



farmaceutski vestnik 5-6



Š T 5 - 6 . D E C E M B E R 2 0 1 2 . L E T N I K 6 3

STROKOVNO GLASILO SLOVENSKE FARMACIJE · PHARMACEUTICAL JOURNAL OF SLOVENIA



Salus populi est suprema lex.

Dobro ljudi je najvišji zakon,

je naše poslanstvo in odgovornost. Odgovornost slovenski družbi, sočloveku, njegovemu zdravju in dobremu počutju.

Skrbimo, da so kakovostna in varna zdravila, medicinski pripomočki in drugi farmacevtski izdelki dostopni vsem, ki jih potrebujejo. **S kakovostno, učinkovito in nemoteno oskrbo lekarn, bolnišnic in drugih zdravstvenih in veterinarskih organizacij, ...**

Smo ljudje, ki delujejo v dobro ljudi. Že polna štiri desetletja.



Farmaceutski vestnik

STROKOVNO GLASILO SLOVENSKE FARMACIJE • PHARMACEUTICAL JOURNAL OF SLOVENIA

Š T . 5 – 6 • D E C E M B E R 2 0 1 2 • L E T N I K 6 3

Odgovorni urednik

Borut Štrukelj

Častni glavni urednik

Aleš Krbavčič

Glavna urednica

Petra Slanc Može

Uredniški odbor

Tomaž Bratkovič

Mitja Kos

Janja Marc

Andrijana Tivadar

Matjaž Tuš

Tomaž Vovk

Izdajateljski svet

Mira Abazovič

Mitja Kos

Polonca Fiala

Katja Razinger

Sonja Rupret

Tanja Šegula

Anamarija Zega

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 petkrat letno.

Letna naročnina je 70 EUR.

Za tuje naročnike 100 US\$.

Tiska: COLLEGIUM GRAPHICUM

Naklada: 3.400 izvodov

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

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

Letnik 2012 sofinancira Javna agencija za knjigo Republike Slovenije.

Življenje je lepše v barvah ...

S temi besedami začejam uvodnik v zanjo številko letošnjega leta. Od te številke dalje bo Farmaceutski vestnik tiskan v popolni barvni obliki, kar je še posebej pomembno za večjo preglednost slik in fotografij pri strokovnih prispevkih. Obenem smo uvedli nabor tematskih prispevkov za določeno indikacijsko področje. Tokrat smo izbrali osteoporozo, kateri so namenjeni trije prispevki. Prva dva so pripravili kolegi iz Katedre za klinično biokemijo pod vodstvom prof.dr. Janje Marc, tretji strokovni članek, ki sta ga pripravila dr. Igor Pravst in dr. Cirila Hlastan Ribič, pa znatno prispeva k dopolnitvi biokemijskih, fizioloških in farmakoloških podatkov o ključnih hranilih za zdravje okostja. Sledi prispevek o niklju kot pomembnem elementu za optimalno fiziološko delovanje ter članek o pomenu pluripotentne matične celice, iz katere izhajajo diferencirane celice našega organizma. V zadnjem od preglednih strokovnih člankov pa bomo osvežili spomin o pomenu rožmarinske kisline, ki se kot antioksidant in naravna protivirusna in protimikrobna učinkovina uporablja v farmaciji, kozmetiki in živilstvu.

Kljub vpeljavi barvnega tiska pa v slovenski farmaciji ni vse v barvah! Še zdaleč ne. Sedaj smo, po večletnih aktivnostih tudi največje zagovornike obstoječe zakonodaje o koncesijskem sistemu lekarniške mreže prepričali, da so apetiti lokalnih centrov moči preveliki in predvsem le delno usmerjeni v izboljšavo zdravstvenih storitev, največkrat le izgovor za bogatitev občinskih proračunov z lekarniški dobički. Potrebna bo čimprejšnja revizija zakonodaje na tem področju in prenos pravic na državni nivo. Ker pa se zakoni sprejemajo v okoljih, na katerega močno vplivajo lobisti, ki delajo za lokalni interes, ne verjamem v takojšnjo, a sicer nujno spremembo. Po drugi strani pa, če se le tistim, ki so blizu oblasti zahoče, z veliko naglico poskusijo vpeljati spremembe tja, kjer je sistem transparenten. Tako se je pojavila ideja, da Javna agencija za zdravila in medicinske pripomočke (JAZMP) ne bi bila več javna, ampak samo še Agencija za zdravila in medicinske pripomočke. Za kaj že?

Naj vam vsem, v imenu uredništva zaželim vsaj tako dobro leto 2013, kot je bilo iztekajoče. Če bomo preprečili diverzije znotraj farmacevtske stroke in strnili vrste, bo prihajajoče leto za slovensko farmacijo lahko celo uspešnejše.

Prof.dr. Borut Štrukelj
Odgovorni urednik

Vsebina

Pregledni znanstveni članki – Review scientific articles

Simona Mencej Bedrač, Barbara Ostanek, Vid Mlakar, Janja Zupan, Tomaž Kocjan, Janez Preželj, Janja Marc Sodobni pogled na nastanek osteoporoze <i>Up-to-date insight on the development of osteoporosis</i>	269
Simona Mencej Bedrač, Janja Zupan, Tomaž Kocjan, Vid Mlakar, Janez Preželj, Janja Marc, Barbara Ostanek Zdravljenje osteoporoze danes in jutri <i>Treatment of osteoporosis now and in the future</i>	279
Igor Pravst, Cirila Hlastan Ribič Ključna hranila za zdravje okostja <i>Critical nutrients in bone health</i>	290
Urban Košak, Aleš Obreza Nikelj kot pomemben element v sledovih? <i>Nickel as important trace element?</i>	297
Mojca Jež, Matija Veber, Primož Rozman Pluripotentne matične celice v embrionalnem razvoju in pri odraslem <i>Pluripotent stem cells during embryo development and in the adult</i>	305
Matej Sova Rožmarinska kislina <i>Rosmarinic acid</i>	312
<i>Novice iz sveta farmacije</i>	317
<i>Iz društvenega življenja</i>	319
60-letnica Dolenjske podružnice 6. simpozij Homeopatske sekcije	
<i>In memoriam</i>	321
<i>Letno kazalo</i>	324

Sodobni pogled na nastanek osteoporoze

Up-to-date insight on the development of osteoporosis

Simona Mencej Bedrač, Barbara Ostanek, Vid Mlakar, Janja Zupan, Tomaž Kocjan, Janez Preželj, Janja Marc

Povzetek: Ključna problema pri osteoporozi sta njena razširjenost in pozna diagnostika. Predvidevajo, da se bo število obolelih do leta 2050 podvojilo. Novejša dognanja kažejo, da razvoj osteoporoze poteka preko motenj v dveh glavnih regulatornih sistemih. Prvi, ki ga imenujemo RANKL/RANK/OPG, je ključen za nadzor osteoklastogeneze, drugi pa je signalna pot Wnt, ki ima osrednjo vlogo v osteoblastogenezi. Obstajajo dokazi, da so v patogenezo osteoporoze vpleteni tudi oksidativni stres, imunski sistem, vnetni citokini in procesi adipogeneze. Na razvoj osteoporoze vplivajo številni okoljski in genetski dejavniki. Na večino od njih nimamo vpliva, lahko pa z uravnoteženo prehrano z zadostno količino kalcija in vitamina D, redno telesno aktivnostjo, zdravim načinom življenja brez kajenja in čezmernega pitja alkoholnih pijač, pomembno zmanjšamo pojav bolezni.

Ključne besede: estrogen, RANKL/RANK/OPG, Wnt, vnetje, adipocit

Abstract: Two major problems related to osteoporosis are its high incidence and late diagnosis. It is predicted that the number of affected individuals will double till 2050. Recent findings have shown that osteoporosis develops as a consequence of imbalance in two key regulatory systems. RANKL/RANK/OPG system represents a crucial pathway involved in osteoclastogenesis, while Wnt signalling pathway plays a central role in osteoblastogenesis. In the recent years, numerous studies have shown the involvement of oxidative stress, immune system and inflammatory cytokines as well as adipogenesis in the pathogenesis of osteoporosis. The development of osteoporosis is influenced by several environmental and genetic factors. Many of them cannot be modified, but the incidence of osteoporosis can be markedly reduced by proper diet with sufficient amounts of calcium and vitamin D, regular physical activity and healthy lifestyle with no smoking and excessive use of alcohol.

Keywords: estrogen, RANKL/RANK/OPG, Wnt, inflammation, adipocyte

1 Osteoporoza - definicija in načini za diagnostiko in spremljanje

1.1 Definicija osteoporoze

Osteoporoza je s starostjo povezana degenerativna bolezen skeleta in predstavlja enega večjih zdravstvenih problemov, saj zaradi podaljševanja življenjske dobe število obolelih hitro narašča. Pri starosti 50 let je danes tveganje, da ženska bele rase do konca življenja utrpí osteoporozni zlom kolka, vretenca ali zapestja 40 – 53 %, pri moških pa je to tveganje 13 – 22 % (1-4). Predvidevajo, da se bo število osteoporoznih zlomov do leta 2050 več kot podvojilo (5). Za osteoporozo je značilna močno povečana lomljivost kosti, predvsem vretenc, kolka in zapestja, tako da do zlomov pride že ob vsakodnevnih obremenitvah (6). Vzrok za to so znižana kostna masa in spremembe v mikroarhitekturi kostnine. Zlom kolka je brez dvoma najresnejši zaplet osteoporoze z do

30 % smrtnostjo v prvem letu po zlomu (7). Verjetnost za zlom kolka pri 50-letni osebi bele rase je 14 % za žensko in 5 - 6 % za moškega (8). Kriteriji Svetovne zdravstvene organizacije (SZO) za diagnozo osteoporoze so navedeni v **preglednici 1** (9, 10).

Preglednica 1: Opredelitev osteoporoze po merilih Svetovne zdravstvene organizacije (9, 10).

Table 1: Definition of osteoporosis according to World Health Organization criteria (9, 10).

Definicija	Mineralna kostna gostota
Normalna kost	$T \geq -1 \text{ SD}$
Osteopenija	$-2,5 \text{ SD} < T < -1 \text{ SD}$
Osteoporoza	$T \leq -2,5 \text{ SD}$
Huda osteoporoza	$T \leq -2,5 \text{ SD}$ in zlom

* T: opredeljena kot razlika med izmerjeno in pričakovano MKG pri zdravi osebi v zgodnji odrasli dobi, deljeno s SD v populaciji; SD: standardna deviacija glede na najvišjo MKG mlade, zdrave odrasle osebe.

asist. dr. Simona Mencej Bedrač, mag. farm., Univerza v Ljubljani, Fakulteta za farmacijo, Katedra za klinično biokemijo, Aškerčeva cesta 7, 1000 Ljubljana
 doc. dr. Barbara Ostanek, mag. farm., Univerza v Ljubljani, Fakulteta za farmacijo, Katedra za klinično biokemijo, Aškerčeva cesta 7, 1000 Ljubljana
 asist. dr. Vid Mlakar, univ. dipl. mikrobiol., Univerza v Ljubljani, Fakulteta za farmacijo, Katedra za klinično biokemijo, Aškerčeva cesta 7, 1000 Ljubljana
 asist. dr. Janja Zupan, mag. farm., Univerza v Ljubljani, Fakulteta za farmacijo, Katedra za klinično biokemijo, Aškerčeva cesta 7, 1000 Ljubljana
 doc. dr. Tomaž Kocjan, dr. med., spec. internist, Univerzitetni klinični center, Klinika za endokrinologijo, diabetes in presnovne bolezni, Zaloška cesta 7, 1000 Ljubljana
 prof. dr. Janez Preželj, dr. med., spec. internist, Univerzitetni klinični center, Klinika za endokrinologijo, diabetes in presnovne bolezni, Zaloška cesta 7, 1000 Ljubljana
 prof. dr. Janja Marc, mag. farm., spec. med. biokem., Univerza v Ljubljani, Fakulteta za farmacijo, Katedra za klinično biokemijo, Aškerčeva cesta 7, 1000 Ljubljana

Ali ste vedeli,

- da po 35. letu starosti zdrave ženske do menopavze vsako leto izgubijo do 3 % kostne mase, osteoporozne bolnice pa med 5 – 7 %;
- da je tveganje za osteoporozni zloma kolka, vretenc ali zapestij enkrat do konca življenja pri 50 let stari ženski bele rase 40 – 53 %;
- da je zaradi osteoporoznega zloma kolka smrtnost v prvem letu po zlomu do 30 %.

1.2 Diagnostika osteoporoze

1.2.1 Slikovne metode v diagnostiki osteoporoze

Mineralna kostna gostota (MKG), ki jo lahko izmerimo z metodo dvoenergijske rentgenske absorpcionometrije (DXA, angl. dual-energy x-ray absorptiometry), močno korelira z lomljivostjo kosti v biomehanskih testih, v prospektivnih raziskavah pa predstavlja najpomembnejši posamični dejavnik tveganja za zlom pred prvim zlomom in pričetkom zdravljenja. Tveganje za zlom z nižanjem MKG eksponentno narašča (11). Ravno na osnovi teh podatkov je delovna skupina SZO zaključila, da je mogoče postaviti diagnozo in začeti z zdravljenjem osteoporoze že pred prvim zlomom, torej le na osnovi znižane MKG (9). Merjenje MKG z DXA je še vedno metoda izbora za postavitev diagnoze osteoporoze pred prvim zlomom. Primera meritev MKG vretenc in kolka z DXA pri bolnici z osteoporozo sta predstavljena na **sliki 1**.

Ker več kot polovica bolnikov, ki utрпи osteoporozni zlom, nima osteoporoze po kriterijih SZO, nas v klinični praksi danes bolj zanima bolnikovo tveganje za zlom, kot pa sama diagnoza osteoporoze na podlagi meritve MKG (12).

1.2.2 Biokemijski kazalci v krvi pri spremljanju zdravljenja osteoporoze

Z metodo DXA lahko tudi spremljamo zdravljenje osteoporoze, čeprav spremembe MKG zaznamo šele po enem letu zdravljenja ali kasneje. Na

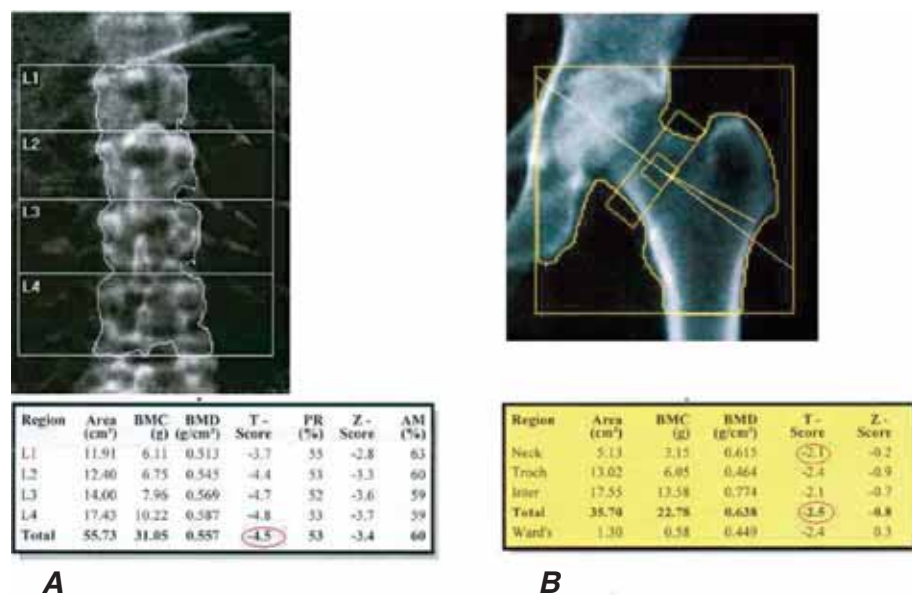
srečo se serumski biokemijski kazalci spremenijo pri uspešni terapiji že v treh do šestih mesecih po uvedbi zdravljenja. V ta namen sta strokovni združenji IOF/IFCC leta 2010 izdali priporočilo, da se kot referenčna označevalca za gradnjo oziroma razgradnjo kosti v krvi določata N-terminalni propeptid prokolagena tipa I (PINP) oz. C-terminalni telopeptid kolagena tipa I (CTX) (13). Uspešno zdravljenje z anti-resorptivom mora znižati vrednost CTX za vsaj 25%, teriparatid pa zvišati PINP za vsaj 25% glede na začetno meritev (14).

1.2.3 Orodje za izračun tveganja za osteoporozni zlom

V zadnjem času se je razširila uporaba novega orodja za izračun tveganja za osteoporozni zlom FRAX (angl. Fracture Risk Assessment Tool), kjer za napovedovanje 10-letnega tveganja za klinični zlom vretenca, podlahti, kolka ali nadlahtnice pri pomenopavznih ženskah in moških po 50. letu poleg meritve MKG lahko upoštevamo še druge od MKG neodvisne dejavnike tveganja za zlom, kot so starost, spol, telesna masa in višina, predhodni zlomi pri preiskovancu, zlom kolka pri starših, kajenje in pretirano uživanje alkohola, kronično zdravljenje z glukokortikoidi, prisotnost revmatoidnega artritisa in drugih vzrokov za sekundarno osteoporozo (15, 16, 17). Na **sliki 2** je predstavljen primer izračuna 10-letnega tveganja za štiri glavne osteoporozne zlome in posebej za zlom kolka.

Ali ste vedeli:

- da s slikanjem z DXA izmerimo MKG in omogočimo diagnostiko osteoporoze že pred prvim zlomom;
- da so za oceno in spremljanje zdravljenja bolj uporabne krvne preiskave (CTX, PINP);
- da z uporabo programa FRAX lahko napovemo tveganje za osteoporozne zlome.



Slika 1: Meritev mineralne kostne gostote (MKG) ledvenih vretenc (A) in kolka (B) z DXA pri bolnici z osteoporozo. Na področju ledvenih vretenc upoštevamo MKG vretenc L1-L4 (A), pri kolku pa MKG celotnega kolka in MKG vratu stegenice (B). Diagnostično pomembne vrednosti T so označene z rdečo, interpretiramo pa jih v skladu s preglednico 1.

Figure 1: Measurement of bone mineral density (BMD) of lumbar spine (A) and hip (B) in osteoporotic patient with DXA. We should consider BMD of L1-L4 (A) and of total hip and femoral neck. Diagnostically important T-scores are encircled with red and should be interpreted according to Table 1.



Slika 2: Izračun 10-letne verjetnosti za štiri glavne osteoporozne zlome, ki je pri tej bolnici 17 %, in za osteoporozni zlom kolka, ki je 1,5 %. Orodje FRAX je prosto dostopno na povezavi <http://www.shef.ac.uk/FRAX/>. Ker kvalitetni epidemiološki podatki za Slovenijo niso na voljo, za izračun tveganja za osteoporozni zlom uporabljamo verzijo FRAX za Veliko Britanijo.

Figure 2: The calculation of 10-year probability for 4 major osteoporotic fractures and hip fracture for a female patient gives the probability of 17% and 1.5%, respectively. FRAX Calculation Tool is freely available at <http://www.shef.ac.uk/FRAX/>. As high quality epidemiological data for Slovenia are not available, United Kingdom version of FRAX is used for the osteoporotic fracture probability calculation.

2 Kostna prenova

V kostnem tkivu vse življenje poteka dokaj intenziven biokemijski proces kostne preнове ali kostne remodelacije, v katerem se staro kostno tkivo zamenjuje z novim, da se ohranjajo določene lastnosti npr. prožnost kosti. V procesu kostne preнове se kostnina najprej razgradi, takoj nato pa nadomesti z enako količino novo sintetizirane kostnine. Razmerje med razgradnjo (resorpcijo) kostnine in gradnjo (formacijo) kostnine se tekom življenja fiziološko spreminja: v otroški dobi je gradnja večja od razgradnje kostnine, v obdobju med 25. in 35. letom starosti sta oba procesa v ravnovesju, po 35. letu pa vstopimo v obdobje upadanja kostne mase, kjer je razgradnja bolj intenzivna kot gradnja nove kostnine (**slika 3**). Vsako leto naj bi se zamenjalo 5 do 10 % kostnine, kar pomeni, da obnova celotnega skeleta traja vsaj 10 let (10).

