proteaze (katepsin D), MMPs in v veliki meri serinske proteaze (uPA). Vse omenjene proteaze pripomorejo k razgradnji ECM in bazalne membrane bodisi preko direktne razgradnje (katepsina B in L) ali sodelujejo v proteolizi in aktiviranju drugih proteaz (MMP, elastaze). MMP niso pomembni le za razgradnjo ECM, ampak imajo tudi pomembno vlogo pri vzpostavljanju ugodnega okolja za rast in metastaziranje tumorja (20).



Slika 2: Aktivacija proteaz v procesu razgradnje zunajceličnega matriksa (21).

Picture 2: Activation of proteases in the process of degradation of extracellular matrix (21).

V zdravih celicah obstaja ravnovesje med proteazami in njihovimi inhibitorji (npr.: uPA in PAI, MMP in TIMP, katepsini in cistatini oz. stefini,). pri tumorskih celicah pa je to ravnotežje porušeno (22).

Možne so tudi druge interakcije med molekulami proteolitske kaskade. Tako npr.: katepsin B lahko poleg ostalih funkcij razgradi in s tem inaktivira inhibitorja MMP TIMP-1 in TIMP-2 in se tudi v tej zadnji efektivski fazi vključuje v razgradnjo ECM. Kompleksno vlogo pri tem ima katepsin D, saj poleg direktne razgradnje ECM proteinov razgrajuje tudi cistatine, inhibitorje cisteinskih proteaz, hkrati lahko tudi stimulira angiogenezo, vpliva na apoptozo in je s tem vključen pri rasti tumorja.

Poleg tumorske invazije in metastaziranja pa so proteaze udeležene tudi v procesih angiogeneze, in sicer preko sproščanja rastnih

faktorjev (bFGF, TGF- β , EGF, IGF), vezanih na proteine zunajceličnega matriksa in aktivacije citokinov, ki vplivajo na proces ožiljanja (IL-1 β) in pospešujejo rast endotelijskih celic.

Proteaze vplivajo tudi na apoptozo tumorskih celic in modulacijo imunskega odziva, pri čemer spremenjena aktivnost proteaz lahko povzroči zmanjšanje imunskega odziva ter imunsko toleranco.

4 Prisotnost proteaz v telesnih tekočinah

Proteaze se nahajajo znotraj tkiv (tumorskih in netumorskih), vendar so nekatere prisotne tudi v telesnih tekočinah v izmerljivih koncentracijah, zlasti ob patoloških stanjih, ko je povečano njihovo sproščanje.

Ovrednotenje proteaz v zunajceličnih tekočinah bolnikov z rakom lahko izvedemo bodisi z merjenjem encimske aktivnosti z uporabo raznih kromogenih ali fluorogenih substratov ali z direktnim določanjem njihove koncentracije s specifičnimi imunskimi testi, kot je encimsko imunski test ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay) ali s pomočjo pretočne citometrije.

V spodnjih tabelah so podani podatki o spremljanju vrednosti proteaz v telesnih tekočinah in njihovem vrednotenju kot diagnostičnih ali prognostičnih kazalcev oz. za spremljanje odziva na zdravljenje.

Tabela 1: Spremenjene vrednosti cisteinskih proteaz pri rakavih boleznih (23, 24, 25).

Table 1: Changed values of cysteine proteases measured on people with cancer (23, 24, 25).

Bolezen	Katepsin	Tel. tekočina	Razmerje: bolezen/normalno
rak dojke	H	serum	↑
rak jajčnikov	B, L	serum	↑, ↑
rak sečnice	B	serum	↑
rak mehurja	B	plazma, urin	↑, =
	L	urin	↑
pljučni rak	H, S	serum	↑, =
rak maternice	L	serum	=
rak materničnega vratu	B	serum	↑
melanom	B, H	serum	↑
rak prostate	B	serum	↑
rak jeter	B	serum	↑
kolorektalni rak	B	serum	↑

Cisteinske proteaze so določali tudi pri drugih oblikah raka, vendar so merili vrednosti v tumorskem tkivu in ne v telesnih tekočinah.

Pri bolnikih s kolorektalnim rakom so bile vrednosti katepsina B odvisne od stopnje po Dukes-u, pri čemer je bila najvišja vrednost pri stopnji D (25, 26). Podobno je bila serumska aktivnost katepsina B odvisna od klinične stopnje ter razširjenosti raka materničnega vratu (26).

Vrednosti katepsina H so bile znatno višje pri bolnikih z metastatskim melanomom, kot pri tistih brez metastaz (27).

Za katepsin L so predlagali, da so serumske vrednosti katepsina L v kombinaciji s CA 125 ter CA 72-4 uporabnejše pri detekciji raka jajčnikov, kot trenutno uporabljene metode v klinični praksi (28).

Tabela 2: Inhibitorji cisteinskih proteaz (cistatin C, stefin A in B) kot tumorski kazalci pri rakavih obolenjih.

Table 2: Inhibitors of cysteine proteases (cystatin C, stefin A and B) as tumour markers.

Inhibitor cisteinskih proteaz	Telesna tekočina	Uporaba
cistatin C	serum	diagnoza in spremljanje raka glave in vratu (29)
cistatin C	serum	prognoza kolorektalnega raka (30)
cistatin C	serum	prognoza raka pljuč (9, 24)
cistatin C	serum	prognoza limfoma B-celic (9, 24)
cistatin C	serum	prognoza melanoma (9, 24)
stefin A	serum	prognoza kolorektalnega raka (31)
stefin B	serum	prognoza kolorektalnega raka (31)
stefin A	serum	prognoza raka glave in vratu (25)

Serumske vrednosti stefina A so bile povečane pri bolnikih s hepatocelularnim karcinomom in so sovpadale z velikostjo tumorja in številom neoplastičnih lezij (32).

Vrednosti stefina A ter cistatina C pri kolorektalnem raku so bile neodvisne od stopnje po Dukes-u, medtem ko so bile vrednosti stefina B značilno povezane s stopnjo in so bile najvišje pri stopnji D. Podoben vzorec so določili tudi pri bolnikih s pljučnim rakom (Kos s sod., neobjavljeni rezultati).

Izmerili so tudi vrednosti kompleksa katepsin B/cistatin C v serumih bolnikov s pljučnim in kolorektalnim rakom (33). Vrednosti so bile značilno nižje pri bolnikih z malignim pljučnim tumorjem kot pri benignih pljučnih boleznih ali pri zdravih posameznikih. Pri kolorektalnem raku so bile vrednosti nižje pri stopnjah C in D, kot pa pri zgodnjih stopnjah A in B. Inverzna korelacija med napredovanjem rakave bolezni ter stabilnostjo kompleksa potrjuje hipotezo o oslabljeni sposobnosti inhibicije med razvojem raka.

Tabela 3: Aspartatne proteaze v telesnih tekočinah in njihova klinična uporabnost.

Table 3: Aspartic proteases in body fluids and its clinical value.

Aspartatna proteaza	Telesna tekočina	Uporaba
katepsin D	serum	spremljanje kolorektalnega raka
katepsin D	serum	prognoza in spremljanje glioma raka
katepsin D	serum	diagnoza in prognoza raka dojke

Povečana koncentracija in aktivnost katepsina D v serumu in drugih telesnih tekočinah je bila opažena tudi pri raku jajčnikov, maternice in pljuč (34, 35).

Tabela 4: Inhibitorji serinskih proteaz kot tumorski kazalci.

Table 4: Serine protease inhibitors as tumour markers.

Serinska proteaza	Telesna tekočina	Razmerje: bolezen/normalno	Uporaba
PAI-1	serum	↑	diagnoza in prognoza raka jajčnikov (36)
PAI-1	serum	↑	prognoza hepatocelularnega raka (30)

Povečano izločanje uPA je bilo izmerjeno v tkivih tumorja pri raku dojke, pljuč, ledvic, žolčnika, želodca, možganov, jajčnikov, maternice, kolorektalnem raku in melanomu (37).

Pri raku dojke so bili v tkivu izmerili zvišane vrednosti uPA, PAI-1, uPA-PAI-1 kompleksa ter uPAR, ki so negativen napovedni dejavnik, medtem ko so visoke vrednosti tPA in PAI-2 pozitiven napovedni dejavnik (38).

Tabela 5: Kalikreini, podskupina serinskih proteaz, kot tumorski kazalci (39).

Table 5: Kalikreins, subgroup of serine proteases as tumour markers (39).

Kalikerin	Tel. tekočina	Uporaba
hK2	serum	diagnoza, prognoza, spremljanje raka prostate in dojke
hK3	serum	diagnoza, prognoza, spremljanje raka prostate in dojke
hK6	serum	diagnoza, prognoza, spremljanje raka jajčnikov
hK10	serum	diagnoza in spremljanje raka jajčnikov
hK11	serum	diagnoza in prognoza raka prostate in jajčnikov

Najbolj znani kalikrein je hK3, imenovan tudi PSA (prostatni specifični antigen), ki se že rutinsko uporablja pri diagnozi raka prostate.

Tudi nekatere MMP, ki se pojavljajo v plazmi in urinu, služijo za diagnozo in prognozo bolezni.

Tabela 6: MMP kot tumorski kazalci (40).

Table 6: MMPs as tumour markers (40).

MMP	Tel. tekočina	Razmerje: bolezen/normalno	Uporaba
MMP-3	serum	↑	diagnoza raka glave in vratu
MMP-8	serum	↑	diagnoza, spremljanje raka glave in vratu
MMP-9	serum	↑	diagnoza raka glave in vratu

Tabela 7: TIMP (tkivni inhibitorji MMP) kot tumorski kazalci.

Table 7: TIMPs (tissue inhibitors of MMP) as tumour markers.

TIMP	Telesna tekočina	Razmerje: bolezen/normalno	Uporaba
TIMP-1	serum	↑	diagnoza in spremljanje raka dojke (41)
TIMP -1	serum	↑	prognoza raka glave in vratu (42)
TIMP-2	serum	↑	prognoza kolorektalnega raka (43)

5 Zunajcelične proteaze kot kazalci diagnoze, prognoze in odziva na terapijo

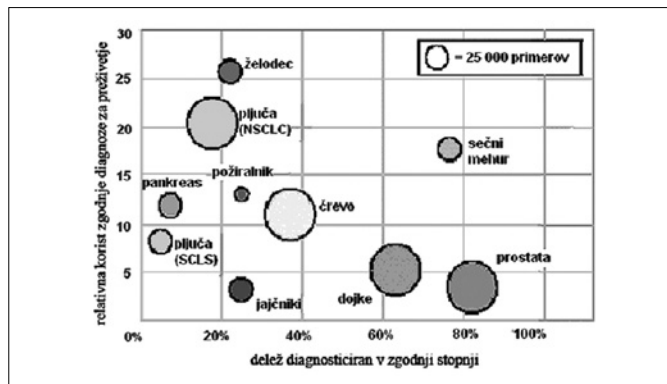
Tumorski kazalci so snovi, ki jih proizvajajo maligne celice ali snovi, ki so nastale v drugih celicah pod vplivom delovanja malignih celic. Spremljanje vrednosti tumorskih kazalcev v tkivu ni vedno primerno za rutinska testiranja. Ovrednotenje proteaz v serumu je veliko bolj enostavna metoda, predstavlja prijaznejši način vzorčenja, manjše tveganje in ima zato tudi večjo uporabno vrednost. Omogoča boljšo zanesljivost meritev in spremljanje bolezni skozi daljše obdobje, česar tkivni tumorski označevalci ne omogočajo. Ovrednotenje proteaz v zunajceličnih tekočinah ima pred merjenjem koncentracije v homogenatih tumorskega tkiva številne prednosti, saj omogoča:

- zgodnejšo detekcijo v fazi bolezni, ko je tumorsko tkivo še nedefinirano, kar daje tovrstnim meritvam znatno klinično vrednost,
- pri serumskih vzorcih se izognemo problemom, ki nastopajo pri histoloških pregledih heterogenih tkivnih vzorcev ter zahtevni izbiri ustreznega ekstrakcijskega pufra,
- dosegljivost krvnih vzorcev omogoča zaporedne meritve analitov, tudi po odstranitvi tumorskega tkiva in rutinsko analizo vzorcev osebkov s povečanim tveganjem za razvoj raka.

Slabosti merjenja v serumu pa so veliko nižje vrednosti tumorskih kazalcev (npr. katepsinov), kot na samem mestu tumorja. Zato potrebujemo bolj občutljivo metodo.

Spremenjene vrednosti lizosomskih cisteinskih proteaz v tumorjih in izvenceličnih tekočinah pri različnih tipih raka sovpadajo s preživetjem in se uporabljajo kot diagnostični ali prognostični kazalci (40). Pri večini rakavih obolenj (razen raka maternice) povečane vrednosti katepsinov B, L ali S pomenijo slabo diagnozo in prognozo, medtem ko napovedujejo visoke vrednosti katepsina H pri bolnikih s kolorektalnim rakom dobro prognozo (45). Višje vrednosti inhibitorja cisteinskih proteaz cistatina C ter stefinov A in B, so pokazatelji dobre prognoze pri različnih vrstah raka, če jih določamo v tumorskih tkivih. V telesnih tekočinah pa njihove povišane vrednosti napovedujejo slabo prognozo. Če pogledamo razmerje koncentracij cisteinskih proteaz in njihovih inhibitorjev, potrdimo hipotezo o oslABLjeni sposobnosti inhibicije cisteinskih proteaz pri rakavih obolenjih.

Pri aspartatnih proteazah se je izkazal katepsin D za klinično najbolj uporaben diagnostični, prognostični kazalec in parameter spremljanja poteka bolezni pri raku dojke, kolorektalnem raku in gliomu (34, 35).



Slika 3: *Relativna korist zgodnje diagnoze za preživetje (44). Relativna korist zgodnje diagnoze za preživetje je razmerje med 5-letno stopnjo preživetja pri diagnozi v zgodnji fazi bolezni in 5-letno stopnjo preživetja pri diagnozi v pozni fazi. Relativno korist zgodnje diagnoze za preživetje in delež diagnoz v zgodnji fazi predstavlja središče kroga. Površina vsakega kroga je sorazmerna številu diagnoz v ZDA v letu 2002.*

Picture 3: *Relative benefit of early diagnosis for survival (44). Relative benefit of early diagnosis for survival is the ratio between 5-years survival rate at diagnosis in the early phase and 5-years survival rate at diagnosis in the late phase. Relative benefit of early diagnosis for survival and degree of diagnosis in the early phase is represented by the center of the circle. The area of the circle is proportional to the overall number of diagnosis in USA in the year 2002.*

Serinske proteaze so se pokazale za napovedni kazalec pri več vrstah raka, vendar so bile po do sedaj objavljenih podatkih njihove koncentracije merjene v tumorskih tkivih in ne v serumu. V serumu pa so bile izmerjene vrednosti inhibitorjev uPA in njihove povečane vrednosti kažejo na slabo prognozo in diagnozo pri raku jajčnikov in slabo prognozo hepatocelularnega raka (30, 36, 37).

Kalikreini (hK) so podskupina serinskih proteaz. Njihove vrednosti, izmerjene v serumu, se uporabljajo za diagnozo, prognozo in spremljanje raka prostate, dojke in jajčnikov (39).

MMP in njihovi inhibitorji služijo predvsem pri diagnozi in spremljanju raka glave in vratu. Njihove povišane vrednosti v serumu nakazujejo slabo prognozo. Vrednosti TIMP-1 nam služijo pri diagnostiki in spremljanju napredovanja raka dojke, vrednosti TIMP-2 pa pri prognozi kolorektalnega raka (40, 41, 42, 43).

6 Zaključek

V luči sedanjega vedenja o vlogi proteaz pri malignih boleznih lahko sklepamo, da so proteaze in njihovi inhibitorji uporabni kot tumorski kazalci. Pri številnih tumorjih so zlasti vrednosti proteaz bistveno spremenjene in odražajo napredovanje bolezni, kar omogoča uporabo teh encimov v klinični praksi. Z njihovo uporabo lahko povečamo učinkovitost terapije pri bolj ogroženih bolnikih, po drugi strani pa se lahko izognemo zdravljenju manj ogroženih bolnikov. Trenutno zlasti standardizacija in poenotenje eksperimentalnih rezultatov, dobljenih v različnih kliničnih študijah pri različnih vrstah raka, predstavlja ključni problem, ki onemogoča široko uporabo proteaz in inhibitorjev kot tumorskih kazalcev. Določanje proteaz v telesnih tekočinah, zlasti serumu, je izredno primerno za tovrstne namene, vendar je vrednost proteaz v teh vzorcih veliko nižja kot v samem tumorskem tkivu. Imunološke metode z nizko mejo detekcije, ki temeljijo na uporabi monoklonskih protiteles, omogočajo takšno analizo. Da bi vpeljali določanje proteaz kot tumorskih kazalcev v telesnih tekočinah v klinično prakso, bi bile potrebne dodatne študije na večjih populacijah bolnikov, v katerih bi potrdili (ali ovrgli) njihovo uporabnost za napovedovanje diagnoze in prognoze ter določili prednosti pred že uveljavljenimi dejavniki.

7 Literatura

1. Puente XS, Sanchez LM, Overall CM, Lopez-Otin C. Human and mouse proteases: a comparative genomic approach. *Nat Rev Genet* 2003; 4: 544-580.
2. Rawling ND, Rifkin E, Barrett AJ. MEROPS: the protease database. *Nucleic Acids Res* 2002; 30: 343-346.
3. Mignatti P, Rifkin DB. Biology and Biochemistry of proteinases in tumor invasion. *Physiol Rev* 1993; 73: 161-195.
4. Koblinski JE, Ahrm M, Sloane BF. Unravelling the role of proteases in cancer. *Clin Chim Acta* 2000; 291: 113-135.
5. Nagase H, Woessner JF. Matrix Metalloproteinases. *J Biol Chem* 1999; 274: 21491-21494.
6. Turk B. Targeting proteases: successes, failures and future prospects. *Nature Rev* 2006; 5: 785-799.
7. Rawlings ND, Barrett AJ. Evolutionary families of peptidases. *Biochem J* 1993; 290:205-218.
8. Turk V, Turk B. Lysosomal cystein proteases: facts and oportunities. *EMBO J* 2001; 20: 4629-4633.
9. Kos J, Lah T. Cystein proteases and their endogenous inhibitors: target proteins for prognosis, diagnosis and therapy in cancer. *Oncol Rep* 1998; 5: 1349-1361.

10. Premzl A. Vloga zunajceličnega in znotrajceličnega katepsina B pri invaziji in ožiljanju tumorjev. Doktorsko delo 2003.
11. Dash C, Kulkarni A, Dunn B, Rao M. Aspartatic peptidase inhibitors: Implication drug development. *Crit Rev Bioch Mol Biol* 2003; 38: 89-119.
12. Saftig P, Hetman M, Schmahl W, Weber K, Heine L, Mossmann H, Koster A, Hess B, Evers M, Von Figura K. Mice deficient for the lysosomal proteinase cathepsin D exhibit progressive atrophy of the intestinal mucosa and profound destruction of lymphoid cells. *EMBO J* 1995; 14: 3599-3608.
13. Kageyama T. Molecular cloning, expression and characterization of an Ascaris inhibitor for pepsin and cathepsin E. *Eur J Biochem* 1998; 253: 804-809.
14. Davies B, Kearns IR, Ure J, Davies CH, Lathe R. Loss of hippocampal serine protease BSP1/neurosin predisposes to global seizure activity. *J Neurosci* 2001; 21: 6993-7000.
15. Scarisbrick IA, Blaber SI, Lucchinetti CF, Genanin CP, Blaber M, Rodriguez M. Activity of newly identified serine protease in CNS demyelination. *Brain* 2002; 125: 1283-1296.
16. Tsrirka SE, Rogove AJ, Bugge TH, Degen JL, Stickland S. An extracellular proteolytic cascade promotes neuronal degeneration in the mouse hippocampus. *J Neurosci* 1997; 17: 543-552.
17. Nagase H, Woessner JF. Matrix Metalloproteinases. *J Biol Chem* 1999; 274: 21491-21494.
18. Parks WC, Mecham RP. Matrix metalloproteinases, Academic Press, San Diego 1998.
19. Kuropakt C, Duenne AA, Herz U, Renz H, Werner JA. Significant correlation of matrix metalloproteinases and macrophage colony-stimulating factor serum concentrations in patients with head and neck cancer. *Neoplasma* 2004; 5: 375-379.
20. Chambers AF, Matrisian LM. *J. Natl. Cancer Inst.* 1997; 89:1260-1270
21. Schmitt M, Jänicke F, Graeff H. Tumor-associated proteases. *Fibrinolysis* 1992; 6: 3-26
22. Mueller BM, Yu YB, Laug WE. Overexpression of plasminogen activator inhibitor 2 in human melanoma cells inhibits spontaneous metastasis in scid-/scid+ mouse. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1995; 92:205-209
23. Berdowska I. Cysteine proteases as disease markers. *Clinica Chimica Acta* 2004; 342: 41-69
24. Kos J, Werle B, Lah T, Brunner N. Cystein proteaze and their inhibitors in extracellular fluids: markers for diagnosis and prognosis in cancer. *Int. J. Biol. Markers* 2000; 15: 84-89
25. Strojanc P, Budihna M, Šmid L, Svetic B, Vrhovec I, Kos J, Škrk J. Prognostic significance of cysteine proteinase cathepsins B and L and their endogenous inhibitors stefins A and B in patients with squamous cell carcinoma of the head and neck. *Clinical Cancer research* 2000; 6: 1052-1062
26. Makarewicz R, Drewa G, Szymanski W, Skonieczna Makarewicz I. Cathepsin B, H and L in human breast carcinoma. *Neoplasma* 1995; 42: 21-24.
27. Kos J, Štabuc B, Schweiger A, Kračovec M, Cimerman N, Kopitar-Jerala N, Vrhovec I. Cathepsins B, H, L, and their inhibitors stefin A and cystatin C in sera of melanoma patients. *Clin Cancer Res* 1997; 3: 1815-1822.
28. Nishida Y, Kohno K, Kawamata T, Morimitsu K, Kuwano M, Miyaka I. Increased cathepsin L levels in serum in some patients with ovarian cancer: comparison with CA125 and CA74-2. *Gynecol Oncol* 1995; 56: 375-61.
29. Strojanc P., Svetic B., Šmid L., Kos J. Serum Cystatin C in patients with head and neck carcinoma. *Clinica Chimica Acta* 2004; 344: 155-161
30. Zheng Q, Tang ZY, Yue Q, Shi DR, Song HY, Tang HB. Invasion and metastasis of hepatocellular carcinoma in relation to urokinase-type plasminogen activator, its receptor and inhibitor. *J Cancer Res Clin Oncol.* 2000; 126(11): 641-646
31. Kos J, Kračovec M, Cimerman N, Nielsen HJ, Christensen IJ, Brunner N. Cysteine proteinase inhibitors Stefin A, Stefin B and Cystatin C in sera from patients with colorectal cancer : relation to prognosis. *Clinical Cancer Research* 2000; 6: 505-511
32. Leto G, Turninelo FM, Pizzolanti G, Montallo G, Soresi M, Gebbia N. Lysosomal cathepsins B and L and stefin A blood levels in patients with hepatocellular carcinoma and/or liver cirrhosis: potential clinical implications. *Oncol* 1997; 54: 79-83.
33. Zore I, Kračovec M, Cimerman N, Kuhelj R, Werle B, Nielsen HJ, Brunner N, Kos J. Cathepsin B/cystatin C complex levels in sera from healthy donors and patients with benign and malignant lung and colorectal diseases. *Biol Chem* 2001; 382: 805-810.
34. Lah TT, Čerček M, Blejec A, Kos J, Gorodetsky E, Somers R, Daskal I. Cathepsin B, a prognostic indicator in lymph node-negative breast carcinoma patients: comparison with cathepsin D, cathepsin L and other clinical indicators. *Clinical cancer research* 2000; 6: 578-584
35. Fukuda ME, Iwadate Y, Machida T, Hiwasa T, Nimura Y, Nagai Y, Takiguchi M, Tanzawa H, Yamaura A, Seki N. Cathepsin D is a potential serum marker for poor prognosis in glioma patients. *Cancer research* 2005; 65(12): 5190-5194
36. Ho CH, Yuan CC, Liu SM. Diagnostic and prognostic values of plasma levels of fibrinolytic markers in ovarian cancer. *Gynecol. Oncol.* 1999; 75(3): 397-400
37. Gandonfo GM, Conti L, Vercillo M. Fibrinolysis components as prognostic markers in breast cancer and colorectal carcinoma. *Anticancer Res.* 1996; 16: 2155-2159
38. Grebenchtchikov N, Maguire TM, Riisbro R, Geurts-Moespot A, O'Donovan N, Schmitt M, McGreal G, McDermott E, O'Higgins N, Brunner N, Sweep CG, Duffy MJ. Measurement of plasminogen activator system components in plasma and tumor tissue extracts obtained from patients with breast cancer: an EORTC Receptor and Biomarker Group Collaboration. *Oncol Rep.* 2005; 14: 235-239
39. Diamandis EP, Jousef GM. Human tissue kallikreins: a family of new cancer biomarkers. *Clinical Chemistry* 2002; 48(8): 1189-1205
40. Kuropakt C, Duenne AA, Herz U, Renz H, Werner JA. Significant correlation of matrix metalloproteinases and macrophage colony-stimulating factor serum concentrations in patients with head and neck cancer. *Neoplasma* 2004; 5 (51): 375-379
41. Wurtz S, Schrohl AS, Sorensen NM, Lademann U, Christensen IJ, Mouridsen H Brunner N. Tissue inhibitor of Metalloproteinases-1 in breast cancer. *Endocrine-Related Cancer* 2005; 12: 215-227
42. Ruokolainen H, Paakko P, Turpeenniemi-Hujanen T. Tissue inhibitor of MMP-1 is prognostic in head and neck squamous cell carcinoma: comparison of the circulating and tissue immunoreactive protein. *Clinical cancer research* 2005; 11(9): 3257-3264
43. Bing-Hui L, Peng Z, Shi-Zheng L, Yue-Ming Y, Mei H, Jin-Kun W. Matrix metalloproteinase-2 and tissue inhibitor of metalloproteinase-2 in colorectal carcinoma invasion and metastasis. *World journal of gastroenterology* 2005; 11(20): 3046-3050
44. Ries LAG, Eisner MP, Kosary CI, et al. SEER Cancer Statistics Review. National Cancer Institute 2002; 1973-1999.
45. Schweiger A, Christensen IJ, Nielsen HJ, Sorensen S, Bruenner N, Kos J. Serum cathepsin H as a potential prognostic marker in patients with colorectal cancer. *The Int. J. of Biol. Markers* 2004; 19: 289-294

Možnosti uporabe genskega dopinga in problemi njegove detekcije

An overview of gene doping applications and problems of its detection

Lovro Žiberna, Klemen Žiberna, Borut Štrukelj, Irena Mlinarič-Raščan

Povzetek: Genski doping je neterapevtska uporaba celic, genov, genskih elementov ali modulacija genske ekspresije, katere cilj je izboljšati sposobnosti športnika. Namen vnosa genskega materiala v celice tarčnih tkiv je povečana ekspresija proteinov, ki regulirajo signalne poti in povzročijo izboljšanje želenih fizioloških parametrov. Vnosi genskih zapisov za eritropoetin, IGF-1, inhibitorje miostatina, VEGF in PPAR-delta v celice tarčnih tkiv živali izboljšajo aerobne sposobnosti, podaljšajo vzdržljivost in zvečajo mišično moč. Težave z učinkovitostjo in specifičnostjo prenosa genskega materiala v telo predstavljajo tveganje za organizem. Zaenkrat še ne poznamo primerne testa za detekcijo genskega dopinga, ki bi imel ustrezno občutljivost in specifičnost ter bi bil hkrati neinvaziven.

Ključne besede: genski doping, eritropoetin, IGF-1, miostatin, VEGF, PPAR-delta, detekcija dopinga

Abstract: Gene doping is defined as the non-therapeutic use of cells, genes, genetic elements, or of the modulation of gene expression, having the capacity to enhance athletic performance. The purpose of gene insertion into the target cells is to improve physiological abilities by vast production of protein that amplifies or inhibits certain signalling pathways. Insertion of genes for erythropoietin, IGF-1, myostatin inhibitors, VEGF and PPAR-delta in animals has shown major rise in aerobic capabilities, prolonged endurance and increased muscle strength. However, several problems with efficiency and specificity of gene transfer exist and call attention to safety and health concerns. Also, no adequate non-invasive and sensitive detection method exists for gene doping.

Keywords: gene doping, erythropoietin, IGF-1, myostatin, VEGF, PPAR-delta, doping detection

1 Uvod

Doping v svoji definiciji zajema uporabo snovi ali metod, ki so potencialno škodljive za športnikovo zdravje, vendar lahko izboljšajo dosežke, oziroma prisotnost prepovedanih snovi v organizmu, iz katere je razvidna uporaba prepovedane tehnike. Omejitev dopinga je pomembna iz etičnega in medicinskega vidika. Kontrolno in regulativno na tem področju izvajajo Mednarodni olimpijski komite (IOC), Svetovna antidopinška organizacija (WADA) in posamezne panožne mednarodne športne organizacije z namenom omogočiti enake tekmovalne pogoje vsem tekmovalcem in zagotoviti zdravje športnikom. Vsako leto sprejmejo listo prepovedanih substanc in metod. Genski doping se je na tem seznamu prvič pojavil leta 2003 in je uvrščen v skupino prepovedanih metod (1, 2).