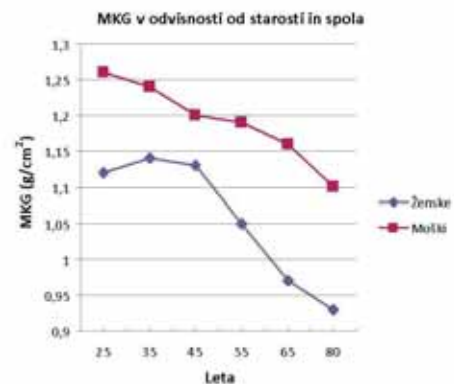
V procesu kostne preнове sta ključni dve vrsti celic: osteoklasti, ki so odgovorni za razgradnjo kosti, in osteoblasti, ki gradijo kostnino. Obe celični vrsti sta medsebojno povezani v tako imenovano kostno remodelacijsko enoto. Enota vsebuje še centralno žilno kapilaro in je oživčena. Ugotovili so, da naj bi bilo v določenem trenutku aktivnih cca. 35 milijonov kostnih remodelacijskih enot, torej mest na kostnih površinah, kjer se vrši kostna prenova, ki poteka v več fazah (**slika 4**):

A. mirovanje in aktivacija – neaktivni ploščati osteoblasti (>lining cells<>) pokrivajo kostnino in se ob ustreznem stimulusu razmaknejo, tako da se izpostavi kostna površina;

B. privabljanje osteoklastov in razgradnja (resorpcija) kostnine – razgaljena kost kemotaktično privabi osteoklaste, osteoklasti se prilepijo na kostno površino in začnejo razgrajevati kost, kar lahko traja do 12 dni;

C. preobrat in privabljanje osteoblastov– osteoklasti se odmaknejo iz erozijske lakune, v njo pa se naselijo mononuklearni fagociti, ki očistijo nastalo lakuno in izgradijo cementno plast, kemoatraktanti privabijo osteoblaste, ki se diferencirajo in aktivirajo;

D. sinteza kostnega matriksa in mineralizacija - osteoblasti sintetizirajo kolagen in druge proteine novega osteoida, kar traja od 1 do 2 tednov; po sintezi osteoida se prične mineralizacija, pri kateri sodelujeta encima alkalna fosfataza in osteokalcin. V tej fazi se osteoblasti sploščijo in pride do primarne mineralizacije, kar lahko traja do 3 mesece. Del osteoblastov ostane ujet v kostnem matriksu in se pretvori v osteocite.

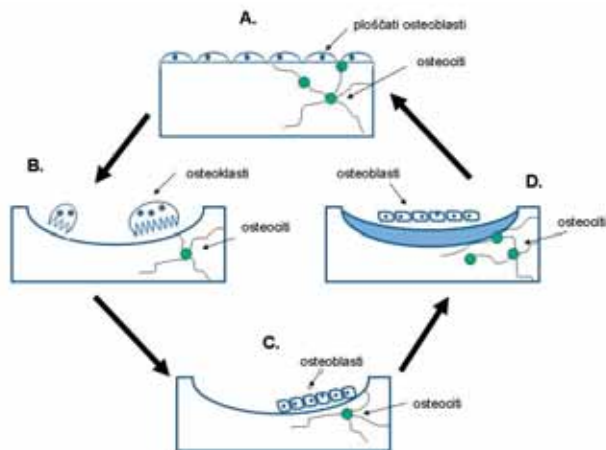


Slika 3: Mineralna kostna gostota (MKG) v odvisnosti od starosti in spola. Vidimo, da moški dosežejo maksimalno MKG do 30. leta nato pa se jim MKG linearno zmanjšuje. Ženske po drugi strani dosežejo maksimalno MKG do 35. leta, nato pa se jim MKG linearno zmanjšuje do menopavze, ko začne pospešeno upadati, padanje pa se po 5 letih v menopavzi zmanjša. Podatki hkrati kažejo, da imajo moški v povprečju večjo MKG kot ženske (18).

Figure 3: Bone mineral density (BMD) is dependent on age and gender. Men reach peak BMD at the age of 30 and after that their BMD decreases linearly. Women reach their peak BMD at the age of 35, after that their BMD decreases at the same rate till menopause. After the menopause, BMD starts to decline rapidly and slows down after 5 years. In general, men have higher BMD than women (18).

Uravnavanje intenzivnosti celotnega procesa kostne preнове poteka na več nivojih preko uravnavanja aktivnosti in števila osteoblastov in osteoklastov. Uravnava se lahko lokalno ali sistemsko. Sistemski regulatorji so hormoni (kalcitriol, rastni hormoni, paratiroidni hormon (PTH), kortikosteroidi, ščitnični hormoni in spolni hormoni). V lokalno regulacijo pa so vpleteni citokini, rastni in diferenciacijski dejavniki, kot sta osteoprotegerin (OPG) in ligand receptorja za aktivacijo jedrnega dejavnika κ B (RANKL) (19-21). Prav na tem nivoju so novejšje študije pokazale, da pomembno vlogo pri uravnavanju procesa kostne preнове igrajo osteociti, ki izvirajo iz osteoblastov, ujetih v kostnem tkivu.

Pokazano je bilo, da osteociti odločilno vplivajo na nivoje signalne molekule RANKL. Ta je nujno potrebna za dozorevanje osteoklastov, ki nato razgrajujejo kosti. Raziskave hkrati kažejo, da so osteociti odzivni tudi na PTH, ki naj bi moduliral osteocitno izražanje prej omenjenega diferencijskega dejavnika RANKL. Vse to postavlja osteocite v vlogo osrednjih regulatorjev, ki določajo število kostnih remodelacijskih enot in uravnavajo hitrost kostne razgradnje in gradnje znotraj le-teh (22). Ti dejavniki so pomembni za pravilno delovanje in sestavo kostne remodelacijske enote ter s tem za sklopitev procesov razgradnje in gradnje kostnine.



Slika 4: Proces kostne preнове, ki vključuje 4 stopnje: mirovanje in aktivacija (A), razgradnja kostnine (B), preobrat in privabljanje osteoblastov (C) ter gradnjo kostnine in mineralizacijo (D).

Figure 4: Bone remodelling process enclodes 4 stages: quiescence and activation (A), bone resorption (B), reversal and recruitment of osteoblasts (C), and bone formation and mineralization (D).

3 Uravnavanje procesa kostne preнове

Poznavanje mehanizmov, ki delujejo sistemsko ali na lokalnem nivoju ter uravnavajo delovanje kostnih celic in posledično celoten proces kostne preнове, je za farmacevte pomembno. Predstavlja namreč osnovo za iskanje novih terapevtskih prijemališč in na ta način usmerja razvoj zdravil za zdravljenje osteoporoze. V nadaljevanju bodo predstavljena predvsem najnovejša dognanja na področju patofizioloških mehanizmov razvoja osteoporoze.

3.1 Vloga estrogenov in reaktivnih kisikovih spojin v kostnem tkivu

Že zelo dolgo je znano, da estrogeni močno vplivajo na kostno preново, saj po eni strani zavirajo kostno razgradnjo in po drugi strani pospešujejo delovanje osteoblastov. Svoje učinke posredujejo preko vezave na estrogenska receptorja (ER) dveh tipov, α in β , ki sta produkta dveh različnih genov. V organizmu imata ER α in ER β podobno, vendar ne identično tkivno porazdelitev, njuna natančna vloga v različnih tkivih pa je predmet intenzivnih raziskav, ki kažejo, da imata receptorja različni in nezamenljivi vlogi. Izražanje nekaterih genov uravnavata oba bodisi

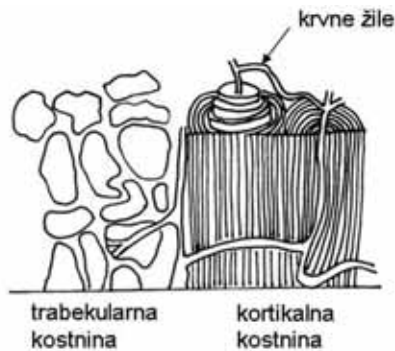
sinergistično bodisi antagonistično, medtem ko je uravnavanje izražanja nekaterih genov posledica učinka le preko enega od obeh tipov receptorjev (23, 24). V kosteh se oba izražata v vseh treh vrstah kostnih celic in tako posredujeja učinke estrogenov, vendar naj bi bili za učinke estrogenov v kosteh bolj pomembni ER α (24, 25).

Kot vsi steroidni hormoni, delujejo tudi estrogeni na dva načina. Poleg »klasičnega« genomskega, poznamo tudi pri estrogenih t.i. nengenomski način. Pri genomskem delovanju se estrogeni po vezavi na svoj receptor v citoplazmi v tem kompleksu premaknejo v jedro, kjer kompleks deluje kot transkripcijski dejavnik, torej uravnava izražanje svojih tarčnih genov npr. OPG, alkalne fosfataze, katepsina K in na tartrat rezistentne kisle fosfataze (26). Uravnavanje je lahko neposredno preko vezave kompleksa estrogeni-ER na zaporedja DNA v teh genih, ki se imenujejo »na estrogene odzivni elementi«. Pri genih, ki teh zaporedij nimajo, pa je vpliv na transkripcijo posreden, preko interakcije kompleksa z različnimi transkripcijskimi dejavniki, ki se nato vežejo na svoja vezavna mesta na DNA. Danes vemo, da je ravno aktivacija tarčnih genov, odgovornih za proliferacijo celic na opisan način, glavni mehanizem kancerogeneze pri nekaterih vrstah hormonsko odzivnih rakavih obolenj npr. določenem tipu raka dojke. Pri nengenomskem načinu delovanja estrogenov gre za hitre učinke, ki so pogosto povezani z aktivacijo različnih protein-kinaznih kaskad. Zanje so najverjetneje odgovorni ER, ki se nahajajo na celični membrani in ne v citoplazmi (23).

Glavni učinki estrogenov na kosti so:

- zaviranje nastanka novih kostnih remodelacijskih enot, najverjetneje preko zmanjšane apoptoze osteocitov. Natančen mehanizem ni poznan, študije pa kažejo na pomen interakcije med estrogeni in signalno potjo Wnt;
- zmanjševanje kostne razgradnje. Estrogeni zavirajo diferenciacijo in pospešujejo apoptozo osteoklastov. To dosežejo preko signalne poti OPG/RANKL/RANK in preko zmanjšanja sinteze TNF α in ostalih proresorptivnih citokinov (opisano v poglavjih 3.2 in 3.5). Pomembno vlogo pri posredovanju učinkov estrogenov imajo verjetno tudi limfociti T;
- vzdrževanje gradnje kosti. Estrogeni usmerjajo mezenhimske matične celice v razvoj osteoblastov na račun adipocitov, spodbujajo diferenciacijo in preprečujejo apoptozo osteoblastov (opisano v poglavju 3.6) (27, 28).

Po enotnem modelu patofiziologije osteoporoze iz leta 1998 naj bi pomanjkanje estrogenov predstavljalo najpomembnejši vzrok za razvoj osteoporoze pri pomenopavznih ženskah in tudi za zmanjševanje kostne mase pri starejših moških. Novejše raziskave, pri katerih so s pomočjo kvantitativne računalniške tomografije ločeno opazovali spremembe kortikalne in trabekularne kostnine, pa so pokazale, da to drži predvsem za kortikalno kostnino. Kortikalna ali kompaktna kostnina je razporejena laminarno v tesnih koncentričnih plasteh na zunanjem obodu posameznih kosti in zajema preko 80 % celotne mase kostnine. Sredico posameznih kosti, npr. dolgih kosti pa tudi vretenc in kolka pa sestavlja »spužvasta« ali trabekularna kostnina (slika 5). Zaradi velike specifične površine trabekularne kostnine je kostna prenova tukaj mnogo bolj intenzivna in zato se motnje v tem procesu na tem delu kostnega tkiva mnogo bolj izrazijo kot v kortikalnem delu kostnega tkiva. Vendar pa novi podatki dokazujejo, da je kortikalna kostnina glavna determinanta kostne trdnosti in odpornosti proti zlomu. Vse kaže, da je kvaliteta in kvantiteta kortikalne kostnine bolj povezana z zlomi kot trabekularna kostnina.



Slika 5: Zgradba kosti – kortikalna in trabekularna kostnina (29).

Figure 5: Structure of bone – cortical and trabecular bone (29).

Zato so se začele raziskave na področju osteoporoze usmerjati v proučevanje biokemijskih procesov tudi v kortikalni kosti. Zelo kmalu so ugotovili so, da začetek upada kortikalne kostnine sovпада z nastopom menopavze pri ženskah. Nasprotno pa se upad trabekularne kostnine prične že v tretji dekadi življenja, ko so koncentracije estrogenov še visoke. Vsekakor pa se njen upad po nastopu menopavze pospeši. To kaže, da je izguba velikega dela trabekularne kostnine bodisi neodvisna od estrogenov, oziroma da so za njeno ohranitev potrebne bistveno višje koncentracije estrogenov od fizioloških. Ena izmed možnih razlag za različen vpliv estrogenov na kortikalno in trabekularno kostnino je v tem, da osteoblasti in osteociti v kortikalni kosti izražajo predvsem ER α , v trabekularni pa poleg ER α tudi signifikanten delež ER β . Tako bi lahko bili heterodimeri ER α / β v trabekularni kostnini odgovorni za njeno manjšo občutljivost na estrogene (28, 30).

Pred skoraj 20 leti so prvič prospektivno preučevali vpliv staranja na zlome neodvisno od MKG in ugotovili, da je pri enaki MKG tveganje za zlom pri 20 let starejši osebi kar 4-krat večje (31). Res je, da se s starostjo zmanjšujejo mnoge telesne funkcije (npr. nevro-muskularna funkcija), ki vplivajo na pogostost zlomov, vendar se s starostjo spreminja tudi samo kostno tkivo. Pokazali so, da se s starostjo v kosteh kopičijo reaktivne kisikove spojine, kar vodi v aktivacijo osteoklastogeneze in povečanje apoptoze osteoblastov. Na ta način lahko pojasnimo izgubljanje kostne mase že pred menopavzo. Zmanjšanje koncentracije estrogenov (in tudi androgenov pri moških) po menopavzi še poveča izgubljanje kostnine, saj imajo estrogeni in androgeni tudi antioksidativne lastnosti in pred menopavzo ščitijo kost pred oksidativnim stresom (32).

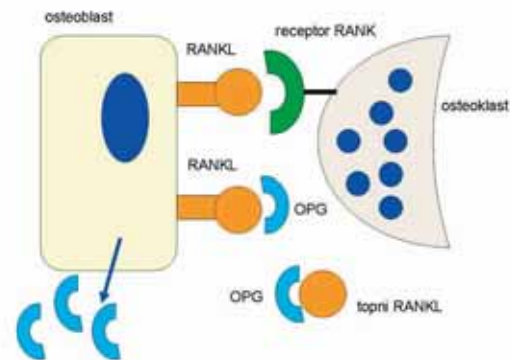
Ali ste vedeli,

- da se z menopavzo zaradi pomanjkanja estrogenov močno zmanjša kortikalna kostnina, medtem ko se upad trabekularne kostnine prične že v tretji dekadi življenja, ko so koncentracije estrogenov še visoke in se v menopavzi le pospeši;
- da je izgubljanje kostne mase tudi posledica staranja in kopičenja reaktivnih kisikovih spojin v kostnem tkivu.

3.2 Sistem RANKL/RANK/OPG

Dolga leta nazaj so bili prepričani, da so glavne celice, ki uravnavajo kostno premeno, osteoklasti. Dokazovali so, da je sinteza nove kostnine z osteoblasti določena z intenzivnostjo osteoklastne razgradnje kosti, saj

je glavna naloga osteoblastov zapolnitev celotnega volumna erozijske lakune z na novo sintetiziranim matriksom. Z odkritjem regulatornega sistema RANKL/RANK/OPG pa je postalo jasno, da je delovanje osteoklastov pod nadzorom osteoblastov. Osteoblasti namreč izločajo ligand receptorja za aktivacijo jedrnega dejavnika κ B (RANKL; angl. receptor activator of nuclear factor κ B ligand) in osteoprotegerin (OPG). RANKL se veže na receptor za aktivacijo jedrnega dejavnika κ B (RANK; angl. receptor activator of nuclear factor κ B) na membrani osteoklastov ter povečata število in aktivnost osteoklastov (33). OPG je topni receptor za RANKL in z RANK tekmuje za vezavo na RANKL ter tako inhibira delovanje RANKL (34, 35). Na ta način osteoblasti, ki so sicer odgovorni za sintezo novega kostnega matriksa, uravnavajo tudi kostno razgradnjo, kar jih postavlja v središče regulacije celotne kostne preнове (slika 6).



Slika 6: Sistem RANKL/RANK/OPG.

RANKL: ligand receptorja za aktivacijo jedrnega dejavnika κ B;
RANK: receptor za aktivacijo jedrnega dejavnika κ B;
OPG: osteoprotegerin.

Figure 6: RANKL/RANK/OPG system.

RANKL: receptor activator of nuclear factor κ B ligand;
RANK: receptor activator of nuclear factor κ B; OPG: osteoprotegerin.

RANKL je poleg makrofagnega kolonije stimulirajočega dejavnika (M-CSF) nujen dejavnik za razvoj osteoklastov iz hematopoetskih matičnih celic, iz katerih se v kostnem mozgu razvijajo mononuklearne celice monocitno-makrofagne linije. Te najverjetneje po mehanizmu kemotakse prehajajo na mesta razgradnje kostnine, kjer se vežejo na kostni matriks in se pod vplivom RANKL in M-CSF diferencirajo do večjedrnih zrelih osteoklastov (36, 37).

V človeškem telesu se RANKL nahaja kot transmembranski protein ali kot topna oblika proteina (38). RANKL nima pomembne vloge samo pri diferenciaciji osteoklastov, pač pa je tudi modulator delovanja in preživetja osteoklastov (39-42). Sistem RANKL/RANK/OPG sodeluje predvsem pri uravnavanju nastajanja in delovanja osteoklastov, pri preživetju in aktivaciji dendritičnih celic, aktivaciji celic T, razvoju limfatičnega sistema in mlečnih žlez, diferenciaciji celic B ter pri termoregulaciji pri ženskah in zvišanju telesne temperature pri vnetju (43).

Kmalu po odkritju sistema RANKL/RANK/OPG so v njem prepoznali obetavne tarče za razvoj novih, predvsem bioloških zdravil, saj se je pri miših brez genov za RANK ali RANKL razvila osteopetroza zaradi popolne odsotnosti osteoklastov (44-46). Poleg tega se je pri miših brez gena za OPG že zgodaj razvila osteoporoza zaradi povečane

diferenciacije osteoklastov (34). Ker je sistem RANKL/RANK/OPG ključen v procesu osteoklastogeneze, bi lahko z delovanjem na ta sistem vplivali tudi na razvoj osteoporoze.

Ali ste vedeli,

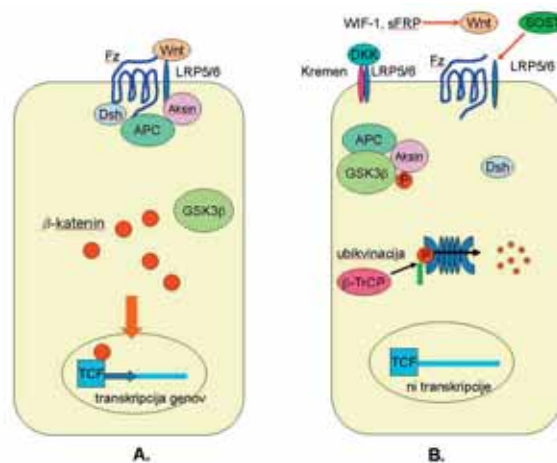
- da je sistem RANKL/RANK/OPG glavni regulator nastajanja in delovanja osteoklastov in s tem tudi kostne razgradnje;
- da je prvo biološko zdravilo na področju zdravljenja osteoporoze denosumab protitelo proti RANKL;
- da osteoblasti izločajo RANKL in OPG ter tako nadzorujejo osteoklaste.

3.3 Vloga signalne poti Wnt in serotonina

Z razvojem učinkovitih postopkov kultiviranja osteoblastov in po ugotovitvi njihove osrednje vloge v kostni prenovi so se raziskave na osteoblastih zelo razširile. Raziskovalci so preučevali pglavlitne regulatorne sisteme, vpletene v nastajanje in aktivnost osteoblastov, ter skušali odkriti ključne molekule pri uravnavanju kostne tvorbe. Kmalu so ugotovili, da ima pri tem pomembno vlogo signalna pot Wnt (47). Kostna masa se po aktivaciji signalne poti Wnt povečuje preko različnih mehanizmov npr. preko indukcije osteoblastogeneze, povečanja proliferacije in preživetja preosteoblastov in nezrelih osteoblastov ter preko inhibicije apoptoze osteoblastov in osteocitov (47). Na **sliki 7** je shematsko predstavljena signalna pot Wnt.

Pokazali so tudi, da signalna pot Wnt negativno vpliva na nastajanje osteoklastov. β -katenin se namreč veže na transkripcijske dejavnike TCF/LEF1 v jedru, ti pa povečajo izražanje gena za OPG. Nastali OPG se veže na RANKL in tako zavira osteoklastogenezo (49, 50).

Nedavno so znanstveniki prišli do presenetljivega odkritja o vlogi serotonina pri uravnavanju kostne mase. Raziskave na tem področju so se začele, ko so dokazali izražanje serotoninskih receptorjev na membrani osteoblastov ter negativen vpliv serotonina na gradnjo kosti. Rezultati raziskav nakazujejo, da LRP5 (angl. low-density lipoprotein receptor-related protein 5), ki je pomemben igralec v signalni poti Wnt, preko še neznanega mehanizma inhibira triptofan hidrolazo 1, ki je vpletena v nastajanje serotonina iz triptofana. Serotonin, ki nastaja v enterokromafinih celicah dvanajstnika in se sprošča v krvi obtok, se veže na receptor Htr1b na površini osteoblastov, kar povzroči zmanjšano izražanje Creb in ciklina ter zmanjšano proliferacijo osteoblastov in gradnjo kosti (51). Po drugi strani pa serotonin, ki nastaja v osrednjem živčnem sistemu in ne prehaja krvno-možganske bariere, prav tako vpliva na kostnino. Dokazali so namreč, da serotonin v možganih lahko inhibira sintezo adrenalina in zmanjša tonus simpatika, kar zmanjša signalizacijo preko adrenergičnih receptorjev β_2 , ki so prav tako na površini osteoblastov. Opisani mehanizem vodi do povečanja proliferacije osteoblastov in gradnje kosti ter do zmanjšanja kostne razgradnje preko zmanjšanja sinteze RANKL (52). Raziskave trenutno kažejo, da si periferni in centralni učinki serotonina na kostno tkivo nasprotujejo, saj serotonin iz črevesja zmanjšuje kostno tvorbo, medtem ko serotonin v možganih preko zaviranja simpatika povečuje gradnjo kosti in zmanjšuje njeno razgradnjo.



Slika 7: Signalna pot Wnt. A. Signalna pot Wnt se aktivira z vezavo proteina Wnt na receptorski kompleks LRP 5/6 (angl. low-density lipoprotein receptor-related protein 5/6) in proteina Fz (angl. Frizzled), kar v celici vodi do fosforilacije citoplazemskega dela LRP 5/6 in nastanka vezavnega mesta za aksin. Na aksin se vežeta še APC (angl. adenomatous polyposis coli) in Dsh (angl. Disheveled), kar onemogoči nastanek kompleksa APC/aksin/GSK3 β (angl. glycogen synthase kinase 3 β). Na ta način je inhibirana aktivnosti GSK3 β ter njena sposobnost fosforilacije β -katenina, kar vodi do njegovega kopičenja v citoplazmi. β -katenin zato prehaja v jedro, kjer preko vežave na transkripcijske dejavnike TCF/LEF1 sproži izražanje tarčnih genov, večjo proliferacijo osteoblastov in tvorbo kostnine (44). B. Signalno pot Wnt lahko inhibiramo na 3 načine: 1) z dejavnikoma WIF-1 (angl. Wnt inhibitory factor) in sFRP (angl. secreted frizzled-related protein), ki se vežeta neposredno na Wnt in preprečita njegovo vezavo na LRP 5/6 in Fz; 2) preko proteina Dickkopf 1 (DKK1), ki poveže LRP 5/6 in receptor Kremen, kar vodi do endocitoze tega kompleksa; ter 3) preko sklerostina (SOST), ki se veže na LRP5/6 in prepreči aktivacijo z Wnt (48).

Figure 7: Wnt signaling pathway. A. Wnt signaling pathway is activated by Wnt binding to its receptors LRP 5/6 (low-density lipoprotein receptor-related protein 5/6) and Fz (Frizzled), leading to phosphorylation of the cytoplasmic tail of LRP 5/6 and formation of docking site for axin. APC (adenomatous polyposis coli) and Dsh (Disheveled) form a complex with axin, thus preventing the formation of APC/axin/GSK3 β (glycogen synthase kinase 3 β) complex. The GSK3 β activity and its capability of phosphorylation is inhibited leading to the accumulation of β -catenin in the cytoplasm. β -catenin enters the nucleus, binds to TCF/LEF1 transcription factors and triggers the expression of target genes, leading to the increased osteoblast proliferation and bone formation (44). B. Wnt signaling pathway could be inhibited: 1) by WIF-1 (Wnt inhibitory factor) and sFRP (secreted frizzled-related protein), binding to Wnt and prevent Wnt binding to LRP 5/6 and Fz; 2) by DKK1 (Dickkopf 1) that recruits LRP 5/6 and Kremen into complexes, the complexes are internalized; and 3) by SOST (sclerostin) that binds to LRP5/6 and prevents the activation with Wnt (48).

Ali ste vedeli,

- da je signalna pot Wnt glavni regulator nastajanja in delovanja osteoblastov, to je celic, ki gradijo kostnino;
- da je signalna pot Wnt pomembna tudi v procesu kancerogeneze različnih tumorjev npr. na debelem črevesju, itd.;
- da že poteka razvoj drugega biološkega zdravila, ki je protitelo proti SOST.

3.5 Vloga vnetja pri nastanku osteoporoze

Povezava med vnetjem kot nespecifičnim imunskim odzivom in izgubo kostnine je bila že dolgo znana pri revmatoidnem artritisu (RA) in zdravljenju z glukokortikoidi (53). Zanimivo je, da so se pred kratkim začeli pojavljati tudi dokazi o vlogi vnetja in vnetnih citokinov v patogenezi kostnih bolezni, ki tradicionalno niso veljale za vnetne bolezni, kot je npr. osteoporoza (54-56). S starostjo povezane spremembe v koncentraciji in izražanju vnetnih mediatorjev naj bi imele vpliv na izgubo kostne mase pri starejših. Osteoimunologija je relativno mlada veda o kompleksnih interakcijah med kostnimi in imunskimi celicami, ki se dogajajo v kostnem mikrookolju preko skupnih molekul, kot so citokini, kemokini, rastni in transkripcijski dejavniki ter signalne molekule. Termin osteoimunologija se je prvič pojavil leta 2000 (57), njeni začetki pa segajo že v leto 1972, ko je Horton s sodelavci v supernatantu stimuliranih humanih levkocitov odkril nov dejavnik, ki je bil sposoben kostne razgradnje *in vitro* (58). V fizioloških pogojih je aktivnost osteoklastov natančno uravnana z delovanjem sistemskih in lokalnih dejavnikov. V patoloških stanjih, ki privedejo do pretirane aktivacije imunskega sistema in sproščanja vnetnih citokinov, pa se njihova aktivnost iztiri (59). Na grobo lahko vnetne citokine razdelimo na osteoklastogene, ki stimulirajo osteoklaste, in anti-osteoklastogene, za katere so bili dokazani nasprotni, zaviralni učinki na osteoklaste. Po trenutnih dokazih uvrščamo vnetne citokine, kot so IL-1, IL-6, IL-8, IL-11, IL-17 in TNF- α , med osteoklastogene (slika 8), medtem ko imajo IL-4, IL-10, IL-13, IL-18, IFN- γ in IFN- β dokaze o anti-osteoklastogenem delovanju (60). Dokazi na področju prepletenosti kostnega in imunskega sistema z intenzivnim razvojem osteoimunologije naraščajo (61-63) in posegajo tudi v razlago patogeneze pomenopavzne osteoporoze. Ker endokrinološka razlaga ne razloži patogeneze osteoporoze v celoti, osteoimunologija predlaga odgovor v vplivu aktiviranih limfocitov T in vnetnih citokinov, kot so TNF- α , IL-1, IL-6, IL-7 in IFN- γ na pospešeno kostno razgradnjo po menopavzi (64, 65). Pomenopavzne osteoporozne ženske imajo zvišane tako sistemske (66-68) kot tudi lokalne koncentracije IL-1, TNF- α in IL-6 v kostnem mozgu (69). Kostne celice pomenopavznih žensk brez terapije izražajo večje količine IL-1, TNF α in IL-6 kot kostne celice žensk na estrogenski nadomestni terapiji (68). Pokazali so tudi, da serumske vrednosti IL-6 prispevajo do 34 % k celokupni variabilnosti v MKG v prvih letih po menopavzi (71). Inhibicija TNF- α in IL-1 je zmanjšala kostno razgradnjo pri pomenopavznih osteoporoznih ženskah (72). Pomenopavzne osteoporozne ženske imajo tudi večjo aktivnost limfocitov T kot njihove zdrave vrstnice. Limfociti T naj bi prispevali k zvečani osteoklastogenezi na dva načina: 1) z zvečanim sproščanjem TNF- α in RANKL, in 2) z zvečanjem števila osteoklastnih predhodnikov (73). Pri bolnikih z osteoporoznim zlomom so dokazali zvečano izražanje genov za IL-1 α , IL-6, RANKL/OPG in zmanjšano izražanje IFN- γ (73, 74). Kanadska multicentrična študija je dokazala, da imajo pomenopavzne ženske, ki

se zdravijo z COX-2 inhibitorji in niso zdravljenje z estrogeni, zvišano MKG (75).



Slika 8: Vpliv osteoklastogenih vnetnih citokinov na zvečano aktivnost osteoklastov v kostnem tkivu.

Figure 8: The influence of the osteoclastogenic pro-inflammatory cytokines on enhanced activity of the osteoclasts in bone tissue.

Ali ste vedeli,

- da osteoimunologija raziskuje povezavo med celicami imunskega in kostnega sistema ter pomaga pri razlagi vnetne komponente kostnih bolezni, kot je osteoporoza.

3.6 Vloga adipogeneze pri razvoju osteoporoze

Popolnoma nove so tudi raziskave na področju učinkov adipogeneze t.j. nastajanja maščobnih celic v kostnem mozgu in njihove vpletenosti v patogenezo osteoporoze. Adipogeneza je vzbudila zanimanje zaradi dejstva, da s staranjem začnejo adipociti nadomeščati osteoblaste. Zanimivo je, da je ta proces bolj izrazit pri bolnikih z osteoporozo (76, 77). Te ugotovitve navajajo na sklep, da bi osteoporoza lahko bila povezana s procesom adipogeneze. Temu v prid govori dejstvo, da se adipociti in osteoblasti razvijejo iz skupne (mezenhimske) matične celice. Receptor, aktiviran s proliferatorjem peroksisomov γ (PPAR γ) je ključni dejavnik, ki usmerja diferenciacijo mezenhimskih matičnih celic v adipocitno vrsto in mišji modeli so v raziskavah po aplikaciji rosiglitazona (agonist PPAR γ) pokazali zmanjšano kostno gostoto (78). Ugotovili so tudi, da dolgotrajno zdravljenje bolnic z diabetesom tipa 2 z agonisti PPAR γ poveča tveganje za zlome (76, 79).

4 Dejavniki tveganja in preventiva osteoporoze

Osteoporoza je kronična sistemska bolezen okostja, ki se pojavi s starostjo. Za kronične bolezni je značilno, da potekajo počasi in dolgotrajno, ko pa bolezen odkrijemo, so organi oz. tkiva že močno in

običajno ireverzibilno okvarjeni. Zato je pri kroničnih boleznih izjemno pomembna zgodnja diagnostika, predvsem pa uspešna preventiva. Obe sta odvisni od prepoznavanja dejavnikov tveganja za razvoj bolezni pri posamezniku. Dejavnike tveganja za razvoj osteoporozne in osteoporozni zlom lahko razdelimo na genetske (80) in negenetske, slednje pa lahko razdelimo na tiste, na katere sami lahko vplivamo, in na tiste, na katere nimamo vpliva (**Preglednica 2**).

Preglednica 2: Dejavniki tveganja za osteoporozni zlom (81).

Table 2: Risk factors for osteoporotic fracture (81).

Dejavniki, na katere nimamo vpliva	Dejavniki, na katere lahko vplivamo
Zenski spol	Nizek indeks telesne mase
Starost	Kajenje
Zgodnja menopavza	Prekomerno uživanje alkohola
Bela rasa	Fizična neaktivnost
Družinska anamneza osteoporozne	Nezadosten vnos kalcija in vitamina D

Največ lahko za preventivo osteoporozne naredimo v starosti do 30. leta z uravnoteženo prehrano (vsaj 1000 mg kalcija in 800 enot vitamina D dnevno), redno telesno aktivnostjo in splošnim zdravim načinom življenja brez kajenja in čezmernega pitja alkoholnih pijač. Pozneje so najbolj ogroženi posamezniki s predhodnim osteoporoznim zlomom, ki je definiran kot nizkoenergetski zlom, kar pomeni npr. zlom kolka zaradi padca s stojne višine (82). Tak zlom kolka ali vretenca že zadošča za diagnozo osteoporozne, ki jo je potrebno zdraviti. Leta 2012 smo dobili nacionalna priporočila za zdravljenje zloma kolka (7). Takoj po zlomu moramo pri teh bolnikih (če serumski kalcij ni zvišan) zapolniti zaloge vitamina D z 2000 enot (50 ug) holecalfiferola dnevno ali 14.000 enot tedensko, po mesecu dni pa naj bolnik nadaljuje zdravljenje s polovičnim odmerkom. Če kalcij ni povišan, pa morajo ti bolniki zaužiti še 1200 mg kalcija na dan. Osteoporozna je tako značilen dejavnik tveganja za nizkoenergetski zlom, vendar je potrebno razlikovati med dejavniki, ki vplivajo na presnovo kosti, in dejavniki tveganja za zlom (kvaliteta vida, nagnjenost k padcem, mišična moč itd.) (83). Sekundarni vzroki za osteoporozo so dokazani za naslednja klinična stanja: anoreksija nervosa, kronična jetrna bolezen, celiakija, hiperparatiroidizem, vnetna črevesna bolezen, hipogonadizem, ledvična bolezen, revmatoidni artritis, dolgotrajno jemanje glukokortikoidov, pomanjkanje vitamina D. Pri teh stanjih se lahko osteoporozna pojavi kot dodaten zaplet in jo je prav tako potrebno zdraviti oz. preprečevati.

Slovenski bolniki z osteoporozo so organizirani v regionalnih društvih, ki so povezana v Zvezo društev bolnikov z osteoporozo, v okviru katere so izdali tudi publikacijo, ki pomaga bolnikom z informacijami o sami bolezni ter z nasveti o zdravem življenjskem slogu (predvsem gibanju in prehrani) (84).

Ali ste vedeli,

- da je osteoporozna pomemben dejavnik tveganja za nizkoenergetski zlom;
- med dejavniki tveganja ločimo tiste, ki vplivajo na presnovo kosti, in dejavniki tveganja za zlom, kot so kvaliteta vida, nagnjenost k padcem, mišična moč itd.

4.1 Genetska nagnjenost k osteoporozni

Raziskave na enojajčnih in dvojajčnih dvojčkih ter družinah z osteoporozo so dokazale močan genetski vpliv na razvoj osteoporozne. V zadnjih skoraj 20 letih so raziskovalci tudi na Katedri za klinično biokemijo, Fakultete za farmacijo intenzivno iskali gene in/ali mutacije, ki bi lahko bile odgovorne za dedno nagnjenost k osteoporozni. Študije so pokazale, da je v patogenezo osteoporozne najverjetneje vpleteno večje število genov s posamično majhnim učinkom, ki pa interagirajo med seboj in z dejavniki okolja (85, 86). Najobsežnejšo raziskavo na področju iskanja genetskih dejavnikov tveganja za osteoporozo je opravil konzorcij GEFOS v sodelovanju s konzorcijem GENOMOS. Analizirali so celoten genom 32.000 posameznikov nato pa kandidatne gene in mutacije potrjevali na skupini 130.000 vzorcev DNA. V to raziskavo je bila vključena tudi Slovenija z raziskovalci iz Fakultete za farmacijo, Univerze v Ljubljani. V tem 3-letnem projektu, ki ga je financirala EU, so odkrili povezanost z MKG za gene, ki kodirajo molekule iz signalne poti RANK-RANKL-OPG, Wnt in diferenciacije mezenhimskih matičnic celic ter endohondralne osifikacije (86).

Trenutno iščejo kombinacije genov oz. sprememb, ki bi lahko identificirale posameznike s povečanim genetskim tveganjem za osteoporozo. Raziskave pa se nadaljujejo in usmerjajo na mehanizme izražanja osteoporoznih genov na nivoju RNA in histonov (epigenetika).

Ali ste vedeli,

- da genetsko nagnjenost k osteoporozni oblikuje večje število genov, katerih posamični vplivi pa so majhni;
- da danes še vedno iščemo kombinacijo genskih sprememb, s katero bi lahko identificirali osebo s povečanim tveganjem za razvoj osteoporozne;
- da dejavniki okolja lahko interagirajo z genetskimi spremembami, tako da lahko nekatere tvegane genotipe »prekrijemo« s primerno prehrano in gibanjem.

5 Sklep

- metoda izbora za postavitev diagnoze osteoporozne pred prvim zlomom je DXA, za spremljanje zdravljenja pa se poleg DXA uporabljajo tudi biokemijski označevalci kostne preнове (PINP, CTX);
- za napoved tveganja za osteoporozni zlom poleg DXA in biokemijskih označevalcev kostne premene uporabljamo tudi novo orodje FRAX;
- pomanjkanje estrogenov je najpomembnejši vzrok za razvoj osteoporozne pri pomenopavznih ženskah in pri starejših moških. Izgubljanje kortikalne kostnine sovпада z nastopom menopavze pri ženskah, upadanje trabekularne kostnine pa se prične že v tretji dekadi življenja;
- sistem RANKL/RANK/OPG je ključen v procesu osteoklastogeneze, signalna pot Wnt pa v osteoblastogenezi;
- razvoj osteoporozne je povezan tudi z oksidativnim stresom, vnetjem in adipogenezo;
- dejavniki tveganja za razvoj osteoporozne so okoljski in genetski, vendar na nekatere od njih lahko vplivamo (telesna masa, kajenje, uživanje alkohola, telesna aktivnost, prehrana s kalcijem in vitaminom D), na

nekatero pa ne (spol, starost, zgodnja menopavza, rasa, družinska anamneza).