Genski doping je definiran kot neterapevtska uporaba celic, genov, genskih elementov ali modulacija genske ekspresije, katere cilj je izboljšati sposobnosti športnika (1). Pri genskem dopingu gre za uporabo enakih metod dela kot pri genski terapiji s pomembno razliko, da je poseg namesto na bolniku opravljen na zdravem človeku, športniku. Glavni cilj je vstavev genov z zapisi za tarčne proteine v

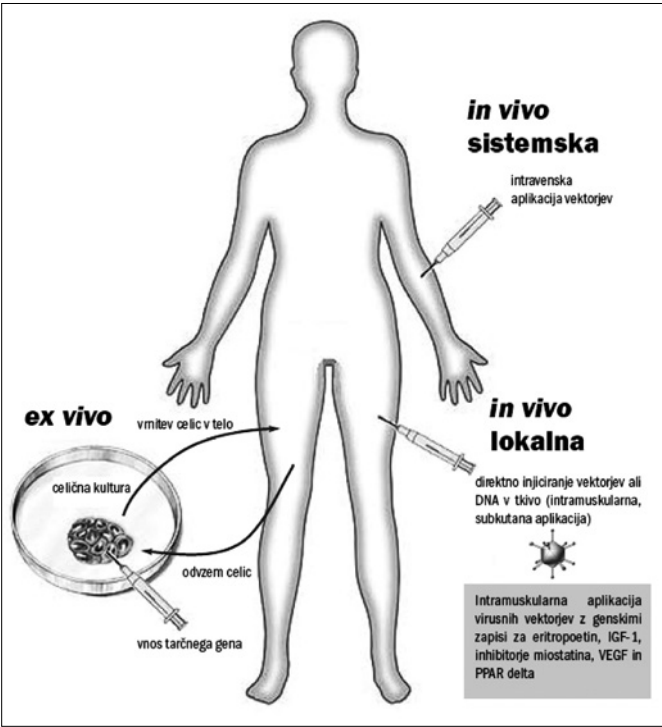
celice (tarčnega tkiva) z namenom doseči zadostno ekspresijo le-teh in posledično izboljšati delovanje celic in tkiv. Pomembno je poudariti, da za razliko od večine ostalih dopinških tehnik genski doping lahko povzroča trajne spremembe na celičnem nivoju.

2 Prenos genskega materiala v celice

Možnosti vnosa umetnega gena v telo so (slika 1):

- direktna injekcija DNA v tkivo (lokalna *in vivo* tehnika)
- uporaba virusnega vektorja (sistemska ali lokalna *in vivo* tehnika)
- vstavev zunaj telesa in vrnitev genetsko modificiranih celic nazaj v telo (*ex vivo* tehnika)

Za uspešnost vnosa želenega zapisa za gen v celično jedro se mora zapis bodisi integrirati v kromosom tarčne celice ali pa se ohraniti v celičnem jedru kot episom. Vstavljeni gen mora imeti dovolj veliko ekspresijo, če želimo dobiti zadostne količine terapevtskega proteina. Takšne gensko spremenjene celice postanejo rezervoar, ki izloča želen protein v svoje okolje ali v krvni obtok.



Slika 1. Shematični prikaz različnih možnosti vnosa umetnega gena v telo.

Figure 1. Representation of basic approaches for gene insertion into the human body.

Tabela 1. Vektorji, ki se uporabljajo za prenos genskega materiala v celice in njihove lastnosti.

Table 1. Survey of vectors for gene transfer with their properties.

Genski prenos	Vektor	Lastnosti
Nevirusni	Liposomi Z DNA pokriti zlati delci DNA proteinski kompleksi Gola DNA	- manj uspešna transdukcija - prehodna ekspresija - majhna imunogenost - lažja priprava
	Adenovirusi	- transfekcija mitotičnih in postmitotičnih celic - majhna citotoksičnost - pogost imunski odziv - velika kapaciteta za genski vložek (do 35 kb)
	Adeno-asociacijski virusi	- majhna toksičnost - majhna imunogenost - visoka perzistenca vstavljenega gena - majhna kapaciteta za genski vložek (<4,5 kb)
	Retrovirusi	- majhna toksičnost - majhna imunogenost - večinoma okuži samo mitotično aktivne celice (izjema rod <i>Lentivirus</i> , ki lahko ostane v citoplazmi mitotično mirujočih celic kot linearni episom in se vgradi kasneje) - majhna kapaciteta za genski vložek (<8 kb)
Virusni	Herpes simplex virusi	- okuži mitotične in postmitotične celice - visoka kapaciteta - pogost imunski odziv - perzistira v celicah v CZŠ

Za prenos genskega materiala v celice uporabljamo virusne ali nevirusne vektorje (tabela 1). Prednost nevirusnih vektorjev je v lažji pripravi, manjši toksičnosti kot tudi imunogenosti. Čeprav so razvili številne nove nevirusne vektorje, le-ti še vedno ostajajo v senci virusnih, saj njihovo uporabnost v genski terapiji omejujeta prehodna ekspresija in manj uspešen prenos DNA v celice.

Virusni vektorji predstavljajo le ogrožje virusnega genoma, saj se v procesu priprave odstranijo geni, ki omogočajo znotrajcelično razmnoževanje virusa in posledično smrt celice. Z odstranitvijo teh genov se ustvari prostor za vnos tarčnega zapisa za želeni gen v virusni genom. Uspešnost samega prenosa v tarčne celice je odvisna od sposobnosti virusa, da transficira celico. Večina virusov se pritrdi na celico preko receptorja ter prenese svoj dedni material v citoplazmo celice, ki nato potuje s pomočjo virusnih in/ali celičnih proteinov do celičnega jedra.

3 Nevarnosti vnosa genskega materiala v celico

Nevarnosti uporabe genske terapije so številne. Delimo jih na tveganje odvisno od uporabljenega vektorja in tveganje odvisno od kodiranega gena, ki ga prenašamo. Pri izboru virusnih vektorjev vedno obstaja nevarnost, da bi le-ti pridobili patogenost z možnimi rekombinacijami, do katerih lahko pride med uporabo v telesu. Uporaba retrovirusov, ki se naključno vgradijo v genom, lahko pripelje do prekinitve normalnega nukleotidnega zaporedja kakšnega pomembnega celičnega gena, kar lahko vodi v razvoj novih genskih bolezni, tudi raka.

Varnost genske terapije je relativno velika, saj je bilo zdravljenih že okoli 3000 pacientov. Kljub vsemu je zabeleženih že nekaj tragičnih zapletov. Znan je primer osemnajstletnega pacienta v letu 1999, ki se je odločil za gensko terapijo pomanjkanja ornitin-dekarboksilaze. Pri tem primeru je prišlo do prekomernega imunskega odziva na adenovirusni vektor, kar je pripeljalo do anafilaktičnega šoka in posledično do smrti (3). Ostali pogostejši stranski učinki genske terapije so gripi podobni simptomi: vročina, drget, mrazjenje, občutek slabosti in neugodja, suh kašelj, izguba apetita ter bolečine v sklepih in mišicah.

4 Možnost uporabe genskega dopinga v vrhunskem športu

Strokovnjaki so prepričani, da se bo genski doping že v bližnji prihodnosti začel uporabljati za povečanje oksiforne kapacitete krvi zaradi povečane sinteze eritropoetina. Vse kaže tudi na to, da bo možno hitrejšo povečanje mišične mase ob hkratnem zmanjšanju količine maščevja s pomočjo rastnih dejavnikov (npr. IGF-1) in z inhibicijo zaviralcev rasti (npr. miostatin). Temu pa lahko sledi povečanje prekrvavitve skeletne in srčne mišičnine s povečanjem števila žil, ki jo bodo omogočili endotelni rastni dejavniki (VEGF). Vstavljanje genov za endorfine in enkefaline bi lahko izboljšalo protibolečinsko terapijo.

4.1 Eritropoetin (EPO)

Eritropoetin je hormon, ki ga v 90% izločajo ledvice in v 10% jetra in ostali organi. Povišana koncentracija eritropoetina v krvi stimulira eritropoezo v kostnem mozgu. To vodi do povečanega števila

eritrocitov v krvi in s tem povečanega hematokrita in koncentracije hemoglobina v krvi. Na ta način se poveča oksiforna kapaciteta krvi in s tem izboljša transport kisika do mišičnih tkiv, kar je ključnega pomena pri vzdržljivostnih športih.

Že leta 1997 so v skeletne mišice miši in primatov z adeno-virusnim vektorjem uspešno vnesli gen za eritropoetin, ki se je stabilno izločal tudi več kot eno leto (4). Hematokrit se je pri miših povečal z 0,49 pri kontrolni skupini na 0,81 v testni skupini. Nekontrolirana povečana sinteza eritropoetina je povzročila nastanek hude policitemije in povečane viskoznosti krvi. To je posledično privedlo do tromboze v različnih žilnih sistemih in s tem povezanih kliničnih slik (akutni miokardni infarkt, cerebrovaskularni infarkt, venska tromboza). Raziskovalci so morali v raziskavi, v kateri so vnesli gen za eritropoetin v skeletne mišice pavianov, z večkratno flebotomijo uravnavati policitemijo (5).

Takšen način uravnavanja ni priročen, saj je nenatančen in na dolgi rok neprimeren za uporabo na ljudeh. Z namenom, da bi dosegli boljši nadzor, so razvili regulatorne sisteme, pri katerih je ekspresija gena uravnavana z umetno zgrajenim inducibilnim transkripcijskim dejavnikom. Gen za transkripcijski dejavnik je prav tako kot gen za eritropoetin umetno vnesen v celice s svojim vektorjem (npr. tetraciklinski inducibilni sistem, rapamicin inducibilni transkripcijski faktor (6)).

Še večjo nevarnost kot nenadzorovana policitemija pri vnosu gena za eritropoetin predstavlja imunski odziv tako na ektopično kot tudi na entopično secerniran eritropoetin. Tak odziv lahko privede do hude in ponavadi smrtne avtoimune anemije. V eni študiji so poročali, da so kar 3 od 9 opic z vnesenim genom za eritropoetin razvile protitelesa na endogeni in transgeni eritropoetin, pri tem sta dve opici umrli zaradi hude anemije (hematokrit je bil samo 0,25) (7).

3.2 Insulinu podoben rastni dejavnik 1 (IGF-1)

Insulinu podoben rastni dejavnik (IGF-1) se sintetizira v jetrih in v skeletni mišičnini ter ima anabolen učinek. V mišičnih celicah sintetizirani IGF-1 deluje avto- in parakrino. Njegovo izločanje se pospeši tako ob povečani koncentraciji ravnega hormona (GH) v krvi, kot tudi ob poškodbah mišičnega vlakna. IGF-1 pospešuje sintezo miofilamentov in ostalih proteinov v mišični celici in vzpodbuja proliferacijo satelitnih celic (8). Mišične satelitne celice spadajo med zarodne celice, ki obdajajo mišična vlakna. Ob porastu IGF-1 se z mitozo delijo in se zlijejo z mioцитi ter jim tako prispevajo svoje jedro in nove miofilamente. Na ta način potekata regeneracija in tudi hipertrofija mišičnega tkiva.

Zgoraj opisani mehanizmi uravnavanja regeneracije mišičnih celic so osnova za raziskovanje vpliva povečane ekspresije gena IGF-1 na povečanje mišične mase. V ta namen so z adeno-asociacijskim virusom (AAV) v skeletne mišice miši vstavili gen za IGF-1 nadzorovan s pomočjo mišično specifičnega promotora (9). Rezultati študije so pokazali, da je prekomerna ekspresija IGF-1 v povprečju za 15% povečala mišično maso in za 14% povečala mišično moč mladih miši. Prav tako se je pokazalo, da prekomerna ekspresija IGF-1 zmanjša starostno pogojeno izgubo mišične mase. Stare miši z vnesenim genom za IGF-1 so imele v povprečju 27% večjo mišično moč kot kontrolna skupina enako starih miši.

Narejena je bila tudi raziskava, v kateri so ovrednotili, koliko prispeva k povečanju mišične mase vadba za moč in koliko prekomerna ekspresija IGF-1 v skeletni mišici (10). Prvi skupini podgan, ki je bila izpostavljena vadbi proti upor, se je po 8 tednih v povprečju povečala mišična masa mišice *flexor hallucis longus* (FHL) za 23%. Drugi skupini podgan z vstavljenim genom za IGF-1 se je brez vadbe povečala mišična masa FHL za 15%. Tretji skupini podgan, ki so jim vstavili gen za IGF-1 in jih hkrati izpostavili vadbi proti upor, pa se je mišična masa FHL povečala kar za 32%. Kombinacija vadbe za moč in prekomerna ekspresija gena IGF-1 se je izkazala za najučinkovitejši način pridobivanja mišične mase. Merili so tudi hitrost izgubljanja mišične mase FHL podgan po prekinutvi vadbe proti upor pri mišicah z in brez vstavljenega gena IGF-1. Po 12 tednih mirovanja se je mišična masa FHL v podganah z vstavljenim genom za IGF-1 zmanjšala za 4,8%, medtem ko se je mišična masa FHL v podganah brez vstavljenega gena zmanjšala za 8,3%. Rezultati te raziskave nakazujejo realno možnost zlorab športnikov z vstavitvijo genov za IGF-1 v skeletne mišice z namenom izboljšati fizično pripravljenost kot tudi upočasniti izgubljanje mišične mase v času počitka med dvema sezonama.

Vstavljanje gena za IGF-1, ki deluje predvsem lokalno, povzroča manj neposrednih zapletov kot vstavljanje genskih zapisov za proteine, ki delujejo sistemsko. Velike količine izločenega IGF-1 se večinoma nahajajo v okolici celic, ki ga izločajo. Prav zato je veliko manjša verjetnost neželenega imunskega odziva, kot je bil to primer hude anemije pri opicah z vstavljenim genom za eritropoetin. Veliko nevarnost predstavlja možnost, da se virusni vektor z genom za IGF-1 po krvi odplavi in vgradi v druge vrste tkiv, od koder bi se IGF-1 prekomerno izločal v kri. Obstaja povezava med povišanimi serumskimi koncentracijami IGF-1 in povečanim relativnim tveganjem za razvoj različnih karcinomov, saj ima IGF-1 močne mitogene in antiapoptotične učinke na maligne celice (11). Poleg tega pa nenaravno hitro pridobivanje mišične mase kritično poveča obremenitve na tetive in kosti in tako povzroča skeletne deformacije ali celo zlome. Še posebej je to nevarno pri posameznikih, ki imajo že osteoporotične spremembe na kosteh.

3.3 Miostatin (GDF-8)

Miostatin (v preteklosti označen kot GDF-8) spada v skupino transformirajočih rastnih dejavnikov beta (TGF- β). Deluje kot negativni regulator mišične mase tako med samim embrionalnim razvojem kot tudi pri odraslem organizmu. Nukleotidno zaporedje gena za miostatin so določili leta 1997 s pomočjo znane vrste izrazito mišičastih bikov "Belgian Blue", ki imajo zaradi 11 baznih parov dolge delecije nefunkcionalen gen za miostatin (12). Živali, ki imajo okvarjen ali odstranjen gen za miostatin, so veliko večje in imajo 2- do 3- krat večjo mišično maso kot živali z intaktnim genom za miostatin. Mišična masa se poveča zaradi kombinacije hiperplazije in hipertrofije mišičnih celic (13). V letu 2004 so pri neverjetno mišičastem otroku, ki se je rodil bivši profesionalni sprinterki, dokazali mutacijo gena za miostatin s posledično popolno izgubo funkcije miostatina (14). To odkritje je vzpodbudilo nadaljnje raziskave, saj kaže na to, da miostatin pri človeku deluje zelo podobno kot pri miših in govedu.

Predvideva se, da bi maso posameznih mišic lahko povečali z vstavitvijo genov v satelitne celice ob mišičnih celicah, ki bi inhibirali

kompleksno signalno pot miostatina (15). Ker ti dodatno sintetizirani proteini delujejo le lokalno, je možnost sistemskih zapletov na račun imunskega sistema relativno majhna. Skrb predstavlja le dejstvo, da bi zaradi inhibicije miostatina in posledične hitre in množične proliferacije satelitnih celic, le-te sčasoma izgubile zmožnost delitve. V tem primeru bi se regenerativna zmožnost mišic kritično zmanjšala, kar bi privedlo do kronične mišične degeneracije.

3.4 Žilni endotelijski rastni dejavnik (VEGF)

Žilni endotelijski rastni dejavnik (VEGF) je glavni modulator zelo kompleksnega sistema regulacije angiogeneze v embriogenezi in tudi med samo rastjo organizma (16). Prav tako je antiapoptotski faktor za endotelijske celice, inducira izločanje NO iz endotelija, kar povzroči vazodilatacijo ter je odgovoren za tvorbo novih žil v času hipoksije.

Zaradi potencialno ugodnih učinkov angiogeneze pri bolnikih s periferno arterijsko boleznijo ali ishemično srčno boleznijo potekajo raziskave za zdravljenje teh bolezni z vstavljanjem gena za VEGF. Genska terapija z VEGF se pri bolnikih z žilnimi boleznimi ni izkazala kot dovolj učinkovita terapija. Kljub temu obstaja možnost, da bodo nekateri športniki v želji po večji prekrvavitvi srca in skeletnih mišic posegli po tej metodi (17, 18). V teh primerih obstaja nevarnost nastanka imunskega odziva in tvorbe protiteles proti VEGF zaradi njegovega prevelikega izločanja. To bi zmanjšalo njegovo delovanje in posledično bi hitreje nastale kronične žilne bolezni. Po drugi strani lahko prekomerno izločanje VEGF vodi do nastanka angiomov, retinopatij, psoriaze in drugih obolenj povezanih s patološko vaskularizacijo (19).

3.5 Agonisti PPAR Delta

PPAR (*Peroxisome Proliferator-Activated Receptor*) so proteini, ki spadajo v družino jedrnih receptorjev in delujejo kot transkripcijski dejavniki. Aktivacija PPAR poteka preko vezave ligandov, ki so večinoma metaboliti znotrajcelične presnove maščob. PPAR proteini obstajajo v treh izotipih: α , γ in δ (znan tudi kot β). Izotip PPAR δ poveča katabolizem maščobnih kislin in termogenezo z odklopniki v mitohondrijih v skeletni in srčni mišičnini ter v maščobnem tkivu. Prav tako zmanjšuje od makrofagov odvisne vnetne odzive (20).

Učinke PPAR δ na adipocite so preučevali v študiji transgenih miši z dodanim genskim zapisom za kontinuirano ekspresijo PPAR δ . Ugotovili so, da imajo transgene miši pri nespremenjeni dieti za 20% manjšo telesno težo in kar za 40% manj maščob v ingvinalnem predelu kot kontrolna skupina (21). Prav tako dieta z zelo visokim odstotkom maščob ni povzročila povečanja telesne teže, hipertrofije adipocitov ali hipertrigliceridemije. Do podobnih rezultatov so prišli tudi v študijah miši brez vstavljenega gena za PPAR δ , kjer pa so z injiciranjem PPAR δ agonista dosegli povečano aktivacijo PPAR δ (21, 22). Transgene miši z vstavljenim genom PPAR δ kot tudi običajne miši z injiciranim PPAR δ agonistom so imele v mišičnih vlaknih povečano ekspresijo genov za oksidacijo maščobnih kislin in povečano število mitohondrijev (23). Podvojilo se je tudi število počasnih mišičnih vlaken (tip 1) na račun zmanjšane števila hitrih mišičnih vlaken (tip 2). Posledično se je izrazilo izboljšala vzdržljivost teh miši, saj so lahko do popolne izčrpanosti pretele za 92% večjo razdaljo kot kontrolna skupina. Ugodni učinki PPAR δ na mišice in maščevje napovedujejo uporabo te tehnike predvsem v vzdržljivostnih športih.

3.6 Endorfini in enkefalini

Bolečino lahko opredelimo kot senzorično in čustveno doživetje, povezano z dejanskim ali potencialnim delovanjem dražljajev, ki okvarjajo tkiva. Telo lahko samo modulira stopnjo bolečine. Obstaja več vrst nevrottransmiterjev, ki sodelujejo na poteh za modulacijo nociceptivnega prenosa, pri čemer sta najbolj znana opioidna peptida endorfin in enkefalin.

Na modelu podgane s kronično konstriktivno poškodbo živca (*n. ischiadicus*) so uspešno zmanjšali bolečino z vstavitvijo plazmida v hrbtenjačo s pomočjo elektroporacije. Plazmid je vseboval gen za proopiomelanokortin (POMC), ki je povzročil povečanje koncentracije endorfinov v hrbtenjači in s tem dvig praga bolečine (24). V drugem eksperimentu pa so na modelu glodalca z lumbalno radikulopatijo prav tako uspešno zmanjšali bolečino z vstavitvijo genov za proenkefalin in glutamatno dekarboksilazo s pomočjo vektorja na osnovi herpes simplex virusa (25).

Te oblike genske terapije veliko obetajo za lajšanje bolečin pri bolnikih v terminalni fazi rakave bolezni, a so še na začetku razvoja in daleč od pričetka kliničnih raziskav. Mišična izčrpanost po hudih telesnih naporih vodi v stanje metabolne acidoze, saj telo proizvede veliko energije v anaerobnih metabolnih procesih, katerih stranski produkt je laktat. Prekomerne količine le-tega in njegovo prepočasno odstranjevanje s Corijevim ciklom povzročajo bolečino. Bolečina je celo pomembnejša od fizioloških omejitev telesa za nezmožnost dolgotrajnega vztrajanja na visoki intenzivnosti telesnega napora in prav zato vsakršno zmanjšanje občutenja bolečine izboljša zmogljivost športnika (26).

4 Detekcija uporabe genskega dopinga

Ustajene metode testiranja uporabe dopinga temeljijo predvsem na detekciji prepovedane snovi ali v vzorcu krvi ali v vzorcu urina. Genska terapija omogoča direktno aplikacijo genov v tarčna tkiva. S takim načinom aplikacije se izogne sistemskemu krvnemu obtoku in detekcija genskih vektorjev s sedanjimi metodami testiranja je praktično onemogočena (27).

Predvidevamo, da bo v začetni fazi najpogostejši način uporabe genskega dopinga lokalno injiciranje vektorjev v skeletne mišice. Značilnost te aplikacije je, da transformirani miociti izločajo proteinske produkte predvsem lokalno, kjer so fiziološki učinki tudi zaželeni. Možen način detekcije uporabe genskega dopinga je tako le iskanje morebitnih ostankov kemijskih snovi (v primeru uporabe nevirusnih vektorjev) ali ostankov virusnih vektorjev na mestu aplikacije. To pa je mogoče le z uporabo invazivnih metod kot je mišična biopsija. Mišična biopsija je invazivni kirurški poseg, ki poleg same poškodbe tkiva prinaša tudi možnost določenih perioperativnih zapletov, npr. preobčutljivostna reakcija na lokalne anestetike, okužba kirurške rane, postoperativna bolečina.

Številne oblike genskega dopinga ne potrebujejo direktnega injiciranja genov v točno določena tkiva, temveč jih je moč vgraditi v katero koli tkivo v telesu, npr. gen za eritropoetin. V teh primerih je mesto injiciranja praktično nemogoče ugotoviti. Upanje za detekcijo vzbuja raziskava, v kateri so ugotovili obstoj strukturnih razlik med nativnim

eritropoetinom (proizvedejo ga ledvične celice) in eritropoetinom, ki ga izločajo miociti po predhodni vstavitvi virusnega vektorja z genskim zapisom za eritropoetin (28). Do teh razlik pride zaradi drugačne post-translacijske modifikacije v različnem tipu celic. Na tem mestu je ustrezno vprašanje, ali morda ne obstaja v telesu tkivo, ki lahko izvede identične post-translacijske modifikacije kot to počno ledvične celice. Takšne celice bi namreč proizvajale nativnemu eritropoetinu identični protein in detekcija ne bi bila mogoča.

Trenutno poteka več raziskav, ki preučujejo korelacijo med aplikacijo določene oblike genskega dopinga in spremembami v profilu genske ekspresije z uporabo tehnologije mikromrež (27, 29). Preučujejo mRNA pri posameznikih, ki prejemajo gensko terapijo in jih primerjajo z rezultati kontrolne skupine (27). Razvoj poteka v smeri iskanja ustreznih proteinov, ki bi bili primerni za uporabo kot serumski biomarkerji za nadzor uporabe genskega dopinga (29). Potrebno bo tudi ugotoviti, kakšne spremembe genske ekspresije celic povzroča intenzivna in večletna telesna obremenitev (v procesu treniranja) in v kakšnem časovnem okviru. Vprašljiv je predvsem prenos rezultatov raziskav, ki so izvedene na ljudeh, ki se le občasno ukvarjajo s športom, na vrhunske športnike.

Raziskava, ki je preučevala *in vitro* vpliv IGF-1 na celično kulturo mišičnih satelitnih celic C2C12, je pokazala, da pride do kompleksnih vzorcev spreminjanja genske ekspresije v različnih družinah genov. Podobne rezultate so dobili tudi, kadar so *in vivo* injicirali IGF-1 v različne organe. Študija je še vedno v teku, saj želijo opazene genetske in proteomske spremembe natančno definirati, tako da bi lahko služile kot dokaz uporabe IGF-1 kot genskega dopinga (30).

V teku je tudi razvijanje neinvazivnih molekularnih slikovnih metod za detekcijo genskega dopinga. Veliko se pričakuje od razvoja metode detekcije specifične mRNA v tkivih, kjer le-ta normalno ne nastaja, npr. detekcija mRNA za eritropoetin v miocitih. Princip zaznave mRNA temelji na hibridizaciji s primernimi protismernimi (angl. *antisense*) oligonukleotidnimi sondami, ki so ustrezno označene, da omogočajo detekcijo z uporabo pozitronske emisijske tomografije (PET oz. SPECT, *Single Photon Emission Computed Tomography*) tehnologije. Glavni izziv predstavlja konstrukcija ustrezno stabilnih oligonukleotidov, ki jih ne bodo razgradile RNaze. H. Temu problemu se poskušajo izogniti z oblikovanjem peptidnih nukleinskih kislin (PNA), ki so visoko stabilne, imajo dobre farmakokinetične lastnosti in dobro penetracijo v celice (31, 32).

Kot je razvidno iz opisanega, zaenkrat še ne poznamo primerne testa za detekcijo genskega dopinga, ki bi imel ustrezno občutljivost in specifičnost ter bil hkrati neinvaziven.

5 Zaključek

Podatkov o morebitni prisotnosti genskega dopinga med športniki zaenkrat še ni. Rezultati doseženi na živalskih modelih dokazujejo, da bo z uporabo genskih tehnologij mogoče poseči v izboljšanje telesne sposobnosti športnika. Slednje seveda ni etično sprejemljivo, bo pa izredno zahtevno take posege identificirati. Odločitev o načinu in tipu uporabe genskega dopinga bi bila odvisna od posamezne športne discipline. Take odločitve bi temeljile na poznavanju kineziologije in obremenitvene fiziologije določenega športa ter na natančnem poznavanju telesne zgradbe in fizioloških parametrov posameznega

športnika. Cilji uporabe genskega dopinga bi bili izboljšanje fizioloških parametrov kot so povečanje oksiforne kapacitete krvi, izboljšanje prekrvavitve mišičnih tkiv, povečanje količine encimov za aerobno pridobivanje energije, zmanjšanje deleža maščobnega tkiva in doseganje želenega razmerja med počasnimi in hitrimi mišičnimi vlakni. To bi omogočilo podaljšan čas telesne obremenitve ali v aerobnem ali v anaerobnem območju in tudi večjo maksimalno mišično moč posameznih mišičnih skupin.

Posamezne raziskave na živalskih modelih, kjer je prišlo do resnih zapletov, nakazujejo potencialno nevarnost genskega dopinga za zdravje športnika. Nevarnost je predvsem v nepredvidljivosti obnašanja vnesenih vektorjev v telesu kot tudi v nepredvidljivosti odziva organizma. Genski doping predstavlja neetičen poseg v organizem športnika, ki ga zaradi neustreznih detekcijskih tehnik trenutno še ni mogoče slediti.

6 Literatura

1. The World Anti-Doping Code: The 2007 Prohibited List: International List. WADA, 2006.
2. Kuipers, H. and G. Ruijsch van Dugteren. The prohibited list and cheating in sport. *Int J Sports Med* 2006; 27: 80-82.
3. Raper, S.E., et al. Fatal systemic inflammatory response syndrome in a ornithine transcarbamylase deficient patient following adenoviral gene transfer. *Mol Genet Metab* 2003; 80: 148-158.
4. Svensson, E.C., et al. Long-term erythropoietin expression in rodents and non-human primates following intramuscular injection of a replication-defective adenoviral vector. *Hum Gene Ther* 1997; 8: 1797-1806.
5. Zhou, S., et al. Adeno-associated virus-mediated delivery of erythropoietin leads to sustained elevation of hematocrit in nonhuman primates. *Gene Ther* 1998; 5: 665-670.
6. Rivera, V.M., et al. Long-term pharmacologically regulated expression of erythropoietin in primates following AAV-mediated gene transfer. *Blood* 2005; 105: 1424-1430.
7. Chenuaud, P., et al. Autoimmune anemia in macaques following erythropoietin gene therapy. *Blood* 2004; 103: 3303-3304.
8. Barton-Davis, E.R., D.I. Shoturma, and H.L. Sweeney. Contribution of satellite cells to IGF-I induced hypertrophy of skeletal muscle. *Acta Physiol Scand* 1999; 167: 301-305.
9. Barton-Davis, E.R., et al. Viral mediated expression of insulin-like growth factor I blocks the aging-related loss of skeletal muscle function. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1998; 95: 15603-15607.
10. Lee, S., et al. Viral expression of insulin-like growth factor-I enhances muscle hypertrophy in resistance-trained rats. *J Appl Physiol* 2004; 96: 1097-1104.
11. Yakar, S., D. Leroith, and P. Brodt. The role of the growth hormone/insulin-like growth factor axis in tumor growth and progression: Lessons from animal models. *Cytokine Growth Factor Rev* 2005; 16: 407-420.
12. McPherron, A.C. and S.J. Lee. Double muscling in cattle due to mutations in the myostatin gene. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1997; 94: 12457-12461.
13. McPherron, A.C., A.M. Lawler, and S.J. Lee. Regulation of skeletal muscle mass in mice by a new TGF-beta superfamily member. *Nature* 1997; 387: 83-90.