6 Literatura

- Melton LJ III, Chrischilles EA, Cooper C et al. Perspective: how many women have osteoporosis? *J Bone Miner Res* 1992; 7: 1005–1010.
- van Staa TP, Dennison EM, Leufkens HG et al. Epidemiology of fractures in England and Wales. *Bone* 2001; 29: 517–522.
- Kanis JA, Johnell O, Oden A et al. Long-term risk of osteoporotic fracture in Malmö. *Osteoporos Int* 2000; 11: 669–674.
- Doherty DA, Sanders KM, Kotowicz MA et al. Lifetime and five-year age-specific risks of first and subsequent osteoporotic fractures in postmenopausal women. *Osteoporos Int* 2001; 12: 16–23.
- Bleibler F, Konnopka A, Benzinger P, et al. The health burden and costs of incident fractures attributable to osteoporosis from 2010 to 2050 in Germany—a demographic simulation model. *Osteoporos Int* 2012, Jul 14.
- Kanis JA. Diagnosis of osteoporosis and assessment of fracture risk. *Lancet* 2002; 359: 1929–1936.
- Komadina R, Senekovič V, Dolenc I et al. Priporočila za zdravljenje zloma kolka v Sloveniji *Zdrav Vestn* 2012; 81: 183–92.
- Paksima N, Koval KJ, Aharanoff G et al. Predictors of mortality after hip fracture: a 10-year prospective study. *Bull NYU Hosp Jt Dis* 2008; 66(2): 111–117.
- World Health Organisation. Assessment of fracture risk and its application to screening for postmenopausal osteoporosis: report of a WHO Study Group. *World Health Organ Tech Rep Ser* 1994; 843: 1–129.
- World Health Organisation. Prevention and management of osteoporosis. *WHO Tech Report Series* 2003; 921:1–192.
- Blake GM, Fogelman I. The clinical role of dual energy X-ray absorptiometry. *Eur J Radiol* 2009; 71: 406–414.
- Siris ES, Boonen S, Mitchell PJ et al. What's in a name? What constitutes the clinical diagnosis of osteoporosis? *Osteoporos Int* 2012; 23: 2093–2097.
- Vasikaran S, Eastell R, Bruyère O et al; for the IOF-IFCC Bone Marker Standards Working Group. Markers of bone turnover for the prediction of fracture risk and monitoring of osteoporosis treatment: a need for international reference standards. *Osteoporos Int* 2011; 22: 391–420.
- Diez-Perez A, Adachi JD, Agnusdei D et al; for the IOF CSA Inadequate Responders Working Group. Treatment failure in osteoporosis. *Osteoporos Int* 2012 Jul 27.
- Unnanuntana A, Gladnick BP, Donnelly E, Lane JM. The assessment of fracture risk. *J Bone Joint Surg Am* 2010; 92: 743–53.
- University of Sheffield. WHO Fracture Risk Assessment Tool. <http://www.shef.ac.uk/FRAX/>. Dostop: 12-09-2012.
- McCloskey EV, Johansson H, Oden A, Kanis JA. From relative risk to absolute fracture risk calculation: the FRAX algorithm. *Curr Osteoporos Rep* 2009; 7 (3): 77–83.
- Warming L, Hassager C, Christiansen C. Changes in bone mineral density with age in men and women: a longitudinal study. *Osteoporos Int* 2002; 13: 105–112.
- Kocjančič A. Presnovne bolezni kosti. V: Kocjančič A in Mrevlje F: *Interna medicina* 1998; 711–736.
- Manolagas SC. Birth and death of bone cells: Basic regulatory mechanisms and implications for pathogenesis and treatment of osteoporosis. *Endocrine Reviews* 2000; 21 (2): 115–137.
- Weinstein RS, Manolagas SC. Apoptosis and osteoporosis. *American Journal of Medicine* 2000; 108: 153–164.
- Xiong J, O'Brien CA. Osteocyte RANKL: new insights into the control of bone remodeling. *J Bone Miner Res* 2012; 27 (3): 499–505.
- Heldring N, Pike A, Andersson S et al. Estrogen receptors: how do they signal and what are their targets. *Physiol Rev* 2007; 87 (3): 905–931.
- Deroo BJ, Buensuceso AV. Minireview: Estrogen receptor - mechanistic insights from recent studies. *Mol Endocrinol* 2010; 24: 1703–1714.
- Riggs BL, Khosla S, Melton LJ, 3rd. Sex steroids and the construction and conservation of the adult skeleton. *Endocr Rev* 2002; 23 (3): 279–302.
- Krum SA. Direct transcriptional targets of sex steroid hormones in bone. *J Cell Biochem* 2011; 112: 401–408.
- Zallone A. Direct and indirect estrogen actions on osteoblasts and osteoclasts. *Ann NY Acad Sci* 2006; 1068: 173–179.
- Rachner TD, Khosla S, Hofbauer LC. Osteoporosis: now and the future. *Lancet* 2011; 377 (9773): 1276–1287.
- Biology of bone. In: Bartl R, Frisch B. *Osteoporosis: diagnosis, prevention, therapy*. Springer-Verlag, 2009: 9.
- Riggs BL, Melton LJ, Robb RA et al. A population-based assessment of rates of bone loss at multiple skeletal sites: evidence for substantial trabecular bone loss in young adult women and men. *J Bone Miner Res* 2008; 23 (2): 205–214.
- Hui SL, Slemenda CW, Johnston Jr CC. Age and bone mass as predictors of fracture in a prospective study. *J Clin Invest* 1988; 81: 1804–1809.
- Manolagas SC. From estrogen-centric to aging and oxidative stress: a revised perspective of the pathogenesis of osteoporosis. *Endocr Rev* 2010; 31 (3): 266–300.
- Anderson DM, Maraskovsky E, Billingsley WL et al. A homologue of the TNF receptor and its ligand enhance T-cell growth and dendritic-cell function. *Nature* 1997; 390: 175–179.
- Bucay N, Sarosi I, Dunstan CR et al. Osteoprotegerin-deficient mice develop early onset osteoporosis and arterial calcification. *Genes Dev* 1998; 12: 1260–1268.
- Simonet WS, Lacey DL, Dunstan CR et al. Osteoprotegerin: a novel secreted protein involved in the regulation of bone density. *Cell* 1997; 89: 309–319.
- Boyle WJ, Simonet WS, Lacey DL. Osteoclast differentiation and activation. *Nature* 2003; 423: 337–342.
- Ross, FP; Teitelbaum, SL. *Osteoclast Biology*. In: Marcus, R.; Feldman, D.; Kelsey, J., editors. *Osteoporosis*. 2nd Edition ed.. San Diego: Academic Press; 2001. p. 73–106.
- Hofbauer LC, Heufelder AE. Role of receptor activator of nuclear factor- κ B ligand and osteoprotegerin in bone cell biology. *J Mol Med* 2001; 79: 243–253.
- Burgess TL, Qian Y, Kaufman S et al. The ligand for osteoprotegerin (OPGL) directly activates mature osteoclasts. *J Cell Biol* 1999; 145: 527–538.
- Fuller K, Wong B, Fox S et al. TRANCE is necessary and sufficient for osteoblast-mediated activation of bone resorption in osteoclasts. *J Exp Med* 1998; 188: 997–1001.
- Lum L, Wong BR, Josien R et al. Evidence for a role of a tumor necrosis factor- α (TNF- α)-converting enzyme-like protease in shedding of TRANCE, a TNF family member involved in osteoclastogenesis and dendritic cell survival. *J Biol Chem* 1999; 274: 13613–13618.
- Wong BR, Besser D, Kim N et al. TRANCE, a TNF family member, activates Akt/PKB through a signaling complex involving TRAF6 and c-Src. *Molecular Cell* 1999; 4: 1041–1049.
- Jules J, Ashley JW, Feng X. Targeting of RANK signaling pathways as new therapeutic strategies for osteoporosis. *Expert Opin Ther Targets* 2010; 14 (9): 923–934.
- Kong YY, Yoshida H, Sarosi I et al. OPGL is a key regulator of osteoclastogenesis, lymphocyte development and lymph-node organogenesis. *Nature* 1999; 397: 315–323.
- Dougall WC, Glaccum M, Charrier K et al. RANK is essential for osteoclast and lymph node development. *Genes Dev* 1999; 13: 2412–2424.
- Li J, Sarosi I, Yan X-Q et al. RANK is the intrinsic hematopoietic cell surface receptor that controls osteoclastogenesis and regulation of bone mass and calcium metabolism. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2000; 97: 1566–1571.
- Krishnan V, Bryant HU, MacDougald OA. Regulation of bone mass by Wnt signaling. *J Clin Invest* 2006; 116: 1202–1209.
- Westendorf JJ, Kahler RA, Schroeder TM. Wnt signaling in osteoblasts and bone disease. *Gene* 2004; 341: 19–39.
- Glass DA, Bialek P, Ahn JD et al. Canonical Wnt signaling in differentiated osteoblasts controls osteoclast differentiation. *Dev Cell* 2005; 8: 751–764.
- Holmen SL, Zylstra CR, Mukherjee A et al. Essential role of beta-catenin in postnatal bone acquisition. *J Biol Chem* 2005; 280 (22): 21162–21168.
- Vadav VK, Ryu JH, Suda N et al. Lrp5 controls bone formation by inhibiting serotonin synthesis in the duodenum. *Cell* 2008; 135: 825–837.
- Yadav VK, Oury N, Suda ZW et al. A serotonin-dependent mechanism explains the leptin regulation of bone mass, appetite, and energy expenditure. *Cell* 2009; 138: 976–989.
- Brennan FM, McInnes IB. Evidence that cytokines play a role in rheumatoid arthritis. *J Clin Invest* 2008; 118 (11): 3537–3545.
- Mundy GR. Osteoporosis and inflammation. *Nutr Rev* 2007; 65 (12 Pt 2): S147–151.

55. Gruber R. Cell biology of osteoimmunology. *Wien Med Wochenschr* 2010; 160 (17-18): 438-445.
56. Lencel P, Magne D. Inflammaging: the driving force in osteoporosis? *Med Hypotheses* 2011; 76 (3): 317-321.
57. Arron JR, Choi Y. Bone versus immune system. *Nature* 2000; 408 (6812): 535-536.
58. Horton JE, Raisz LG, Simmons HA et al. Bone resorbing activity in supernatant fluid from cultured human peripheral blood leukocytes. *Science* 1972; 177 (51): 793-795.
59. Gao Y, Grassi F, Ryan MR et al. IFN-gamma stimulates osteoclast formation and bone loss in vivo via antigen-driven T cell activation. *J Clin Invest* 2007; 117 (1): 122-132.
60. Nakashima T, Kobayashi Y, Yamasaki S et al. Protein expression and functional difference of membrane-bound and soluble receptor activator of NF-kappaB ligand: modulation of the expression by osteotropic factors and cytokines. *Biochem Biophys Res Commun* 2000; 275 (3): 768-775.
61. Lorenzo J, Horowitz M, Choi Y. Osteoimmunology: interactions of the bone and immune system. *Endocr Rev* 2008; 29(4): 403-440.
62. Nakashima T, Takayanagi H. Osteoimmunology: crosstalk between the immune and bone systems. *J Clin Immunol* 2009; 29 (5): 555-567.
63. Takayanagi H. The unexpected link between osteoclasts and the immune system. *Adv Exp Med Biol* 2010; 658: 61-68.
64. Jilka RL, Hangoc G, Girasole G et al. Increased osteoclast development after estrogen loss: mediation by interleukin-6. *Science* 1992; 257 (5066): 88-91.
65. Pacifici R. Estrogen deficiency, T cells and bone loss. *Cell Immunol* 2008; 252 (1-2): 68-80.
66. Pacifici R, Brown C, Puscheck E et al. Effect of surgical menopause and estrogen replacement on cytokine release from human blood mononuclear cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1991; 88 (12): 5134-5138.
67. Pfeilschifter JR, Köditz, Pfohl M et al. Changes in proinflammatory cytokine activity after menopause. *Endocr Rev* 2002; 23 (1): 90-119.
68. Weitzmann MN, Pacifici R. Estrogen regulation of immune cell bone interactions. *Ann NY Acad Sci* 2006; 1068: 256-274.
69. Pino AM, Rios S, Astudillo P et al. Concentration of adipogenic and proinflammatory cytokines in the bone marrow supernatant fluid of osteoporotic women. *J Bone Miner Res* 2010; 25 (3): 492-498.
70. Ralston SH, Russell RG, Gowen M. Estrogen inhibits release of tumor necrosis factor from peripheral blood mononuclear cells in postmenopausal women. *J Bone Miner Res* 1990; 5 (9): 983-988.
71. Scheidt-Nave C, Bismar H, Leidig-Bruckner G et al. Serum interleukin 6 is a major predictor of bone loss in women specific to the first decade past menopause. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86 (5): 2032-2042.
72. Charatcharoenwithaya N, Khosla S, Atkinson EJ et al. Effect of blockade of TNF-alpha and interleukin-1 action on bone resorption in early postmenopausal women. *J Bone Miner Res* 2007; 22 (5): 724-729.
73. D'Amelio P, Grimaldi A, Di Bella S et al. Estrogen deficiency increases osteoclastogenesis up-regulating T cells activity: a key mechanism in osteoporosis. *Bone* 2008; 43 (1): 92-100.
74. Richards JB, Joseph L, Schwartzman K et al. The effect of cyclooxygenase-2 inhibitors on bone mineral density: results from the Canadian Multicentre Osteoporosis Study. *Osteoporos Int* 2006; 17 (9): 1410-1419.
75. Zupan J, Komadina R, Marc J. The relationship between osteoclastogenic and anti-osteoclastogenic pro-inflammatory cytokines differs in human osteoporotic and osteoarthritic bone tissues. *J Biomed Sci* 2012; 19: 28.
76. Dragojevič J. Adipogeneza in lipotoksičnost v kostnem tkivu. Doktorsko delo 2012. Fakulteta za farmacijo. Univerza v Ljubljani. Ljubljana.
77. Rhee EJ, Oh KW, Yun EJ, et al. The association of Pro12Ala polymorphism of peroxisome proliferator-activated receptor-gamma gene with serum osteoprotegerin levels in healthy Korean women. *Exp Mol Med* 2007; 39 (6): 696-704.
78. Ogawa S, Urano T, Hosoi T, et al. Association of bone mineral density with a polymorphism of the peroxisome proliferator-activated receptor gamma gene: PPARgamma expression in osteoblasts. *Biochem Biophys Res Commun* 1999; 260 (1): 122-126.
79. Li GH, Kung AW, Huang QY. Common variants in FLNB/CRTAP, not ARHGEF3 at 3p, are associated with osteoporosis in southern Chinese women. *Osteoporos Int* 2010; 21 (6): 1009-1020.
80. Nguyen TV, Eisman JA. Genetics and the individualized prediction of fracture. *Curr Osteoporos Rep* 2012; 10 (3): 236-244.
81. Scottish Intercollegiate Guidelines Network. Guideline no. 71: Management of osteoporosis. <http://www.sign.ac.uk/guidelines/fulltext/71/section2.html>. Dostop: 23-10-2012.
82. Nelson HD, Morris CD, Kraemer DF et al. Osteoporosis in postmenopausal women: diagnosis and monitoring. *Evid Rep Technol Assess (Summ)* 2001; 28: 1-2.
83. NIH. NIH Consensus Development Panel on Osteoporosis Prevention, Diagnosis, and Therapy, March 7-29, 2000: highlights of the conference. *South Med J* 2001; 94 (6): 569-573.
84. Kocjan T, Pfeifer M, Kozlevčar-Živec M et al. Vse kar moram vedeti o osteoporozi. 2. predelana in razširjena izd. Ljubljana: Zveza društev bolnikov z osteoporozo Slovenije, 2008. 63 str.
85. Xu XH, Dong SS, Guo Y et al. Molecular genetic studies of gene identification for osteoporosis: the 2009 update. *Endocr Rev* 2010; 31 (4): 447-505.
86. Estrada K, Styrkarsdottir U, Evangelou E et al. Genome-wide meta-analysis identifies 56 bone mineral density loci and reveals 14 loci associated with risk of fracture. *Nat Genet* 2012; 44 (5): 491-501.

Zdravljenje osteoporoze danes in jutri

Treatment of osteoporosis now and in the future

Simona Mencej Bedrač, Janja Zupan, Tomaž Kocjan, Vid Mlakar, Janez Preželj, Janja Marc, Barbara Ostanek

Povzetek: V razvitem svetu ima osteoporozo več kot 75 milijonov ljudi, letno pa se v Evropi in ZDA zgodi več kot 2,3 milijona osteoporoznih zlomov. V Sloveniji je prevalenca osteoporoze pri ženskah po 50. letu 27,5 %, pri moških po 60. letu pa 14,6 %. Za preprečevanje osteoporoznih zlomov lahko uporabimo difosfonate, selektivne modulatorje estrogenskih receptorjev (SERM) in stroncijev ranelat, od leta 2010 pa tudi prvo biološko zdravilo, denosumab. Teriparatid je osteoanabolno zdravilo, ki ga zaradi visoke cene uporabljamo le, če pride do novega zloma med zdravljenjem z drugimi zdravili. V različnih fazah raziskav so številna nova zdravila za zdravljenje osteoporoze. Največ obetajo zaviralci katepsina K in molekule, ki delujejo na signalno pot Wnt. Verjamemo, da bodo nova zdravila omogočila boljše izbiro pravega načina zdravljenja za posameznega bolnika in tako pomembno zmanjšala število osteoporoznih zlomov.

Ključne besede: difosfonat, SERM, denosumab, teriparatid, stroncijev ranelat

Abstract: In developed countries, 75 million individuals suffer from osteoporosis. Every year, more than 2,3 million osteoporotic fractures occur in Europe and USA. In Slovenia, osteoporosis affects 27.5% of women after the age of 50, and 14.6% of men after the age of 60. For prevention of osteoporotic fractures, bisphosphonates, selective estrogen receptor modulators (SERMs) and strontium ranelate are used. Since 2010, the first human monoclonal antibody denosumab is available for treatment of osteoporosis. Teriparatide is an osteoanabolic drug which is used due to its high price only in patients with new osteoporotic fracture occurring during other osteoporosis treatment. At the moment, numerous new medicines for the treatment of osteoporosis are being tested. The most promising seem to be cathepsin K inhibitors and substances, targeting Wnt signalling pathway. We believe that new medicines will enable a selection of a more appropriate treatment for a specific patient and will therefore markedly reduce the number of osteoporotic fractures.

Keywords: bisphosphonate, SERM, denosumab, teriparatide, strontium ranelate

1 Epidemiologija osteoporoze

Na splošno so epidemiološki podatki o neki bolezni pomembni, saj družbi omogočajo razumevanje velikosti problema, s katerim je soočena, ter preko tega z ekonomskim bremenom, ki ga posamezno obolenje povzroča družbi. Hkrati lahko epidemiološke raziskave tudi osvetlijo morebitne vzroke za nastanek bolezni in dejavnike tveganja, ki so jim določene skupine ljudi izpostavljene (1), ter tako pomagajo pri načrtovanju preprečevanja in zdravljenja bolezni.