14. Schuelke, M., et al. Myostatin mutation associated with gross muscle hypertrophy in a child. *N Engl J Med* 2004; 350: 2682-2688.
15. Lee, S.J. Regulation of muscle mass by myostatin. *Annu Rev Cell Dev Biol* 2004; 20: 61-86.
16. Ferrara, N., H.P. Gerber, and J. LeCouter. The biology of VEGF and its receptors. *Nat Med* 2003; 9: 669-676.
17. Yla-Herttuala, S. and K. Alitalo. Gene transfer as a tool to induce therapeutic vascular growth. *Nat Med* 2003; 9: 694-701.
18. Markkanen, J.E., et al. Growth factor-induced therapeutic angiogenesis and arteriogenesis in the heart—gene therapy. *Cardiovasc Res* 2005; 65: 656-664.
19. Tammela, T., et al. The biology of vascular endothelial growth factors. *Cardiovasc Res* 2005; 65: 550-563.
20. Barish, G.D., V.A. Narkar, and R.M. Evans. PPAR delta: a dagger in the heart of the metabolic syndrome. *J Clin Invest* 2006; 116: 590-597.
21. Wang, Y.X., et al. Peroxisome-proliferator-activated receptor delta activates fat metabolism to prevent obesity. *Cell* 2003; 113: 159-170.
22. Tanaka, T., et al. Activation of peroxisome proliferator-activated receptor delta induces fatty acid beta-oxidation in skeletal muscle and attenuates metabolic syndrome. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2003; 100: 15924-15929.
23. Wang, Y.X., et al. Regulation of muscle fiber type and running endurance by PPARdelta. *PLoS Biol* 2004; 2: e294.
24. Lin, C.R., et al. Electroporation-mediated pain-killer gene therapy for mononeuropathic rats. *Gene Ther* 2002; 9: 1247-1253.
25. Lee, J.Y., D.J. Fink, and M. Mata. Vector-mediated gene transfer to express inhibitory neurotransmitters in dorsal root ganglion reduces pain in a rodent model of lumbar radiculopathy. *Spine* 2006; 31: 1555-1558.
26. Sgherza, A.L., et al. Effect of naloxone on perceived exertion and exercise capacity during maximal cycle ergometry. *J Appl Physiol* 2002; 93: 2023-2028.
27. Roberts, C. Surrogate Markers For Transgene Expression - Global Gene Expression Analysis. In: *WADA Stockholm Symposium on Gene Doping*, 2005.
28. Lasne, F., et al. "Genetic Doping" with erythropoietin cDNA in primate muscle is detectable. *Mol Ther* 2004; 10: 409-410.
29. King, C. Proteomics as a Tool to Detect Gene Doping: An Introduction to Protein Expression Profiling. In: *WADA Stockholm Symposium on Gene Doping*, 2005.
30. Friedmann, T., et al. The effect of IGF-1 on Gene Expression and on the Proteome of Muscle Satellite Cells. In: *WADA Stockholm Symposium on Gene Doping*, 2005.
31. Segura, J., J. Pacual, and Z. Nikolovski. Non-invasive Molecular Imaging of Gene Expression Useful for Doping Control: Pilot Study in Animals after Erythropoietin Gene Transfer. 2004; Institution Municipal Investigacio Medica, Pharmacology Research Unit: Barcelona, Spain.
32. Zinn, K., T. Chaudhuri, and S. Frank. Potential for Non-Invasive Imaging in Anti-Doping Efforts. In: *WADA Stockholm Symposium on Gene Doping*, 2005.

Flavonoidi

Flavonoids

Nina Kočevar, Igor Glavač, Samo Kreft

Povzetek: Flavonoidi so rastlinski sekundarni metaboliti, ki jih v telo vnašamo kot normalne sestavine hrane, lahko pa imajo tudi močne biološke učinke. Članek predstavlja kratek pregled najpomembnejših značilnosti flavonoidov, ki sega od njihove kemijske razvrstitve in biosinteze do farmakoloških lastnosti in terapevtske uporabe. Poudarjen je tudi toksikološki vidik čezmernega vnosa teh spojin.

Ključne besede: flavonoidi, biosinteza flavonoidov, farmakologija

Abstract: Flavonoids are plant secondary metabolites that represent common dietary components with many potent biological properties. In this article, a short overview of the most important characteristics of flavonoids is presented, from chemical classification and biosynthesis to pharmacological action and therapeutic use. Additionally, a toxicological aspect of excessive flavonoid intake is emphasized.

Keywords: flavonoids, flavonoid biosynthesis, pharmacology

1 Uvod

Flavonoidi so rastlinski sekundarni metaboliti. Nekateri dajejo rumeno, rdečo in modro barvo cvetovom, sadežem in listom. Njihove vloge v rastlinah so zelo različne: privabljajo opraševalce, regulirajo rast, inhibirajo bakterijske in virusne encime ter ščitijo pred žarki UV-B (1, 2, 3).

Najpomembnejši viri flavonoidov so sadje (plodovi citrusov, šipek, marelice, češnje, grenivke, črni ribez, borovnice, jabolka), zelenjava (čebula, zeleni poper, brokoli, paradižnik, špinača), listi zelenega čaja, soja, med, rdeče vino in zdravilne rastline (ginko, pegasti badelj, šentjanževka in glog) (4, 5). Ocenjujejo, da lahko z normalno, zdravo prehrano dnevno v organizem vnesemo tudi do 2 g flavonoidov (2).

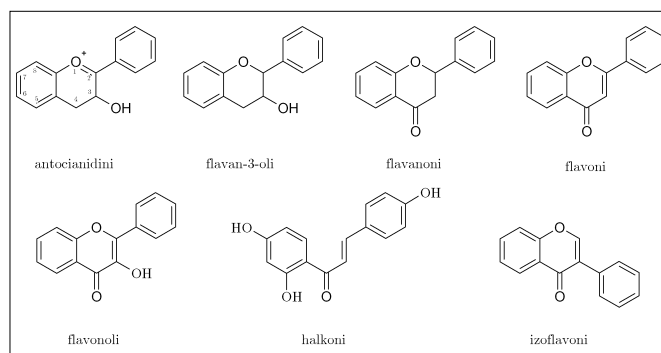
Zaradi dokazanih ugodnih učinkov prehrane, bogate s flavonoidi, na številne patološke procese (6) so flavonoidi pogosta sestavina prehranskih dopolnil. Pri tem je potrebno poudariti, da imajo te spojine v prevelikih koncentracijah tudi toksične učinke. Na tržišču namreč najdemo prehranska dopolnila, ki vsebujejo posamezne spojine (na primer kvercetin) tudi v 10- do 20-krat večjih količinah, kot bi jih sicer dnevno dobili s prehrano, zato je pri dolgotrajnejši uporabi pripravkov s flavonoidi potrebna pazljivost.

2 Kemizem

Glede na kemijsko zgradbo aglikonskega dela flavonoide razdelimo na 7 skupin (slika 1) (1):

- antocianidine (cianidin, pelargonidin),
- flavanole in proantocianidine (epikatehin, katehin),
- flavanone (hesperidin, naringenin),
- flavone (apigenin, luteolin),
- flavonole (kemferol, kvercetin, miricetin),
- halkone (butein, izolikviritigenin) in
- izoflavone (formononetin, genistein).

Flavonoidi so v naravi zelo pogosto kot glikozidi (1). Zaradi glikoziliranja so vodotopni in jih v celici najdemo v vakuolah (7). Sladkorni del je



Slika 1: Kemijske zgradbe flavonoidnih aglikonov

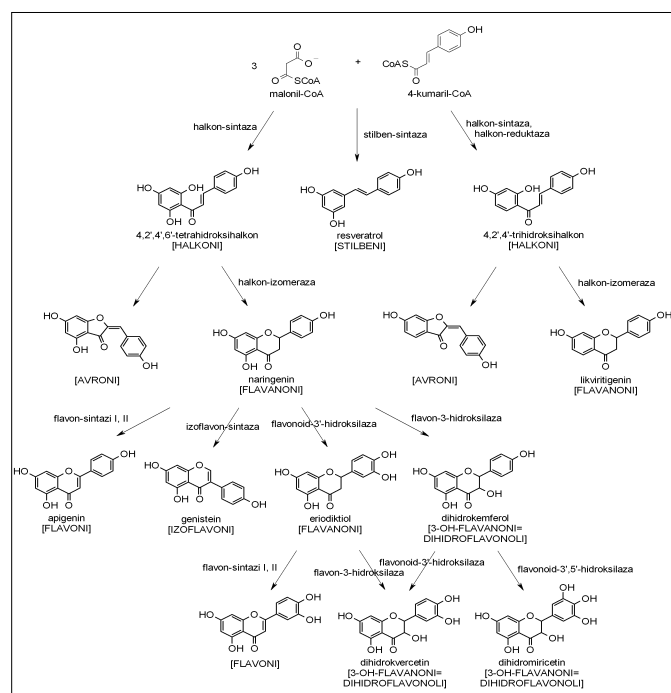
Figure 1: Chemical structures of flavonoid aglycons

lahko mono-, di- ali trisaharid, ki vsebuje molekule glukoze, galaktoze, aloze, apioze, arabinoze, ramnoze, ksiloze, glukuronske ali galakturonske kisline. Hidroksilne skupine sladkorjev so lahko zaestrene z alifatskimi (ocetno, malonsko) ali aromatskimi kisljinami (galno, benzojsko, *p*-kumarno) ter redko tudi z žveplovo (VI) kislino (1).

Najpogostejše gre za *O*-glikozide, ki imajo glikozilirano hidroksilno skupino na mestih 3 in 7. Redkeje najdemo *C*-glikozide, pri katerih nastane vez med sladkorjem in ogljikom na mestih 6 ali 8 (1).

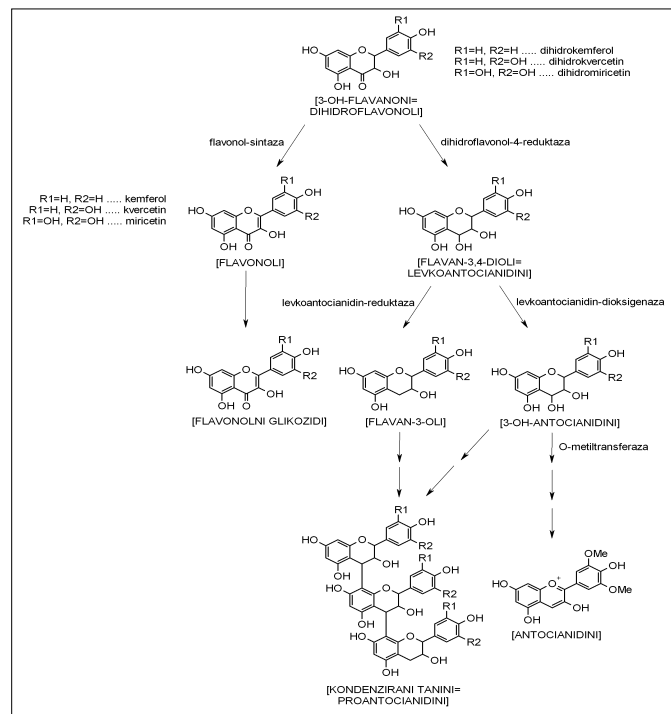
3 Biosinteza

Flavonoidi predstavljajo zelo obsežno skupino struktur (poznamo že okrog 5000 spojin), katerih nastanek obsega dve pomembni biosintezni poti – šikimatno in malonatno. V šikimatni poti nastanejo cimena kislina in njena derivata (*p*-kumarna in kavna kislina) in jo lahko opredelimo kot predstopnjo, ki preko malonatne poti vodi do nastanka flavonoidov. Potek malonatne poti, ki vključuje sodelujoče encime in prikazuje različne vrste flavonoidov, podrobneje prikazujejo slike 2, 3 in 4 (1, 8, 9, 10, 11).



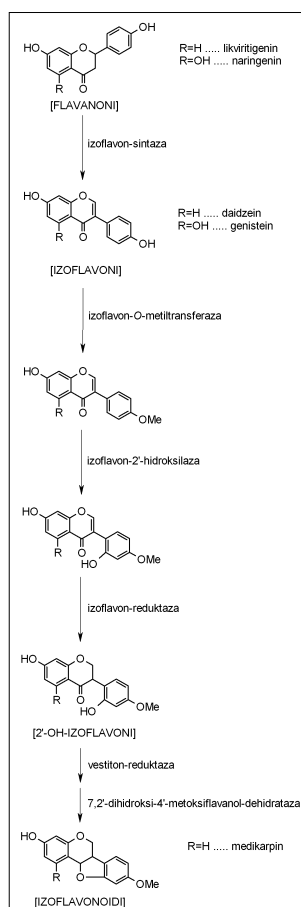
Slika 2: Malonatna pot (1, 8, 9). Nadaljnje korake pretvorbe dihidroflavonolov prikazuje slika 3, flavanonov pa slika 4.

Figure 2: Malonate pathway (1, 8, 9). The following steps of dihydroflavonol conversion are shown in Figure 3, and of flavanone conversion in Figure 4.



Slika 3: Malonatna pot (1, 8, 9). Pretvorba dihidroflavonolov.

Figure 3: Malonate pathway (1, 8, 9). The dihydroflavonol conversion.



Slika 4: Pretvorba flavanonov (1, 8).

Figure 4: The flavanone conversion (1, 8).

4 Farmakološko delovanje

Flavonoidi predstavljajo kemijsko zelo raznoliko skupino spojin in imajo tudi zelo širok spekter bioloških učinkov. Navajajo njihove pozitivne učinke pri številnih obolenjih, kot so hipertenzija in kardiovaskularne motnje, hiperholesterolemija, vnetje, sladkorna bolezen, astma in alergije, rakava in revmatska obolenja ter AIDS (2). Poudariti moramo, da je večina farmakoloških lastnosti sicer dokazana v poskusih *in vitro*, vendar pa obstaja zelo malo kliničnih podatkov o učinkovitosti izoliranih spojin *in vivo*. V nadaljevanju so predstavljeni najpomembnejši biološki učinki flavonoidov, toksikološki podatki ter terapevtska uporaba rastlin s flavonoidi.

4.1.1 Antioksidativno delovanje

Najbolje poznane in raziskane farmakološke lastnosti flavonoidov so njihovi antioksidativni učinki. Vpliv imajo lahko pri številnih patofizioloških stanjih v telesu, kot so anoksija, vnetje, lipidna peroksidacija in spremembe genskega materiala (1).

Flavonoidi so dobri lovci reaktivnih kisikovih vrst – superoksidnih anionov ter hidroksilnih in peroksidnih radikalov (3, 12). Reagirajo tudi z dušikovim oksidom in preprečijo nastanek zelo reaktivnega

peroksinitrilnega radikala. Poleg tega so za kvercetin, silibin in luteolin dokazali tudi, da inhibirajo ksantin-oksidozo, ki je odgovorna za nastanek superoksidnih radikalov (12).

4.1.2 Protivnetno delovanje

Protivnetno delovanje flavonoidov je posledica njihovega vpletanja v metabolizem arahidonske kisline (3, 12). Za nekaj flavonoidov, kot so na primer hibifolin, hipolaetin, levkocianidol in santin, so ugotovili, da inhibirajo encima ciklooksigenazo in 5-lipoksigenazo ter preprečijo nastajanje prostaglandinov in levkotrienov (12, 13, 14).

Drugi mehanizem protivnetnega delovanja poteka preko inhibicije citosolnih in membranskih tirozin-kinaz, ki so odgovorne za regulacijo celične rasti in proliferacije, domnevajo pa, da pride tudi do zmanjšane degranulacije nevtrofilcev (12). Na ta način se zmanjša njihov vpliv pri vnetni reakciji.

4.1.3 Delovanje na krvnožilni sistem

Ena od najpomembnejših lastnosti nekaterih flavonoidov je t. i. venoaktivnost – sposobnost, da zmanjšajo krhkost in permeabilnost kapilar. Gre za posledico inhibicije encima katehol-O-metiltransferaze, zaradi česar se poveča koncentracija kateholaminov (1). Poleg tega inhibirajo tudi izločanje, adhezijo in agregacijo trombocitov (na primer izobavahalkon in luteolin), kar je povezano z inhibicijo cAMP-fosfodiesteraze (1, 3). Zaradi antioksidativnih lastnosti preprečujejo oksidacijo LDL (na primer gosipetin in miricetin) in s tem pomembno zmanjšajo razvoj aterosklerotičnih sprememb (3, 12).

4.1.4 Protitumorno delovanje

K protitumornem delovanju flavonoidov bi lahko prispevale njihove antioksidativne lastnosti (12), vendar zanesljivih rezultatov še ni. Izolirali so številne flavonoide, kot so na primer apigenin, nobiletin ali viteksikarpin, za katere so dokazali citotoksično delovanje na rakave celice (3). Poleg tega domnevajo, da flavonoidi zavirajo proces tumorske angiogeneze, pri čemer verjetno igra pomembno vlogo inhibicija protein-kinaz (protein-kinaze C in protein-tirozin-kinaze) (12, 15, 16).

4.1.5 Estrogeno delovanje

Najpomembnejša skupina flavonoidov z estrogenimi lastnostmi so izoflavoni (3). Gre za spojine, ki delujejo kot agonisti na estrogenskih receptorjih, nekateri v podobnih koncentracijah kot fiziološki hormoni. Količine teh flavonoidov, ki jih dobimo z normalno prehrano, so premajhne, da bi dosegli biološke učinke, kar pa ne velja za vegetarijance. Mnenja o učinkovitosti in pozitivnem delovanju izoflavonov so med strokovnjaki deljena, na tržišču pa že obstajajo prehranska dopolnila s temi spojinami, ker je trženje prehranskih dopolnil urejeno z mnogo manj strogimi predpisi kot trženje zdravil.

4.1.6 Inhibicija encimov

Poleg že omenjenih encimov so za nekatere flavonoide dokazali, da inhibirajo še številne druge: histidin-dekarboksilazo (kvercetin in naringenin), elastazo (elagitanini), hialuronidazo (flavoni in proantocianidini), aldoza-reduktazo (kvercitrin in metoksiflavoni) (1). Preprečijo aktivacijo komplementa, s čimer zmanjšajo adhezijo vnetnih celic na endotelij in oslabijo vnetni odgovor. Dokazali so inhibicijo

NADH-oksidade z evpatorinom, robinetinom in ramnetinom (3).

Raziskovalci navajajo še številne druge lastnosti posameznih flavonoidov, kot so protibakterijsko, protivirusno, spazmolitično, hepatoprotektivno, anksiolitično, diuretično in analgetično delovanje (1, 3, 12).

4.1.7 Toksikologija

V poskusih *in vitro* so dokazali, da nekateri flavonoidi v večjih koncentracijah delujejo mutageno in genotoksično (na primer kvercetin, miricetin in naringenin) (17). Domnevajo, da je to posledica njihovega prooksidativnega delovanja in inhibicije topoizomeraze II. Ugotovili so tudi učinke genisteina, kemferola, kvercetina in naringenina na hormonski sistem, saj inhibirajo ključne encime v sintezi ščitničnih hormonov (17). S tem povzročijo zmanjšanje produkcije ščitničnih hormonov in posledično povečanje žleze. Pri izbiri prehranskih dopolnil, v katerih se nahajajo povečane koncentracije določenih flavonoidov, moramo biti zato previdni, kar še posebno velja za otroke in nosečnice, saj flavonoidi prehajajo placento.

4.1.8 Terapevtska uporaba

Najpomembnejše indikacije za uporabo rastlin s flavonoidi so zdravljenje insuficience venskih in limfnih žil ter akutnih hemoroidov in zmanjševanje krhkosti kapilar (1). V te namene uporabljamo pripravke, ki vsebujejo citrusne flavonoide in rutin iz ajde. Omeniti pa moramo tudi rastline, pri katerih flavonoidi pomembno prispevajo k delovanju: ginko, kamilica, njivska preslica, pegasti badelj, rman in šentjanževka (1).

5 Sklep

Flavonoidi so rastlinski sekundarni metaboliti, ki jih najdemo v sadju, zelenjavi, zelenem čaju, soji, medu, rdečem vinu in nekaterih zdravilnih rastlinah. Te spojine imajo številne dokazane biološke učinke, med drugim antioksidativno in nekatere tudi estrogeno delovanje, zaradi česar so pogosta sestavina prehranskih dopolnil. Potrebno pa je poudariti, da imajo v večjih odmerkih tudi toksične učinke in je zato pri dolgotrajnejši uporabi potrebna pazljivost.

6 Literatura

1. Bruneton J. Pharmacognosy, Phytochemistry, Medicinal Plants; Lavoisier Publishing, 1999: 309-368.
2. Havsteen BH. The biochemistry and medical significance of the flavonoids. Pharmacol Ther 2002; 96 (2-3): 67-202.
3. Harborne JB, Williams CA. Advances in flavonoid research since 1992. Phytochemistry 2000; 55 (6): 481-504.
4. Hodek P, Trefil P, Stiborová M. Flavonoids – potent and versatile biologically active compounds interacting with cytochromes P450. Chem Biol Interact 2002; 139 (1): 1-21.
5. Lotito SB, Frei B. Consumption of flavonoid-rich foods and increased plasma antioxidant capacity in humans: cause, consequence, or epiphenomenon? Free Radic Biol Med 2006; 41(12): 1727-1746.
6. Liu RH. Potential synergy of phytochemicals in cancer prevention: mechanism of action. J Nutr 2004; 134 (12 Suppl): 3479S-3485S.
7. Day AJ, DuPont MS, Ridley S et al. Deglycosylation of flavonoid

- and isoflavonoid glycosides by human small intestine and liver α -glucosidase activity. *FEBS Letters* 1998; 436 (1): 71-75.
8. Winkel-Shirley B. Biosynthesis of flavonoids and effects of stress. *Curr Opin Plant Biol* 2002; 5 (3): 218-223.
 9. Koes R, Verweij W, Quattrocchio F. Flavonoids: a colorful model for the regulation and evolution of biochemical pathways. *Trends Plant Sci* 2005; 10 (5): 236-242.
 10. Pietrowska-Borek M, Stuible HP, Kombrink E et al. 4-coumarate:coenzyme A ligase has the catalytic capacity to synthesize and reuse various (di)adenosine polyphosphates. *Plant Physiol* 2003; 131 (3): 1401-1410.
 11. Jung W, Yu O, Cindy Lau SM et al. Identification and expression of isoflavone synthase, the key enzyme for biosynthesis of isoflavones in legumes. *Nature Nat Biotechnol* 2000; 18 (2): 208-212.
 12. Nijveldt RJ, van Nood E, van Hoorn DEC et al. Flavonoids: a review of probable mechanisms of actions and potential applications. *Am J Clin Nutr* 2001; 74 (4): 418-425.
 13. Ferrandiz ML, Alcaraz MJ. Anti-inflammatory activity and inhibition of arachidonic acid metabolism by flavonoids. *Agents Actions* 1991; 32 (3-4): 283-288.
 14. Laughton MJ, Evans PJ, Moroney MA et al. Inhibition of mammalian 5-lipoxygenase and cyclo-oxygenase by flavonoids and phenolic dietary additives. Relationship to antioxidant activity and to iron ion-reducing ability. *Biochem Pharmacol* 1991; 42 (9): 1673-1681.
 15. Komori A, Yatsunami J, Okabe S et al. Anticarcinogenic activity of green tea polyphenols. *Japan J Clin Oncol* 1993; 23 (3): 186-190.
 16. Akiyama T, Ishida J, Nakagawa S et al. Genistein, a specific inhibitor of tyrosine-specific protein kinases. *J Biol Chem* 1987; 262 (12): 5592-5595.
 17. Skibola CF, Smith MT. Potential health impacts of excessive flavonoid intake. *Free Radic Biol Med* 2000; 29 (3-4): 375-383.



Genetska raznolikost kot osnova uporabnosti farmakogenomike v klinični praksi

Genetic variability as the basis of pharmacogenomic applications in clinical practice

Teja Čelhar, Polonca Ferk, Irena Mlinarič Raščan

Povzetek: V prispevku predstavljamo najnovejše podatke o genetski raznolikosti med posamezniki kot osnovo za farmakogenomske študije. Vsaka genetska različica je namreč potencialni biološki označevalec za ugotavljanje nagnjenosti k določeni bolezni, za zgodnje diagnosticiranje, napoved poteka bolezni in za izbiro primernega zdravljenja. Nekateri genetski polimorfizmi se kot biološki označevalci za optimizacijo in individualizacijo farmakoterapije že uporabljajo v klinični praksi. Navedli smo nekaj primerov tovrstnih označevalcev, ki se trenutno določajo z namenom zmanjševanja stranskih učinkov zdravljenja ter za prepoznavanje bolnikov, ki se bodo odzvali na ciljno zdravljenje s protitumorskim zdravilom.

Ključne besede: farmakogenetika, farmakogenomika, genetska raznolikost, genetski polimorfizem, biološki označevalec

Abstract: The article focuses on the findings regarding genetic variability between individuals as the basis for pharmacogenomic studies. Each genetic variant may represent a potential biomarker for the determination of susceptibility for a particular disease, for early diagnostics, prediction of further development or regression of disease and for the selection of the most appropriate therapy. Some genetic polymorphisms have become useful biomarkers for the optimization and individualization of pharmacotherapy in clinical practice, predominately for the reduction of severe adverse reactions and the selection of patients, who are most likely to respond to targeted anticancer therapy.

Keywords: pharmacogenetics, pharmacogenomics, genetic variability, genetic polymorphism, biomarker

1 Uvod

Genetska raznolikost predstavlja osnovo za fenotipsko raznolikost med ljudmi, ki se med drugim kaže kot različna obolevnost ali nagnjenje k razvoju določene bolezni. Pomembna je tudi za razvoj varnih in učinkovitih zdravil, saj je eden izmed dejavnikov, ki vplivajo na različen odziv na farmakoterapijo. Z raziskavami na tem področju se ukvarja farmakogenomika, ki z različnimi pristopi skuša prepoznati tiste genetske različice oz. polimorfizme, ki so pomembni za odziv na določeno zdravilo. Odkriti so bili številni polimorfizmi v genih, ki nosijo zapise za metabolične encime, prenašalne proteine ter receptorje za zdravilne učinkovine, med temi predvsem polimorfizmi posameznih nukleotidov (*angl. Single Nucleotide Polymorphism, SNP*). Vrednotenje njihovega vpliva na izid zdravljenja se je izkazalo kot težavna naloga, saj je odgovor na posamezno zdravilo zelo kompleksen proces, odvisen od številnih genov in dejavnikov okolja. Rešitev obetajo nove eksperimentalne in računalniške metode (npr. tehnologija mikromrež), saj omogočajo analizo velikega števila polimorfizmov hkrati. Teoretično je na tak način mogoče testirati vse

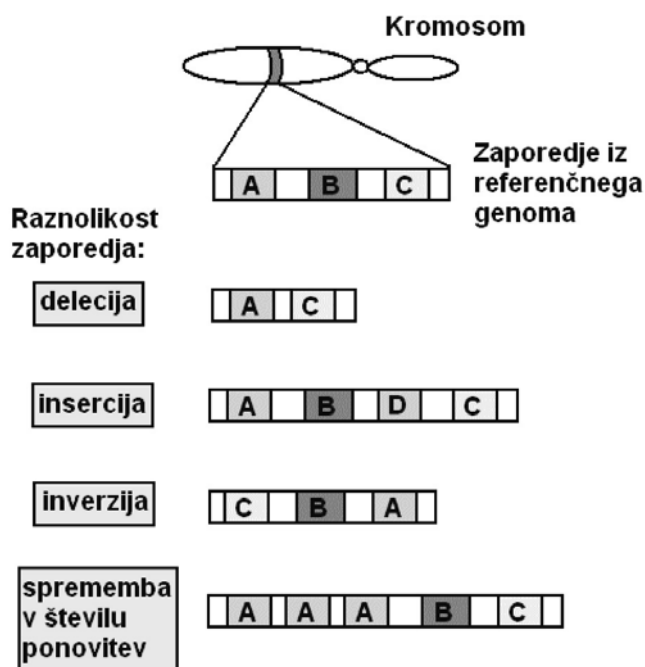
genetske različice v človeškem genomu in med njimi prepoznati tiste, ki so pomembne za zdravljenje. Končni cilj farmakogenomskih raziskav je uvedba testiranja takih genetskih različic v klinično prakso, in sicer z namenom individualizacije farmakoterapije, kar se trenutno že odvija na področjih zmanjševanja neželenih stranskih učinkov ter ciljane protitumorske terapije.

2 Genetska raznolikost

Genetska raznolikost (*angl. genetic variability*) v najširšem smislu vključuje vse trenutno poznane razlike v zaporedju nukleotidov med posamezniki: mutacije in polimorfizme. Definiciji teh pojmov se nekoliko razlikujeta med posameznimi vejami biomedicine in biologije. Mutacija lahko pomeni spremembo, ki povzroča bolezensko stanje oz. spremembo, ki je v populaciji prisotna z alelno frekvenco manj kot 1 %, medtem ko je polimorfizem opredeljen kot sprememba, ki ne povzroča bolezni oz. kot sprememba, ki se pojavlja pri vsaj 1 % populacije (1). Polimorfizme, ki so dokazano povezani z določenim fenotipom (npr. zvečajo ali zmanjšajo tveganje za nastanek bolezni),

imenujejo tudi z boleznijo povezani polimorfizmi (*angl. disease-associated polymorphisms*) (2). Poleg tega se v angleški literaturi pojavljata izraza običajna (*angl. common*) in redka (*angl. rare*) različica, ki označujeta pogostost pojavljanja v populaciji. Za različice, ki zajemajo odseke DNA, daljše od 1000 baznih parov (bp), se uvaja izraz strukturna različica (*angl. structural variant*) (3). V prispevku bomo uporabljali izraz polimorfizem v smislu alelne različice določenega gena, izraz genetska različica pa v širšem smislu za različice kateregakoli odseka nukleotidnega zaporedja.

Javno dostopni podatki o nukleotidnem zaporedju človeške DNA, ki so rezultat projekta Človeški genom (*angl. Human Genome Project*), predstavljajo t.i. referenčno zaporedje človeškega genoma (*angl. reference human genome sequence*) (4). Genom vsakega posameznika se nekoliko razlikuje od referenčnega. Osnovne spremembe v nukleotidnem zaporedju so delecije, insercije, inverzije, spremembe v številu kopij ter translokacije segmentov DNA, dolžine od enega do več milijonov bp (slika 1). Glede na dolžino segmenta ločimo mikroskopske (> 3 Mbp), submikroskopske (1 kbp – 3 Mbp) ter kratke (< 1 kbp) genetske različice (slika 2) (3). Najkrajše so zamenjave enega baznega para (že omenjeni SNP-ji), medtem ko je pri kromosomskih spremembah lahko dodatno prisoten ali odsoten kar celoten kromosom (slika 2).



Slika 1: Shematski prikaz nekaterih genetskih različic (A, B, C: odseki DNA dolgi od 1 bp do več Mbp)(5).

Figure 1: Schematic representation of some genetic variants (A, B, C: DNA segments from 1 bp to several Mbp in length)(5).

2.1 Odkrivanje genetskih različic

Odkrivanje genetskih različic je pogojeno z razvojem metod detekcije (slika 2). Sprva so razlike v strukturi molekule DNA med posamezniki ugotavljali le z opazovanjem in primerjavo metafaznih kromosomov pod mikroskopom (t.i. kariotipizacija) ter to kasneje nadgradili s tehnikami barvanja posameznih kromosomov ter fluorescenčno *in situ* hibridizacijo (FISH). Na ta način je mogoče identificirati spremembe v številu in strukturi kromosomov, ki zajemajo več kot 3 Mbp. Razvoj molekularne biologije, predvsem metod določanja nukleotidnega zaporedja ter verižne reakcije s polimerazo (*angl. Polymerase Chain Reaction, PCR*), je omogočil ugotavljanje sprememb na ravni posameznih nukleotidov in kratkih genetskih različic (< 1 kbp). Sledilo je razkritje zaporedja nukleotidov človeškega genoma in njegova dostopnost v podatkovnih bazah na svetovnem spletu, kar je še dodatno pospešilo ugotavljanje genetske raznolikosti ne samo med posamezniki, temveč tudi med populacijami različnih etničnih in rasnih pripadnosti. Na tem področju trenutno delujejo številni projekti, kot so *International HapMap Project*, *Human Genome Diversity Project*, *Human Variome Project* ter *Genographic Project*.

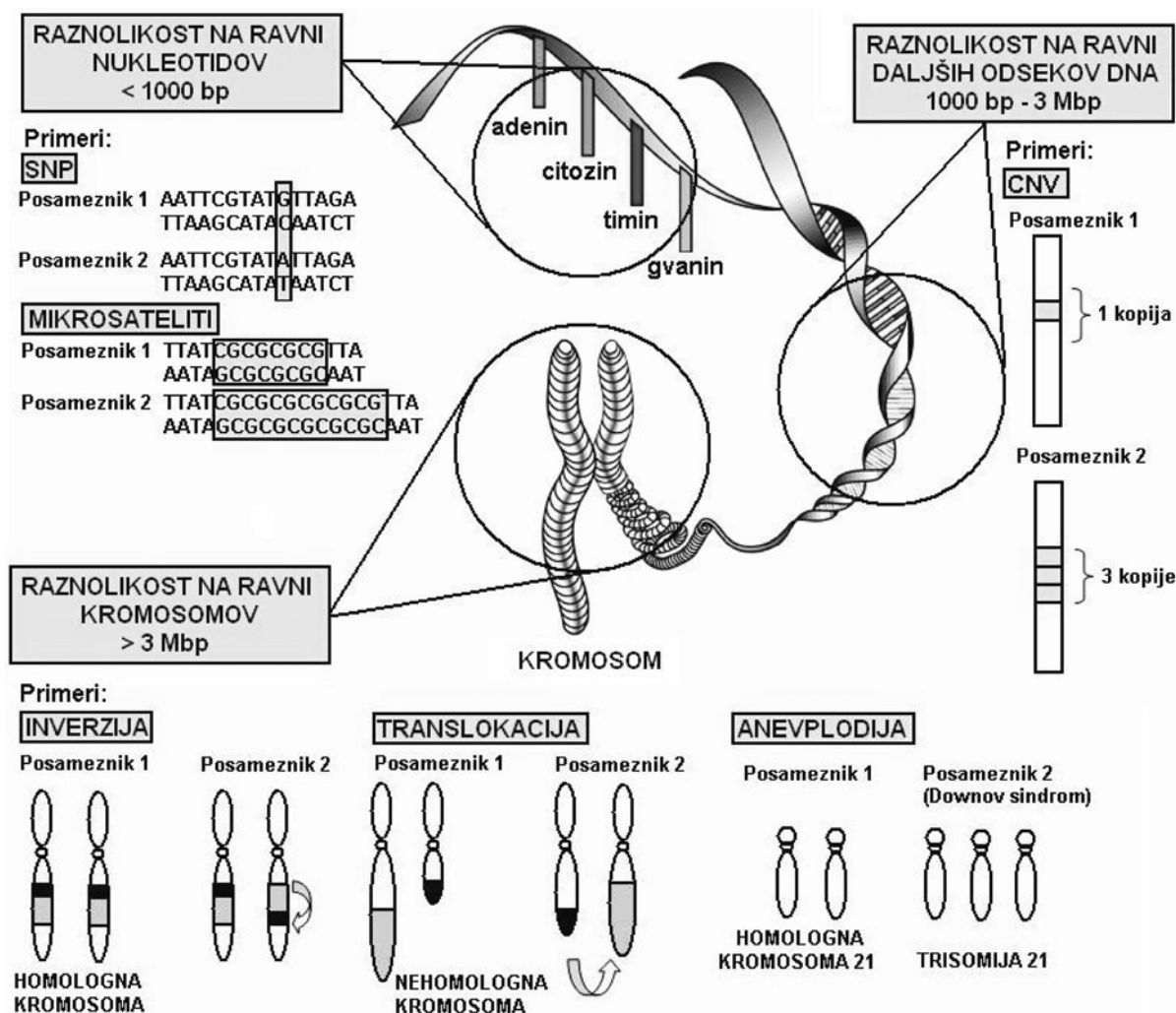
Število odkritih kratkih različic, predvsem SNP-jev, je od približno milijona v zadnjih petih letih naraslo na 11,5 milijona (6). Poleg tega je od leta 2004 uporaba novih računalniško podprtih tehnologij, predvsem tehnologije mikromrež, omogočila identifikacijo številnih submikroskopskih različic, med katerimi so najpogostejše različice v številu kopij (*angl. Copy Number Variations, CNV*) (3). Odkrivanje in vrednotenje submikroskopskih genetskih različic poteka v okviru projektov *Database of Genomic Variants Project* ter *Copy Number Variation Project*.

2.2. Kratke genetske različice

Med kratkimi genetskimi različicami se kot biološki označevalci najpogosteje uporabljajo SNP-ji (zaradi svoje številčnosti) ter mikrosateliti (zaradi visoke stopnje heterozigotnosti, t.j. pojavljanja velikega števila alelov).

Ocenjujejo, da se SNP-ji v človeškem genomu pojavljajo na vsakih 100 do 300 bp (6). Širok nabor SNP-jev je uporaben kot orodje za gensko kartiranje (*angl. gene mapping*), za populacijske, asociacijske, funkcionalne ter farmakogenomske študije (7, 8). Za analize celotnega genoma je veliko število SNP-jev ovira, zaradi česar je smiselno določiti le tiste, ki so informativni. V ta namen projekt Hap Map (*angl. International HapMap Project*) izkorišča lastnost vezanega dedovanja, v primeru katerega se SNP-ji, ki se na kromosomih nahajajo v relativni bližini, pogosto dedujejo skupaj. Take odseke kromosomov imenujemo haplotipi. Znotraj le-teh je mogoče identificirati t.i. označevalne SNP-je (*angl. tag SNPs*), ki enoznačno določajo posamezen haplotip. Tak pristop naj bi zmanjšal število informativnih SNP-jev iz 10 milijonov običajnih SNP-jev na približno 300 000 do 600 000 označevalnih SNP-jev in s tem poenostavil in zmanjšal stroške genetskih analize različnih populacij (9, 10).

Mikrosateliti ali kratke tandemske ponovitve DNA (*angl. Short Tandem Repeats* ali STR; tudi *angl. Simple Sequence Repeats* ali SSR) so kratka zaporedja nukleotidov, dolga od 1 do 6 bp, ki se tandemsko ponavljajo do skupne dolžine približno 100 bp (slika 2: primer dinukleotidnega mikrosatelitskega označevalca (CG)_n). Prednosti



Slika2: Raznolikost človeškega genoma.

Figure 2: Variability of the human genome.

mikrosatelitov kot bioloških označevalcev sta poleg njihove visoke heterozigotnosti še razporejenost vzdolž celotnega genoma ter enostavna analiza. Uporabljajo se kot označevalci izbora za izgradnjo genskih kart visoke gostote ter za identifikacijo oseb v medicinske in forenzične namene (11).

2.3 Submikroskopske genetske razlike

Zaradi svojega razpona lahko submikroskopske razlike zajemajo celotne gene in njihova regulatorna področja ter tako vplivajo na število kopij genov in na njihovo izražanje (3). Posamezne CNV-je so odkrili tudi v genih, ki nosijo zapis za encime, odgovorne za metabolizem zdravilnih učinkovin, ter v genih za potencialne tarče zdravljenj. To kaže na možnost njihove uporabe v farmakogenomskih študijah, vendar bodo za razjasnitev njihovega pomena potrebne nadaljnje študije (12).

2.4 Mikroskopske kromosomske razlike

Kromosomske nepravilnosti v kodirajočih predelih genoma so vzrok mnogim boleznim in sindromom, npr. Downovemu sindromu kot posledici trisomije kromosoma 21. Njihovo odkrivanje je pomembno zlasti za diagnostiko bolezni ter za genetsko svetovanje pri starših, ki so nosilci nepravilnosti.

2.5 Genomska nestabilnost pri raku

Nestabilen genom je glavna značilnost skorajda vseh tumorjev. Pri dednih oblikah raka se pojavlja kot posledica podedovanih mutacij v genih za popraviljanje DNA, pri sporadičnih rakih pa je eden izmed vzrokov metilacija promotorskih regij navedenih genov, kar ima za posledico utišanje genov (*angl. gene silencing*) (13, 14). Genomska nestabilnost pri raku vključuje izgube ali pridobitve celotnih kromosomov ter spremembe v njihovi strukturi (npr. translokacije,

insercije, inverzije, delecije, amplifikacije genov), kar imenujemo kromosomska nestabilnost (*angl. chromosome instability, CIN*). Poleg tega se v rakastem tkivu lahko pojavljajo mikrosatelitske različice, ki v zdravem tkivu niso prisotne, kar imenujemo mikrosatelitska nestabilnost (*angl. microsatellite instability, MSI*) (15).

3 Vpliv genetskih različ na farmakoterapijo

Farmakogenetski pristopi so omogočili identifikacijo številnih polimorfizmov v genih, ki vplivajo na farmakokinetični in farmakodinamični profil določenih zdravilnih učinkovin (16). Po zadnjih ocenah naj bi se kar 59 % učinkovin, ki povzročajo stranske učinke, metaboliziralo s pomočjo polimorfnih encimov (17). Zato ne preseneča, da so najbolj raziskane različice genov, ki nosijo zapise za metabolične encime, predvsem citokrome P450 (CYP450). Poleg teh so za farmakogenetske študije zanimivi tudi polimorfizmi v genih za receptorje (npr. za adrenergične receptorje), za prenašalne proteine (npr. za P-glikoprotein) ter druge proteine, ki so udeleženi pri razlikah v odgovoru na zdravila in različni nagnjenosti k boleznim. Farmakogenetsko testiranje nekaterih različic, predvsem SNP-jev, se že uvaža v klinično prakso (18, 19, 20).

Posebno področje raziskav predstavlja tumorski genom. Tumorske celice so genetsko zelo heterogene in nestabilne, kar je mogoče

izkoristiti v terapevtske namene. Določene genetske spremembe lahko namreč povzročijo nastanek spremenjenih oz. novih prijemališč za zdravila, ki v zdravem tkivu niso prisotna. Ciljne skupine bolnikov je mogoče prepoznati z napovednim farmakogenetskim testiranjem, s katerim preverimo prisotnost ali prekomerno izražanje določenega biološkega označevalca (21). Poleg tega lahko genetske različice v tumorskem tkivu prispevajo k rezistenci na določena zdravila. Njihovo testiranje lahko pripomore k izbiri primerne terapije za posameznega bolnika (22).

3.1 Zmanjševanje pojavnosti stranskih učinkov

Eden izmed ciljev farmakogenetike in farmakogenomike je razvoj diagnostičnih testov, s katerimi bo mogoče identificirati tiste bolnike, pri katerih se bodo najverjetneje pojavljali hudi neželeni stranski učinki. Za prenos tovrstnih testov v klinično prakso je pomembno dodajanje farmakogenetskih podatkov v navodila za uporabo zdravil, določitev primerne časa testiranja in sprememb v odmerjanju zdravila ter nenazadnje opredelitev stroškovne upravičenosti tovrstnega testiranja (23).

Med klinično najbolj uporabne aplikacije sodita testiranje polimorfizmov v genu za encim tiopurin-S-metil-transferaza (TPMT), ki je odgovoren za metabolizem azatioprina in 6-merkaptopurina, ter

Preglednica 1: Primeri klinično pomembnih genetskih polimorfizmov (23, 25, 28, 29, 30, 31).

Table 1: Examples of clinically important genetic polymorphisms (23, 25, 28, 29, 30, 31).

Gen	Polimorfizmi	Tip polimorfizma	Komercialni test	Podatki v SmPc-ju
TPMT	TPMT*3A TPMT*3C TPMT*2	2 SNP-ja (G460→A in A719→G) SNP (A719→G) SNP (G238→C)	Prometheus® TPMT Genetics ¹	6-merkaptopurin azatioprin
UGT1A1	UGT1A1*28 UGT1A1*6	Mikrosatelitski polimorfizem (TA) ₆ →(TA) ₇ SNP (G211→A)	Invader® UGT1A1*	Irinotekan**
CYP2C9	CYP2C9*2 CYP2C9*3	SNP (416C→T) SNP (1061A→C)	Invader CYP2C9	Celekoksib
CYP2D6	29 alelnih različic	SNP-ji Kratke insercije Kratke delecije Duplikacija gena Delecija celotnega gena	AmpliChip™ CYP450*	Fluoksetin Aripiprazol Dekstrometorfan Propafenon Atomoksetin Ondansetron*** Galantamin***
CYP2C19	CYP2C19*2 CYP2C19*3	SNP (681 G →A) SNP (636 G →A)	AmpliChip™ CYP450*	Omeprazol Esomeprazol Vorikonazol

¹Certificiran laboratorij izvaja test kot storitev.

* Test je odobren s strani FDA.

** V slovenskem SmPc-ju še ni podatkov.

*** V SmPc-ju navajajo, da genotip posameznika ne vpliva na potek zdravljenja s tem zdravilom.

testiranje polimorfizmov v genu za CYP2C9, ki je odgovoren za metabolizem varfarina (20, 24). Poleg teh so klinično pomembni še polimorfizmi v genih za UDP-glukuronozil-transferazo (UGT1A1), CYP2C19 in CYP2D6 (16, 25, 26). Ocenjujejo, da je za 35 % antipsihotikov ter 40 % antidepresivov potrebna individualna prilagoditev odmerka na podlagi polimorfizma v genu za CYP2D6 (27), medtem ko naj bi CYP2D6 in CYP2C19 skupno sodelovala pri metabolizmu 25 % vseh predpisanih zdravil (28).

Trenutno je na voljo več komercialnih diagnostičnih testov na osnovi tehnologije mikromrež, s katerimi je mogoče hitro določiti bolnikov genotip za posamezen encim, ki metabolizira eno ali več učinkovin. Dva od omenjenih testov je odobrila Ameriška agencija za zdravila (*angl. Food and Drug Administration, FDA*), in sicer *AmpliChip™ CYP450* ter *Invader® UGT1A1* (25). S testom *AmpliChip™ CYP450* je mogoče preveriti prisotnost dveh polimorfizmov v genu *CYP2C19* ter 29 polimorfizmov in mutacij v genu *CYP2D6*, vključno z delecijami in duplikacijami genov (28). V preglednici 1 smo zbrali podatke o nekaterih klinično pomembnih polimorfizmih v genih za posamezne encime, o dostopnosti testov za njihovo določanje ter o prisotnosti farmakogenetskih podatkov v povzetkih temeljnih značilnosti zdravil (*angl. Summary of Product Characteristics, SmPC*). Vključevanje farmakogenetskih podatkov v SmPC-je je opazno predvsem pri novejših zdravilih na tržišču, ki vsebujejo že poznane učinkovine (npr. omeprazol, deksketorfan) ter nekaterih novejših originatorskih zdravilih (npr. vorikonazol, esomeprazol), pri ostalih pa je odvisno od postmarketinških raziskav in pogostosti revizij. Azatioprin, 6-merkaptopurin in irinotekan so primeri zdravil, pri katerih so farmakogenetske podatke vključili v označevanje po pridobitvi dovoljenja za promet (17). SmPC za varfarin trenutno še ne vsebuje teh podatkov, vendar so na FDA že predstavili predlog za spremembo označevanja zdravila, ki bi vključevalo testiranje bolnikov za prisotnost polimorfizmov v genu *CYP2C9* (26).

3.2 Identifikacija bolnikov za zdravljenje s protitumorsko učinkovino

Trenutno so na tržišču prisotna le tri takšna protitumorska zdravila, pri katerih genetsko testiranje pogojuje učinkovitost terapije (preglednica 2) (21). Monoklonski protitelesi trastuzumab in cetuksimab sta

usmerjeni proti tumorskim celicam, ki prekomerno izražajo HER2 (humani receptor za endotelijski rastni dejavnik) in EGRF (receptor za epidermalni rastni dejavnik) (32). Molekula imatinib deluje kot kompetitivni inhibitor fuzijskega proteina BCR-ABL in proteina kit (imenovan tudi CD 117; produkt proto-onkogenega *C-kit*), ki imata tirozin-kinazno aktivnost (33). Značilnost vseh naštetih tarč je, da se pojavljajo ali prekomerno izražajo le pri določeni skupini bolnikov, kar omogoča individualiziran pristop k zdravljenju. Tako se na primer povečano število kopij gena *HER2* ali prekomerno izražanje proteina HER2 pojavlja pri 25-30 % bolnic z rakom dojke (21), medtem ko se kromosom Philadelphia pojavlja pri 95 % bolnikov s kronično mieloidno levkemijo. Nastanek kromosoma Philadelphia je posledica recipročne translokacije med kromosomoma 9 in 22 in vodi v nastanek fuzijskega onkogenega *BCR-ABL* (33).

Za vrednotenje prisotnosti označevalcev se uporabljajo tako imunohistološki (uporaba protiteles proti preiskovanim proteinom) kot citološki (npr. FISH) pristopi. Test *HercepTest™* (proizvajalec DAKO) za imunohistokemijsko določanje prisotnosti proteina HER2, je na tržišču od leta 1998 in predstavlja prvi komercialni diagnostični test, povezan s predpisovanjem določenega zdravila (34). Intenzivna promocija uporabe testa za določanje HER2 skupaj s trastuzumabom ter vključitev testiranja v navodila za uporabo zdravila sta pripomogli, da je tovrstno testiranje postalo pomemben del klinične prakse zdravljenja s trastuzumabom. Kot kažejo rezultati študije na podlagi vprašalnikov, 84 % vprašanih zdravnikov dosledno uporablja testiranje HER2, 8 % vprašanih predpisuje zdravljenje s trastuzumabom brez predhodnega testiranja, preostalih 8 % pa sicer uporablja test, vendar ne testira vseh bolnic, ki se zdravijo s trastuzumabom (35). Pozitiven test še ne pomeni zanesljivega odziva na zdravljenje, saj biološki označevalci ne predstavljajo 100-odstotnega načina za določanje odziva na zdravlilo. Diagnostika je le merilo verjetnosti, kar še posebej velja za kompleksne fenotipe, med katere spada tudi odgovor na zdravila (35, 36).

4 Zaključek

V razvitem svetu postaja poznavanje človeškega genoma in genetskih različic vse bolj nepogrešljivo za raziskovalce, zdravstvene delavce, diagnostične laboratorije in za podjetja, ki sodelujejo pri razvoju zdravil

Preglednica 2: Protitumorska zdravila, katerih predpisovanje je odvisno od prisotnosti določenega biološkega označevalca (vir: 21, 31).

Table 2: Antitumor drugs, which are prescribed according to the presence of a specific biomarker (vir: 21, 31).

Učinkovina	Indikacija	Biološki označevalca – genetski test
Trastuzumab	Zdravljenje bolnic z metastatsko obliko raka dojke, katerih tumorji čezmerno izražajo HER2.	Čezmerno izražanje HER2 ali amplifikacija gena <i>HER2</i> .
Cetuksimab	V kombinirani terapiji z irinotekanom za zdravljenje bolnikov z metastatskim rakom širokega črevesa in danke z ekspresijo EGRF.	Ekspresija EGRF.
Imatinib	Zdravljenje bolnikov z na novo diagnosticirano kronično mieloidno levkemijo.	Prisotnost kromosoma Philadelphia (bcr-abl) (Ph+).
	Zdravljenje odraslih bolnikov z neoperabilnim in/ali metastatičnim malignim gastrointestinalnim stromalnim tumorjem.	Pozitiven test na kit (CD 117).

in diagnostičnih testov. Farmakogenetski pristopi obetajo povečano učinkovitost terapije z zdravili, znižanje stroškov terapij, zmanjšanje stranskih učinkov in nove pristope k razvoju učinkovin.

Kljub primerom, kjer je učinkovitost farmakogenetskega pristopa jasno dokazana (npr. polimorfizmi v genu *TPMT*), pa je prehod farmakogenetskega testiranja v splošno klinično prakso zelo počasen. Omejevalne dejavnike predstavljajo pomanjkljiva sprejemljivost novih tehnologij in smernic s strani zdravnikov, pomanjkanje dokazov o izboljšani skrbi za bolnike, omejena uporabnost določenih testov ter pomanjkanje podatkov o stroškovni upravičenosti in stroškovnih posledicah farmakogenetskega testiranja.

Ocenjujejo, da naj bi do prodora farmakogenomike v splošno klinično prakso prišlo šele čez 15 do 20 let. Prve korake na tej poti predstavlja dostopnost komercialnih diagnostičnih testov za optimizacijo terapije ter vključevanje farmakogenetskih podatkov v navodila za uporabo zdravil in SmPC-je. Razvoj smernic za posredovanje farmakogenetskih in farmakogenomskih podatkov FDA ter razvoj smernic in priporočil za uporabo farmakogenetike v klinični praksi s strani NACB (*National Academy of Clinical Biochemistry*) prav tako nakazujejo na težnjo po prehodu farmakogenomskega znanja iz teorije v prakso.

5 Literatura

1. den Dunnen JT, Antonarakis SE. Nomenclature for the description of human sequence variations. *Hum Genet.* 2001; 109(1):121-4.
2. Human Gene Mutation Database, 2006 [citirano 25.4.2006]. Dostopno na svetovnem spletu: <http://www.hgmd.cf.ac.uk/docs/new_back.html>.
3. Feuk L, Carson AR, Scherer SW. Structural variation in the human genome. *Nat Rev Genet.* 2006;7(2):85-97.
4. Lee C. Vive le difference! *Nat Genet.* 2005;37(7):660-1.
5. Check E. Patchwork people. *Nature.* 2005;437(7062):1084-6.
6. Database of Single Nucleotide Polymorphisms (dbSNP). Bethesda (MD): National Center for Biotechnology Information, National Library of Medicine, 2006. [citirano 9.5.2006]. Dostopno na svetovnem spletu: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/SNP/>>.
7. Kitts A, Sherry S. The Single Nucleotide Polymorphism Database (dbSNP) of Nucleotide Sequence Variation. In: *The NCBI handbook*, 2006 [citirano 9.5.2006]. Dostopno na svetovnem spletu: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/bv.fcgi?rid=handbook.chapter.ch5>>.
8. Sherry ST, Ward MH et al. dbSNP: the NCBI database of genetic variation. *Nucleic Acids Res.* 2001; 29(1):308-11.
9. International HapMap Project, 2005 [citirano 9.5.2006]. Dostopno na svetovnem spletu: <<http://www.hapmap.org/index.html.en>>.
10. Daar AS, Singer PA. Pharmacogenetics and geographical ancestry: implications for drug development and global health. *Nat Rev Genet.* 2005; 6(3):241-6.
11. Koreth J, O'Leary JJ, O'D McGee J. Microsatellites and PCR genomic analysis. *J Pathol.* 1996; 178(3):239-48.
12. Ouahchi K, Lindeman N, Lee C. Copy number variants and pharmacogenomics. *Pharmacogenomics.* 2006;7(1):25-9.
13. Anderson GR. Genomic instability in cancer. *Curr Sci.* 2001; 81(5):501-507.
14. Duval A, Hamelin R. Genetic instability in human mismatch repair deficient cancers. *Ann Genet.* 2002; 45(2):71-5.
15. Buhard O, Suraweera N, Lectard A et al. Quasimonomorphic mononucleotide repeats for high-level microsatellite instability analysis. *Dis Markers.* 2004; 20(4-5):251-7.
16. Štrancar K, Rozman T, Kozjek F. Genetski polimorfizmi in optimizacija farmakoterapije. *Farm Vestn.* 2002; 53:21-27.
17. Huang SM, Goodsaid F, Rahman A et al. Application of pharmacogenomics in clinical pharmacology. *Toxicol Mech Methods.* 2006; 16:89-99.
18. Goldstein DB and Cavalleri GL. Genomics: understanding human diversity. *Nature* 2005; 437(7063): 1241-2.
19. Thompson CA. Genotyping systems for drug-metabolizing enzymes go clinical. *Am J Health Syst Pharm.* 2006; 63(1):12, 14, 16.
20. Goldberg LA. Patient profiling: key to successful treatment. Special report: ESCP Symposium Amsterdam. *Hospital Pharmacy Europe* 2006; 25:26-28.
21. The Royal society. Personalised medicines: hopes and realities, 2005.
22. Longley DB, Johnston PG. Molecular mechanisms of drug resistance. *J Pathol.* 2005; 205:275-292.
23. Maitland ML, Vasisht K, Ratain MJ. *TPMT, UGT1A1 and DPYD: genotyping to ensure safer cancer therapy?* *Trends Pharmacol Sci.* 2006; 27(8):432-7.
24. Milek M, Murn J, Jaksic Z et al. Thiopurine S-methyltransferase pharmacogenetics: genotype to phenotype correlation in the Slovenian population. *Pharmacology.* 2006; 77(3):105-14.
25. Finan JE, Zhao RY. From molecular diagnostics to personalized testing. *Pharmacogenomics.* 2007; 8(1):85-99.
26. Hardiman G. Microarrays Technologies 2006: an overview. *Pharmacogenomics.* 2006; 7(8):1153-8.
27. Need AC, Motulsky AG, Goldstein DB. Priorities and standards in pharmacogenetic research. *Nat Genet.* 2005; 37(7):671-81.
28. AmpliChip CYP450 Test. Roche Molecular Systems 2006 [citirano 10.2.2007]. Dostopno na svetovnem spletu: <http://www.amplichip.us/documents/CYP450_P.I._US-IVD_Sept_15_2006.pdf>
29. Prometheus Thiopurine Management. 2006. [citirano 26.2.2007]. Dostopno na svetovnem spletu: <http://www.prometheuslabs.com/www/pdf/Brochures/Thiopurine_Patient_Info.pdf>
30. BPZ – Baza podatkov o zdravilih. [citirano januar, februar 2007]. Dostopno na svetovnem spletu: <<http://www.zdravila.net/>>
31. EPARs for authorised medicinal products for human use. EMEA 2007 [citirano januar, februar 2007]. Dostopno na svetovnem spletu: <<http://www.emea.europa.eu/htms/human/epar/a.htm>>
32. Rowinsky EK. The erbB family: targets for therapeutic development against cancer and therapeutic strategies using monoclonal antibodies and tyrosine kinase inhibitors. *Annu Rev Med.* 2004;55:433-57.
33. Arora A, Scholar EM. Role of tyrosine kinase inhibitors in cancer therapy. *J Pharmacol Exp Ther.* 2005; 315(3):971-9.
34. HerceptTest™, Dako [citirano 30.6.2006]. Dostopno na svetovnem spletu: <http://www.dako.co.uk/index/prod_search/prod_products.htm?productareaid=1&baseprodidver=A101510006>
35. Woelderink A, Ibarreta D, Hopkins MM, Rodriguez-Cerezo E. The current clinical practice of pharmacogenetic testing in Europe: *TPMT and HER2 as case studies.* *Pharmacogenomics J.* 2006; 6(1):3-7.
36. Lindpaintner K. The impact of pharmacogenetics and pharmacogenomics on drug discovery. *Nat Rev Drug Discov.* 2002; 1(6):463-9

Sistematični pregled učinkovitosti statinov pri zmanjševanju vrednosti holesterola LDL

Systematic review of statin efficacy in reducing LDL cholesterol values

Mitja Kos, Marko Obradović, Jernej Kristl

Povzetek

Namen: Namen analize je pripraviti aktualen sistematični pregled učinkovitosti statinov pri zmanjševanju vrednosti holesterola LDL.

Metode: Sistematični pregled učinkovitosti statinov smo osnovali na pregledu metaanaliz v bibliografski zbirki podatkov Medline, poleg tega pa tudi na pregledu samostojnih randomiziranih kontroliranih kliničnih raziskavah, ki so bile objavljene v času po objavi metaanaliz.

Rezultati: Statini se razlikujejo med seboj v učinkovitosti zmanjšanja holesterola LDL. Najmanjšo učinkovitost izkazuje pravastatin jakosti 10 mg, s katerim lahko v povprečju dosežemo 29-odstotno znižanje holesterola LDL. Največjo učinkovitost izkazuje rosuvastatin jakosti 40 mg, ki v povprečju zniža holesterol LDL za 55-odstotkov.

Ključne besede: statini, holesterol LDL, učinkovitost, zaviralci reduktaze HMG CoA

Abstract

Objective: The aim of the analysis is an up-to-date systematic review of statin efficacy in reduction of LDL cholesterol values.

Methods: Systematic review of statin efficacy was based on the review of all meta-analyses and individual randomized controlled clinical studies that were published recently and therefore not being included in one of the meta-analysis. The search of literature was done in Medline.

Results: Statins differ in regards to their efficacy. Pravastatin, 10 mg had the lowest efficacy and on average a 29 percent reduction of LDL cholesterol. Rosuvastatin, 40 mg had the highest efficacy and on average a 55 percent reduction of LDL cholesterol.

Key words: statins, LDL cholesterol, efficacy, HMG CoA reductase inhibitors

1 Uvod

Maščobe v krvi so življenjsko pomembne biomolekule, ki jih v glavnem sestavljajo holesterol in trigliceridi. Holesterol je nujen gradnik celičnih membran ter prekursor steroidnih hormonov in žolčnih kislin, medtem ko trigliceridi zagotavljajo energijsko ravnotežje v posameznih delih telesa. Zaradi svoje kemične strukture maščobe niso topne v vodi in se po krvi prenašajo skupaj z apolipoproteini in fosfolipidi v obliki skupkov, ki jih imenujemo lipoproteini. Glede na gostoto ločimo štiri skupine lipoproteinov: hilomikroni, lipoproteini zelo majhne gostote (VLDL, *very low density lipoproteins*), lipoproteini majhne gostote (LDL, *low density lipoproteins*) in lipoproteini visoke

gostote (HDL, *high density lipoproteins*). Večino holesterola prenašajo lipoproteini majhne gostote (LDL), ki vodijo holesterol do celic, manjši delež pa lipoproteini velike gostote (HDL), ki prenašajo odvečni holesterol iz krvi v jetra, kjer se izloči iz telesa. S hrano vnešene trigliceride prenašajo hilomikroni, trigliceride, ki nastajajo v jetrih, pa lipoproteini zelo majhne gostote.