Kot pri vseh boleznih, je tudi pri osteoporozi epidemiologija tesno povezana s samo definicijo osteoporoze, saj je od tega odvisna opredelitev posameznika kot zdravega ali obolelega. Od tega so kasnejši odvisni podatki o prevalenci osteoporoze (pogostost v populaciji) in incidenci (pojavnost novih bolnikov) osteoporoznih zlomov po področjih

oziroma geografskih regijah, kar sta glavna merljiva dejavnika v epidemiologiji osteoporoze in z njo povezanih zlomov. Svetovna zdravstvena organizacija (SZO) je še leta 2003 definirala osteoporozo kot sistemsko bolezen skeleta, za katero je značilna nizka kostna gostota in spremembe mikroarhitekture kostnega tkiva, kar vodi v povečano lomljivost kosti (1). Ta definicija je zelo široka in ne vključuje mejnih vrednosti, zato se v praksi uporablja bolj natančna definicija, ki še vedno vključuje diagnostične kriterije SZO in ki jo uporablja tudi slovenska klinična in znanstvena stroka. Osteoporozna je v ta namen definirana kot sistemska skeletna bolezen, pri kateri je izmerjena mineralna kostna gostota (MKG) zmanjšana za več kot 2,5 standardni deviaciji od povprečne vrednosti MKG za mlade odrasle osebe, ob sočasni spremembi mikroarhitekture kostnega tkiva, kar vse vodi do večje lomljivosti kosti (1,2).

asist. dr. Simona Mencej Bedrač, mag. farm., Univerza v Ljubljani, Fakulteta za farmacijo, Katedra za klinično biokemijo, Aškerčeva cesta 7, 1000 Ljubljana
asist. dr. Janja Zupan, mag. farm., Univerza v Ljubljani, Fakulteta za farmacijo, Katedra za klinično biokemijo, Aškerčeva cesta 7, 1000 Ljubljana
doc. dr. Tomaž Kocjan, dr. med., spec. internist, Univerzitetni klinični center, Klinika za endokrinologijo, diabetes in presnovne bolezni, Zaloška cesta 7, 1000 Ljubljana
asist. dr. Vid Mlakar, univ. dipl. mikrobiol., Univerza v Ljubljani, Fakulteta za farmacijo, Katedra za klinično biokemijo, Aškerčeva cesta 7, 1000 Ljubljana
prof. dr. Janez Preželj, dr. med., spec. internist, Univerzitetni klinični center, Klinika za endokrinologijo, diabetes in presnovne bolezni, Zaloška cesta 7, 1000 Ljubljana
prof. dr. Janja Marc, mag. farm., spec. med. biokem., Univerza v Ljubljani, Fakulteta za farmacijo, Katedra za klinično biokemijo, Aškerčeva cesta 7, 1000 Ljubljana
doc. dr. Barbara Ostanek, mag. farm., Univerza v Ljubljani, Fakulteta za farmacijo, Katedra za klinično biokemijo, Aškerčeva cesta 7, 1000 Ljubljana

Na podlagi zgornjih definicij je delovna skupina pri SZO ugotovila, da osteoporozo prizadene več kot 75 milijonov ljudi v Evropi, Japonskem in ZDA (1). Hkrati je bilo samo v Evropi in ZDA z osteoporozo povezanih kar 2,3 milijona zlomov (1). Tveganje 50-letne ženske za osteoporozni zloma kolka, vretenca ali zapestja je približno 40 %, kar je približno toliko, kot je tveganje za srčno-žilna obolenja (3). Študije narejene na naključnih vzorcih so pokazale, da ima MKG kolka v območju osteoporoze v ZDA 17 % belk, 12 % žensk hispanskega porekla in le 8 % afroameričank. Ob upoštevanju kostne gostote na drugih delih skeleta se je ta odstotek pri belkah povečal celo na eno tretjino (4). Podobna prevalenca osteoporoze je tudi v Sloveniji, saj je bila prisotna pri 27,5 % naključno testiranih žensk, starejših od 50 let (povprečna starost 63 let) (5). Pomemben epidemiološki podatek je tudi izjemno velik porast prevalence z leti. Pri Britankah poraste prevalenca osteoporoze do 50 % pri 80 let starih ženskah (4).

Pri moških je epidemiologija osteoporoze manj raziskana. Moški obolevajo bistveno manj, saj dosegajo višjo kostno maso v mlajši odrasli dobi med 25. in 35. letom starosti, poleg tega pa po 35. letu izgubljajo kostno maso bistveno počasneje kot ženske. Hkrati je sam porast osteoporoze pri pomenopavznih ženskah pokazal na možnost, da sta kostna gostota in presnova kosti povezana s koncentracijami estrogena, kar se je v kasnejših molekularnih študijah tudi potrdilo. Ženske v povprečju živijo dlje kot moški, zato se pri njih pojavi tudi večje zmanjšanje kostne mase (1). V Sloveniji so osteoporozo tako odkrili pri 14,6 % naključnih preiskovancih starejših od 60 let (5), medtem ko so jo v ZDA odkrili pri približno 7 % preiskovancev starejših od 50 let (4). Osteoporozo je tako izrazito vezana na spol, saj je do trikrat pogostejša pri ženskah kot pri moških (1).

Osteoporozo je pomemben dejavnik tveganja za zlome. Prevladujejo predvsem zlomi vretenec, kolke, zapestij in nadlahtnic, do katerih pride zaradi delovanja majhne sile npr. ob padcu iz stojne višine. Zdravljenje takšnih zlomov pri bolnikih, ki so večinoma v tretjem starostnem obdobju, poteka zelo počasi, včasih pa se lahko konča tudi s smrtjo. Zaradi dolgega zdravljenja zloma in slabše kvalitete življenja po ozdravitvi je družbeno breme osteoporoze torej odvisno predvsem od incidence zlomov. Delovna skupina SZO je tako ocenila, da so v letu 1990 bolniki utrpeli 1,3 – 1,7 milijonov zlomov kolke po vsem svetu. Prognoze kažejo, da bi se ta številka do leta 2025 lahko povečala do 3 milijonov (1). Številke so najverjetneje podcenjene zaradi same definicije osteoporoznega zloma in dejstva, da mnogih od teh zlomov ne povežejo z osteoporozo. SZO je tako predlagala, da osteoporozni zlom opredelimo kot nizkoenergetski zlom. Potrebno je vedeti, da so osebe z osteoporozo bolj dovzetne tudi za visokoenergetske zlome. Alternativna definicija osteoporoznega zloma tako vključuje vse zlome, ki se zgodijo pri osebah z nizko MKG ali po 50 letu življenja (1). Ne glede na zgornje definicije je zanimivo, da se incidenca zlomov zelo razlikuje med državami, pri čemer so zlomi najpogostejši v Evropi in ZDA. Daleč največ osteoporoznih zlomov zabeležijo v Skandinaviji (1, 6-8), medtem ko so osteoporozni zlomi manj pogosti v Aziji in Afriki. Prav tako so osteoporozni zlomi manj pogosti pri moških kot ženskah (1,9). Odstotek zlomov kolka je izrazito manjši v Veliki Britaniji (14 % pri ženskah in 3 % pri moških), kar kaže na pomen drugih dejavnikov tveganja, ki se pojavljajo le v nekaterih okoljih npr. izpostavljenost sončni svetlobi, prehranjevanje z ribami, itd. (1). V Sloveniji je stanje podobno kot v Veliki Britaniji, saj je bil pri naključnem

vzorcju preiskovancev zlom odkrit pri približno 18 % žensk in 3,6 % moških (5).

Ali ste vedeli,

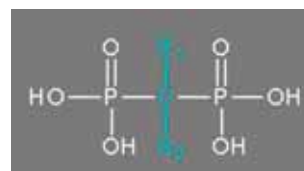
- da je prevalenca osteoporoze v Sloveniji pri ženskah, starejših od 50 let, 27,5 %, pri moških, starejših od 60 let, pa 14,6 %.

2 Zdravila za zdravljenje osteoporoze danes

Za zdravljenje osteoporoze danes uporabljamo predvsem zdravilne učinkovine, ki zavirajo razgradnjo kosti in jih imenujemo antiresorptivi. V to skupino uvrščamo difosfonate, hormonsko nadomestno zdravljenje, selektivne modulatorje estrogenskih receptorjev (SERM) in najnovejše biološko zdravilo denosumab. Pomembno je vedeti, da ta zdravila vplivajo na celoten proces kostne prenove in tako zavirajo tudi gradnjo kosti. Celoten proces je namreč »sklopljen«, kar omogoča usklajenost med razgradnjo in gradnjo kostnine, zato zmanjšani razgradnji pri zdravljenju z antiresorptivi fiziološko sledi tudi manjša gradnja nove kostnine. Končni rezultat zdravljenja z antiresorptivnimi učinkovinami je torej ustavljanje izgubljanja kostnega tkiva, ne pa tudi pridobivanje nove kostnine. Gradnjo kosti spodbuja osteoanabolno zdravilo teriparatid in v nekoliko manjši meri stroncijev ranelat, ki deluje tudi kot šibek antiresorptiv.

2.1 Difosfonati

Med zdravili za zdravljenje osteoporoze kljub pojavu novih zdravil še vedno največ uporabljamo difosfonate. Razlog za njihovo široko uporabo je klinična učinkovitost, saj učinkovito zmanjšajo tveganje za vretenčne in nevretenčne zlome. Imajo tudi relativno ugoden varnostni profil ob relativno neugodnem farmakokinetičnem profilu in dobre možnosti prilagajanja odmerjanja. Difosfonat lahko dajemo enkrat tedensko ali le enkrat oziroma dvakrat mesečno kot tudi peroralno ali intravensko, s čimer dosežemo boljšo adherenco pri bolnikih. Kemijsko so difosfonati analogi pirofosfata, odporni na encimsko razgradnjo s pirofosfatazo ter z različno afiniteto do kalcijevega hidroksiapatita. Strukturni element P-C-P je ključen za vezavo na hidroksi apatit, predvsem hidroksiilna stranska skupina R1 pa njegovo afiniteto še poveča. Stranska skupina R2 vpliva prevsem na jakost delovanja (**slika 1, preglednica 1**).



Slika 1: Struktura molekule difosfonata.

Figure 1: Structure of bisphosphonate molecule.

Princip njihovega delovanja še vedno ni čisto pojasnjen. Prve hipoteze so predpostavljale, da difosfonati z vezavo na kostni matriks zmanjšajo raztapljanja mineralnega dela kosti. Čeprav je ta teorija s stališča fizikalno-kemijskih lastnosti difosfonatov, ki povzročijo njihovo odpornost na hidrolizo, zelo logična, so verjetno sistemske koncentracije difosfonatov prenizke, da bi samo na ta način razložili njihov močan

Preglednica 1: Difosfonati in njihove stranske verige.

Table 1: Bisphosphonates and their side chains.

Nezaščiteno ime (INN)	R ₁	R ₂
klodronat	Cl	Cl
etidronat	OH	CH ₃
alendronat	OH	CH ₂ CH ₂ CH ₂ NH ₂
risedronat	OH	CH ₂ -3-piridin
pamidronat	OH	CH ₂ CH ₂ NH ₂
ibandronat	OH	CH ₂ CH ₂ N(CH ₃) (C ₅ H ₁₁)
zoledronat	OH	CH ₂ -imidazol

farmakološki učinek. Novejše študije tako dokazujejo, da so njihova glavna tarča kostne celice, predvsem osteoklasti, čeprav obstajajo tudi dokazi o njihovem zaviralnem delovanju na osteoblaste (10). Na osteoklaste delujejo na več nivojih: preprečujejo njihovo adhezijo na kostno površino, ovirajo njihovo resorpcijsko aktivnost na kostni površini ter skrajšajo njihov čas preživetja (10). Z endocitozo vstopijo v osteoklaste. Enostavni difosfonati, kot sta klodronat in etidronat, se presnavljajo v citoplazmi osteoklastov v analoge ATP, ki inducirajo njihovo apoptozo. Difosfonati, ki vsebujejo dušik (alendronat, risedronat, ibandronat, zoledronat), pa inhibirajo encim farnesil-pirofosfat sintazo (FPPS), ključni encim mevalonatne poti, ki katalizira nastanek izoprenoidnih lipidov, potrebnih za posttranslacijske modifikacije t.i. majhnih GTP vezavnih proteinov (small GTP binding proteins), ki so nujni za delovanje osteoklastov (11). Čeprav gre za anti-resorptivne zdravilne učinkovine, ki delujejo zaviralno na kostno razgradnjo, se MKG pri terapiji z difosfonati poveča. Pri tem ne gre za povečanje kostne mase temveč se poveča le sekundarna mineralizacija kosti zaradi samih difosfonatov, ki se nalagajo na kostni površini. Kljub razvoju novih analogov z izboljšanimi lastnostmi ostajajo difosfonati primer zelo slabe farmakokinetike. Tako tudi pri novejših analogih celotna absorpcija difosfonatov iz gastrointestinalnega trakta komaj dosega 3 %. Posebnost farmakokinetike difosfonatov je tudi, da se v organizmu skoraj ne presnavljajo in ostanejo vezani na kostni hidroksiapatit tudi več deset let, iz organizma se izločijo nespremenjeni preko ledvic (12). Zaradi njihovega kopičenja v kosteh, izjemno dolge razpolovne dobe, kronične terapije in močne zavore kostne preнове, je zelo pomembno vprašanje o varnosti dolgotrajne terapije z difosfonati. Pojavila so se tudi ugibanja o racionalnosti dolgotrajne uporabe oziroma vprašanja, ali bi lahko zdravljenje z difosfonati po nekaj letih (npr. po 5 letih) za nekaj časa npr. za eno leto ali več prekinili, ne da bi škodovali bolnikom (t.i. »drug holidays«). Odgovor na to vprašanje so skušali dobiti z raziskavo Fracture Intervention Trial Longterm Extension (FLEX), v kateri je več kot tisoč žensk v starosti od 60 - 86 let, ki so se predhodno v povprečju pet let zdravile z alendronatom, dobivalo še nadaljnjih pet let alendronat ali placebo. Raziskava je pokazala, da se je pri pomenopavznih ženskah, ki so zdravljenje z alendronatom po petih letih prekinile, MKG statistično značilno zmanjšala (približno 2-3 %) v primerjavi s tistimi, ki so zdravljenje nadaljevale še pet let, poleg tega pa so imele še enkrat več kliničnih zlomov vretenc, medtem ko v incidenci drugih zlomov niso ugotavljali razlik med skupinama (13). Podobno kot predhodne študije o dolgotrajnem zdravljenju z difosfonati (14, 15), tudi ta ni pokazala nevarnosti za pojav neželenih učinkov, kot je npr. osteonekroza čeljusti po desetih letih zdravljenja z alendronatom (13, 16). Leta 2010 je FDA opozorila na možnosti pojava atipičnih zlomov kolka pri dolgotrajni

uporabi difosfonatov, pri čemer morajo biti tako zdravniki kot bolniki pozorni na pojav nove bolečini v predelu kolka (17). Novejša študija pa je dokazala, da je pojav atipičnih zlomov kolka pri zdravljenju z difosfonati zelo redek (manj kot 0,1 % hospitaliziranih zlomov stegenice) in da ugodni učinki zdravljenja z difosfonati prevladajo (18). Kljub temu zdravimo z difosfonati le tiste bolnike, pri katerih so ti resnično indicirani. V glavnem jih dajemo brez prekinitve tri do pet let, le za zlome najbolj ogroženim bolnikom, npr. tistim z zlomi vretenc, do največ deset let, nato pa obvezno naredimo premor v zdravljenju. Večina bolnikov v tem času prejema le vitamin D in kalcij, le najbolj ogrožene pa takoj pričnemo zdraviti z zdravilom iz druge skupine (19). Zaradi slabe absorpcije v črevesju in visoke afinitete za kalcij in magnezij, je potrebno difosfonat vzeti na tešče, samo z vodo, po zaužitju pa mora bolnik počakati vsaj 30 minut (alendronat in risedronat) ali celo 60 minut (ibandronat) preden zaužije karkoli drugega (20). Kljub temu so neželeni učinki pri terapiji z difosfonati sorazmerno redki (**preglednica 2**) (21).

Preglednica 2: Neželeni učinki difosfonatov (21).

Table 2: Bisphosphonate-associated adverse events (21).

Neželeni učinek	Pojavnost
Težave v zgornjem gastrointestinalnem traktu (dispepsija, ezofagitis, erozije)	5.070-62.000/100.000 bolnikov/leta študije
Reakcija akutne faze: simptomski podobni gripi	najpogostejši neželeni učinek pri parenteralnih difosfonatih
Bolečine v kosteh, mišicah in sklepkih	bolj pogosto pri tedenskem jemanju difosfonatov
Atipični zlomi kolka	60-100/100.000 bolnikov/leta študije
Osteonekroza čeljusti	20-28/100.000 bolnikov/leta študije
Hipokalcemija	redko
Kožne reakcije	pruritus, koprivnica pogosto Stevens-Johnsonov sindrom in toksična epidermalna nekroliza zelo redki (manj kot 1/10.000 bolnikov)
Hepatotoksičnost	redko

Ali ste vedeli,

- da se pri zdravljenju osteoporoze še vedno največ uporabljajo difosfonati, saj dokazano zmanjšujejo tveganje za vretenčne in nevretenčne zlome in imajo različne možnosti odmerjanja;
- da zdravljenje z difosfonati traja za večino bolnikov tri do pet let;
- da lahko bolniki z visokim tveganjem za osteoporozne zlome prejemajo difosfonate neprekinjeno do deset let, nato pa sledi premor.

2.2 Hormonsko nadomestno zdravljenje (HNZ)

Nadomestno zdravljenje z estrogeni ali s kombinacijo estrogenov in gestagenov zmanjša pomenopavzni upad MKG in tveganje za nastanek vretenčnih in nevretenčnih zlomov ter zlomov kolka (22-24). Princip delovanja estrogenov na kosti je podrobneje razložen v predhodnem članku te številke Farmacevtskega vestnika. HNZ lahko apliciramo

peroralno, transdermalno ali v primeru lajšanja vaginalnih simptomov tudi intravaginalno. V primerjavi s peroralno aplikacijo, se s transdermalno aplikacijo izognemo izrazitemu metabolizmu prvega prehoda v jetrih, ki je še bolj izražen pri kadilkah. Jemanje je lahko kontinuirano ali ciklično. Kljub ugodnemu učinku na kosti pa tovrstno zdravljenje od objave izsledkov študije Women's Health Initiative v letu 2003 ne predstavlja več terapije prvega izbora za preprečevanje in zdravljenje osteoporoz. Namen te obsežne, randomizirane, s placebom kontrolirane raziskave, je bil ugotoviti tveganja in koristi HNZ v smislu zmanjšanja incidence srčnožilnih bolezni, kolorektalnega raka in raka dojke ter zlomov pri pomenopavznih ženskah. Del študije, v katerem je 8.506 pomenopavznih žensk prejelo kombinacijo konjugiranih estrogenov in medroksiprogesteron acetata, so predčasno prekinili zaradi neželenih učinkov. Opazili so namreč zvečano incidenco raka dojk (razmerje ogroženosti (RO) 1,26), koronarne srčne bolezni (RO 1,29), možganske kapi (RO 1,41) in pljučne embolije (RO 2,13) (23, 25, 26). V drugem delu študije je sodelovalo 5.310 pomenopavznih žensk po histerektomiji, ki so prejele le estrogene. Takšno zdravljenje je zvečalo tveganje le za nastanek možganske kapi (RO 1,39) in pljučne embolije (RO 1,34), kar kaže na pomemben doprinos gestagenov k neželenim učinkom. Žal je njihov dodatek pri ženskah z maternico obvezen zaradi preprečevanja razvoja raka endometrija (24, 27, 28). Glavna indikacija za HNZ tako danes ostaja lajšanje klimakteričnih težav, pri čemer je zaželena uporaba čim nižjih, še učinkovitih odmerkov, čim krajši čas. Istočasno HNZ seveda tudi odlično zaščiti kost, kasneje pa po potrebi uporabimo druga zdravila, saj se zmanjšanje tveganja za zlome izgubi v obdobju enega leta do dveh let in pol. Izjemoma predpišemo HNZ tudi za zlome ogroženim starejšim ženskam, ki ne prenašajo prav nobenega drugega zdravila za osteoporozo. Nasprotno pri ženskah z zgodnjo menopavzo pred 40. letom HNZ uporabljamo rutinsko za preprečevanje osteoporoz in drugih posledic pomanjkanja estrogenov vse do povprečne starosti pri menopavzi, torej nekako do 50. leta. (23, 29).

Ali ste vedeli,

- da kljub dokazano zelo ugodnemu delovanju na kosti, HNZ zaradi neželenih učinkov predvsem na srčnožilni sistem ne predstavlja več terapije prvega izbora za preprečevanje in zdravljenje osteoporoz;
- da po prenehanju HNZ zmanjšanje tveganja za zlome izgine v obdobju enega leta do dveh let in pol.

2.3 Selektivni modulatorji estrogenskih receptorjev (SERM)

Zaradi številnih nevarnih zapletov, ki se lahko pojavijo pri HNZ, so zelo kmalu začeli razvijati SERM, ki bi imeli pozitivne učinke na kostno tkivo ob relativno majhnih učinkih na ostala tkiva, ki so odzivna na estrogene. Po definiciji so SERM učinkovine, ki imajo po vezavi na estrogenske receptorje tkivno specifične agonistične ali antagonistične učinke. Razlike v učinkih med tkivi pripisujejo razlikam v izražanju estrogenskih receptorjev α in β , konformaciji receptorjev po vezavi liganda ter izražanju in vezavi koregulatornih proteinov, kar v končni fazi vodi do razlik v transkripciji tarčnih genov (30, 31).

V Sloveniji za zdravljenje osteoporoz pri ženskah v menopavzi v manjšem obsegu uporabljamo raloksifen, ki je predstavnik 2. generacije SERM (23, 30). V klinični študiji III. faze MORE, ki je vključevala 7.705

žensk s pomenopavzno osteoporozo, so po treh letih zdravljenja s 60 mg raloksifena dnevno dokazali prirast MKG vratu stegenice za 2,1 % in MKG ledvenih vretenc za 2,6 %. Tveganje za nastanek vretenčnega zloma se je zmanjšalo za 30 %, medtem ko niso zaznali zaščitnega vpliva na nevretenčne zlome in zlome kolka (32).

V Evropski uniji sta bila leta 2009 za zdravljenje osteoporoz pri ženskah z visokim tveganjem za zlome registrirana tudi predstavnika 3. generacije SERM bazedoksifen in lasofoksifen (30).

V klinični študiji III. faze, ki je vključevala 7.492 žensk s pomenopavzno osteoporozo, so po treh letih zdravljenja z 20 mg bazedoksifena dnevno dokazali prirast MKG kolka za 0,27 % in MKG ledvenih vretenc za 2,21 %. Tveganje za nastanek vretenčnega zloma se je zmanjšalo za 42 %. Naknadna analiza je pokazala tudi za 50 % manjše tveganje za nastanek nevretenčnega zloma, vendar le v podskupini z večjim tveganjem za zlom (31, 33).

V klinični študiji III. faze PEARL, ki je vključevala 8.556 žensk s pomenopavzno osteoporozo, so po treh letih zdravljenja z 0,5 mg lasofoksifena dnevno dokazali 3,3 % prirast MKG vratu stegenice in MKG ledvenih vretenc. Tveganje za nastanek vretenčnega zloma se je zmanjšalo za 42 %, za nastanek nevretenčnega zloma pa za 22 % (34, 35).

Za raloksifen je značilna velika variabilnost v farmakokinetičnih parametrih, katere vzroki še niso povsem razjasnjeni. Po peroralni aplikaciji se absorbira približno 60 % raloksifena, njegova absolutna biološka uporabnost pa je le 2 %, saj je raloksifen podvržen močnemu predsystemskega metabolizmu z encimi iz naddružine uridindifosfoglukuronozil-transferaz (UGT). Pri tem nastajajo raloksifen-6-glukuronid (M1), raloksifen-4'-glukuronid (M2) in raloksifen-6,4'-diglukuronid (M3), ki predstavljajo transportno obliko raloksifena, saj se lahko v različnih tkivih pretvarjajo nazaj v raloksifen. Razpolovni čas raloksifena v plazmi po enkratnem odmerjanju je približno 27,7 ur, kar lahko pripišemo enterohepatični cirkulaciji. Presnovki se namreč z žolčem izločajo v tanko črevo, kjer lahko pride do cepitve in ponovne absorpcije raloksifena v kri (36). K znanju o farmakokinetiki raloksifena so pomembno prispevali tudi rezultati raziskav, opravljenih na Fakulteti za farmacijo UL. Raziskovalci so z uporabo različnih *in vitro* modelov dokazali, da predstavljajo jetra z izoformo UGT1A1 najpomembnejši organ za eliminacijo raloksifena iz organizma (37). Tako *in vitro* kot tudi *in vivo* so potrdili vpliv genetskega polimorfizma ponovitev TA dinukleotida v promotorju gena za UGT1A1 na konjugacijo raloksifena (38, 39). Nadalje so raziskovali tudi vlogo prenašalnih proteinov, ki so odgovorni za privzem in izločanje učinkovin ali njihovih presnovkov v številnih tkivih. Dokazali so interakcijo raloksifena in njegovih presnovkov z absorptivnima prenašalcema OATP1B1 in OATP1B3 (40) in ekskretornimi prenašalci MRP1, MRP2, MRP3 in BCRP (41). Pokazali so tudi vpliv genetskega polimorfizma c.388A>G v genu za OATP1B1 na serumske koncentracije raloksifena in M3 pri osteoporoznih bolnicah (40).

Poleg ugodnega delovanja na kosti raloksifen in lasofoksifen ščitita pred nastankom raka dojke, zaradi česar je raloksifen v Združenih državah Amerike indiciran tudi za preprečevanje invazivnega raka dojk. Vse tri učinkovine izboljšajo lipidni profil. Za razliko od lasofoksifena raloksifen in bazedoksifen ne stimulirata endometrija. Lasofoksifen učinkovito zdravi vulvovaginalno atrofijo (30, 35). Vse tri učinkovine lahko

povzročajo vročinske oblike, mišične krče v nogah in zvečajo tveganje za nastanek tromboembolije (30, 33, 42). Raloksifen predpisujemo ženskam, ki so vsaj 3 leta po menopavzi. Njegova uporaba je kontraindicirana pri bolnicah s predhodno vensko tromboembolijo in med daljšim mirovanjem. Zaradi svojih značilnosti ga uporabljamo pri bolnicah, ki so ogrožene predvsem za zlome vretenc, medtem ko po 65. letu, ko narašča tudi tveganje za zlome kolka, v glavnem ne pride več v poštev. Lahko ga dajemo 8 let, kot sta skupno trajali tudi glavni klinični raziskavi. Podobno kot HNZ nima trajnih učinkov na kost (43).

Ali ste vedeli,

- da je zdravljenje z raloksifenom manj primerno za bolnice starejše od 65 let, pri katerih se pogosteje pojavlja zlom kolka, saj raloksifen dokazano zmanjšuje le tveganje za nastanek vretenčnih zlomov.

2.4 Paratiroidni hormon in teriparatid

Paratiroidni hormon (PTH) v telesu uravnava serumsko koncentracijo kalcija preko vpliva na reabsorpcijo kalcija v ledvičnih tubulih, posredno pa tudi na njegovo absorpcijo v črevesju. V fizioloških koncentracijah PTH stimulira osteoblaste do take mere, da nadomeščajo z osteoklasti razgrajeno kostnino. Pri običajnih koncentracijah in pri pulzirajočem sproščanju PTH poveča število in aktivnost osteoblastov ter kostno tvorbo, pri visokih koncentracijah brez pulzirajočega sproščanja PTH pa se povečata število in aktivnost osteoklastov, kostna razgradnja in serumska koncentracija kalcija (44). Specifična signalna pot, ki je odgovorna za anabole učinke PTH, še vedno ni znana. Receptor za PTH se nahaja na površini osteoblastov, v katerih se po vezavi PTH poveča nastajanje RANKL in zmanjša nastajanje OPG (45-47). V osteoblastih PTH hkrati aktivira od cAMP odvisno protein kinazo, od kalcija odvisno protein kinazo C, MAP kinazo ter fosfolipazi A in D, ki so pomembne za aktivnost osteoblastov (48). Poleg tega se lahko kompleks receptor-PTH internalizira ter vpliva na transkripcijo genov (49). Za biološko aktivnost je odgovoren N-terminalni konec proteina PTH (1-34), zato rekombinantni humani PTH analog teriparatid sestavlja prvih 34 aminokislilin PTH (50). PTH in teriparatid (1-34 PTH) imata podobno, vendar ne popolnoma enako, aktivnost (51). Teriparatid je edino zdravilo za zdravljenje osteoporoze, ki ima samo anabolni učinek na kosti. Bolnikom ga apliciramo intermitentno v obliki podkožnih injekcij. Ni popolnoma jasno, zakaj ima intermitentna aplikacija majhnih odmerkov teriparatida anabolno delovanje na kosti, najverjetneje pa gre za simuliranje fiziološkega stanja, kjer se majhne koncentracije PTH pulzirajoče sproščajo v krvni obtok. Najpogostejši neželeni učinki teriparatida so slabost, bolečine v okončinah, glavobol in omotica.

Teriparatid lahko zaradi visoke cene v Sloveniji podobno kot drugje v Evropi predpišemo le tistim bolnikom in bolnicam s primarno in glukokortikoidno osteoporozo, ki so kljub vsaj letu dni ustreznega zdravljenja z drugimi zdravili utrpeli osteoporozni zlom vretenca ali kolka. Teriparatid je eno najučinkovitejših zdravil (52), saj zmanjša tveganje za zlome vretenc za 70 %, za nevretenčne zlome pa za 38 %. Poleg tega so pri bolnikih, zdravljenih s teriparatidom, dokazali povečanje MKG vretenc za 8,14 %, MKG kolka pa za 2,48 % (53). Zdravljenje s teriparatidom traja 2 leti, nato pa mora bolnik preiti na drugo zdravilo. Slabost zdravljenja s teriparatidom je vsakodnevna podkožna aplikacija zdravila, vendar pa že razvijajo tudi transdermalni dostavni sistem z mikroiglami, na katere je nanešen teriparatid. V II. fazi kliničnega preskušanja so pri uporabi

transdermalnega dostavnega sistema pokazali primerljivo (MKG vretenc, označevalci kostne prenove) ali celo večjo učinkovitost (MKG vratu stegenice) kot pri podkožni aplikaciji teriparatida (54).

Ali ste vedeli,

- da je teriparatid edino zdravilo za zdravljenje osteoporoze z izključno osteoanaboličnim učinkom;
- da teriparatid predpisujemo le bolnikom s primarno in glukokortikoidno osteoporozo, ki so kljub vsaj letu dni ustreznega zdravljenja z drugimi zdravili utrpeli osteoporozni zlom vretenca ali kolka;
- da je teriparatid eno najučinkovitejših zdravil za zdravljenje osteoporoze, saj zmanjša tveganje za zlome vretenc za 70 %, za nevretenčne zlome pa za 38 %.

2.5 Stroncijev ranelat

Stroncijev ranelat podobno kot difosfonati zmanjša pojav vretenčnih (55) in nevretenčnih zlomov (56), ne povzroča pa težav v zgornjih prebavilih. Zaradi teh lastnosti predstavlja iz strokovnega vidika zdravilo prvega izbora za zdravljenje postmenopavzne osteoporoze. Zaradi nekoliko višje cene je v praksi tako le pri bolnikih, starih 74 let ali več in takrat, ko difosfonati niso učinkoviti ali povzročajo težave v zgornjih prebavilih (57). Bistvena razlika v primerjavi z difosfonati je, da stroncijev ranelat poleg preprečevanja razgradnje stare kosti stimulira tudi njeno gradnjo (58). Študije *in vitro* so pokazale, da stroncijev ranelat zveča gradnjo kosti preko stimulacije tvorbe osteoblastov in sinteze kolagena, istočasno pa zmanjšuje diferenciacijo osteoklastov in njihovo sposobnost resorpcije, kar posledično prevesi ravnovesje v korist kostne gradnje. Ker je poleg kostne kvantitete, torej meritve MKG, pomembna tudi kvaliteta kosti, ki jo ocenimo na mikroskopskem nivoju, so bile za stroncijev ranelat opravljene tudi študije z metodami mikroročunalniške tomografije in kostne histomorfometrije. Rezultati so pokazali izboljšanje kostne mikroarhitekture po 12-mesečni terapiji s stroncijevim ranelatom (59), medtem ko po 6-mesečni terapiji učinki na kostno kvaliteto še niso vidni (46). Nedavno objavljena študija 10-letnega zdravljenja z stroncijevim ranelatom je pokazala dolgotrajno zvišanje MKG, učinkovito zaščito pred zlomi in ugoden varnostni profil (60). Tudi farmakokinetični profil je veliko ugodnejši kot pri difosfonatih - absorpcija znaša do 25 %, v organizmu pa se ne presnavlja in akumulira. Stroncijev ranelat je kontraindiciran pri bolnikih z anamnezo tromboembolije in pri imobiliziranih bolnikih, kjer je večja verjetnost za te dogodke (61).

Ali ste vedeli,

- da stroncijev ranelat poleg preprečevanja razgradnje kosti stimulira tudi njeno tvorbo in ne povzroča težav v zgornjih prebavilih;
- da stroncijev ranelat dokazano zmanjša incidenco vseh vrst zlomov;
- da je stroncijev ranelat kontraindiciran pri bolnikih z anamnezo ali dejavniki tveganja za tromboembolijo.

2.6 Denosumab

Po odkritju sistema RANKL/RANK/OPG so kmalu začeli tudi z razvijanjem zdravilnih učinkovin s ciljanim delovanjem na ta sistem. Do sedaj so kot potencialne zdravilne učinkovine preučevali fuzijske proteine Fc-OPG in OPG-Fc, RANK-Fc ter protitelesa proti RANKL, ki vse preprečujejo interakcijo med RANK in RANKL in tako zmanjšujejo

osteoklastogenezo ter razgradnjo kostnine (62). V predkliničnih in kliničnih fazah preskušanja se je kot najbolj učinkovito in varno izkazalo humano monoklonsko protitelo proti RANKL – denosumab (63-65). Denosumab se veže na membransko vezano in topno obliko RANKL, prepreči interakcijo RANKL-RANK in tako zavre aktivnost osteoklastov ter kostno razgradnjo (66). Denosumab lahko uporabljamo za zdravljenje pomenopavzne osteoporoze in za preprečevanje izgube kostnine pri moških z rakom prostate, ki se zdravijo z antiandrogenimi zdravili ter pri ženskah z rakom dojke, ki se zdravijo z zaviralci aromataze. Nova indikacija je preprečevanje kostnih zasevkov pri bolnikih z različnimi vrstami raka. V klinični študiji FREEDOM je denosumab zmanjšal tveganje za osteoporozne zlome vretenc za več kot 60 %, tveganje za nevretenčne zlome za 20 % in tveganje za zlome kolka za 40 % (65), prav tako je prišlo do povečanja MKG (67). Ker je sistem RANKL/RANK/OPG vpleten v številne procese v telesu, je pri razvoju učinkovin, ki delujejo na sistem RANKL/RANK/OPG, ključno doseganje zadostne specifičnosti učinkovin. Pri denosumabu so najpogostejši neželeni učinki zaprtost, kožni izpuščaji, bolečine v okončinah in morda tudi pojav katarakte. Pri preprečevanju interakcij med RANKL in RANK z učinkovinami, kot je denosumab, ne pričakujemo neželenih učinkov na razvoj limfatičnega sistema in mlečnih žlez, saj ta dva procesa potekata v otroštvu oz. zgodnji odrasli dobi (68, 69). Tovrstne učinkovine pa imajo morda lahko negativen vpliv na imunski odziv bolnika (70, 71) in termoregulacijo pri ženskah (72). V že omenjeni veliki klinični raziskavi FREEDOM so v prvih treh letih zdravljenja pri bolnicah, ki so prejemale denosumab, opažali značilno več primerov hujših kožnih okužb, vključno s šenom (65), vendar je v podaljšanju raziskave na 5 let to neravnovesje izginilo (73). Kljub temu nekateri menijo, da so okužbe pogostejše pri bolnikih, ki se zdravijo z denosumabom (70, 71), zato bo v prihodnje razvoj učinkovin usmerjen v iskanje možnosti za selektivnejše delovanje na sistem RANKL/RANK/OPG. V zadnjem času intenzivno preučujejo možnosti delovanja na receptor RANK, ki bi lahko bil dobra tarča za razvoj zdravil za zdravljenje osteoporoze (74).

Denosumab v Sloveniji trenutno lahko uporabljamo kot zdravilo prvega izbora pri bolnicah s primarno osteoporozo, starih 70 let ali več, pri vseh ostalih bolnicah pa le v primeru neprenašanja ali neučinkovitosti difosfonatov.

Ali ste vedeli,

- da je denosumab edino biološko zdravilo za zdravljenje osteoporoze in deluje kot antiresorptiv;
- da denosumab zmanjša tveganje za osteoporozne zlome vretenc za več kot 60 %, tveganje za nevretenčne zlome za 20 % in tveganje za zlome kolka za 40 %.

2.7 Druga zdravila, ki vplivajo na kosti

Poleg zdravil, ki jih uporabljamo za zdravljenje osteoporoze, imajo vpliv na kosti in kostno prenavo še številna druga zdravila, ki so navedena v preglednici 3.

3 Farmakoterapija osteoporoze - pogled v prihodnost

3.1 Zaviralci katepsina K

Katepsin K je predstavnik naddružine papainskih cisteinskih proteinaz, ki igra ključno vlogo v kostni razgradnji. Je ena najpomembnejših proteaz, ki jih osteoklasti izločajo v fazi kostne razgradnje. Iz lizosomov osteoklastov se katepsin K izloča v resorpcijsko lakuno in v kislem mediju razgrajuje glavno sestavino kostnega matriksa kolagen tipa I, cepi pa tudi kolagen tipa II (98). Katepsin K so identificirali kot primerno tarčo za razvoj novih antiresorptivnih zdravil na osnovi dokazov o zaviranju kostne razgradnje pri osebah z genetsko pogojenim pomanjkanjem encima in miškah z izključenim genom za katepsin K (107). Ključna prednost zdravljenja z zaviralci katepsina K je v tem, da za razliko od drugih antiresorptivnih zdravil (npr. difosfonatov in denosumaba), ki zmanjšujejo število osteoklastov, z zaviranjem katepsina K zmanjšamo le aktivnost osteoklastov. S tem ohranimo signalizacijo med osteoklasti in osteoblasti, kar omogoči zmanjšanje kostne razgradnje brez vpliva na kostno gradnjo t.i. razklop (108). Zaradi razširjenosti in pomembne vloge različnih katepsinov v organizmu je pri razvoju zelo pomembna selektivnost vezave na katepsin K. Trenutno najbolj proučen zaviralec katepsina K je odanakatib (107). Izkazuje močno inhibitorno delovanje in visoko selektivnost, saj se v primerjavi z ostalimi zaviralci manj veže na katepsine B, L in S. V tri tedne trajajoči klinični študiji I. faze na zdravih pomenopavznih ženskah so pokazali dobro prenašanje učinkovine in odmerka odvisno znižanje kostne razgradnje, brez vpliva na gradnjo kosti. Njegova dolga razpolovna doba (66 - 93 ur) omogoča enkrat tedensko jemanje (109). V dve leti trajajoči klinični študiji II. faze na 399 ženskah s pomenopavzno osteoporozo so dokazali odmerka odvisno zvišanje MKG. Pri jemanju 50 mg tedensko se je MKG kolka zvišala za 5,5 %, MKG ledvenih vretenc pa za 3,2 %. Biokemijski kazalci kostne razgradnje so se ravno tako znižali v odvisnosti od odmerka, medtem ko je bilo znižanje kazalcev kostne gradnje majhno in prehodno v primerjavi z njihovim znižanjem pri zdravljenju z alendronatom. Bistveno manjši vpliv kot pri drugih antiresorptivnih učinkovinah, se je pokazal tudi na koncentracije TRAP5b, ki predstavlja kazalec presnovne aktivnosti osteoklastov in njihovega števila. Ti podatki in rezultati kostne histomorfometrije kažejo na nesignifikanten padec kostne gradnje in signifikanten padec kostne razgradnje zaradi živih, vendar neaktivnih osteoklastov (110). V avgustu letos je bila zaradi dobrih rezultatov nekoliko predčasno zaključena klinična študija III. faze, v katero je bilo vključenih 16.000 pomenopavznih žensk (NCT00529373), njen glavni namen pa je bil ugotoviti učinkovitost preprečevanja zlomov (108).