Presežek različnih oblik maščob v krvi je glavni dejavnik tveganja za razvoj ateroskleroze. Kadar je koncentracija krvnih maščob zvečana, govorimo o hiperlipidemiji (tudi o hiperlipoproteinemiji ter dislipidemiji). Glede na povečane koncentracije posameznih lipoproteinov delimo hiperlipidemije na pet skupin (1). Daleč

najpogostejše so hiperlipidemije tipa IIa, kjer je značilna povišana koncentracija holesterola LDL. Zdravljenje hiperlipidemij sodi med osrednje preventivne ukrepe za preprečevanje bolezni srca in ožilja. Na splošno velja, da zmanjšanje koncentracije LDL za 1 % zmanjša pojavnost srčno-žilnih zapletov za 1 % (2).

Uporaba statinov se je predvsem v primeru hiperholesterolemije izkazala kot zelo učinkovit način zmanjšanja koncentracije krvnih maščob (3, 4). Statini zmanjšujejo sintezo holesterola v telesu, ki poteka iz acetilkoencima-A. Korak, ki določa hitrost biokemijske reakcije sinteze holesterola, je reakcija 3-hidroksi-3-metilglutarilkoencima-A (HMG-CoA) reduktaze, ki katalizira reakcijo HMG-CoA do mevalonata. Statini s svojo stransko verigo strukturno posnemajo HMG-CoA in kompetitivno zavirajo delovanje HMG-CoA reduktaze. Poleg neposrednega delovanja na sintezo, zmanjšajo statini koncentracijo holesterola v krvi tudi s spodbujanjem izražanja receptorja za LDL (5). Novejši izsledki pa kažejo tudi na druge mehanizme delovanja statinov. Zaradi preprečevanja nastanka mevalonata in posledično kasnejših intermediatov izoprenoidov in drugih molekul onemogočajo statini aktivacijo majhnih G proteinov in učinke, ki vodijo do zmanjšanja količine vnetnih molekul, vzdraženja endotelne sinteze dušikovega oksida (NO), zaviranja migracije in deljenja gladkomišičnih celic ter zaviranja nastanka reaktivnih kisikovih spojin (6). Statini preko vseh omenjenih učinkov zavirajo razvoj ateroskleroze.

V klinični praksi se uporablja sedem statinov: atorvastatin, fluvastatin, lovastatin, pitavastatin, pravastatin, simvastatin in rosuvastatin. Vsi statini razen pitavastatina so v uporabi tudi v Sloveniji. Racionalni in optimalni pristop k zdravljenju hiperlipidemij zahteva poznavanje učinkovitosti posameznih statinov. V praksi se zaradi dobre korelacije s pojavnostjo srčnožilnih zapletov kot nadomestni kazalec uporablja predvsem koncentracija holesterola LDL. S tem razlogom je smiseln sistematični pregled učinkovitosti statinov za zmanjšanje holesterola LDL z namenom njihove primerjave ter opredelitve vloge v klinični praksi.

Namen

Namen analize je pripraviti aktualen sistematični pregled učinkovitosti statinov pri zmanjšanju vrednosti holesterola LDL.

Metode

Sistematični pregled učinkovitosti statinov pri zmanjšanju vrednosti holesterola LDL smo osnovali na pregledu metaanaliz, poleg tega pa tudi na pregledu samostojnih randomiziranih kliničnih raziskav, ki so bile objavljene v času po objavi metaanaliz.

Identifikacija literature

Literaturne vire, ki vsebujejo informacijo o učinkovitosti posameznih statinov, smo sistematično pregledali v bibliografski zbirki MEDLINE, ki je prosto dostopna na spletnih straneh. Iskanje smo izvedli 15. februarja 2007. V ta namen smo uporabili naslednji iskalni profil:

(HMG CoA reductase inhibitors OR HMG CoA reductase inhibitor OR Hydroxymethylglutaryl-CoA Reductase Inhibitors OR statin OR statins

OR simvastatin OR lovastatin OR pravastatin OR fluvastatin OR atorvastatin OR rosuvastatin)

AND (effectiveness OR effectiveness OR efficacy OR efficiency OR response).

Pregled metaanaliz

V pregled smo vključili metaanalize, ki so podajale rezultate učinkovitosti statinov za holesterol LDL. Izmed nabora vseh metaanaliz smo izključili tiste, ki so:

- obravnavale učinkovitosti statinov na podlagi končnih izidov, kot so možganska kap, srčni infarkt in smrt zaradi srčnožilnih bolezni, brez da bi podale podatek o učinkovitosti statinov na ravni nadomestnih kazalcev (v našem primeru holesterol LDL),
- zajele tudi raziskave, ki niso bile randomizirane kontrolirane kliničnih raziskave,
- zajele tudi raziskave z manj kot 20 bolniki na preiskovano zdravilo,
- obravnavale statine v relaciji do bolezenskih stanj, ki niso bile v neposredni povezavi s srčnožilnimi boleznimi (npr. vpliv na kognitivne sposobnosti),
- vključevale raziskave, ki so ugotovljale učinkovitost hkratnega jemanja statinov z drugimi učinkovinami,
- bile objavljene v drugem jeziku kot v angleščini,
- zajele manj kot 3 klinične raziskave.

Izbor izhodiščne metaanalize

Izmed metaanaliz, ki so ustrezale zgoraj opisanim kriterijem, smo v nadaljevanju skušali izbrati eno ali več enakovrednih metaanaliz, ki bi jih označili kot časovno aktualne in njihove rezultate kot ustrezne za primerjavo učinkovitosti posameznih jakosti statinov. Za izbor smo določili naslednje kriterije:

- metaanaliza mora istočasno podajati rezultat znižanja holesterola LDL za čim več različnih statinov ter njihovih jakosti,
- metaanaliza mora vsebovati raziskave, ki podajajo rezultat znižanja LDL tudi za obdobje krajše od 6 mesecev,
- metaanaliza mora biti čim novejša.

V nadaljevanju to metaanalizo/e imenujemo izhodiščna/e metaanaliza/e.

Samostojne klinične raziskave

Za iskanje novejših samostojnih kliničnih raziskav, ki jih metaanalize niso zajele, smo uporabili zgoraj opisani iskalni profil ter naslednje vključitvene kriterije:

- raziskava je randomizirana kontrolirana klinična raziskava,
- raziskava je bila objavljena po letu 2001,
- raziskava mora podajati rezultate znižanja LDL za obdobje krajše od 6 mesecev.

Iz nadaljnje analize smo izključili klinične raziskave, ki so:

- obravnavale učinkovitosti statinov na podlagi končnih izidov, kot so možganska kap, srčni infarkt in smrt zaradi srčno-žilnih bolezni, brez da bi podale informacijo o učinkovitosti statinov na ravni nadomestnih kazalcev (v našem primeru holesterol LDL),
- vključile manj kot 20 bolnikov na preiskovano zdravilo (statin),
- obravnavale statine v odnosu do bolezenskih stanj, ki niso bila v

- neposredni povezavi s srčno-žilnimi boleznimi (npr. vpliv na kognitivne sposobnosti),
- ugotavljale učinkovitost hkratnega jemanja statinov z drugimi učinkovinami,
 - bile objavljene v drugem jeziku kot v angleščini.

Učinkovitost rosuvastatina

Raziskave, ki so ugotovljale učinkovitost rosuvastatina, so objavljene večinoma po letu 2003, objavljene metaanalize pa temeljijo večinoma na zgodnjih raziskavah z rosuvastatinom z majhno velikostjo vzorca. S tem namenom smo za rosuvastatin izvedli metaanalizo raziskav učinkovitosti zmanjševanja holesterola LDL. Pri tem smo uporabili zgoraj opisani iskalni profili ter vključitvene in izključitvene kriterije samostojnih kliničnih raziskav. S pomočjo utežnega povprečja (povprečje, ki se ga izračuna na podlagi velikosti vzorca) smo izračunali učinkovitost posameznih jakosti rosuvastatina.

Validacija rezultatov izhodiščne metaanalize

Rezultate izhodiščne metaanalize smo primerjali s povprečnimi rezultati metaanaliz, povprečjem samostojnih raziskav, objavljenih po letu 2001, ter rezultati Jones 2003 (STELLAR) raziskave (7). Pri računanju povprečja smo pri samostojnih raziskavah upoštevali velikost vzorca posamezne raziskave (utežno povprečje), medtem ko smo pri metaanalizah izračunali zgolj enostavno povprečje.

Raziskava STELLAR, ki je bila objavljena leta 2003, je primerjala učinkovitost znižanja holesterola LDL z rosuvastatinom, atorvastatinom, pravastatinom in simvastatinom. Velikost vzorca je bila pri vsakem odmerku posameznega statina večja od 150 bolnikov. Prednost raziskave je, da so avtorji neposredno primerjali večino statinov in upoštevali velik vzorec. Morebitna slabost pa je potencialen konflikt interesov, saj so raziskavo izvedli s finančno podporo proizvajalca zdravila z učinkovino rosuvastatin.

Posebej smo opozorili na odstopanja rezultatov izhodiščne metaanalize od ostalih rezultatov.

Rezultati

V bibliografski podatkovni zbirki Medline smo do 15. februarja 2007 na podlagi našega iskalnega profila poiskali 60 metaanaliz ter 1123 samostojnih kliničnih raziskav, od tega je bilo po letu 2001 objavljenih 614 samostojnih kliničnih raziskav. Po upoštevanju vključitvenih in izključitvenih kriterijev smo dobili 12 metaanaliz ter 36 samostojnih kliničnih raziskav, ki smo jih obravnavali v nadaljevanju. V večini primerov je bil razlog za izključitev raziskave ta, da v njej niso podali učinkovitosti na ravni nadomestnih kazalcev.

V nadaljevanju so predstavljeni rezultati izbranih metaanaliz in samostojnih raziskav po posameznih statinih.

Atorvastatin

Preglednice 1-4 prikazujejo metaanalize in samostojne randomizirane kontrolirane klinične raziskave (objavljene po letu 2001) za atorvastatin z jakostjo 10 mg, 20 mg, 40 mg ter 80 mg.

Preglednica 1: Metaanalize in samostojne randomizirane kontrolirane klinične raziskave (objavljene po letu 2001) za atorvastatin, 10 mg.

Table 1: Meta-analysis and individual randomized controlled trials (published after 2001) for atorvastatin, 10 mg.

Raziskava in leto publikacije	Vrsta publikacije	Velikost vzorca	Trajanje raziskave	Znižanje LDL v %
Law 2003 (8)	Metaanaliza	386	> 2 tedna	37
Strutt 2004 (9)	Metaanaliza	393	12 tednov	36
Edwards 2003 (10)	Metaanaliza	1107	12-52 tednov	37
Hilleman 1999 (11)	Metaanaliza	/	≥6 tednov	37
Blasetto 2003 (12)	Metaanaliza	393	12 tednov	36
Hobbs 2005 (13)	Metaanaliza	393	12 tednov	36
Perreault 2000 (14)	Metaanaliza	1095	> 4 tedne	36
Cheung 2004 (15)	Metaanaliza	4491	6 mesecev	36
Jones 2003 (7)	Samostojna raziskava	158	6 tednov	37
Davidson 2002 (16)	Samostojna raziskava	127	12 tednov	35
Schneck 2003 (17)	Samostojna raziskava	43	6 tednov	38
Olsson 2002 (18)	Samostojna raziskava	139	12 tednov	39
Jones 2005 (19)	Samostojna raziskava	229	8 tednov	36
Stalenhoef 2005 (20)	Samostojna raziskava	155	6 tednov	36
Ballantyne 2006 (21)	Samostojna raziskava	389	8 tednov	37
Cheung 2005 (22)	Samostojna raziskava	240	16 tednov	39
Strandberg 2004 (23)	Samostojna raziskava	284	12 tednov	38
Jayaram 2004 (24)	Samostojna raziskava	45	6 tednov	30
Bays 2003 (25)	Samostojna raziskava	82	8 tednov	38
Wu 2002 (26)	Samostojna raziskava	79	8 tednov	43
Karalis 2002 (27)	Samostojna raziskava	639	6 tednov	37

Preglednica 2: Metaanalize in samostojne randomizirane kontrolirane klinične raziskave (objavljene po letu 2001) za atorvastatin, 20 mg.

Table 2: Meta-analysis and individual randomized controlled trials (published after 2001) for atorvastatin, 20 mg.

Raziskava in leto publikacije	Vrsta publikacije	Velikost vzorca	Trajanje raziskave	Znižanje LDL v %
Law 2003 (8)	Metaanaliza	41	> 2 tedna	43
Hilleman 1999 (11)	Metaanaliza	/	≥6 tednov	46
Jones 2003 (7)	Samostojna raziskava	155	6 tednov	43
Schneck 2003 (17)	Samostojna raziskava	39	6 tednov	43
Ballantyne 2006 (21)	Samostojna raziskava	383	8 tednov	43
Barrios 2005 (28)	Samostojna raziskava	214	6 tednov	20
Cheung 2005 (22)	Samostojna raziskava	299	16 tednov	44
Jones 2005 (19)	Samostojna raziskava	225	8 tednov	42
Wolfenbuttel 2005 (29)	Samostojna raziskava	132	6 tednov	41
Olsson 2003 (30)	Samostojna raziskava	552	8 tednov	46
Bays 2003 (25)	Samostojna raziskava	82	12 tednov	45
Clearfield 2005 (31)	Samostojna raziskava	498	6 tednov	43

Preglednica 3: Metaanalize in samostojne randomizirane kontrolirane klinične raziskave (objavljene po letu 2001) za atorvastatin, 40 mg.

Table 3: Meta-analysis and individual randomized controlled trials (published after 2001) for atorvastatin, 40 mg.

Raziskava in leto publikacije	Vrsta publikacije	Velikost vzorca	Trajanje raziskave	Znižanje LDL v %
Law 2003 (8)	Metaanaliza	32	> 2 tedna	49
Hilleman 1999 (11)	Metaanaliza	/	≥6 tednov	51
Jones 2003 (7)	Samostojna raziskava	156	6 tednov	48
Schneck 2003 (17)	Samostojna raziskava	42	6 tednov	48
Jones 2005 (19)	Samostojna raziskava	229	8 tednov	49
Wolfenbuttel 2005 (29)	Samostojna raziskava	132	6 tednov	46
Bays 2003 (25)	Samostojna raziskava	82	16 tednov	49

Preglednica 4: Metaanalize in samostojne randomizirane kontrolirane klinične raziskave (objavljene po letu 2001) za atorvastatin, 80 mg.

Table 4: Meta-analysis and individual randomized controlled trials (published after 2001) for atorvastatin, 80 mg.

Raziskava in leto publikacije	Vrsta publikacije	Velikost vzorca	Trajanje raziskave	Znižanje LDL v %
Law 2003 (8)	Metaanaliza	1634	> 2 tedna	55
Cannon 2004 (32)	Samostojna raziskava	1856	1 mesec	51
Jones 2003 (7)	Samostojna raziskava	165	6 tednov	51
Schneck 2003 (17)	Samostojna raziskava	41	6 tednov	54
Jones 2005 (19)	Samostojna raziskava	229	8 tednov	52
Wolfenbuttel 2005 (29)	Samostojna raziskava	132	6 tednov	48
Karalis 2002 (27)	Samostojna raziskava	207	6 tednov	53
Leiter 2005 (33)	Samostojna raziskava	432	8 tednov	52

Fluvastatin

Preglednici 5 in 6 prikazujeta metaanalize in samostojne randomizirane kontrolirane klinične raziskave (objavljene po letu 2001) za fluvastatin z jakostjo 40 mg in 80 mg.

Preglednica 5: Metaanalize in samostojne randomizirane kontrolirane klinične raziskave (objavljene po letu 2001) za fluvastatin, 40 mg.

Table 5: Meta-analysis and individual randomized controlled trials (published after 2001) for fluvastatin, 40 mg.

Raziskava in leto publikacije	Vrsta publikacije	Velikost vzorca	Trajanje raziskave	Znižanje LDL v %
Law 2003 (8)	Metaanaliza	867	> 2 tedna	27
Ballantyne 2004 (34)	Metaanaliza	1450	6 tednov	24
Edwards 2003 (10)	Metaanaliza	376	12-24 tednov	24
Hilleman 1999 (11)	Metaanaliza	/	≥6 tednov	26
Kong 1997 (35)	Metaanaliza	122	> 6 tednov	23
Perreault 2000 (14)	Metaanaliza	410	> 4 tedne	25
Peters 1994 (36)	Metaanaliza	978	/	27
		837	/	25
Wu 2005 (37)	Samostojna raziskava	30	12 tednov	23
Davidson 2003 (38)	Samostojna raziskava	167	6 tednov	23
Holdaas 2003 (39)	Samostojna raziskava	1045	6 tednov	25

Sistematični pregled učinkovitosti statinov pri zmanjševanju vrednosti holesterola LDL

Preglednica 6: Metaanalize in samostojne randomizirane kontrolirane klinične raziskave (objavljene po letu 2001) za fluvastatin, 80 mg.

Table 6: Meta-analysis and individual randomized controlled trials (published after 2001) for fluvastatin, 80 mg.

Raziskava in leto publikacije	Vrsta publikacije	Velikost vzorca	Trajanje raziskave	Znižanje LDL v %
Law 2003 (8)	Metaanaliza	48	> 2 tedna	33
Edwards 2003 (10)	Metaanaliza	175	24 tednov	34
Hilleman 1999 (11)	Metaanaliza	/	≥6 tednov	30
Wu 2005 (37)	Samostojna raziskava	31	12 tednov	30
Bruckert 2003 (40)	Samostojna raziskava	1229	2 meseca	33
Holdaas 2003 (39)	Samostojna raziskava	888	5,1 leta, pri 2 letih preklop iz 40 mg na 80 mg	32

Lovastatin

Preglednice 7-9 prikazujejo metaanalize in samostojne randomizirane kontrolirane klinične raziskave (objavljene po letu 2001) za lovastatin z jakostjo 20 mg, 40 mg ter 80 mg.

Preglednica 7: Metaanalize in samostojne randomizirane kontrolirane klinične raziskave (objavljene po letu 2001) za lovastatin, 20 mg.

Table 7: Meta-analysis and individual randomized controlled trials (published after 2001) for lovastatin, 20 mg.

Raziskava in leto publikacije	Vrsta publikacije	Velikost vzorca	Trajanje raziskave	Znižanje LDL v %
Law 2003 (8)	Metaanaliza	2405	> 2 tedna	29
Edwards 2003 (10)	Metaanaliza	1967	16-48 tednov	24
Hilleman 1999 (11)	Metaanaliza	/	≥6 tednov	25
Kong 1997 (35)	Metaanaliza	2457	> 6 tednov	25
Perreault 2000 (14)	Metaanaliza	2431	> 4 tedne	27
Clauss 2005 (41)	Samostojna raziskava	54	4 tedni	23
Davidson 2003 (38)	Samostojna raziskava	164	6 tednov	27
Wu 2002 (26)	Samostojna raziskava	22	8 tednov	29
Crouse 2002 (42)	Samostojna	34	12 tednov	31

Preglednica 8: Metaanalize in samostojne randomizirane kontrolirane klinične raziskave (objavljene po letu 2001) za lovastatin, 40 mg.

Table 8: Meta-analysis and individual randomized controlled trials (published after 2001) for lovastatin, 40 mg.

Raziskava in leto publikacije	Vrsta publikacije	Velikost vzorca	Trajanje raziskave	Znižanje LDL v %
Law 2003 (8)	Metaanaliza	3541	> 2 tedna	37
Edwards 2003 (10)	Metaanaliza	3743	12-48 tednov	30
Hilleman 1999 (11)	Metaanaliza	/	≥6 tednov	32
Kong 1997 (35)	Metaanaliza	2136	> 6 tednov	30
Perreault 2000 (14)	Metaanaliza	1957	> 4 tedne	32
Clauss 2005 (41)	Samostojna raziskava	54	24 tednov	27
Davidson 2003 (38)	Samostojna raziskava	170	6 tednov	32
Crouse 2002 (42)	Samostojna raziskava	33	12 tednov	37

Preglednica 9: Metaanalize in samostojne randomizirane kontrolirane klinične raziskave (objavljene po letu 2001) za lovastatin, 80 mg.

Table 9: Meta-analysis and individual randomized controlled trials (published after 2001) for lovastatin, 80 mg.

Raziskava in leto publikacije	Vrsta publikacije	Velikost vzorca	Trajanje raziskave	Znižanje LDL v %
Law 2003 (8)	Metaanaliza	1899	> 2 tedna	45
Edwards 2003 (10)	Metaanaliza	1870	14 tednov – 2 leti	34
Hilleman 1999 (11)	Metaanaliza	/	≥6 tednov	40
Kong 1997 (35)	Metaanaliza	1821	> 6 tednov	40
Perreault 2000 (14)	Metaanaliza	1705	> 4 tedne	42

Pravastatin

Preglednice 10-12 prikazujejo metaanalize in samostojne randomizirane kontrolirane klinične raziskave (objavljene po letu 2001) za pravastatin z jakostjo 10 mg, 20 mg ter 40 mg.

Preglednica 10: Metaanalize in samostojne randomizirane kontrolirane klinične raziskave (objavljene po letu 2001) za pravastatin, 10 mg.

Table 10: Meta-analysis and individual studies (published after 2001) for pravastatin, 10 mg.

Raziskava in leto publikacije	Vrsta publikacije	Velikost vzorca	Trajanje raziskave	Znižanje LDL v %
Law 2003 (8)	Metaanaliza	268	> 2 tedna	20
Hilleman 1999 (11)	Metaanaliza	/	≥6 tednov	21
Kong 1997 (35)	Metaanaliza	896	> 6 tednov	19
Perreault 2000 (14)	Metaanaliza	1081	> 4 tedne	20
Jones 2003 (7)	Samostojna raziskava	160	6 tednov	20
Zhang 2005 (43)	Samostojna raziskava	23	3 mesece	21

Preglednica 11: Metaanalize in samostojne randomizirane kontrolirane klinične raziskave (objavljene po letu 2001) za pravastatin, 20 mg.

Table 11: Meta-analysis and individual randomized controlled trials (published after 2001) for pravastatin, 20 mg.

Raziskava in leto publikacije	Vrsta publikacije	Velikost vzorca	Trajanje raziskave	Znižanje LDL v %
Law 2003 (8)	Metaanaliza	2306	> 2 tedna	24
Edwards 2003 (10)	Metaanaliza	889	12-52 tednov	27
Blasetto 2003 (12)	Metaanaliza	252	12 tednov	27
Hilleman 1999 (11)	Metaanaliza	/	≥6 tednov	26
Kong 1997 (35)	Metaanaliza	1482	> 6 tednov	26
Hobbs 2005 (13)	Metaanaliza	252	12 tednov	27
Perreault 2000 (14)	Metaanaliza	633	> 4 tedne	26
Jones 2003 (7)	Samostojna raziskava	164	6 tednov	24
Brown 2002 (44)	Samostojna raziskava	116	12 tednov	27

Preglednica 12: Metaanalize in samostojne randomizirane kontrolirane klinične raziskave (objavljene po letu 2001) za pravastatin, 40 mg.

Table 12: Meta-analysis and individual randomized controlled trials (published after 2001) for pravastatin, 40 mg.

Raziskava in leto publikacije	Vrsta publikacije	Velikost vzorca	Trajanje raziskave	Znižanje LDL v %
Law 2003 (8)	Metaanaliza	2775	> 2 tedna	29
Edwards 2003 (10)	Metaanaliza	8716	12 tednov – 5 let	28
Hilleman 1999 (11)	Metaanaliza	/	≥6 tednov	28
Kong 1997 (35)	Metaanaliza	4644	> 6 tednov	27
Perreault 2000 (14)	Metaanaliza	635	> 4 tedne	31
Cheung 2004 (15)	Metaanaliza	2891	3 mesece	34
Cannon 2004 (32)	Samostojna raziskava	1844	1 mesec	22
Jones 2003 (7)	Samostojna raziskava	161	6 tednov	30
Cheung 2005 (22)	Samostojna raziskava	253	16 tednov	32

Simvastatin

Preglednice 13-16 prikazujejo metaanalize in samostojne randomizirane kontrolirane klinične raziskave (objavljene po letu 2001) za simvastatin z jakostjo 10 mg, 20 mg, 40 mg ter 80 mg.

Preglednica 13: Metaanalize in samostojne randomizirane kontrolirane klinične raziskave (objavljene po letu 2001) za simvastatin, 10 mg.

Table 13: Meta-analysis and individual studies (published after 2001) for simvastatin, 10 mg.

Raziskava in leto publikacije	Vrsta publikacije	Velikost vzorca	Trajanje raziskave	Znižanje LDL v %
Law 2003 (8)	Metaanaliza	512	> 2 tedna	27
Edwards 2003 (10)	Metaanaliza	126	24-52 tednov	29
Hilleman 1999 (11)	Metaanaliza	/	≥6 tednov	29
Kong 1997 (35)	Metaanaliza	723	> 6 tednov	29
Perreault 2000 (14)	Metaanaliza	2886	> 4 tedne	29
Jones 2003 (7)	Samostojna raziskava	165	6 tednov	28
Bays 2003 (25)	Samostojna raziskava	76	8 tednov	28
Wu 2002 (26)	Samostojna raziskava	78	8 tednov	35

Preglednica 14: Metaanalize in samostojne randomizirane kontrolirane klinične raziskave (objavljene po letu 2001) za simvastatin, 20 mg.

Table 14: Meta-analysis and individual randomized controlled trials (published after 2001) for simvastatin, 20 mg.

Raziskava in leto publikacije	Vrsta publikacije	Velikost vzorca	Trajanje raziskave	Znižanje LDL v %
Law 2003 (8)	Metaanaliza	3292	> 2 tedna	32
Edwards 2003 (10)	Metaanaliza	1313	12 tednov – 4 leta	37
Blasetto 2003 (12)	Metaanaliza	249	12 tednov	36
Hilleman 1999 (11)	Metaanaliza	/	≥6 tednov	34
Kong 1997 (35)	Metaanaliza	895	> 6 tednov	34
Hobbs 2005 (13)	Metaanaliza	249	12 tednov	36
Perreault 2000 (14)	Metaanaliza	193	> 4 tedne	33
Jones 2003 (7)	Samostojna raziskava	162	6 tednov	35
Brown 2002 (44)	Samostojna raziskava	120	12 tednov	35
Ballantyne 2006 (21)	Samostojna raziskava	387	8 tednov	34
Corti 2005 (45)	Samostojna raziskava	29	6 tednov (do 18 tednov)	36
Cheung 2005 (22)	Samostojna raziskava	250	16 tednov	37
Grundy 2005 (46)	Samostojna raziskava	197	12 tednov	26
Park 2005 (47)	Samostojna raziskava	46	8 tednov	39
Bays 2003 (25)	Samostojna raziskava	76	12 tednov	35
Olsson 2003 (30)	Samostojna raziskava	535	8 tednov	40
Karalis 2002 (27)	Samostojna raziskava	641	6 tednov	35

Sistematični pregled učinkovitosti statinov pri zmanjševanju vrednosti holesterola LDL

Preglednica 15: Metaanalize in samostojne randomizirane kontrolirane klinične raziskave (objavljene po letu 2001) za simvastatin, 40 mg.

Table 15: Meta-analysis and individual randomized controlled trials (published after 2001) for simvastatin, 40 mg.

Raziskava in leto publikacije	Vrsta publikacije	Velikost vzorca	Trajanje raziskave	Znižanje LDL v %
Law 2003 (8)	Metaanaliza	519	> 2 tedna	37
Edwards 2003 (10)	Metaanaliza	10952	24 tednov -3,5 let	34
Hilleman 1999 (11)	Metaanaliza	/	≥6 tednov	39
Kong 1997 (35)	Metaanaliza	297	> 6 tednov	41
Davidson 2000 (48)	Metaanaliza	539	24 tednov	40
Jones 2003 (7)	Samostojna raziskava	158	6 tednov	39
Ballantyne 2006 (21)	Samostojna raziskava	391	8 tednov	41
Bays 2003 (25)	Samostojna raziskava	76	16 tednov	39

Preglednica 16: Metaanalize in samostojne randomizirane kontrolirane klinične raziskave (objavljene po letu 2001) za simvastatin, 80 mg.

Table 16: Meta-analysis and individual randomized controlled trials (published after 2001) for simvastatin, 80 mg.

Raziskava in leto publikacije	Vrsta publikacije	Velikost vzorca	Trajanje raziskave	Znižanje LDL v %
Law 2003 (8)	Metaanaliza	219	> 2 tedna	42
Edwards 2003 (10)	Metaanaliza	669	24 tednov	47
Hilleman 1999 (11)	Metaanaliza	/	≥6 tednov	53
Davidson 2000 (48)	Metaanaliza	1376	24 tednov	46
Jones 2003 (7)	Samostojna raziskava	163	6 tednov	46
Corti 2005 (45)	Samostojna raziskava	22	6 tednov (do 18 tednov)	46
Karalis 2002 (27)	Samostojna raziskava	207	6 tednov	47

Metaanaliza učinkovitosti rosuvastatina

V metaanalizi učinkovitosti rosuvastatina smo obravnavali 19 samostojnih randomiziranih kontroliranih kliničnih raziskav. Preglednica 17 prikazuje posamezne samostojne raziskave z rosuvastatinom za vsako jakost posebej ter povprečni rezultat, ki je izračunan kot utežno povprečje glede na velikost vzorca posamezne raziskave.

Preglednica 17: Samostojne randomizirane kontrolirane klinične raziskave za rosuvastatin, 10, 20 in 40 mg.

Table 17: Individual randomized controlled trials for rosuvastatin, 10, 20 and 40 mg.

Jakost (mg)	Raziskava	Št. bolnikov	Trajanje raziskave	Znižanje LDL v %
10	Paoletti 2001 (49)	110	12 tednov	49
	Brown 2002 (44)	116	12 tednov	47
	Davidson 2002 (16)	129	12 tednov	43
	Olsson 2002 (18)	132	12 tednov	50
	Schwartz 2004 (50)	128	12 tednov	47
	Jones 2003 (7)	156	6 tednov	46
	Schneck 2003 (17)	45	6 tednov	47
	Stalenhoef 2005 (20)	164	6 tednov	42
	Cheung 2005 (22)	521	16 tednov	48
	Strandberg 2004 (23)	627	12 tednov	47
	Mabuchi 2004 (51)	37	6 tednov	49
	Jayaram 2004 (24)	45	6 tednov	40
	Clearfield 2005 (52)	498	6 tednov	45
	Povprečna vrednost glede na velikost vzorca			46
20	Olsson 2001 (53)	13	12 tednov	57
	Schneck 2003 (17)	39	6 tednov	52
	Jones 2003 (7)	160	6 tednov	52
	Ballantyne 2006 (21)	383	8 tednov	52
	Wolffenbuttel 2005 (29)	131	6 tednov	46
	Povprečna vrednost glede na velikost vzorca			51
40	Olsson 2001 (53)	34	12 tednov	63
	Schneck 2003 (17)	45	6 tednov	57
	Jones 2003 (7)	157	6 tednov	55
	Lamedola 2005 (54)	20	3 mesece	55
	Wolffenbuttel 2005 (29)	131	6 tednov	51
	Ballantyne 2004 (34)	147	6 tednov	52
	Leiter 2005 (33)	428	8 tednov	56
	Povprečna vrednost glede na velikost vzorca			55

Izhodiščna metaanaliza

Izmed nabora metaanaliz smo izbrali metaanalizo Law 2003 (8), ki je ustrezala vsem navedenim kriterijem.