Rezultati klinične študije II. faze kažejo, da je drugi obetavni inhibitor katepsina K ONO-5334 (111). Potencialna področja uporabe inhibitorjev katepsina K vključujejo poleg zdravljenja osteoporoze tudi zdravljenje kostnih zasevkov, osteoartrize in revmatoidnega artritisa (107).

Ali ste vedeli,

- da je prednost zaviralcev katepsina K pred drugimi antiresorptivnimi učinkovinami ta, da imajo bistveno manjši vpliv na zmanjšanje gradnje kosti, kar ugodno vpliva na prirast MKG;
- da lahko pričakujemo pričetek postopka za registracijo odanakatiba že v letu 2013.

Preglednica 3: Druga zdravila, ki lahko vplivajo na kostno presnovo, in mehanizem njihovega učinka na kosti.

Table 3: Medicines that can influence bone metabolism, and the mechanism of their action on bone.

zdravila, ki lahko vplivajo na kostno presnovo	mehanizem učinka
Dolgotrajna terapija z glukokortikoidi	- zmanjšanje števila in življenjske dobe osteoblastov, kar pripelje do zmanjšane kostne gradnje - povečanje apoptoze osteocitov, kar vodi do zmanjšane cirkulacije v kanalikulih v kostnini ter do slabše kvalitete kostnine - zmanjšana osteoklastogeneza, vendar pa se življenjska doba osteoklastov podaljša, kar vodi v večjo razgradnjo kostnine (75) - glukokortikoidi imajo tudi sekundarne učinke na skelet, saj zmanjšajo absorpcijo kalcija v črevesju in povečajo njegovo izločanje z urinom, povzročajo pa tudi hipogonadizem in šibkost mišic (76)
tiazolidindioni	- povečajo adipogenezo na račun osteoblastogeneze in imajo neposreden vpliv na diferenciacijo osteoblastov, kar vodi do zmanjšane kostne gradnje. Posredno delujejo na kostno tkivo tudi preko vpliva na izločanje adipokinov iz maščevja, ki vplivajo na kostno presnovo (76)
statini	- <i>in vitro</i> in <i>in vivo</i> študije kažejo, da statini povečajo kostno tvorbo preko delovanja na mevalonatno pot in BMP-2, kar poveča diferenciacijo osteoblastov (77, 78); v randomiziranih kliničnih študijah statini niso zmanjšali tveganja za osteoporozni zlom ali povečali MKG (79)
zaviralci aromataze	- negativni učinki na skelet so posledica znižanja koncentracije estrogena v krvi, saj estrogeni zmanjšujejo kostno razgradnjo (poveča se apoptoza osteoklastov, zmanjšata se število in aktivnost osteoklastov) in povečujejo kostno gradnjo (zmanjšajo apoptozo osteoblastov in povečajo diferenciacijo osteoblastov), kar vodi do nižje MKG in večjega tveganja za zlome (80-82)
heparin	- <i>in vitro</i> zavira diferenciacijo in delovanje osteoblastov, <i>in vivo</i> pa zmanjša gradnjo in poveča razgradnjo kosti. Na razgradnjo kosti vpliva preko zaviranja izražanja OPG (83); - v 3-6 mesecih po začetku zdravljenja s heparinom je približno 15 % žensk utrpelo zlom vretenca, zlomi pa so pogostejši pri uporabi nefrakcioniranega heparina kot pri nizkomolekularnih heparinih (84).
selektivni zaviralci privzema serotonina	- 5-hidroksitriptaminski prenašalec, ki je pomemben za privzem serotonina, so našli na osteoblastih, osteoklastih in osteocitih (76). V kliničnih študijah pri ljudeh so pokazali, da imajo ženske in moški, ki jemljejo selektivne zaviralce privzema serotonina, večje tveganje za osteoporozne zlome in padce ter nižjo MKG (85-89).
agonisti GnRH (gonadotropin sproščajoči hormon)	- delujejo na hipofizo, tako da preprečujejo sintezo spolnih hormonov. Zdravila se uporabljajo za zdravljenje endometrioze pri ženskah in pri raku prostate pri moških. Zaradi pomanjkanja spolnih hormonov pride do zmanjševanja kostne mase in večjega tveganja za zlome (90-93).
zaviralci protonske črpalke	- omeprazol pri glodalcih v visokih koncentracijah vpliva na adenozin-trifosfatazo na osteoklastih, kar nakazuje na možne antiresorptivne učinke na kosti. V kliničnih študijah pri ljudeh so pokazali, da je uporaba zaviralcev protonske črpalke povezana v večjem tveganjem za zlome, in sicer zlasti v višjih odmerkih in pri dolgotrajnem jemanju (94-98).
tiroksin	- ščitnični hormoni neposredno vplivajo na kostno razgradnjo, posredno pa tudi povečajo izločanje citokinov, ki povzročijo kostno razgradnjo (99); - pri hipertirozi se povečajo kostna premena, MKG in tveganje za zlome (100, 101). Pri hipotirozi pride pri pomenopavznih ženskah prav tako do povečanega tveganja za zlome vretenc in kolka (100-102).
antikonvulzivi	- povzročijo izgubo kostnine, vendar mehanizem ni znan; pospešijo presnovo vitamina D, imajo pa tudi neposredno inhibitorno delovanje na diferenciacijo osteoblastov (103)
imunosupresivi (ciklosporin, takrolimus)	- <i>in vitro</i> zavirata osteoklastogenezo in kostno razgradnjo, <i>in vivo</i> pa povzročita izgubo kostne mase zaradi povečane razgradnje kostnine (104). Tveganje za zlom je pri bolnikih odvisno od njihove starosti, spremljajočih bolezni in morebitne sočasne uporabe glukokortikoidov (105).
protivirusna zdravila	- zmanjšajo MKG zaradi večje izgube kostnine, ki je posledica povečanja osteoklastogeneze in kostne razgradnje ter zaradi poškodbe mitohondrijev in posledično slabše aktivnosti osteoblastov in tvorbe kostnine (106)

3.2 Novi selektivni modulatorji estrogenskih receptorjev in tkivno selektivni estrogenski kompleksi

Optimalni SERM bi preprečeval zlome, zmanjševal z menopavzo povezane vazomotorne simptome, zdravil vaginalno atrofijo in njene simptome ter izkazoval nevtralne ali zaščitne učinke na dojke, maternico in kardiovaskularni sistem. Tem zahtevam ne ustreza nobena do sedaj

registrirana učinkovina. Med novejšimi učinkovinami so arzoksifen in levormeloksifen že preizkušali v kliničnih študijah III. faze na bolnicah s pomenopavzno osteoporozo, vendar so razvoj obeh prekinili zaradi slabše učinkovitosti v primerjavi z že obstoječimi učinkovinami, oziroma neželenih učinkov. Izmed učinkovin v razvoju zaščitne učinke na kost izkazujeja ospemifen, ki ga razvijajo z namenom zdravljenja vulvovaginalne atrofije in RAD1901, ki ga razvijajo z namenom preprečevanja vročinskih oblivov (30, 112, 113).

Hipoteza, da bi izbor prave kombinacije SERM in estrogena, lahko vodil do boljšega kliničnega učinka z manj izraženimi neželenimi učinki, je vodila v razvoj tkivno selektivnih estrogenskih kompleksov. Zaradi interakcije na nivoju estrogenskih receptorjev učinek kombinacije ne predstavlja preprosto vsote učinkov posameznih komponent, kar so dokazali z merjenjem genskih ekspresijskih profilov. V predkliničnih študijah so ugotovili, da vse kombinacije estrogena in SERM nimajo enakega učinka v istem tkivu. Na kostno tkivo je imela najugodnejši učinek kombinacija konjugiranega estrogena in bazedoksifena. To je potrdila tudi dve leti trajajoča klinična študija III. faze, ki so jo izvedli na 3.397 zdravih pomenopavznih ženskah. Dokazali so zvišanje MKG ledvene hrbtenice in MKG kolka ter padec koncentracij osteokalcina in CTX, pri čemer so bile spremembe zadnjih treh parametrov signifikantno višje kot pri zdravljenju z raloksifenom (112, 113). Poleg tega pa so opazili tudi odsotnost stimulacije endometrija, zmanjšanje vročinskih obilov in vulvo-vaginalne atrofije ob dobrem profilu prenašanja in varnosti (113). Za oceno vpliva na tveganje za kardiovaskularne bolezni in raka dojke bo potrebno izvesti večje in dalj časa trajajoče študije (30).

Ali ste vedeli,

- da so za tkivno selektivni estrogenski kompleks, ki vključuje konjugirani estrogen in bazedoksifen, dokazali večji zaščitni vpliv na kosti in manj neželenih učinkov kot pri zdravljenju z raloksifenom.

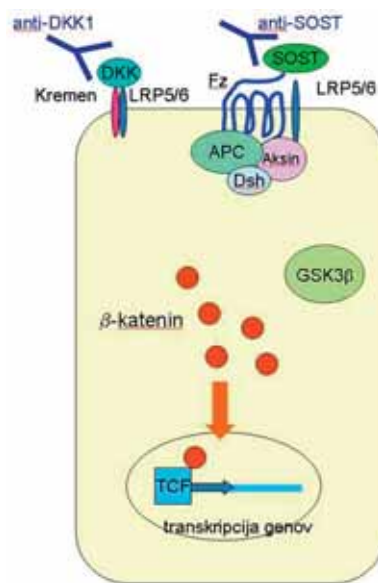
3.3 Tarče za nova zdravila v sistemu Wnt

Trenutno kot nove tarče za zdravila v signalni poti Wnt veliko preučujejo zaviralce DKK-1 in SOST, ki sicer oba zavirata signalno pot Wnt in tako vodita do manjše kostne gradnje. Z morebitnim razvojem novih zaviralcev DKK-1 in SOST bi lahko povečali kostno gradnjo in kostno maso ter tako odprli nove možnosti za anabolično zdravljenje osteoporoze. V predkliničnih študijah so preučevali anti-DKK-1 protitelesa in pri miših pokazali, da lahko po vezavi na DKK-1 povečajo število osteoblastov, zmanjšajo število osteoklastov (preko delovanja na RANKL in OPG) in povečajo volumen kostnine. Anti-DKK-1 protitelesa bi lahko uporabljali kot anabolično zdravilo za zdravljenje osteoporoze, preučujejo pa jih tudi pri plazmocitomu (114). V predkliničnih študijah so preučevali tudi nekaj protiteles proti SOST, kjer so pokazali, da povečajo kostno maso, izboljšajo mikroarhitekturo in trdnost kosti (115). Najbolj obetavno delno humano protitelo proti SOST AMG 785 so nadalje preučevali tudi v I. fazi kliničnih preskušanj, kjer so pokazali porast koncentracije označevalcev kostne gradnje in padec koncentracije označevalcev kostne razgradnje, povečala pa sta se tudi MKG kolka in vretenc (116). Delovanje monoklonskih protiteles proti DKK-1 in SOST je prikazano na **sliki 2**.

Poleg protiteles proti SOST so do sedaj preučevali tudi dve sintezni učinkovini, ki zavirata delovanje SOST OGX-21 in OGX-58. Obe delujeta anabolno, vendar sta trenutno še v predklinični fazi preskušanja (117).

Ali ste vedeli,

- da je SOST najbolj obetavna tarča v signalni poti Wnt, ki je vpletena v gradnjo kosti;
- da razvoj monoklonskih protiteles proti zaviralcema signalne poti Wnt, DKK-1 in SOST, odpira nove možnosti za anabolično zdravljenje osteoporoze in drugih bolezni kosti.



Slika 2: Delovanje monoklonskih protiteles proti DKK-1 in SOST na signalno pot Wnt. DKK-1 in SOST zavirata signalno pot Wnt, zato z vezavo monoklonskih protiteles anti-DKK-1 oz. anti-SOST dosežemo aktivacijo signalne poti Wnt, kar aktivira osteoblaste in poveča gradnjo kosti.

Figure 2: The effect of monoclonal antibodies against DKK-1 and SOST in Wnt signaling pathway. DKK-1 and SOST inhibit Wnt signaling pathway. By binding of anti-DKK-1 and anti-SOST antibodies, Wnt signaling pathway as well as osteoblastogenesis are activated leading to increased bone formation.

3.4 Druge učinkovine z delovanjem na nove tarče

Med učinkovine, ki delujejo na nove tarče, spada antiresorptivna učinkovina sarakatinib, ki deluje kot inhibitor c-src kinaze – encima, vključenega v aktivacijo osteoklastov. Študija na 59 zdravih moških je pokazala zmanjšanje serumskih in urinskih označevalcev kostne razgradnje v odvisnosti od odmerka (118), trenutno pa potekata s to učinkovino dve klinični študiji pri kostnih tumorjih. Ostala antiresorptivna zdravila z vplivom na nove tarče na osteoklastih vključujejo glukagonu podoben peptid-2 (GLP-2), ki se sprošča pri hranjenju in zavira kostno prenovno. Zdravljenje z GLP-2 je zvišalo MKG za 1,1 %, ni pa znižalo koncentracije označevalcev kostne gradnje (119). Razvijajo tudi zaviralce podenote ATP-aze, ki je potrebna za nastanek kislega okolja in delovanje kloridnega kanalčka v resorpcijski lakuni osteoklastov (120, 121). Zaviralec NS3736 je zmanjšal izgubo kosti pri ovariektomiziranih miših, ni pa vplival na označevalce kostne gradnje, kliničnih študij s temi učinkovinami pa zaenkrat še ni. Nove učinkovine so tudi protitelesa proti integrinu, ki onemogočijo pritrditev osteoklastov na kostno površino (108). L-000845704 so preizkusili na 227 pomenopavznih osteoporoznih ženskah in opazili zvišanje MKG ledvenih vretenc (122). Nova zdravila z anaboličnim delovanjem pa predstavljajo t.i. kalcilitiki, ki so antagonisti receptorjev, občutljivih za kalcij (CaSR, calcium-sensing receptor), ki se nahajajo na površini celic v paratiroidnih žlezah in uravnavajo sproščanje

PTH (123). Za učinkovino MK-5442/JTT-305 so v prekliničnih in kliničnih raziskavah pokazali vpliv na zvišanje MKG, ki je posledica anaboličnega učinka povečanega sproščanja endogenega PTH (124, 125). Te učinkovine naj bi tako nadomestile uporabo eksogenega PTH ali njegovih rekombinantnih analogov, študija na pomenopavznih ženskah, predhodno zdravljenih z alendronatom, pa naj bi bila zaključena avgusta 2012 (oznaka študije NCT00996801).

Ali ste vedeli,

- da so najbolj obetavne nove tarče na osteoklastih encimi v osteoklastih in integrini;
- da so najbolj obetavne tarče na osteoblastih receptorji, občutljivi na kalcij, ki uravnavajo sproščanje PTH.

4 Sklep

- prevalenca osteoporoze v Sloveniji je pri ženskah po 50. letu 27,5 %, pri moških po 60. letu pa 14,6 %;
- difosfonati so še vedno zdravilo prvega izbora za zdravljenje osteoporoze;
- raloksifen zmanjšuje osteoporozne zlome vretenc, ščiti pa tudi pred nastankom raka dojke in izboljša lipidni profil;
- denosumab je edino humano monoklonsko anti-RANKL protitelo, ki ga uporabljamo kot najmočnejši znani antiresorptiv; preprečuje vse vrste zlomov, uporabljamo ga lahko pri bolnicah, starih 70 let ali več in pri bolnicah, ki ne prenašajo difosfonatov ali pa so ti pri njih neučinkoviti;
- PTH in teriparatid sta edini zdravila, ki imata samo anabolični učinek na kosti, uporabljata pa se le pri bolnikih, ki so kljub zdravljenju osteoporoze utrpeli nizkoenergijski zlom vretenca ali kolka;
- stroncijev ranelat zavira razgradnjo kosti in stimulira njeno gradnjo, uporabljamo ga lahko pri bolnikih in bolnicah, starih 74 let ali več, brez omejitve pa ob neprenašanju ali neučinkovitosti difosfonatov;
- na kostno presnovo vplivajo tudi glukokortikoidi, tiazolidindioni, statini, inhibitorji aromataze, heparini, selektivni zaviralci privzema serotonina, agonisti GnRH (gonadotropin sproščajoči hormon), zaviralci protonske črpalke, tiroksin, antikonvulzivi, imunosupresivi in protivirusna zdravila;
- v različnih fazah preskušanja so trenutno zaviralci katepsina K, zdravila, ki delujejo na signalno pot Wnt, novi selektivni modulatorji estrogenskih receptorjev in tkivno selektivni estrogenski kompleksi ter druga.