Validacija rezultatov izhodiščne metaanalize

Rezultate metaanalize Law 2003 (8) smo primerjali s povprečnimi rezultati metaanaliz ter povprečjem samostojnih raziskav, objavljenih po letu 2001. Preglednica 18 prikazuje povprečno znižanje LDL pri metaanalizah ter povprečno znižanje LDL pri posameznih samostojnih raziskavah, ki so bile objavljene po letu 2001 v primerjavi z rezultati metaanalize Law 2003.

Razprava

Sestavek prikazuje sistematični pregled učinkovitosti pri zmanjšanju vrednosti holesterola LDL za šest statinov, ki jih v Sloveniji uporabljamo v klinični praksi. Literaturne podatke smo črpali iz bibliografske zbirke podatkov Medline, ki vključuje nabor vseh pomembnejših strokovno-znanstvenih virov s področja biomedicine. Ugotovimo lahko, da so objavljene številne raziskave, ki so do zdaj s

Preglednica 18: Povprečno znižanje LDL (v %) objavljeno v metaanalizah, samostojnih raziskavah (objavljenih po letu 2001) ter v STELLAR raziskavi v primerjavi z rezultati metaanalize Law 2003 ter metaanalizo učinkovitosti rosuvastatina.

Table 18: Average reduction of LDL cholesterol (in %) published in meta-analysis, individual studies (published after 2001) and STELLAR study in comparison with the meta-analysis Law 2003 and meta-analysis of rosuvastatin efficacy.

Učinkovina	Odmerek (mg)	Law 2003	Povprečje metaanaliz	Povprečje samostojnih raziskav (po letu 2001)	STELLAR	Metaanaliza za rosuvastatin
atorvastatin	10	37	37	36	37	/
	20	43	45	42	43	/
	40	49	50	48	48	/
	80	55	*55	51	51	/
fluvastatin	40	27	25	25	NP	/
	80	33	32	33	NP	/
lovastatin	20	29	26	27	NP	/
	40	37	32	31	NP	/
	80	45	40	NP	NP	/
pravastatin	10	20	20	20	20	/
	20	24	26	25	24	/
	40	29	29	29	30	/
rosuvastatin	10	43	47	46	46	46
	20	48	*48	51	52	51
	40	53	*53	54	55	55
simvastatin	10	27	29	30	28	/
	20	32	34	36	35	/
	40	37	38	40	39	/
	80	42	47	46	46	/

NP: ni podatka; /: ni relevantno; *Objavljena je bila samo ena metaanaliza za statin te jakosti (Law 2003), ki je zadoščala vključitvenim kriterijem.

svojimi posebnostmi pri vključitvenih in izključitvenih kriterijih prispevale k vpogledu v primerjalno učinkovitost statinov. Glede na veliko število metaanaliz je vprašanje učinkovitosti statinov smiselno osnovati na njihovem pregledu, ovrednotenju aktualnosti, njihove rezultate pa oceniti s primerjalno analizo samostojnih raziskav, ki so bile objavljene v zadnjem času in jih še niso preučili v metaanalizah. Pomen metaanaliz v medicini, vključujoč njihove prednosti in slabosti, je med drugim predstavljen v članku Ščuka L v letu 2005 (55).

Razlog za odločitev, da izberemo za izhodiščne vrednosti rezultate učinkovitosti ene metaanalize (izhodiščna metaanaliza) in ne povprečja metaanaliz je v tem, da se nekatere raziskave pojavljajo v več metaanalizah, druge pa ne. Na ta način naredimo z uporabo povprečja metaanaliz napako, ki je odvisna od frekvence pojavljanja posameznih raziskav v več metaanalizah in s tem potenciranja njihovega vpliva.

Izmed metaanaliz, ki so ustrezale predhodno postavljenim vključitvenim kriterijem, smo kot izhodiščni vir podatkov o učinkovitosti statinov izbrali metaanalizo Law 2003 (8). Metaanaliza zajema raziskave, objavljene do vključno leta 2001, in podaja rezultate znižanja holesterola LDL za vse statine in njihove jakosti, ki so registrirane v Sloveniji in jih uporabljamo v klinični praksi. Metaanaliza vključuje raziskave, ki so trajale od 2 do 6 tednov. S tem zadošča pogoju po vključevanju samo tistih metaanaliz, ki so analizirale raziskave učinkovitosti zmanjševanja holesterola LDL v obdobju krajšem od 6 mesecev. Ta kriterij smo uporabili z namenom, da na rezultate učinkovitosti ne bi vplivala z navodili neskladna uporaba zdravil (t.i. vodljivost oz. kompliance bolnikov) pri zdravljenju skozi daljši čas. Tako je na primer raziskava Huser in sod. pokazala, da je po devetih mesecih na terapiji s statini vztrajalo 56 % bolnikov, po 12 mesecih pa samo še 35 % (56).

V okviru metaanalize Law 2003 so rezultat znižanja holesterola LDL izračunali na podlagi regresijske enačbe, pri čemer so določili funkcijsko odvisnost znižanja holesterola LDL v odnosu do odmerka. Pri tem so predpostavili, da je naraščanje učinkovitosti z višanjem odmerka preko registriranih jakosti, npr. 10 mg, 20 mg, 40 mg in 80 mg, linearno. Na ta način so se izognili nesmiselnim rezultatom, kjer lahko pride do večjega znižanja holesterola LDL pri nižjem odmerku v primerjavi z višjim odmerkom. Do tega lahko pride zaradi upoštevanja različnih raziskav pri preračunu učinkovitosti posameznih odmerkov. Tak rezultat je pridobljen v metaanalizi Edwards 2003 (10), kjer je izračunana povprečna učinkovitost znižanja LDL pri simvastatinu 20 mg (37 %) višja kot pri simvastatinu 40 mg (34 %), čeprav raziskave, ki neposredno primerjajo učinkovitosti teh dveh odmerkov, kažejo nasprotno (Jones 2003 (7), Ballyntyne 2006 (21), Bays 2003 (25)).

Metaanaliza Law 2003 je zajela 164 kliničnih raziskav, ki so večinoma vključevale ljudi s povišanimi vrednostmi holesterola LDL in niso imeli predhodnih srčno-žilnih dogodkov. Pri analizi avtorji niso razlikovali med bolniki z različnimi vrednostmi začetnega holesterola LDL, kar bi bil možni razlog pristranosti analize. Kljub temu pa s tem niso naredili bistvene napake, saj relativna učinkovitost (% znižanja) ni odvisna od začetnih vrednosti holesterola LDL (8).

Primerjava rezultatov metaanalize Law 2003 (8) in ostalih metaanaliz pokaže razlike predvsem pri višjih vrednostih znižanja holesterola LDL pri lovastatinu ter nižjih vrednostih pri simvastatinu. Pri ostalih statinih ni bistvenih razlik. Učinkovitost atorvastatina, jakosti 80 mg, so ovrednotili samo v metaanalizi Law 2003, zato tukaj tudi ni možnih razlik.

Razlike med rezultati metaanalize Law 2003 ter samostojnimi raziskavami, objavljenimi po letu 2001, so podobne kot zgoraj. V

metaanalizi Law 2003 so navedene višje vrednosti znižanja holesterola LDL pri lovastatinu ter nižje vrednosti pri simvastatinu. Pri atorvastatinu, 80 mg, je pri metaanalizi Law 2003 znižanje holesterola LDL višje od povprečja samostojnih raziskav, objavljenih po letu 2001, in je enako znižanju holesterola LDL za rosuvastatin, 40 mg (55-odstotno znižanje). Vendar pa tega ne potrjujejo neposredne primerjave učinkovitosti atorvastatina, 80 mg, z rosuvastatinom, 40 mg, saj le-te konstantno kažejo večjo učinkovitost rosuvastatina, 40 mg:

- Jones 2003 (7): rosuvastatin, 40 mg: 55 %; atorvastatin, 80 mg: 51 %,
- Schneck 2003 (17): rosuvastatin, 40 mg: 57 %; atorvastatin, 80 mg: 54 %,
- Wolffenbuttel 2005 (29): rosuvastatin, 40 mg: 54 %; atorvastatin, 80 mg: 48 %,
- Leiter 2005 (33): rosuvastatin, 40 mg: 56 %; atorvastatin, 80 mg: 52 %.

Pri simvastatinu so razlike med metaanalizo Law 2003 ter STELLAR raziskavo podobne kot razlike med metaanalizo Law 2003 ter ostalimi metaanalizami oz. samostojnimi raziskavami, objavljenimi po letu 2001. Vrednosti znižanja holesterola LDL so pri metaanalizi Law 2003 konstantno nižje kot pri STELLAR raziskavi. Razlike so navedene tudi pri učinkovitosti atorvastatina, 80 mg, kjer je vrednost pri metaanalizi Law 2003 višja kot pri STELLAR raziskavi, ter pri rosuvastatinu, kjer so vrednosti pri metaanalizi Law 2003 nižje kot pri STELLAR raziskavi.

Raziskave učinkovitosti rosuvastatina, ki je najnovejši statin v uporabi, so objavili večinoma po letu 2003. Zaradi tega smo za rosuvastatin izvedli metaanalizo rezultatov vseh samostojnih kliničnih raziskav. Metaanaliza Law 2003 (8) je namreč vključevala le zgodnje raziskave z rosuvastatinom z majhno velikostjo vzorca. Rezultati metaanalize vseh samostojnih raziskav za rosuvastatin se ne razlikujejo bistveno od povprečja samostojnih raziskav, objavljenih po letu 2001, ter od rezultatov STELLAR raziskave. V primerjavi z objavljenimi metaanalizami so rezultati naše metaanalize vseh samostojnih raziskav za rosuvastatin nekoliko višje za rosuvastatin jakosti 10 mg ter nekoliko nižje za rosuvastatin jakosti 20 ter 40 mg. Pri tem velja omeniti, da so za rosuvastatin 20 ter 40 mg objavili samo eno metaanalizo in sicer Law 2003, za rosuvastatin 10 mg pa poleg metaanalize Law 2003 še pet drugih metaanaliz.

Sklep

Statini se med seboj razlikujejo v učinkovitosti zmanjšanja holesterola LDL. Najmanjšo učinkovitost izkazuje pravastatin jakosti 10 mg, s katerim lahko v povprečju dosežemo 29-odstotno znižanje holesterola LDL. Največjo učinkovitost izkazuje rosuvastatin jakosti 40 mg, s katerim v povprečju lahko dosežemo 55-odstotno znižanje holesterola LDL.

Literatura

1. Fredrickson, D.S., Lees, R.S. A System for Phenotyping Hyperlipoproteinemia. *Circulation* 1965; 31: 321-327.
2. Bucher, H.C., Griffith, L.E., Guyatt, G.H. Systematic review on the risk and benefit of different cholesterol-lowering interventions. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology* 1999; 19 (2): 187-195.
3. Baigent, C., Keech, A., Kearney, P.M., et al. Efficacy and safety of cholesterol-lowering treatment: prospective meta-analysis of data

from 90,056 participants in 14 randomised trials of statins. *Lancet* 2005; 366 (9493): 1267-1278.

4. Hebert, P.R., Gaziano, J.M., Chan, K.S., Hennekens, C.H. Cholesterol lowering with statin drugs, risk of stroke, and total mortality. An overview of randomized trials. *Jama* 1997; 278 (4): 313-321.
5. Vaziri, N.D., Liang, K. Effects of HMG-CoA reductase inhibition on hepatic expression of key cholesterol-regulatory enzymes and receptors in nephrotic syndrome. *American journal of nephrology* 2004; 24 (6): 606-613.
6. Pahan, K. Lipid-lowering drugs. *Cell Mol Life Sci* 2006; 63 (10): 1165-1178.
7. Jones, P.H., Davidson, M.H., Stein, E.A., et al. Comparison of the efficacy and safety of rosuvastatin versus atorvastatin, simvastatin, and pravastatin across doses (STELLAR* Trial). *Am J Cardiol* 2003; 92 (2): 152-160.
8. Law, M.R., Wald, N.J., Rudnicka, A.R. Quantifying effect of statins on low density lipoprotein cholesterol, ischaemic heart disease, and stroke: systematic review and meta-analysis. *Bmj* 2003; 326 (7404): 1423.
9. Strutt, K., Caplan, R., Hutchison, H., Dane, A., Blasetto, J. More Western hypercholesterolemic patients achieve Japan Atherosclerosis Society LDL-C goals with rosuvastatin therapy than with atorvastatin, pravastatin, or simvastatin therapy. *Circ J* 2004; 68 (2): 107-113.
10. Edwards, J.E., Moore, R.A. Statins in hypercholesterolaemia: a dose-specific meta-analysis of lipid changes in randomised, double blind trials. *BMC family practice* 2003; 4: 18.
11. Hilleman, D.E., Phillips, J.O., Mohiuddin, S.M., Ryschon, K.L., Pedersen, C.A. A population-based treat-to-target pharmacoeconomic analysis of HMG-CoA reductase inhibitors in hypercholesterolemia. *Clin Ther* 1999; 21 (3): 536-562.
12. Blasetto JW, S.E., Brown WV, Chitra R, Raza A. Efficacy of rosuvastatin compared with other statins at selected starting doses in hypercholesterolemic patients and in special population groups *Am J Cardiol* 2003; 91 (5A): 3C-10C; discussion 10C.
13. Hobbs, F.D., Southworth, H. Achievement of English National Service Framework lipid-lowering goals: pooled data from recent comparative treatment trials of statins at starting doses. *Int J Clin Pract* 2005; 59 (10): 1171-1177.
14. Perreault, S., Levinton, C., Le Lorier, J. Efficacy and cost of HMG-CoA reductase inhibitors in the treatment of patients with primary hyperlipidemia. *Can J Clin Pharmacol* 2000; 7 (3): 144-154.
15. Cheung, B.M., Lauder, I.J., Lau, C.P., Kumana, C.R. Meta-analysis of large randomized controlled trials to evaluate the impact of statins on cardiovascular outcomes. *British journal of clinical pharmacology* 2004; 57 (5): 640-651.
16. Davidson, M., Ma, P., Stein, E.A., et al. Comparison of effects on low-density lipoprotein cholesterol and high-density lipoprotein cholesterol with rosuvastatin versus atorvastatin in patients with type IIa or IIb hypercholesterolemia. *Am J Cardiol* 2002; 89 (3): 268-275.
17. Schneck, D.W., Knopp, R.H., Ballantyne, C.M., McPherson, R., Chitra, R.R., Simonson, S.G. Comparative effects of rosuvastatin and atorvastatin across their dose ranges in patients with

- hypercholesterolemia and without active arterial disease. *Am J Cardiol* 2003; 91 (1): 33-41.
18. Olsson, A.G., Istad, H., Luurila, O., et al. Effects of rosuvastatin and atorvastatin compared over 52 weeks of treatment in patients with hypercholesterolemia. *Am Heart J* 2002; 144 (6): 1044-1051.
19. Jones, P.H., McKenney, J.M., Karalis, D.G., Downey, J. Comparison of the efficacy and safety of atorvastatin initiated at different starting doses in patients with dyslipidemia. *Am Heart J* 2005; 149 (1): e1.
20. Stalenhoef, A.F., Ballantyne, C.M., Sarti, C., et al. A comparative study with rosuvastatin in subjects with metabolic syndrome: results of the COMETS study. *European heart journal* 2005; 26 (24): 2664-2672.
21. Ballantyne, C.M., Bertolami, M., Hernandez Garcia, H.R., et al. Achieving LDL cholesterol, non-HDL cholesterol, and apolipoprotein B target levels in high-risk patients: Measuring Effective Reductions in Cholesterol Using Rosuvastatin therapy (MERCURY) II. *Am Heart J* 2006; 151 (5): 975 e971-979.
22. Cheung, R.C., Morrell, J.M., Kallend, D., Watkins, C., Schuster, H. Effects of switching statins on lipid and apolipoprotein ratios in the MERCURY I study. *International journal of cardiology* 2005; 100 (2): 309-316.
23. Strandberg, T.E., Feely, J., Sigurdsson, E.L. Twelve-week, multicenter, randomized, open-label comparison of the effects of rosuvastatin 10 mg/d and atorvastatin 10 mg/d in high-risk adults: a DISCOVERY study. *Clin Ther* 2004; 26 (11): 1821-1833.
24. Jayaram, S., Jain, M.M., Naikawadi, A.A., Gawde, A., Desai, A. Comparative evaluation of the efficacy, safety, and tolerability of rosuvastatin 10 mg with atorvastatin 10 mg in adult patients with hypercholesterolaemia: the first Indian study. *J Indian Med Assoc* 2004; 102 (1): 48-50, 52.
25. Bays, H.E., Dujovne, C.A., McGovern, M.E., et al. Comparison of once-daily, niacin extended-release/lovastatin with standard doses of atorvastatin and simvastatin (the ADVICOR Versus Other Cholesterol-Modulating Agents Trial Evaluation [ADVOCATE]). *Am J Cardiol* 2003; 91 (6): 667-672.
26. Wu, C.C., Sy, R., Tanphaichitr, V., Hin, A.T., Suyono, S., Lee, Y.T. Comparing the efficacy and safety of atorvastatin and simvastatin in Asians with elevated low-density lipoprotein-cholesterol—a multinational, multicenter, double-blind study. *Journal of the Formosan Medical Association = Taiwan yi zhi* 2002; 101 (7): 478-487.
27. Karalis, D.G., Ross, A.M., Vacari, R.M., Zarren, H., Scott, R. Comparison of efficacy and safety of atorvastatin and simvastatin in patients with dyslipidemia with and without coronary heart disease. *Am J Cardiol* 2002; 89 (6): 667-671.
28. Barrios, V., Amabile, N., Paganelli, F., et al. Lipid-altering efficacy of switching from atorvastatin 10 mg/day to ezetimibe/simvastatin 10/20 mg/day compared to doubling the dose of atorvastatin in hypercholesterolaemic patients with atherosclerosis or coronary heart disease. *Int J Clin Pract* 2005; 59 (12): 1377-1386.
29. Wolffenbuttel, B.H., Franken, A.A., Vincent, H.H. Cholesterol-lowering effects of rosuvastatin compared with atorvastatin in patients with type 2 diabetes — CORALL study. *Journal of internal medicine* 2005; 257 (6): 531-539.
30. Olsson, A.G., Eriksson, M., Johnson, O., et al. A 52-week, multicenter, randomized, parallel-group, double-blind, double-dummy study to assess the efficacy of atorvastatin and simvastatin in reaching low-density lipoprotein cholesterol and triglyceride targets: the treat-to-target (3T) study. *Clin Ther* 2003; 25 (1): 119-138.
31. Clearfield M, K.D., Palmer M in sod. Efficacy and safety of rosuvastatin 10 MG versus atorvastatin 20 MG: Results of the PULSAR study. *Atherosclerosis Supplements* 2005; 6 (1): W16-P-014, 104.
32. Cannon, C.P., Braunwald, E., McCabe, C.H., et al. Intensive versus moderate lipid lowering with statins after acute coronary syndromes. *The New England journal of medicine* 2004; 350 (15): 1495-1504.
33. Leiter, L.A., Palmer, M., Kallend, D., al, e. Rosuvastatin 40 mg versus atorvastatin 80 mg in high-risk patients with hypercholesterolaemia: Early results of POLARIS study. *Atheroscler Suppl* 2005; 6 (1): 133 Abs W116-P-051.
34. Ballantyne CM, M.E., Chitra R. Efficacy and safety of rosuvastatin alone and in combination with cholestyramine in patients with severe hypercholesterolemia: a randomized, open-label, multicenter trial. *Clin Ther* 2004; 26 (11): 1855-1864.
35. Kong, S.X., Crawford, S.Y., Gandhi, S.K., et al. Efficacy of 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme a reductase inhibitors in the treatment of patients with hypercholesterolemia: a meta-analysis of clinical trials. *Clin Ther* 1997; 19 (4): 778-797.
36. Peters, T.K., Muratti, E.N., Mehra, M. Fluvastatin in primary hypercholesterolemia: efficacy and safety in patients at high risk. An analysis of a clinical trial database. *Am J Med* 1994; 96 (6A): 79S-83S.
37. Wu, C.C., Hsu, T.L., Chiang, H.T., Ding, P.Y. Efficacy and safety of slow-release fluvastatin 80 mg daily in Chinese patients with hypercholesterolemia. *J Chin Med Assoc* 2005; 68 (8): 353-359.
38. Davidson, M.H., Palmisano, J., Wilson, H., Liss, C., Dicklin, M.R. A multicenter, randomized, double-blind clinical trial comparing the low-density lipoprotein cholesterol-lowering ability of lovastatin 10, 20, and 40 mg/d with fluvastatin 20 and 40 mg/d. *Clin Ther* 2003; 25 (11): 2738-2753.
39. Holdaas, H., Fellstrom, B., Jardine, A.G., et al. Effect of fluvastatin on cardiac outcomes in renal transplant recipients: a multicentre, randomised, placebo-controlled trial. *Lancet* 2003; 361 (9374): 2024-2031.
40. Bruckert, E., Lievre, M., Giral, P., et al. Short-term efficacy and safety of extended-release fluvastatin in a large cohort of elderly patients. *Am J Geriatr Cardiol* 2003; 12 (4): 225-231.
41. Clauss, S.B., Holmes, K.W., Hopkins, P., et al. Efficacy and safety of lovastatin therapy in adolescent girls with heterozygous familial hypercholesterolemia. *Pediatrics* 2005; 116 (3): 682-688.
42. Crouse, J.R., 3rd, Lukacsko, P., Niecestro, R., Friedhoff, L. Dose response, safety, and efficacy of an extended-release formulation of lovastatin in adults with hypercholesterolemia. *Am J Cardiol* 2002; 89 (2): 226-229.
43. Zhang, B., Noda, K., Matsunaga, A., Kumagai, K., Saku, K. A comparative crossover study of the effects of fluvastatin and pravastatin (FP-COS) on circulating autoantibodies to oxidized

- LDL in patients with hypercholesterolemia. *Journal of atherosclerosis and thrombosis* 2005; 12 (1): 41-47.
44. Brown, W.V., Bays, H.E., Hassman, D.R., et al. Efficacy and safety of rosuvastatin compared with pravastatin and simvastatin in patients with hypercholesterolemia: a randomized, double-blind, 52-week trial. *Am Heart J* 2002; 144 (6): 1036-1043.
45. Corti, R., Fuster, V., Fayad, Z.A., et al. Effects of aggressive versus conventional lipid-lowering therapy by simvastatin on human atherosclerotic lesions: a prospective, randomized, double-blind trial with high-resolution magnetic resonance imaging. *Journal of the American College of Cardiology* 2005; 46 (1): 106-112.
46. Grundy, S.M., Vega, G.L., Yuan, Z., Battisti, W.P., Brady, W.E., Palmisano, J. Effectiveness and tolerability of simvastatin plus fenofibrate for combined hyperlipidemia (the SAFARI trial). *Am J Cardiol* 2005; 95 (4): 462-468.
47. Park, S., Kang, H.J., Rim, S.J., et al. A randomized, open-label study to evaluate the efficacy and safety of pitavastatin compared with simvastatin in Korean patients with hypercholesterolemia. *Clin Ther* 2005; 27 (7): 1074-1082.
48. Davidson, M.H., Stein, E.A., Hunninghake, D.B., et al. Lipid-altering efficacy and safety of simvastatin 80 mg/day: worldwide long-term experience in patients with hypercholesterolemia. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 2000; 10 (5): 253-262.
49. Paoletti, R., Fahmy, M., Mahla, G., Mizan, J., Southworth, H. Rosuvastatin demonstrates greater reduction of low-density lipoprotein cholesterol compared with pravastatin and simvastatin in hypercholesterolaemic patients: a randomized, double-blind study. *J Cardiovasc Risk* 2001; 8 (6): 383-390.
50. Schwartz, G.G., Bolognese, M.A., Tremblay, B.P., et al. Efficacy and safety of rosuvastatin and atorvastatin in patients with hypercholesterolemia and a high risk of coronary heart disease: a randomized, controlled trial. *Am Heart J* 2004; 148 (1): e4.
51. Mabuchi, H., Nohara, A., Higashikata, T., et al. Clinical efficacy and safety of rosuvastatin in Japanese patients with heterozygous familial hypercholesterolemia. *Journal of atherosclerosis and thrombosis* 2004; 11 (3): 152-158.
52. Clearfield, M.B., Amerena, J., Bassand, J.P., et al. Comparison of the efficacy and safety of rosuvastatin 10 mg and atorvastatin 20 mg in high-risk patients with hypercholesterolemia—Prospective study to evaluate the Use of Low doses of the Statins Atorvastatin and Rosuvastatin (PULSAR). *Trials* 2006; 7: 35.
53. Olsson, A.G., Pears, J., McKellar, J., Mizan, J., Raza, A. Effect of rosuvastatin on low-density lipoprotein cholesterol in patients with hypercholesterolemia. *Am J Cardiol* 2001; 88 (5): 504-508.
54. Lamendola, C., Abbasi, F., Chu, J.W., et al. Comparative effects of rosuvastatin and gemfibrozil on glucose, insulin, and lipid metabolism in insulin-resistant, nondiabetic patients with combined dyslipidemia. *Am J Cardiol* 2005; 95 (2): 189-193.
55. Ščuka L. Pomen metaanalize v medicini. *Zdrav Vestn* 2005; 74: 39-48.
56. Huser, M.A., Evans, T.S., Berger, V. Medication adherence trends with statins. *Adv Ther* 2005; 22 (2): 163-171.

32. skupščina SFD

Jelka Dolinar

Simpozij ob 32. skupščini, ki smo ga tradicionalno organizirali v portoroškem Avditoriju, od 17. do 19. maja, je bil namenjen aktualni temi *Biološka zdravila*. Spremljala sta ga dva satelitska simpozija *Internet in zdravila* v četrtek in *Odgovornost farmacevta pri izdaji nereguliranih izdelkov* v soboto.

V obdobju, ko se na področju zdravljenja z zdravili z veliko hitrostjo pojavlja nova vrsta učinkovin, ki vzbujajo velika pričakovanja in upe tako med bolniki kot izvajalci zdravstvenih storitev, je Slovensko farmacevtsko društvo z veseljem podprlo izdajo knjige **BIOLOŠKA ZDRAVILA: od gena do učinkovine**, ki je izšla tik pred simpozijem ob 32. skupščini SFD. Gre za prvo knjigo, napisano v slovenskem jeziku na temo bioloških zdravil.

Za izdajo knjige je zagotovo najbolj zaslužen **prof. dr. Borut Štrukelj**, ki mu je k sodelovanju uspelo pritegniti ugledne slovenske strokovnjake s področja farmacije, medicine in biokemije, znanstvenike in tržnike. Močno strokovno podporo mu je pri zbiranju gradiva in strokovnem pregledu prispevkov nudil **prof. dr. Janko Kos**. Knjiga je napisana strokovno, pa vendar privlačno za vse, ki si želijo dober vpogled v osnove nastanka bioloških zdravil, opisani so posamezni primeri, indikacije, regulativa in tržišče.

Knjiga ima devetnajst poglavij, med njimi:

- Razvoj, delitev in vloga bioloških zdravil
- Genska informacija in kako do nje
- Ekspresijski sistemi
- Izolacija bioloških učinkovin
- Identifikacija in karakterizacija bioloških učinkovin
- Ciljana dostava bioloških zdravil
- Regulativa, patenti in bioetika

- Eritropoetini
- Insulini
- Interferoni in interlevkini
- Celično in tkivno inženirstvo

Strokovnemu delu srečanja je v soboto sledila 32. skupščina SFD. Razprave in poročila na skupščini so odražale skrb in jezo nad medijskimi objavami, ki so spomladi 2007 povzročile veliko škodo ugledu farmacije v javnosti. Namesto močnega farmacevtskega lobija, so pravniki, ekonomisti in drugi strokovnjaki prepričevali javnost o zaslužkarstvu lekarnarjev in utemeljevali zahteve po popolni deregulaciji trga zdravil. Strokovna usposobljenost farmacevtskega kadra in odgovornost za pravilno in varno uporabo zdravil je bila v javnosti popolnoma prezrta. Priča smo težnjam tržno naravnanih subjektov, ki s politično podporo in plačanimi oglaševalskimi akcijami, rušijo javno lekarniško službo. Lekarniška zbornica Slovenije načrtuje dolgoročno strategijo z namenom, da okrepi v javnosti pozitivno podobo lekarniškega farmacevta. Predsednik Društva je pozval novo vodstvo, da evidentira in bolje poveže osveščene, napredne in strokovno močne farmacevte, ki bodo znali zastopati in uveljaviti interese farmacije, še posebej lekarniške farmacije.

Delegati 32. skupščine so med drugim potrdili spremembe in dopolnitve Pravil SFD in višino članarine za člane društva (30 € zaposleni farmacevti, 24 € tehniki 15 € seniorji in študenti).

Soglasno je skupščina izvolila dr. Gašperja Marca za novega predsednika SFD in ostale kandidate za organe Društva za obdobje 2007 – 2009. Dr. Marc je predstavil programske usmeritve SFD za obdobje 2007 – 09, ki jih objavljamo.

Razpis za podelitev društvenih priznanj v letu 2008

Odbor za podeljevanje društvenih priznanj objavlja razpis za podelitev društvenih priznanj v letu 2008. Podružnice in sekcije prijavijo kandidate skladno z določili Pravilnika o podeljevanju društvenih priznanj najkasneje do 31. januarja 2008. Predlogi morajo biti pripravljeni na obrazcih, ki so sestavni del Pravilnika. Predlog za podelitev društvenih priznanj mora predlagatelj poslati skupaj s prilogami v enem izvodu v

elektronski obliki na naslov jelka.dolinar@sfd.si in v enem izvodu v tiskani obliki tajništvu Slovenskega farmacevtskega društva najkasneje do **31. januarja 2008**. V vsaki poslani pošiljki z oznako "Predlog za društveno priznanje v letu 2008" je lahko le ena prijava. Elektronsko oddane prijave, posredovane po elektronski pošti, morajo biti popolnoma enake kot pisne, poslane z navadno pošto.

Programske usmeritve SFD 2007 - 2009

Gašper Marc

Osnovno poslanstvo Slovenskega farmacevtskega društva je povezovanje strokovnih delavcev s področja farmacije in sorodnih strok. Kot edina tovrstna krovna organizacija, s skoraj 3000 člani iz najrazličnejših farmacevtskih dejavnosti, je društvo ključno mesto, ki omogoča profiliranje temeljnih usmeritev stroke.

Društvo je v preteklih letih svoje poslanstvo uspešno izpolnjevalo, zato si bom v naslednjem srednjeročnem obdobju prizadeval za nadaljevanje že zastavljenih aktivnosti, njihovo nadaljnjo nadgradnjo in smiselno uvajanje novih.

Znotraj farmacevtskega področja kljub zelo dobrim rezultatom še vedno vidim prostor za krepitev centralne vloge društva. Niso redki primeri, ko posamezne veje stroke postopajo ne povsem usklajeno, ne dovolj jasno, enotno in odločno.

Društvo je idealno mesto za doseg soglasij, tako v primeru aktivnosti, ki potekajo in ostajajo znotraj stroke, kot tudi v zvezi z vprašanji, ki presegajo interni značaj. Zlasti pri ključnih procesih, ki spreminjajo položaj posameznih farmacevtskih dejavnosti v družbi, je potrebno okrepiti usklajenost in glasnost interesov stroke.

Kljub temu, da društvo nima neposredne izvršilne moči, pa lahko omogoča sinergijo posameznih interesnih skupin in jim hkrati nudi pomembno podporo v javnosti pri njihovih prizadevanjih. SFD se mora v še večji meri profilirati kot stičišče interesov in mesto oblikovanja enotnih, jasno profiliranih in glasno izraženih stališč.

Aktivneje se moramo odzvati na družbene spremembe. Javnost postaja vse bolj kritična in zahteva po posredovanju informacij narašča. Farmacevtska stroka ne more biti samozadostna in zaprta vase v oklepu strokovnosti in posebnega poslanstva. Javnosti mora ponuditi ustrezno razumljive informacije in jasne odgovore na vprašanja, ki se pojavljajo. Tovrstne komunikacije vsekakor še nismo dovolj razvili, zato nerazumevanje, ki smo ga v zadnjem času deležni v precejšnji meri, doživljamo z začudenjem.

Kot eno od nalog, predvsem pa kot velik izziv, ki ga čas postavlja pred nas, vidim v prihodnjih letih organiziranje primerne, večplastnega načina komuniciranja in pretoka informacij.

Pomembno mesto ima vsekakor Farmacevtski informacijski center (FIC). Po uspešnem rojstvu in prvih korakih se zdi, da je prišlo do zastoja v razvoju. Kljub jasno izraženi podpori večjega dela stroke in soglasju o njegovi potrebnosti pa bomo morali opredeliti prioriteto ciljev in njej ustrezno prilagoditi organiziranost in način dela centra. Osnova FICa je strokovna informacija, tako za področje farmacije in medicine kot tudi uporabnikov farmacevtskih storitev. Mnenja sem, da

bo tudi v bližnji prihodnosti društvo najprimernejše okolje za njegov razvoj, ki pa mora biti dolgoročno usmerjen v osamosvojitve.

Pomembno vlogo ima izdajateljska dejavnost društva. Zlasti možnosti, ki jih nudi Farmakon, še niso v celoti izkoriščene. Kot skupen projekt

SFD in Slovenskega zdravniškega društva ob sodelovanju Javne agencije RS za zdravila in medicinske pripomočke (JAZMP) Farmakon lahko razvijemo v pomembno sredstvo posredovanja strokovnih informacij v okolja, ki presegajo okvir društva.

V prihodnjih letih lahko pričakujemo precejšnje spremembe na področju dostopnosti zdravil in z njim povezanih farmacevtskih storitev. Vzporedno s centrom, ki nudi strokovne informacije v povezavi z zdravili, moramo razviti mehanizem posredovanja stališč društva državnim institucijam, institucijam civilne družbe, kot so npr. društva bolnikov in širši javnosti. Zlasti pomembno bo sodelovanje z JAZMP kot enim ključnih mest oblikovanja farmacevtske politike.

Ker so vsi cilji, ki si jih zadajamo, uresničljivi le, če posedujemo ustrezna znanja, bom posebno pozornost namenil izobraževalni dejavnosti. Društvo mora izkoristiti možnosti, ki jih ima kot krovna organizacija na področju povezovanja (podružnice in sekcije v okviru društva, Lekarniška zbornica, Fakulteta za farmacijo, Javne agencije za zdravila in medicinske pripomočke, farmacevtska industrija...) in kot mesto koordinacije izobraževalnih aktivnosti.

Nedvomno so v prihodnjih letih pred farmacevtsko stroko odgovorne naloge in številni novi izzivi, ki jim bomo kos le z ustrezno organiziranostjo. Potrebujemo močne strukture in povezave, usklajenost in enotnost. Kvalitetno delovanje društva je eden ključnih dejavnikov za uspešnost farmacevtske stroke in njeno prepoznavnost v družbi. Prav zato sem prepričan, da bo imelo društvo v prihodnjih letih še pomembnejšo vlogo kot doslej.

ORGANI DRUŠTVA

izvoljeni na 32. skupščini

Mandatno obdobje 2007 - 2009

Izvršni odbor SFD

Predsednik društva:

Gašper Marc

Podružnica, Sekcija

1. Sekcija farmacevtskih znanosti	Aleš Obreza – podpredsednik Društva, potrjen na 1. seji izvršnega odbora
2. Podružnica - Celjska	Marina Urbanc Mokotar
3. Podružnica - Dolenjska	Marjan Balkovec
4. Podružnica - Gorenjska	Tina Bukovec Kosmač
5. Podružnica - Ljubljanska	Tatjana Kogovšek Vidmar
6. Podružnica - Mariborska	Matjaž Tuš
7. Podružnica - Pomurska	Damir Domjan
8. Podružnica - Posavska	Ana Dolinšek Weiss
9. Podružnica - Primorska	Karolina Žvanut
10. Podružnica - Zasavska	Sabina Drobnič
11. Lekarniška zbornica Slovenije	Andreja Čufar
12. Homeopatska sekcija	Tanja Šegula, predsednica sekcije Maruša Hribar
13. Sekcija bolnišničnih farmacevtov	Tajda Gala Miharija
14. Sekcija farmacevtskih tehnologov	Saša Baumgartner
15. Sekcija farmacevtskih tehnikov	Zdenko Taušič
16. Sekcija kliničnih farmacevtov	Nataša Faganeli
17. Sekcija farmacevtov javnih lekarn	Nina Pisk
18. Sekcija seniorjev	Lovro Dermota
19. Sekcija študentov	Urban Brumen
20. Sekcija za farmacevtsko kemijo	Lucija Peterlin Mašič
21. Regulatorna sekcija	Smilja Milošev, predsednica sekcije Simona Cencelj

Nadzorni odbor

Janez Kerč – predsednik, potrjen na 2. seji izvršnega odbora

Marija Brenčič

Jasna Majdič

Disciplinsko sodišče

Jana Fortuna

Nada Jazbec

Aleš Krbavčič

Odbor za podeljevanje društvenih priznanj

Aleš Mrhar - predsednik

Nada Ajdišek

Mila Božič

Lovro Dermota

Martina Klanjšček

Silva Smolej

Slavko Rataj

Izdajateljski svet

Stane Srčič - predsednik

Mirjana Gašperlin

Boštjan Debeljak

Mirjam Hočevvar Korošec

Simona Cencelj

Anamarija Zega

Lili Grosek

Odgovorni urednik Farmacevtskega vestnika

Borut Štrukelj

Odgovorna urednica Farmakona

Marija Sollner

Društvena priznanja v letu 2007

Izvršni odbor SFD je na 32. skupščini podeli društvena priznanja naslednjim članom:

Minařikovo odliĉje:

Mag. Marija Lešnjak, mag. farm.

Minařikovo priznanje

Marjan Balkovec, mag. farm., spec.

Vladka Ćahuk Vaupotiĉ, mag. farm., spec.

Ljubica Loviřĉek, mag. farm.

Jasna Majdiĉ, mag. farm.

Nikola Mařiĉ, mag. farm.

Mihaela Trřinar, mag. farm., spec.

Mag. Liljana Zwitternig Ćop, mag. farm.



Prejemniki Društvenih priznanj za leto 2007



Predsednik Odbora za podeljevanje društvenih priznanj, prof. dr. Aleř Mrhar, je prebral utemeljitev za podelitev Minařikovega odliĉja magistri Mariji Lešnjak

Utemeljitelj

V preskrbi z zdravili, ki sega od pridobivanja učinkovin, izdelave zdravila do trženja na domačih in tujih trgih, smo farmacevti obvezni sodelavci drugim poklicem, toda žal, le rednim uspešnim prodor na sam vrh delovnih struktur. Ena izmed teh izjem je bila magistra **Marija Lešnjak**. Česar se je magistra Lešnjak lotila, je naredila hitro in temeljito. Začelo se je s študijem farmacije, ki ga je končala pri 22-ih letih in se takoj zaposlila v javni lekarni, sledila je zaposlitev v Farmisu, Leku, Bayer Pharmi, medtem se je ves čas dodatno izobraževala. Obvladovanje tujih jezikov, ki je bilo pred 30-imi leti redka veščina, ji je omogočalo, da je znanja s področja kakovosti in kasneje trženja zdravil stalno nadgrajevala z najnovejšimi dosežki iz tujine in bila vedno korak pred drugimi.

Leta 1974 se je ustalila v Leku, kjer je bila med pobudniki za implementacijo dobre proizvodne prakse v proizvodnjo zdravil. Visoki standardi kakovosti dela so dali osnovo, na kateri se je kasneje začel Lekov prodor na zahodne trge in v Ameriko. Svoje delo je, kljub številnim obveznostim, povezala s stanovskim društvom, bila je en mandat predsednica SFD in je vseskozi sodelovala v različnih strokovnih organih Društva.

Magistra Lešnjak se je aktivno obdobje svojega življenja s vso vnemo posvečala farmaciji. Verjela je v zastavljene cilje in si zanje zelo prizadevala. Izvršni odbor podeljuje magistri Mariji Lešnjak Minařikovo odličje za izjemne dosežke v slovenski farmaciji.

Magistra **Marjana Balkovca** odlikuje vsestranskost, ki jo cenijo njegovi kolegi z Dolenjske in iz drugih regij. Kot dolgoletni član odbora in predsednik Dolenjske podružnice je s predanim delom obogatil strokovno dejavnost podružnice, ki jo je lansko leto dopolnil tudi z uspešno organizacijo Martinovanja. Za njegovo zavzeto delo mu izvršni odbor podeljuje Minařikovo priznanje.

Velika delovna vnema, doslednost in motiviranost pri iskanju poti za doseganje kakovosti farmacevtovega dela ter sposobnost uvajanja širokega znanja v delovno okolje so odlike magistre **Vladki Čahuk Vaupotič**. Bogate in raznolike delovne izkušnje prenaša magistra Čahuk Vaupotič tudi izven svojega okolja, v obliki predavanj in kot članica Komisije za pripravo nacionalnega dodatka k Evropski

farmakopeji. Za velik prispevek k razvoju farmacije prejme magistra Vladka Čahuk Vaupotič Minařikovo priznanje.

Poklicno in društveno udejstvovanje magistre **Ljubice Lovišček** je bilo vedno usmerjeno k cilju, da se dostojno predstavita in ovrednotita poklic in vloga lekarniškega strokovnega delavca. To ji je uspevalo dosegati v komunikaciji z bolniki, z mediji, z mladimi pripravniki, ki jim je bila mentorica ter preko javnih nastopov, kjer se je izpostavila kot predvateljica. Za zavzeto delo prejme magistra Ljubica Lovišček Minařikovo priznanje.

S pozitivno naravnostjo in sposobnostjo za timsko delo je magistra **Jasna Majdič** upešno povezala vodenje Gorenjske podružnice z upravljanjem lekane. Z veliko posluha za razvoj stroke je uspešno sodelovala pri uvajanju novih tehnologij in znanj v lekarniško prakso, krepila dobre medsebojne odnose in v svojem delom veliko prispevala k ugledu lekarniške farmacije, za kar ji izvršni odbor podeljuje Minařikovo priznanje.

Motiviranost za delo in sposobnost koordiniranja so magistru **Nikoli Mašiču** omogočili izvedbo številnih družabnih srečanj na regijskem in nacionalnem nivoju. Uspel je povezati kolege iz različnih področij farmacije in vzpostavil tesno sodelovanje tudi s kolegi s sosednje Hrvaške. Za njegov prispevek h krepitvi medsebojnih odnosov mu izvršni odbor podeljuje Minařikovo priznanje.

Magistra **Mihaela Tršinar** je svojo ustvarjalno energijo usmerjala v študij, znanje pa predajala preko številnih predavanj in objavljenih člankov. V sodelovanju z različnimi zdravstvenimi ustanovami in farmacevtskimi organizacijami je veliko pripomogla k priznavanju neizpodbitne potrebnosti in koristnosti farmacevtskega poklica v okviru sistema zdravstvenega varstva. Za njen prispevek ji SFD podeljuje Minařikovo priznanje.

Mag. **Liljana Zwitter Čop** se je uveljavila s strokovnim delom na delovnem mestu in hkrati našla čas za aktivno sodelovanje v društvu in v Komisiji za za pripravo nacionalnega dodatka k Evropski farmakopeji. Svoje izkušnje in znanje je večkrat posredovala tudi strokovni javnosti v obliki predavanj in strokovnih člankov. Za njen prispevek k razvoju in uveljavljanju farmacevtske tehnologije podeljuje izvršni odbor društva mag. Liljani Zwitter Čop Minařikovo priznanje.



Predsednik SFD, dr. Matjaž Jeras je nagovoril udeležence



Predsednik strokovno organizacijskega odbora simpozija ob 32. skupščini SFD, sourednik in avtor knjige Biološka zdravila prof. dr. Borut Štrukelj, v Križnem hodniku v Piranu, na slavnostni podelitvi društvenih priznanj, v družbi s prof. Mrharjem, prof. Urlebom in gostom iz PGEU g. Manacarello



Podelitev društvenih priznanj leta 2007 je potekala v Križnem hodniku Minoritskega samostana v Piranu.



Klepet v Križnem hodniku Minoritskega samostana – predstavnika KEMOFARMACIJE, glavnega sponzorja slavnostnega sprejema ob podelitvi društvenih priznanj, Davorin Poherc in mag. Vojmir Urlep, v družbi s častnim članom SFD, gospodom Miranom Šinigojem



Dvojica s katedre za farmacevtsko biologijo, prof. dr. Samo Kreft in dr. Bojan Doljak



Avtor in sourednik knjige Biološka zdravila, prof. dr. Janko Kos v avli Avditorija (drugi z desne)



Slavnostni dogodek je popestril kulturni program - tenorist Diego Barrios Ross ob spremljavi kitarista Anžeta Palke.

Petkov simpozij se je končal z družabnim sprejemom v letnem gledališču Avditorija, ki ga je za vse udeležence organizirala KRKA d.d. Novo mesto.



Kolegi iz Celjske podružnice so bili dobro razpoloženi.



*mag. Andreja Čufar, Aleš Pelc in Saša Maurič
(z desne)*



*mag. Vesna Cizej Leskovšek skupaj s sodelavcem iz
podjetja Roche in kolegom Juretom Peklarjem (na
sredini)*

Joint Meeting on Medicinal Chemistry (JMMC 2007)



Lucija Peterlin Mašič

Konec letošnjega junija je v organizaciji Sekcije za farmacevtsko kemijo Slovenskega farmacevtskega društva in pod pokroviteljstvom *European Federation for Medicinal Chemistry* (EFMC) v Portorožu potekalo peto avstrijsko-nemško-poljsko-madžarsko-italijansko-slovensko srečanje o farmacevtski kemiji *Joint Meeting on Medicinal Chemistry* (JMMC 2007). Na simpoziju je sodelovalo 327 udeležencev iz 29 držav. Glavne teme so bile novosti na področju učinkovin za zdravljenje infekcij, učinkovin za zdravljenje kardiovaskularnih in metaboličnih bolezni, encimov in receptorjev kot tarč za nove učinkovine, načrtovanja učinkovin z računalniškimi metodami, novih strategij za načrtovanje in odkrivanje novih učinkovin ter uspešnih primerov razvoja novih učinkovin.

V veliko veselje nam je bilo, da smo imeli v svoji sredini nobelovega nagrajenca **Prof. dr. Roberta Huberja** iz Nemčije, ki je na otvoritvenem predavanju z naslovom *Proteins and Their Structures in Basic Science and Medicine* predstavil kompleksno vlogo proteinov v živih organizmih, njihovo dinamično naravo in vlogo rentgenske kristalografije pri odkrivanju tridimenzionalne strukture makromolekul. Znanstveni del simpozija je bil predstavljen s sedmimi plenarnimi predavanji, dvajsetimi polurnimi predavanji, petnajstimi kratkimi prispevki in 172 predstavitvami posterjev. Bogat znanstveni program je bil dopolnjen z zanimivimi družabnimi dogodki, saj smo lahko uživali



Organizacijski odbor JMMC2007. Na sredini sta predsednica organizacijskega odbora doc. dr. Lucija Peterlin Mašič in predsednik simpozija prof. dr. Danijel Kikelj.



Predsednik simpozija prof. dr. Danijel Kikelj

ob plesih folklorne skupine Dragatuš iz Bele krajine, zvokih klasične glasbe skupine Muzidora v Križnem hodniku v Piranu in izbrani kulinariki v Taverni Lucija.

Peti simpozij iz farmacevtske kemije (JMMC2007) je bil znanstveno in družabno zelo odmeven dogodek, ki nam je prinesel številna nova poznanstva in možnosti na sodelovanja in dobro prepoznavnost in uveljavitev v evropskem raziskovalnem prostoru. Za brezhibno a ne nezahtevno organizacijo se zahvaljujem celotnemu organizacijskemu odboru, mladim raziskovalcem s Katedre za farmacevtsko kemijo in navsezadnje gre velika zahvala tudi Slovenskemu farmacevtskemu društvu in sekretarki društva Jelki Dolinar, ki je s svojimi bogatimi izkušnjami pripomogla k odlični organizaciji. Iskrena hvala tudi vsem sponzorjem in razstavljalcem, ki so finančno podprli organizacijo in izvedbo simpozija (<http://www.jmmc2007.si>).

Poročilo o 19. simpoziju Tehnološke sekcije pri SFD

Saša Baumgartner

K sodelovanju na 19. simpoziju Tehnološke sekcije pri SFD, ki je potekal pod naslovom *Voda v farmacevtskih oblikah: nujna, želena ali neželena sestavina (Water in dosage forms: necessary, wanted or unwanted component)* smo letos povabili 9 različnih predavateljev, ki so problematiko vode v farmacevtskih sistemih obdelali vsak s svojega gledišča. Tako smo imeli predavatelje iz Fakultete za farmacijo, Krke, Leka, podjetja Euromix in tujega predavatelja iz podjetja Surface measurement systems iz Anglije. Posvetovanje smo izpeljali na visokem strokovnem in organizacijskem nivoju, kar nam potrjujejo tudi izpolnjene ankete udeležencev srečanja.

Ocene simpozija s strani udeležencev so bile letos še višje kot lani, pri čemer sta bili najbolj ocenjeni strokovnost predavateljev in skladnost vsebine predavanj s temo simpozija. Nekoliko nižje je bila ocenjena atraktivnost izvedbe predavanj. Udeleženci so izrečno pohvalili izbrano temo letošnjega simpozija, saj so na predavanjih dobili ideje za nekatere rešitve svojih problemov pri vsakdanjem delu.

Temo simpozija je slikovito opisal predsednik strokovnega odbora **prof. dr. Stane Srčič** v uvodniku zbornika izročkov predavanj. Uvodnik v celoti objavljamo.

„Bog je rekel: “ Vode pod nebom naj se zberejo na en kraj in prikaže naj se kopno.” Zgodilo se je tako. Bog je kopno imenoval zemljo, zbrane vode pa je imenoval morje. Bog je videl, da je dobro.

Geneza

Voda je čudo Narave, dar Boga(ov). Izjemne fizikalne lastnosti, vključenost v življenje na vse možne načine in preko tega inspiracija umetnikom vseh dob. Tudi raziskovalcem, ki pa jo opazujejo strogo in ugotavljajo njene posebnosti, vzroke zanje in seveda posledice za vse živo in neživo na planetu zemlja.

Molekula vode, relativno enostavna, pa vendar povezana z mnogoterimi skrivnostmi, še vedno pomeni izjemen izziv za znanost.

Voda je edina anorganska tekočina na Zemlji. Je hkrati tudi edina kemijska snov, ki je v naravi v vseh treh oblikah: trdni, tekoči in plinasti. Na planetu zemlja je bila voda dolgo pred pojavom življenja, je zibelka življenja in je esencialna tekočina življenja.

Kroženje vode na planetu, imenovano še hidrološki cikel, premešča ogromne količine vode, in ocena je, da se atmosferska voda izmenja v letu dni 37 krat. Skupna letna količina padavin je ocenjena na približno $220 \cdot 10^{12} \text{ m}^3$ vode, kar pomeni količino, ki prekrije planet v višini 45 cm po vsej površini. Tragika planeta je, in ta postaja v zadnjem obdobju vedno bolj izostrena in še bolj tragična v izgledih za prihodnost naših zanamcev, da ni enakomerno porazdeljena niti časovno niti geografsko. Voda postaja zato tudi vzrok sporov, napetosti in vojn. Premalo je znano, da Bližnji vzhod, kakorkoli gledamo, kulturno in religiozno ni tako zelo različen, vre zaradi vode. Arabci so prikrajšani, ker so jim zaprte poti do virov vode na Golanskem višavju, Izraelci si

prisvajajo in odvajajo še reko Jordan. Porabljajo ogromne količine vode za vzdrževanje svojega zahodnega standarda in za rajske podobe svojih vrtov. In muslimanom jemati vodo, ki jim zagotavlja religiozni obred obveznega čiščenja, nima izgledov za rešitev tega medreligioznega spopada. Zahodnjaki tega nočejo ne razumeti in še manj sprejeti. Tudi zaradi neke druge tekočine.

Znotraj hidrološkega ciklusa sta dva čudovita subcikla: fotosinteza in transpiracija. Prvi nalaga sončno energijo v organske snovi in mu je stranski produkt kisik, drugi razgrajuje tako ustvarjene organske snovi, kar daje energijo in vodo.

Znanost ta hip pozna enainštirideset (41) anomalnih lastnosti vodne molekule in vode kot snovi. Za planet je izjemno pomembna visoka specifična toplota, ki pa takoj pade za približno polovico ob tališču in vrelišču. Ta lastnost je pomembna za vzdrževanje okoljskih pogojev, ki so primerni za življenje. Naj omenim samo Zalivski tok, ki nastaja v Mehškem zalivu in je 150 km širok ter 0.5 km globok. Količine toplote, ki jo ta tok prinaša v Zahodni in Severni del Evrope so nepredstavljivo velike. Oceani na zemlji so nepogrešljivi veliki toplotni izmenjevalci in tako odgovorni za vzdrževanje temperature na zemljini celotni površini.

Ni razlogov, da bi zdravila ne bila povezana in odvisna od vode, čeprav je hkrati že sama voda zdravilo per se. Preplet zdravila - voda je nadvse kompleksen, kar bo pokazal in potrdil tudi ta simpozij.

Poznam dva velika raziskovalca vode v farmacevtskih snoveh in zdravilih: dr. P. H. Stahl iz Nemčije in prof. dr. Z. Zografi iz ZDA. Oba sem iz tega razloga tudi povabil na ta simpozij, žal sta oba imela razloge, da ne prideta. Povezana, zares čudno, z našim simpozijem.

Dr. Stahl je tolikanj zaposlen s predelavo svoje knjige „Feuchtigkeit und Trocknen in der pharmanazeutischen Technologie“ (izdane prvič l. 1980) v angleško verzijo, da je povabilo, čeprav je bilo, kot je komentiral sam „sehr reizig“, odklonil.

Profesor Z. Zografi, iz Madison School of Pharmacy, University of Wisconsin, ima, izjemna koincidenca, ravno v tem času na svoji fakulteti seminar iz iste teme: vode! Obžalovala sva oba.

Njuno odsotnost bodo zapolnili domači raziskovalci iz farmacevtske industrije in Univerze, internacionalni vidik simpozija pa bo pokril v Veliki Britaniji delujoči Nemec. Vem, da bodo predstavili mnogo obrazov molekule vode in poskušali razložiti stanja in spremembe zaradi nje v zdravilih ali njihovih sestavinah. Vem tudi, da bodo predstavljene informacije koristne za vse in še dodatno, da bo ta tekočina morda dobila v našem razmišljanju še bolj posebno mesto. Prav je, da vsi delamo in si prizadevamo za to, da cena vode, čeprav je za človeštvo najpomembnejša, ne bo dobila atributov neke druge tekočine.

Upam in želim, da bi simpozij vzbudil nove poti razmišljanj in reševanja vsakršnih težav, ki so povezane s to nenavadno molekulo. Želim tudi, da bi vam to poletje prineslo samo pravišnjo količino vode."

3. Dan slovenskih lekarn

Nina Pisk, Jelka Dolinar

Dan slovenskih lekarn smo že tretje leto zapored organizirali Sekcija farmacevtov javnih lekarn pri Slovenskem farmacevtskem društvu in Lekarniška zbornica Slovenije in v letu prometne varnosti kot osrednjo temo izbrali temo Zdravila in prometna varnost. Namen vseh aktivnosti je bil informiranje splošne javnosti o vplivu nekaterih zdravil, alkohola in prepovedanih drog na psihofizično sposobnost bolnika in s tem na sposobnost njegove aktivne udeležbe v prometu ali za delo s stroji. Še posebej smo želeli izpostaviti pomen svetovanja v lekarni pri prepoznavanju in razumevanju teh opozoril in previdnostnih ukrepov pri varni uporabi zdravil.

Izbrano temo smo v lekarnah želeli predstaviti obiskovalcem najprej s plakatom, kjer smo opozorili na zdravila, ki lahko vplivajo na psihofizično sposobnost bolnika ter na trikotnike, posebne oznake na zloženki teh zdravil, in na priloženo navodila za uporabo, kjer lahko najdemo posebno poglavje, ki govori o vplivu zdravil na sposobnost upravljanja vozil in strojev. Obširneje pa smo izbrano temo Zdravila in prometna varnost, oceno porabe zdravil z vplivom na psihofizične sposobnosti bolnika v Sloveniji, informacije o registraciji zdravil za uporabo v humani medicini v povezavi s prometno varnostjo, oris problematike vožnje vozil pod vplivom psihoaktivnih snovi s strani slovenske policije ter načrtovane aktivnosti predstavili vsem lekarnam v začetku septembra v Planu aktivnosti. Za laično javnost pa smo pripravili informativno knjižico z naslovom Zdravila in prometna varnost, razdeljeno na več poglavij: Zdravila, ki vplivajo na sposobnost upravljanja vozil in strojev, Alkohol in prometna varnost, Prepovedane droge in prometna varnost ter Zakonodajni vidik. Knjižica je bila natisnjena v 30.000 izvodih in tudi letos 26. septembra brezplačno na voljo vsem obiskovalcem lekarn, precej pa smo jih razdelili tudi drugim ustanovam in zdravnikom.

Prvi teden v septembru je bila v okviru dneva lekarn izvedena tudi anketa, v katero je bilo vključenih 130 lekarn po vsej Sloveniji. Sodelovalo je 1.345 anketirancev, izdanih pa jim je bilo 1.590 zdravil z oznako trigonika. Ugotovili smo, da informacijo o vplivu zdravila na sposobnosti vožnje pozna le približno 40 % bolnikov. Enak odstotek, 40 % bolnikov pozna znak – poln ali prazen trikotnik – na zunanji ovojnjini zdravila, ki opozarja, da zdravilo vpliva na psihofizične sposobnosti bolnika. Rezultate smo predstavili tudi javnosti.

Za večji odziv smo povabili lekarne in lekarniške farmacevte k sodelovanju pri predlaganih aktivnostih v svojem okolju ter z Lekarniško zbornico Slovenije pripravili tudi predstavitev dneva lekarn in izbrane teme medijem na novinarski konferenci, ki je vključevala tudi predstavitev vožnje pod vplivom psihotropnih snovi na poligonu. Še posebej pa je bilo letos zaslediti veliko objav člankov, ki so jih pripravili lekarniški farmacevti, in več aktivnosti, ki so jih pripravile lekarne v obliki sodelovanj z osnovnimi šolami, informacijskimi točkami pred lekarnami in sodelovanjem z lokalno policijo. Celo jesen je bilo zaslediti tudi objave novinarjev, s čimer smo dosegli enega od namenov – osveščanje laične javnosti o vplivu zdravil na prometno

varnost, premalokrat pa je bila poudarjena vloga lekarniškega farmacevta in dejstvo, da smo izbrano temo predstavili ob 3. dnevu slovenskih lekarn, kjer so novinarji tudi dobili gradivo. Z željo, da boljše izkoristimo priložnost za povečanje prepoznavnosti poslanstva lekarniške dejavnosti in za promocijo poklica farmacevta v zdravstvu ob praznovanju dneva lekarn, bomo v naslednjem letu še prej napovedali izbrano temo.

Stroške 3. dneva slovenskih lekarn, v katero so zajeti priprava in oblikovanje vseh tiskanih gradiv, drugi promocijski materiali in jabolka, ter razvoz vseh materialov do lekarn, ocenjujemo na okoli 44.000 evrov. Sredstva so prispevale slovenske javne lekarne in Zavod za zdravstveno zavarovanje Slovenije, Lek, član skupine Sandoz in v veliki meri tudi letos veleddrogerija Kemofarmacija. Tako kot prejšnja leta, pa smo tudi letos načrtovali, da bomo del stroškov pokrili s simpozijem »Lekarna od zdravila k človeku«, kar nam je ob zelo dobri udeležbi na simpoziju tudi uspelo.

Aktivnosti lekarniških farmacevtov ter rezultati anonimne ankete iz 82 slovenskih javnih lekarn, večinoma z več kot 60 obiskovalci na dan, so pokazale, da smo pravilno izbrali temo in tokrat dobro informirali lekarne o izbrani temi ter poteku aktivnosti. Povprečna ocena izbora teme je bila 4,7 in povprečna ocena informiranosti lekarn 4,5 (op. največja možna ocena je 5). Tudi letos je bila zelo dobro ocenjena informativna knjižica, tako po vsebini (povprečna ocena 4,4) kot po obliki (povprečna ocena 4,5). 68 lekarn (73%), je menilo, da so imeli dovolj informativnih knjižic za obiskovalce lekarn. Kljub dobro obiskani novinarski konferenci in velikemu številu objav, pa so bili nekoliko slabše ocenjeni medijski odzivi (povprečna ocena 3,9). Da bi v prihodnje še bolj pritegnili pozornost javnosti, bo potrebno pripraviti še več informacijskih točk na javnih krajih, povečati obseg reklamnih sporočil v medijih ter organizirati obiske javnih ustanov (šol, vrtcev...), kar so tudi glavni predlogi anketiranih lekarn. Za prihodnje leto lekarne predlagajo poleg plakata in informativne knjižice še pripravo krajše informacije v obliki informativnega lističa, kot vsebino, ki bi jo želeli ponuditi obiskovalcem lekarn, pa sta bili največkrat izbrani temi Zdravila in otroci ter Vpliv hrane na jemanje zdravil.

Nedvomno Dan slovenskih lekarn postaja praznik vseh slovenskih lekarn in njihovih zaposlenih, zato se bomo tudi naprej trudili za kvalitetno izvedbo dneva lekarn in s tem za večanje ugleda farmacevta in lekarne v družbi. Seveda pa bo pri tem bistvenega pomena motiviranost lekarniških farmacevtov pri izvedbi načrtovanih aktivnosti ter ustrezna vključitev vseh sodelujočih v pripravo dneva slovenskih lekarn in zagotovitev finančnih sredstev.

Poročilo s Simpozija Homeopatske sekcije

Tanja Šegula



*Dr. Roberto Petrucci
President of the Centre for
Homeopathy Milan
Lecturer at the University of
Aquila and for the Italian
Homeopathic federation*

Simpozij Homeopatske sekcije pri SFD je potekal v soboto, 17. novembra 2007 v Ljubljani, v prostorih KRKE, ki je bila glavni sponzor simpozija.

Priprave na simpozij so potekale celo leto, in sicer od trenutka, ko je oktobra lani, na 61. Svetovnem homeopatskem kongresu v Švici, name naredilo izreden vtis predavanje svetovno priznanega homeopata dr. Roberta Petruccia. Dr. Petrucci je predsednik Centra za homeopatijo v Milanu, predavatelj na Univerzi Aquila in predavatelj za italijansko Homeopatsko združenje. Študij medicine in kirurgije je zaključil na Univerzi v Milanu. S homeopatijo se je pričel ukvarjati pred več kot 20 leti. V zadnjih letih se je študij homeopatije tudi s pomočjo računalniške podpore izredno spremenil. Za to je zaslužen tudi dr.

Petrucci, katerega delo je inovativno in sistematično. V najnovejši knjigi povezuje moderne koncepte in teme s tradicionalnimi informacijami na jasn in uporaben način.

Izbrana tema Homeopatija v pediatriji in izjemen predavatelj sta privabila 50 slušateljev, pretežno magistrstov farmacije, pa tudi zdravnike in veterinarje, ki že imajo nekaj znanja s področja homeopatije.

Namen simpozija je bil poglobitev homeopatskega znanja in seznanitev z novimi učinkovinami. V prvem delu je predavatelj predstavil barijeve, kalcijeve in natrijeve soli, učinkovine iz živalskega mleka (psa, koze, leva), pomembni učinkovini fosfor in žveplo ter nozode (živalske izločke). V drugem delu simpozija smo si ogledali zanimive primere iz bogate klinične prakse dr. Petruccia. V popoldanskem delu nam je predstavil svojo najnovejšo knjigo MATERIA MEDICA in demonstriral uporabo najbolj dovršenega homeopatskega programa Radar, ki ga vsakodnevno uporablja pri izbiri pravilne učinkovine za svoje bolnike. Je zagovornik klasične homeopatske šole in bolniku poišče zanj najboljšo učinkovino izmed 5.000 poznanih. Meni, da uspeh homeopatije ne izostane, če je učinkovina pravilno izbrana. Pri tem ne gre zanemariti tudi izbire pravilne potence in intervala odmerjanja. Poudaril je pomembnost zavedanja in upoštevanja možnosti izbire metode zdravljenja, katerakoli že to je. Dr. Petrucci je zagovornik dejstva, da se morajo z bolniki ukvarjati visoko izobraženi strokovnjaki, zdravniki in farmacevti.

V razpravi nam je predstavil tudi, kakšno je stanje homeopatije v Italiji. Homeopatija v Italiji je zelo razvita. Italijanska šola slovi v svetu kot



Dr. Roberto Petrucci v sredini, predsednica Homeopatske sekcije dr. Maruša Hribar (levo) in Tanja Šegula, mag. farm., predstavnica Sekcije v izvršnem odboru SFD



Dr. Roberto Petrucci med predavanjem.

zelo kakovostna. Zdravniki homeopati predpisujejo homeopatska zdravila v visokih potencah na recept. Bolniki z receptom dobijo zdravila v lekarnah. Poleg izdaje homeopatskih zdravil na recept se italijanski farmacevti v lekarnah ukvarjajo še s samozdravljenjem in samostojno izdajajo homeopatske učinkovine za akutna stanja v potencah do 30CH. Znatno so prispevali k osveščanju glede zmožnosti homeopatije in pripomogli k njeni pravilni uporabi.

Bistvo v zdravljenju bolnikov je samo zdravje in dobrobit bolnika. Očitno pa obstaja več različnih poti, kako to doseči. Ena izmed njih je tudi homeopatija.

To večino, kakor vse ostale, je potrebno stalno izpolnjevati, za kar je bil simpozij čudovita priložnost.

Udeleženci so simpozij zapustili zadovoljni, bogatejši za pridobljeno znanje, ki jim ga je izbrani predavatelj predal z velikim zanosom. Pohvalili so tudi samo organizacijo simpozija.

Želimo si, da bi tudi simpozij Homeopatske sekcije SFD postal vsakoletna stalnica v društvenem življenju.

Zahvaljujemo se glavnemu sponzorju KRKI ter ostalim sponzorjem simpozija: Kemofarmaciji, Pharmakonu, Salusu in Farmedici.

Predavanje istega predavatelja je pod okriljem Lekarniške zbornice v nedeljo, 18. novembra, poslušalo še 150 lekarniških farmacevtov, začetnikov, ki so v poteku šolanja in bodo spomladi naslednje leto opravljali zaključni izpit iz znanja homeopatije.

Stališče Homeopatske sekcije SFD

Tudi v Sloveniji želi izvršni odbor Homeopatske sekcije SFD preko usposobljenih strokovnjakov povezati klasično medicino s homeopatijo, ki je v svetu tudi že priznana metoda zdravljenja, o čemer bo govora na naslednjem svetovnem homeopatskem kongresu spomladi 2008 v Belgiji. Tako želimo zaščititi bolnike pred šarlatani, ki nimajo ustreznega medicinskega in farmacevtskega znanja. Kritični smo tudi do vseh izvajalcev zdravstvenega varstva, ki ne glede na situacijo zavračajo klasične metode zdravljenja, čeprav so te za bolnika nujne. Lekarniški farmacevti si želimo sodelovati z zdravniki, ki bolnika seznani s terapijo in ga napotijo po zdravila v lekarno. Želimo si, da bodo homeopatska zdravila v Sloveniji registrirana skladno z veljavnim Zakonom o zdravilih, ki je usklajen z evropsko direktivo, in bodo končno prišla v slovenske lekarne, kamor sodijo. Borimo se za legalizacijo homeopatije, pa ne samo na papirju v obliki

novega Zakona o zdravilstvu, kamor po naši oceni homeopatija sploh ne sodi, saj je v svetu, skupaj z akupunkturo, uradno priznana metoda zdravljenja. Zavedamo se in poudarjamo, da je edina primerna strokovna oseba za izdajo zdravil (alopatskih in homeopatskih) farmacevt v lekarni, ki ima dodatno ustrezno strokovno znanje.

Glede na dejstvo, da je povabljenega predavatelja dr. Petruccia v dveh dneh poslušala četrtnina vseh lekarniških farmacevtov v Sloveniji, lahko rečemo, da smo lekarniški farmacevti svobodni samostojni strokovnjaki, ki kritično sprejemamo razvoj medicinskih znanosti, sledimo evropskim in svetovnim trendom v združevanju klasične in komplementarne (podporne medicine) ter se neprestano strokovno izobražujemo, tudi v prostem času. To je tudi edini način, da si kot strokovnjaki lahko dvigamo ugled v očeh bolnikov. Naše znanje raste samo, če sprašujemo in delimo znanje z drugimi.

Knjižno poročilo

Kako predpisujemo protimikrobna zdravila v bolnišnicah. Ljubljana 2007.

Prof. dr. Milan Čizman in doc. dr. Bojana Beović sta v založbi Sekcije za kemoterapijo Slovenskega zdravniškega društva izdala pomembno napotilo za pravilno uporabo protimikrobnih učinkovin v bolnišnicah.

Protimikrobne učinkovine so po obsegu predpisovanja med največjimi skupinami zdravil tako bolnikom v stacionarnem kakor tudi v ambulantnem zdravljenju.

Nedvomno so protimikrobne učinkovine poleg aktivne in pasivne imunizacije odločilno prispevale k podaljšanju življenske dobe in kakovosti življenja. To velja zlasti za pravilno uporabo protimikrobnih učinkovin. Morda hkrati ni skupine zdravil, ki bi se tako pogosto predpisovala po nepotrebnem oziroma se uporabljala nepravilno. Avtorja navajata, da to v povprečju velja morda kar za polovico predpisanih protimikrobnih snovi.

Pri tem ni prizadet le posamezni bolnik, ki zaradi nespoznane ali neupoštevane indikacije, nedoslednosti pri jemanju zdravila ali napačno izbranega zdravila ni uspešno zdravljen, temveč je zaradi nenehnega prilagajanja mikroorganizmov sestavi njihovega okolja močno zvečano število na protimikrobne učinkovine odpornih patogenih mikroorganizmov. Zaradi porušanja ravnovesja med človekom in njegovo komensalno mikrobo populacijo so življenja ogrožena tudi sicer nepatogenimi mikroorganizmi, zlasti z glivami in sicer v normalnem okolju nepatogenimi bakterijami.

Pravilno ravnanje pri zdravljenju z že uveljavljenimi in z novo odkritimi protimikrobnimi zdravili je zato izjemno pomembna naloga terapije infekcij in načina ponudbe teh učinkovin strokovni javnosti.

V sedanjem širjenju novih patogenih mikroorganizmov v svetovnem merilu, vračanju širjenje nekaterih že znanih infekcijski bolezni, na primer tuberkuloze, malarije in pretečih virusnih bolezni ima vse bolj pomembno vlogo pravilno protimikrobno zdravljenje.

V uvodu avtorja zato razlagata principe izkustvenega, ciljanega (na ugotovljenega povzročitelja in lokalizacijo infekcije) in posebno nadzorovanega zdravljenja okužb v bolnišnicah.

Izkušnje obeh avtorjev, ki citirata najnovejše mednarodno objavljene podatke o zdravljenju s protimikrobnimi zdravili, zagotavljajo, da so v ospredje postavljene prav naše razmere.

Posebnost priročnika je koncizno tabelarično prikazovanje podatkov, tako da je v preglednicah mogoče hitro najti željene podatke o indikacijah, vrst zdravila in odmerjanju.

Po kratki predstavitvi očitljivosti najpogostejših pri nas izoliranih vrst bakterij sledijo preglednice s podatki o zdravljenju okužb pri odraslih;

razvrstitev infekcij je po organih, organskih sklopih in po umetnih vsadkih. Podobno je predstavljena protibakterijska terapija pri otrocih.

Posebej so predstavljene sistemske okužbe z glivami, ki so v porastu zlasti v povezavi z iatrogenim posegom v imunski sistem ali pri imunsko oslabljenih ljudeh zaradi virusnih infekcij. Uspešna terapija znanih sistemskih mikoz pa zastavlja nove naloge pri zdravljenju doslej redkih okužb z zigomicetami, fuzariami, scedosporiami in nekaterimi redkimi vrstami aspergilusov. Novi azolski antimikotiki nudijo določeno izboljšanje glivičnih infekcij a hkrati selekcionirajo nove možne infektogene glive.

Pri virusnih okužbah je iz preglednic viden napredek v individualnem zdravljenju tako pri odraslih kakor tudi pri otrocih. Za množične infekcije ali celo pandemije virusnih bolezni pa so metode protimikrobne kemoterapije šibke.

S helminti in praživalmi povzročene bolezni so zaenkrat pri nas redke, preglednica kemoterapije je zastopana z samo eno stranjo. Vendar to ne sme odvrti pozornosti na možno vračanje malarije tudi v naše kraje zaradi potovanj in preseljevanj in zaradi podnebnih sprememb.

Priročnik je zaključen s preglednico protimikrobnih učinkovin, ki so na voljo v R Sloveniji z dovoljenjem za promet (registrirana) ali na utemeljeno zahtevo bolnišnice s posebnim dovoljenjem.

Priročnik »Kako predpisujemo protimikrobna zdravila v bolnišnicah« je za farmacevte nepogrešljivo dopolnilo Registra zdravil R Slovenije ter hkrati nudi vpogled v aktualno stanje protimikrobne terapije pri nas in v svetu.

Prof. dr. Aleš Krbavčič, mag. farm.
Fakulteta za farmacijo, Univerza v Ljubljani

Za naročila v tajništvo Klinike za infekcijske bolezni uporabite elektronsko pošto simona.rojs@kclj.si ali telefon 01 522 2110. Cena za posameznike je 20 €.

Zahvala

Spoštovani kolegi/ce, avtorji/ice prispevkov, recenzenti/ke, dragi bralci/ke!

Konec leta je kar naenkrat pred nami, naša periodična strokovna in društvena revija pa je redno izhajala in bila tudi (upam) skrbno prelistana in pridno prebrana (hvala vsem bralcem).

Pred vami je zadnja letošnja številka Farmacevtskega vestnika. Tudi letos smo lahko ponosni na izjemno kakovostne prispevke, za kar se je potrebno zahvaliti vsem avtorjem. Imena avtorjev in naslove letos objavljenih strokovnih prispevkov (originalnih znanstvenih, preglednih in raziskovalnih) lahko najdete v letnem kazalu. Hvala vsem, ki ste raziskovali, pridno pisali in potrpežljivo čakali na moja e-poštna sporočila. Najlepša hvala tudi soustvarjalcem prispevkov v ostalih rubrikah.

Hvala vsem skrbnim recenzentom, ki so bili do sedaj neimenovani. S svojim strokovnim pregledom so zaradi poglobljenega znanja na posameznem področju lahko pomagali avtorjem še izboljšati strokovnost, kakovost in berljivost prispevkov.

Recenzenti, ki se jim toplo zahvaljujem za sodelovanje pri oceni prispevkov, objavljenih v letu 2007 v Farmacevtskem vestniku letnik 58, so navedeni po abecednem vrstnem redu glede na priimek, vendar brez pripadajočih nazivov in zaposlitve (če smo koga izpustili, se mu opravičujemo in še dodatno zahvaljujemo za sodelovanje):

Baumgartner Saša

Božič Borut

Breznik Matej

Cegnar Mateja

Dolenc Voljč Mateja

Doljak Bojan

Gašperlin Mirjana

Janeš Damjan

Kansky Aleksander

Kikelj Danijel

Kmetec Vojko

Kočevar Klemen

Komel Radovan

Kos Mitja

Magdič Jože

Marc Gašper

Marc Janja

Obreza Aleš

Ostanek Barbara

Pečar Slavko

Simonovska Breda

Štrukelj Borut

Vrečer Franc

Vrtačnik Bokal Eda

Zajc Natalija

Zega Anamarija

Zorko Matjaž

Vsem skupaj še enkrat iskrena hvala.

V pričakovanju novega leta (in seveda novih člankov, predvsem raziskovalnih) vas prav lepo pozdravljam ter vam želim uspešno in zdravo leto 2008.

Andrijana Tivadar, glavna urednica Farmacevtskega vestnika

FARMACEVTSKI VESTNIK Letnik 58

Vsebina

Originalni znanstveni članki

Cirkadialni ritem in kronomedicina (Klemen Španinger, Martina Fink)	3
Nekatere metode stabilizacije amorfnih učinkovin (Odon Planinšek)	8
Novosti o dostavljanju učinkovin v nohte (Ana Torkar, Julijana Kristl, Sudaxhina Murdan)	15
Nanodelci: sodobni dostavni sistem za učinkovine in antigene celicam imunskega sistema (Nataša Obermajer, Janko Kos, Julijana Kristl)	39
Samozdravljenje glavobola (Mihaela Tršinar)	45
Alzheimerjeva bolezen: Nova spoznanja in učinkovine (Sebastijan Reven, Lucija Peterlin Mašič)	79
Farmakološki pristopi pri zdravljenju debelosti I (Mojca Lunder)	86
Induktorji citokromov P450 (Rok Frlan, Marija Sollner Dolenc)	92
Farmakološki pristopi pri zdravljenju debelosti II (Mojca Lunder)	127
Protease in njihovi inhibitorji v telesnih tekočinah kot diagnostični in prognostični tumorski kazalci (Suzana Vozelj, Nataša Obermajer, Janko Kos)	133
Možnosti uporabe genskega dopinga in problemi njegove detekcije (Lovro Žiberna, Klemen Žiberna, Borut Štrukelj, Irena Mlinarič-Raščan)	139
Flavonoidi (Nina Kočevkar, Igor Glavač, Samo Kreft)	145
Genetska raznolikost kot osnova uporabnosti farmakogenomike v klinični praksi (Teja Čelhar, Polonca Ferk, Irena Mlinarič Raščan)	149

Raziskovalni članek – Research article

Genetika sindroma policističnih jajčnikov - vloga mikrosatelitskega polimorfizma (TAAAA) _n v genu SHBG (Polonca Ferk, Teja Čelhar, Ksenija Geršak)	21
Poraba antipsihotikov v Sloveniji in primerjava z Norveško (Vlasta Žvikart, Cvetka Bačar, Aleš Mrhar)	35
Sistematični pregled učinkovitosti statinov pri zmanjševanju vrednosti holesterola LDL (Mitja Kos, Marko Obradović, Jernej Kristl)	155

Posebna številka – 5 th Joint Meeting on Medicinal Chemistry (JMMC 2007)	1 - 220
--	---------

Tematska pregledni članki

Internet Pharmacies and Pharmacy Practice in the EU (Giovanni Mancarella)	58
Internetne lekarne v Sloveniji: za kakšen model se bomo odločili? (Tatjana Kogovšek Vidmar)	59
Informiranje in kupovanje zdravil preko svetovnega spleta (Barbara Mihovec Razinger)	62
Spletna lekarna v Sloveniji (Dušan Hrobat)	64
Regulatorni praktični vidik sprejemanja in kontrole letalskih in carinskih pošilk (Marko Bolta, Miha Hropot)	65
E-recept – v pomoč zdravniku in farmacevtu (Martina Zorko, Marjan Sušelj)	67
Ureditev izdelkov brez recepta (Martina Cvelbar, Barbara Razinger Mihovec)	68
Odgovornost farmacevta pri izdaji medicinskih pripomočkov (Nataša Faganeli)	69
Kozmetični izdelki – zakonodaja, kriteriji vrednotenja kakovosti (Mirjana Gašperlin)	71
Prehranska dopolnila - zakonodaja, problematika, primeri (Matjaž Tuš, Aleš Mlinarič)	72
Kako prepoznati ščitnično bolezen? (Simona Gaberšček, Katja Zaletel)	97
Zdravljenje z radiojodom (Edvard Pirnat)	100
Farmakoterapija bolezni ščitnice (Aljaž Sočan, Tanja Gmeiner Stopar, Sergej Hojker)	103
Interakcije zdravil za bolezni ščitnice z drugimi zdravili	106
(Jurij Trontelj)	106
Zanimivosti iz stroke	30
Novice iz sveta farmacije	30, 114
Iz društvenega življenja	32, 166
Osebnosti	31, 118
Knjižna obvestila	120, 179

FARMACEVTSKI VESTNIK Volume 58

Content

Scientific articles

Circadian rhythm and chronomedicine (Klemen Španinger, Martina Fink)	3
Some stabilization methods of amorphous drugs (Odon Planinšek).....	8
Novel methods in drug delivery to the nail (Ana Torkar, Julijana Kristl, Sudaxhina Murdan)	15
Nanoparticles: advanced delivery system for drugs and antigens to the cells of the immune system (Nataša Obermajer, Janko Kos, Julijana Kristl)	39
Self-medication for headache (Mihaela Tršinar)	45
Alzheimer's disease: New knowledge and compounds (Sebastijan Reven, Lucija Peterlin Mašič)	79
Pharmacological approaches for the treatment of obesity I (Mojca Lunder).....	86
Induction of cytochrome P450 (Rok Frlan, Marija Sollner Dolenc)	92
Pharmacological approaches for the treatment of obesity II (Mojca Lunder).....	127
Proteases and their inhibitors in body fluids as diagnostic and prognostic tumour (Suzana Vozelj, Nataša Obermajer, Janko Kos)	133
An overview of gene doping applications and problems of its detection (Lovro Žiberna, Klemen Žiberna, Borut Štrukelj, Irena Mlinarič- Raščan)	139
Flavonoids (Nina Kočever, Igor Glavač, Samo Kreft)	145
Genetic variability as the basis of pharmacogenomic applications in clinical practice (Teja Čelhar, Polonca Ferk, Irena Mlinarič Raščan)	149

Supplements – Review articles	58, 68, 97
--	------------

Research articles

Genetics of polycystic ovary syndrome - a role of microsatellite polymorphism (TAAAA) _n in the SHBG gene (Polonca Ferk, Teja Čelhar, Ksenija Geršak)	21
Consumption of antipsychotics in Slovenia and comparison to Norway (Vlasta Žvikart, Cvetka Bačar, Aleš Mrhar)	35

Systematic review of statin efficacy in reducing LDL cholesterol values (Mitja Kos, Marko Obradović, Jernej Kristl)	155
--	-----

Special Issue – 5 th Joint Meeting on Medicinal Chemistry (JMMC 2007)	1 - 220
---	---------

AVORSKO KAZALO – INDEX OF AUTHORS

Bačar C.	35	Mlinarič A.	72
Bolta M.	65	Mlinarič Raščan I.	149, 139
Čelhar T.	21, 149	Mrhar A.	35
Cvelbar M.	68	Murdan S.	15
Faganeli N.	69	Obermajer N.	39, 133
Ferk P.	21, 149	Obradović M.	155
Fink M.	3	Peterlin Mašič L.	79
Frlan	92	Pirnat E.	100
Gaberšček S.	97	Planinšek O.	8
Gašperlin M.	71	Razinger Mihovec B.	68
Geršak K.	21	Reven S.	79
Glavač I.	145	Sočan A.	103
Gmeiner Stopar T.	103	Sollner Dolenc M.	92
Hojker S.	103	Španinger K.	3
Hrobat D.	64	Štrukelj B.	139
Hropot M.	65	Sušelj M.	67
Kočever N.	145	Torkar A.	15
Kogovšek Vidmar T.	59	Trontelj J.	106
Kos J.	39, 133	Tršinar M.	45
Kos M.	155	Tuš M.	72
Kreft S.	145	Vozelj S.	133
Kristl Jernej	155	Zaletel K.	79
Kristl Julijana	15, 39	Žiberna K.	139
Lunder M.	86, 127	Žiberna L.	139
Mancarella G.	58	Zorko M.	67
Mihovec Razinger B.	62	Žvikart V.	35



FARMACEVTIKA - DENTAL

Oskrbojemo
lekarne,
bolnišnice,
zdravstvene
domove in
veterinarske
ustanove
po Sloveniji
z zdravili,
zdravstvenim
materialom
in dentalnimi
izdelki



FARMADENT

FARMADENT d.o.o.
Minařikova ulica 6, 2000 Maribor
Telefon: +386 2 450 28 11
Fax: +386 2 462 20 52
E-mail: info@farmadent.si

Navodila avtorjem

Strokovne članke in **druge prispevke** objavljamo v slovenskem, po dogovoru z uredništvom pa tudi v angleškem jeziku. Vsi poslani rokopisi morajo biti jezikovno in slogovno neoporečni. Uporabljena terminologija mora biti ustrezna, s poslušom za uveljavljanje ustreznih strokovnih izrazov v slovenskem jeziku. Navajanje zaščitenih imen zdravil in drugih izdelkov ali imen proizvajalcev je nedopustno. Dovoljeno je le v poglavju Materiali in metode, izjemoma pa še v primeru, če se objavi popoln seznam vseh na tržišču dostopnih izdelkov.

Strokovni **članki so recenzirani**, kar pomeni, da bodo avtorji oddali najmanj dve verziji besedila:

- prvo verzijo, ki jo uredništvo pošlje najmanj dvema recenzentoma v strokovno oceno in
- končno verzijo.

Med postopkom ugotavljanja primernosti prispevka za objavo v Farmacevtskem vestniku je zagotovljena tajnost.

Prva verzija

Predstavljajo jo:

- trije, na papir natisnjeni izvodi prispevka, na katerih avtorji niso imenovani, slike in preglednice pa so vključene v besedilo, ter
- prispevek v elektronski obliki.

Avtorji strokovnih člankov priložijo lastnoročno podpisan spremni dopis z naslednjimi podatki:

- naslov prispevka,
- imena in priimki avtorjev z vsemi nazivi,
- imena in naslovi inštitucij, v katerih so zaposleni,
- telefonska številka in elektronski naslov kontaktne osebe ter
- izjavo, da prispevek še ni bil objavljen ali poslan v objavo v drugo revijo, ter da se z vsebino strinjajo vsi soavtorji.

V primeru ponatisa slik ali drugih elementov v prispevku mora avtor priložiti dovoljenje založbe, ki ima avtorske pravice. Rokopisi strokovnih člankov lahko obsegajo največ **20.000** znakov, vključno s presledki, obseg prispevkov za rubriko zanimivosti iz stroke in iz društvenega življenja je lahko največ **6.000** znakov (vključno s presledki). Prispevki za rubriko osebne vesti ne smejo presegati **3.000** znakov (vključno s presledki). Prispevke o osebnih vesteh objavlja uredništvo ob jubilejih, smrti ali za posebne dosežke v aktualnem obdobju. Uredništvo si pridržuje pravico, da po strokovni presoji objavi tudi daljše prispevke.

Vsebina

naj bo sistematično strukturno urejena in **razdeljena na poglavja**. Izvirni raziskovalni članki naj imajo najmanj naslednja poglavja:

- Uvod,
- Materiali in metode,
- Rezultati in razprava,
- Povzetek v slovenskem in angleškem jeziku (vsak po največ 150 besed) in največ 5 ključnih besed v slovenskem in angleškem jeziku
- poglavje Sklep
- poglavje Literatura
- Kazalo vsebine, takoj za povzetkom in ključnimi besedami.

Besedilo

(Times New Roman 12, razmik vrstice 1,5) naj bo obojestransko poravnano.

Slike in preglednice

morajo biti opremljene s pripadajočim besedilom v slovenskem in angleškem jeziku.

Vsako trditev je potrebno potrditi z **literaturnim virom**, zaporedno številko literaturnega vira pa navesti na koncu trditve, v oklepaju pred piko. Če je referenc več, so številke ločene z vejicami in presledki, npr. (1, 3, 8). Na koncu prispevka naj bo navedenih največ 30 literaturnih virov, po vrstnem redu, kot se pojavljajo v besedilu.

Primer navajanja literature:

1. Obreza A. Vanadij v živem organizmu in farmaciji. Farm Vestn 2003; 54: 713–718.
2. Danesh A, Chen X, Davies MC et al. The discrimination of drug polymorphic forms from single crystals using atomic force microscopy.
3. Pharm Res 2000; 17 (7): 887–890.
4. Doekler E. Cellulose derivatives. In: Peppas NA, Langer RS. Advances in polymer science 107; Biopolymers I. Springer-Verlag, 1993: 200–262.

Končna verzija

Avtor strokovnega članka prejme po opravljenem recenzijem postopku najmanj dve strokovni oceni in navodila glede sprejetja v objavo in potrebnih popravkov. Uredništvo pričakuje, da bo avtor pripombe recenzentov in uredništva upošteval in **najkasneje dva tedna po prejetju recenzij** poslal popravljen prispevek v elektronski obliki ter eno natisnjeno verzijo besedila na naslov glavne urednice.

Slike

morajo biti shranjene v ustreznem slikovnem formatu (zaželeno v jpg, bmp), tudi v natisnjeni verziji je potrebno slikovni material priložiti ločeno od besedila, oštevilčeno in označeno s pripadajočimi podnapisi. Fotografije morajo biti posnete z visoko ločljivostjo, najmanj 250 do 300 dpi, v enakih velikostih, kot jih avtor želi objaviti oz. prilagojene obliki revije.

Naslov prispevka

(v slovenskem in angleškem jeziku) in **naslovi** poglavij in podpoglavij naj bodo napisani krepko, vendar z malimi črkami (kakor v stavku). V končni verziji morajo biti pod naslovom prispevka v slovenskem in angleškem jeziku napisana **polna imena vseh avtorjev** brez nazivov. Imena in priimke vseh avtorjev z nazivi, skupaj z imeni in naslovi ustanov, v katerih so zaposleni, je potrebno navesti ločeno na prvi strani. Elektronska in natisnjena verzija morata biti identični.

Pošiljanje strokovnih prispevkov

Prispevke v pisni in elektronski obliki avtorji **pošljejo na naslov**:

dr. Andrijana Tivadar, mag. farm.

glavna urednica Farmacevtskega vestnika

Tacenska 133 A, 1000 Ljubljana

e-pošta: andrijana.tivadar@siol.net

Korekture

Krtačne odtise prispevka je avtor dolžan natančno pregledati in označiti nujne popravke (tiskarske škrate), s katerimi ne sme posegati v vsebino prispevka. Korekture pošlje avtor v treh delovnih dneh na zgoraj navedi naslov.

Prvi avtor prejme tri izvode Farmacevtskega vestnika brezplačno. Članki so objavljeni tudi na spletni strani: www.sfd.si v pdf obliki.