5 Literatura

1. World Health Organisation. Prevention and management of osteoporosis. WHO Tech Report Series 2003; 921: 1 – 192.
2. World Health Organisation. Assessment of fracture risk and its application to screening for postmenopausal osteoporosis. WHO Tech Report Series 1994; 843: 1-129.
3. Kanis JA, Johnell O, Oden A et al. Long-term risk of osteoporotic fracture in Malmö. Osteoporos Int 2000; 11 (8): 669-674.
4. Looker AC, Orwoll ES, Johnston CC Jr et al. Prevalence of low femoral bone density in older U.S. adults from NHANES III. J Bone Miner Res 1997; 12: 1761–1768.
5. Žorž G. Prevalenca osteoporoze v Sloveniji. ISIS 2006; 15 (3): 34-36.
6. Bacon WE, Maggi S, Looker A et al. International comparison of hip fracture rates in 1988–1989. Osteoporos Int 1996; 6: 69–75.
7. Effors I, Allander E, Kanis JA et al. The variable incidence of hip fracture in Southern Europe: the MEDOS Study. Osteoporos Int 1994; 4: 253–263.
8. Johnell O, Gullberg B, Allander E et al. The apparent incidence of hip fracture in Europe: a study of national register sources. MEDOS Study Group. Osteoporos Int 1992; 2: 298–302.
9. Thomsen K, Gotfredsen A, Christiansen C. Is postmenopausal bone loss an age-related phenomenon? Calcif Tissue Int 1986, 39: 123–127.
10. Rodan GA, Fleisch HA. Bisphosphonates: Mechanisms of action. J Clin Invest 1996; 97(12): 2692–2696.
11. Russell RG, Watts NB, Ebetino FH et al. Mechanisms of action of bisphosphonates: similarities and differences and their potential influence on clinical efficacy. Osteoporos Int. 2008; 19 (6): 733-759.
12. Russell RG, Xia Z, Dunford JE et al. Bisphosphonates: an update on mechanisms of action and how these relate to clinical efficacy. Ann NY Acad Sci 2007; 1117: 209-257.
13. Black D, Schwartz AV, Ensrud KE et al. Effects of continuing or stopping alendronate after 5 years of treatment: the Fracture Intervention Trial Long-term Extension (FLEX): a randomized trial. JAMA 2006; 296(24): 2927-2938.
14. Miller PD, Watts NB, Licata AA et al. Cyclical etidronate in the treatment of postmenopausal osteoporosis: efficacy and safety after seven years of treatment. Am J Med 103 1997; 103 (6): 468-476.
15. Mellstrom DD, Sorensen OH, Goemaere S et al. Seven years of treatment with risedronate in women with postmenopausal osteoporosis. Calcif Tissue Int 2004; 75 (6): 462-468.
16. Ensrud KE, Barrett-Connor EL, Schwartz A et al. Randomized trial of effect of alendronate continuation versus discontinuation in women with low BMD: results from the Fracture Intervention Trial long-term extension. J Bone Miner Res 2004; 19 (8): 1259-1269.
17. FDA. FDA Drug Safety Communication: Ongoing safety review of oral bisphosphonates and atypical subtrochanteric femur fractures. <http://www.fda.gov/Drugs/DrugSafety/PostmarketDrugSafetyInformationforPatientsandProviders/ucm203891.htm>. Dostop: 22-10-2012.
18. Warren C, Gilchrist N, Coates M et al. Atypical subtrochanteric fractures, bisphosphonates, blinded radiological review. ANZ J Surg 2012.
19. Watts NB, Diab DL. Long-term use of bisphosphonates in osteoporosis. J Clin Endocrinol Metab 2010, 95: 1555–1565.
20. Bock O, Felsenberg D. Bisphosphonates in the management of postmenopausal osteoporosis-optimizing efficacy in clinical practice. Clin Interv Aging 2008; 3 (2): 279-297.
21. Abrahamsen B. Adverse effects of bisphosphonates. Calcif Tissue Int 2010; 86: 421–435.
22. MacLean C, Newberry S, Maglione M et al. Systematic review: comparative effectiveness of treatments to prevent fractures in men and women with low bone density or osteoporosis. Ann Intern Med 2008; 148 (3): 197-213.
23. Watts NB, Bilezikian JP, Camacho PM et al. American Association of Clinical Endocrinologists Medical Guidelines for Clinical Practice for the diagnosis and treatment of postmenopausal osteoporosis. Endocr Pract 2010; 16 Suppl 3: 1-37.
24. Silverman S, Christiansen C. Individualizing osteoporosis therapy. Osteoporos Int 2012; 23 (3): 797-809.
25. Rossouw JE, Anderson GL, Prentice RL et al. Risks and benefits of estrogen plus progestin in healthy postmenopausal women: principal results From the Women's Health Initiative randomized controlled trial. JAMA 2002; 288 (3): 321-333.
26. Body JJ, Bergmann P, Boonen S et al. Evidence-based guidelines for the pharmacological treatment of postmenopausal osteoporosis: a consensus document by the Belgian Bone Club. Osteoporos Int 2010; 21 (10): 1657-1680.
27. Anderson GL, Limacher M, Assaf AR et al. Effects of conjugated equine estrogen in postmenopausal women with hysterectomy: the Women's Health Initiative randomized controlled trial. JAMA 2004; 291 (14): 1701-1712.
28. Hendrix SL, Wassertheil-Smoller S, Johnson KC et al. Effects of conjugated equine estrogen on stroke in the Women's Health Initiative. Circulation 2006; 113 (20): 2425-2434.
29. Kocjan T, Franić D. Osteoporoza in hormonsko nadomestno zdravljenje. Zdr Vestn 2008; 77 Suppl III: 43–48.
30. Pickar JH, MacNeil T, Ohleth K. SERMs: progress and future perspectives. Maturitas 2010; 67 (2): 129-138.
31. Duggan ST and McKeage K. Bazedoxifene: a review of its use in the treatment of postmenopausal osteoporosis. Drugs 2011; 71 (16): 2193-2212.

32. Ettinger B, Black DM, Mitlak BH et al. Reduction of vertebral fracture risk in postmenopausal women with osteoporosis treated with raloxifene: results from a 3-year randomized clinical trial. Multiple Outcomes of Raloxifene Evaluation (MORE) Investigators. *JAMA* 1999; 282 (7): 637-645.
33. Silverman SL, Christiansen C, Genant HK et al. Efficacy of bazedoxifene in reducing new vertebral fracture risk in postmenopausal women with osteoporosis: results from a 3-year, randomized, placebo-, and active-controlled clinical trial. *J Bone Miner Res* 2008; 23 (12): 1923-1934.
34. Cummings SR, Ensrud K, Delmas PD et al. Lasofoxifene in postmenopausal women with osteoporosis. *N Engl J Med* 2010; 362 (8): 686-696.
35. Gennari L, Merlotti D, Nuti R. Selective estrogen receptor modulator (SERM) for the treatment of osteoporosis in postmenopausal women: focus on lasofoxifene. *Clin Interv Aging* 2010; 5: 19-29.
36. Hochner-Celnikier D. Pharmacokinetics of raloxifene and its clinical application. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 1999; 85: 23-29.
37. Trontelj J. Raziskave metabolizma raloksifena z eksperimentalnimi modeli naraščajoče kompleksnosti. Doktorsko delo 2007. Fakulteta za farmacijo. Univerza v Ljubljani. Ljubljana.
38. Trontelj J, Marc J, Zavrtnik A et al. Effects of UGT1A1*28 polymorphism on raloxifene pharmacokinetics and pharmacodynamics. *Br J Clin Pharmacol* 2009; 67 (4): 437-44.
39. Trdan Lusin T, Trontelj J, Mrhar A. Raloxifene glucuronidation in human intestine, kidney, and liver microsomes and in human liver microsomes genotyped for the UGT1A1*28 polymorphism. *Drug Metab Dispos* 2011; 39 (12): 2347-54.
40. Trdan Lušin T, Stieger B, Marc J et al. Organic anion transporting polypeptides OATP1B1 and OATP1B3 and their genetic variants influence the pharmacokinetics and pharmacodynamics of raloxifene. *J Transl Med* 2012; 10: 76.
41. Trdan Lušin T, Mrhar A, Stieger B et al. Influence of hepatic and intestinal efflux transporters and their genetic variants on the pharmacokinetics and pharmacodynamics of raloxifene in osteoporosis treatment. *Transl Res* 2012; 160 (4): 298-308.
42. Brewer L, Williams D, Moore A. Current and future treatment options in osteoporosis. *Eur J Clin Pharmacol* 2011; 67 (4): 321-331.
43. Cooper C, Reginster JY, Cortet B et al. Long-term treatment of osteoporosis in postmenopausal women: a review from the European Society for Clinical and Economic Aspects of Osteoporosis and Osteoarthritis (ESCEO) and the International Osteoporosis Foundation (IOF). *Curr Med Res Opin* 2012; 28: 475-491.
44. Chambers TJ, Hall TJ. Cellular and molecular mechanisms in the regulation and function of osteoclasts. *Vit Hormones* 1991; 46: 41-86.
45. Lee SK, Lorenzo JA. Parathyroid hormone stimulates TRANCE and inhibits osteoprotegerin messenger ribonucleic acid expression in murine bone marrow cultures: correlation with osteoclast-like cell formation. *Endocrinology* 1999; 140: 3552-3561.
46. Ma YL, Cain RL, Halladay DL et al. Catabolic effects of continuous human PTH (1-38) in vivo is associated with sustained stimulation of RANKL and inhibition of osteoprotegerin and gene-associated bone formation. *Endocrinology* 2001; 142: 4047-4054.
47. Onyia JE, Miles RR, Yang X et al. In vivo demonstration that human parathyroid hormone 1-38 inhibits the expression of osteoprotegerin in bone with the kinetics of an immediate early gene. *J Bone Miner Res* 2000; 15: 863-871.
48. Dempster DW, Cosman F, Parisien M et al. Anabolic actions of parathyroid hormone on bone. *Endocr Rev* 1993; 14: 690-709.
49. Pickard BW, Hodsman AB, Fraher LJ et al. Type 1 parathyroid hormone receptor (PTH1R) nuclear trafficking: association of PTH1R with importin alpha1 and beta. *Endocrinology* 2006; 147: 3326-3332.
50. Rabbani SA, Mitchell J, Roy DR et al. Influence of the amino-terminus on in vitro and in vivo biological activity of synthetic parathyroid hormone and parathyroid hormone-like peptides of malignancy. *Endocrinology* 1988; 123: 2709-2716.
51. Murray TM, Rao LG, Divieti P et al. Parathyroid hormone secretion and action: evidence for discrete receptors for the carboxyl-terminal region and related biological actions of carboxyl-terminal ligands. *Endocr Rev* 2005; 26: 78-113.
52. Hopkins BR, Goeree R, Pullenayegum E et al. The relative efficacy of nine osteoporosis medications for reducing the rate of fractures in post-menopausal women. *BMC Musculoskeletal Disorders* 2011; 12: 209.
53. Han SL, Wan SL. Effect of teriparatide on bone mineral density and fracture in postmenopausal osteoporosis: meta-analysis of randomised controlled trials. *Int J Clin Pract* 2012; 66 (2): 199-209.
54. Cosman F, Lane NE, Bolognese MA et al. Effect of transdermal teriparatide administration on bone mineral density in postmenopausal women. *J Clin Endocrinol Metab* 2010; 95: 151-158.
55. Meunier PJ, Roux C, et al. Effects of long-term strontium ranelate treatment on vertebral fracture risk in postmenopausal women with osteoporosis. *Osteoporos Int* 2009; 20 (10): 1663-1673.
56. Reginster JY, Seeman E, De Vernejoul MC et al. Strontium ranelate reduces the risk of nonvertebral fractures in postmenopausal women with osteoporosis: treatment of peripheral osteoporosis (TROPOS) study. *J Clin Endocrinol Metab* 2005; 90 (5): 2816-2822.
57. Diabetološko združenje Slovenije in Zveza endokrinologov Slovenije. <http://www.endodiab.si/dotAsset/6363.pdf>. Preželj J, Kocjan T, Gantar-Rott U et al. Dopolnilo k smernicam za odkrivanje in zdravljenje osteoporoze. Dostop: 13-11-2012.
58. Bonnelye E, Chabadel A, Saltel F et al. Dual effect of strontium ranelate: stimulation of osteoblast differentiation and inhibition of osteoclast formation and resorption in vitro. *Bone* 2008; 42 (1): 129-138.
59. Ariot ME, Jiang Y, Genant HK et al. Histomorphometric and microCT analysis of bone biopsies from postmenopausal osteoporotic women treated with strontium ranelate. *J Bone Miner Res* 2008; 23 (2): 215-222.
60. Reginster JY, Kaufman JM, Goemaere S et al. Maintenance of antifracture efficacy over 10 years with strontium ranelate in postmenopausal osteoporosis. *Osteoporos Int* 2012; 23 (3): 1115-1122.
61. Grosso A, Douglas I, Hingorani A et al. Post-marketing assessment of the safety of strontium ranelate; a novel case-only approach to the early detection of adverse drug reactions. *Br J Clin Pharmacol* 2008; 66 (5): 689-694.
62. Lacey DL, Boyle WJ, Simonet WS et al. Bench to bedside: elucidation of the OPG - RANK-RANKL pathway and the development of denosumab. *Nature Rev* 2012; 11: 401-419.
63. Lewiecki EM. Current and emerging pharmacologic therapies for the management of postmenopausal osteoporosis. *J Womens Health (Larchmt)* 2009; 18: 1615-1626.
64. Miller PD. Denosumab: anti-RANKL antibody. *Curr Osteoporos Rep* 2009; 7: 18-22.
65. Cummings SR, San Martin J, McClung MR, et al. Denosumab for prevention of fractures in postmenopausal women with osteoporosis. *N Engl J Med* 2009; 361: 756-765.
66. Kostenuik PJ, Nguyen HQ, McCabe J et al. Denosumab, a fully human monoclonal antibody to RANKL, inhibits bone resorption and increases BMD in knock-in mice that express chimeric (murine/human) RANKL. *J Bone Miner Res* 2009; 24: 182-195.
67. Bone HG, Bolognese MA, Yuen CK et al. Effects of denosumab on bone mineral density and bone turnover in postmenopausal women. *J Clin Endocrinol Metab* 2008; 93 (6): 2149-2157.
68. Fata JE, Kong YY, Li J, et al. The osteoclast differentiation factor osteoprotegerin-ligand is essential for mammary gland development. *Cell* 2000; 103: 41-50.
69. Hoorweg K, Cupedo T. Development of human lymph nodes and Peyer's patches. *Semin Immunol* 2008; 20: 164-170.
70. Anastasilakis AD, Toulis KA, Goulis DG, et al. Efficacy and safety of denosumab in postmenopausal women with osteopenia or osteoporosis: a systematic review and a meta-analysis. *Horm Metab Res* 2009; 41: 721-729.
71. Toulis KA, Anastasilakis AD. Erratum to: Increased risk of serious infections in women with osteopenia or osteoporosis treated with denosumab. *Osteoporos Int* 2010.
72. Hanada R, Leibbrandt A, Hanada T et al. Central control of fever and female body temperature by RANKL/RANK. *Nature* 2009; 462: 505-509.
73. Papapoulos S, Chapurlat R, Libanati C et al. Five years of denosumab exposure in women with postmenopausal osteoporosis: results from the first two years of the FREEDOM extension. *J Bone Miner Res* 2012; 27 (3): 694-701.
74. Jules J, Ashley JW, Feng X. Selective Targeting of RANK Signaling Pathways as New Therapeutic Strategies for Osteoporosis. *Expert Opin Ther Targets* 2010; 14 (9): 923-934.
75. Weinstein RS. Glucocorticoid-induced bone disease. *N Engl J Med* 2011; 365: 62-70.

76. Pitts CJ, Kearns AE. Update on medications with adverse skeletal effects. *Mayo Clin Proc* 2011; 86 (4): 338-43.
77. Toh S, Hernandez-Diaz S. Statins and fracture risk. A systematic review. *Pharmacoeconomic Drug Saf* 2007; 16: 627-640.
78. Horiuchi N, Maeda T. Statins and bone metabolism. *Oral Dis* 2006; 12, 85-101.
79. Yue J, Zhang X, Dong B et al. Statins and bone health in postmenopausal women: a systematic review of randomized controlled trials. *Menopause* 2010; 17 (5): 1071-9.
80. Cummings SR, Browner WS, Bauer D et al. Study of Osteoporotic Fractures Research Group. Endogenous hormones and the risk of hip and vertebral fractures among older women. *N Engl J Med*. 1998; 339 (11): 733-738.
81. Ettinger B, Pressman A, Sklarin P et al. Associations between low levels of serum estradiol, bone density, and fractures among elderly women: the study of osteoporotic fractures. *J Clin Endocrinol Metab* 1998; 83 (7): 2239-2243.
82. Heshmati HM, Khosla S, Robins SP et al. Role of low levels of endogenous estrogen in regulation of bone resorption in late postmenopausal women. *J Bone Miner Res* 2002; 17: 172-178.
83. Rajgopal R, Bear M, Butcher MK et al. The effects of heparin and low molecular weight heparins on bone. *Thromb Res* 2008; 122: 293-298.
84. Monreal M, Lafoz E, Olive A et al. Comparison of subcutaneous unfractionated heparin with a low molecular weight heparin (Fragmin) in patients with venous thromboembolism and contraindications to coumarin. *Thromb Haemost* 1994; 71: 7-11.
85. Richards JB, Papaioannou A, Adachi JD et al. Canadian Multicentre Osteoporosis Study Research Group. Effect of selective serotonin reuptake inhibitors on the risk of fracture. *Arch Intern Med* 2007; 167 (2): 188-194.
86. Ziere G, Dieleman JP, van der Cammen TJ et al. Selective serotonin reuptake inhibiting antidepressants are associated with increased risk of nonvertebral fractures. *J Clin Psychopharmacol* 2008; 28 (4): 411-417.
87. Diem SJ, Blackwell TL, Stone KL et al. Use of antidepressants and rates of hip bone loss in older women. *Arch Intern Med* 2007; 167 (12): 1240-1245.
88. Haney EM, Chan BK, Diem SJ et al. Osteoporotic Fractures in Men Study Group. Association of low bone mineral density with selective serotonin reuptake inhibitor use by older men. *Arch Intern Med* 2007; 167 (12): 1246-1251.
89. Williams LJ, Henry MJ, Berk M et al. Selective serotonin reuptake inhibitor use and bone mineral density in women with history of depression. *Int Clin Psychopharmacol* 2008; 23 (2): 84-87.
90. Stoch SA, Parker RA, Chen L et al. Bone loss in men with prostate cancer treated with gonadotropin-releasing hormone agonists. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86 (6): 2787-2791.
91. Greenspan SL, Coates P, Sereika SM et al. Bone loss after initiation of androgen deprivation therapy in patients with prostate cancer. *J Clin Endocrinol Metab* 2005; 90 (12): 6410-6417.
92. Shahinian VB, Kuo YF, Freeman JL et al. Risk of fracture after androgen deprivation for prostate cancer. *N Engl J Med* 2005; 352 (2): 154-164.
93. Smith MR, Lee WC, Brandman J et al. Gonadotropin-releasing hormone agonists and fracture risk: a claims-based cohort study of men with nonmetastatic prostate cancer. *J Clin Oncol* 2005; 23 (31): 7897-7903.
94. Vestergaard P, Rejnmark L, Mosekilde L. Proton pump inhibitors, histamine H2 receptor antagonists, and other antacid medications and the risk of fracture. *Calcif Tissue Int* 2006; 79: 76-83.
95. Targownik LE, Lix LM, Metge CJ et al. Use of proton pump inhibitors and risk of osteoporosis-related fractures. *CMAJ* 2008; 179 (4): 319-326.
96. Yang YX, Lewis JD, Epstein S et al. Long-term proton pump inhibitor therapy and risk of hip fracture. *JAMA* 2006; 296 (24): 2947-2953.
97. Roux C, Briot K, Gossec L et al. Increase in vertebral fracture risk in postmenopausal women using omeprazole. *Calcif Tissue Int* 2009; 84 (1): 13-19.
98. Yu EW, Blackwell T, Ensrud KE et al. Acid-suppressive medications and risk of bone loss and fracture in older adults. *Calcif Tissue Int* 2008; 83 (4): 251-259.
99. Lakatos P. Thyroid hormones: beneficial or deleterious for bone? *Calcif Tissue Int* 2003; 73: 205-209.
100. Biondi B, Cooper DS. The clinical significance of subclinical thyroid dysfunction. *Endocr Rev* 2008; 29: 76-131.
101. Sheppard MC, Holder R, Franklyn JA. Levothyroxine treatment and occurrence of fracture of the hip. *Arch Intern Med* 2002; 162: 338-343.
102. Bauer DC, Ettinger B, Nevitt MC et al. Risk for fracture in women with low serum levels of thyroid-stimulating hormone. *Ann Intern Med* 2001; 134: 561-568.
103. Petty SJ, O'Brien TJ, Wark JD. Anti-epileptic medication and bone health. *Osteoporos Int* 2007; 18: 129-142.
104. Movsowitz C, Epstein S, Ismail F et al. Cyclosporin A in the oophorectomized rat: unexpected severe bone resorption. *J Bone Miner Res* 1989; 4: 393-398.
105. Leidig-Bruckner G, Hosch S, Dodidou P et al. Frequency and predictors of osteoporotic fractures after cardiac or liver transplantation: a follow-up study. *Lancet* 2001; 357: 342-347.
106. Brown TT, Qaqish RB. Antiretroviral therapy and the prevalence of osteopenia and osteoporosis: a meta-analytic review. *AIDS* 2006; 20: 2165-2174.
107. Ng KW. Potential role of odanacatib in the treatment of osteoporosis. *Clin Interv Aging* 2012; 7: 235-247.
108. Rachner TD, Khosla S and Hofbauer LC. Osteoporosis: now and the future. *Lancet* 2011; 377 (9773): 1276-1287.
109. Stoch SA, Zajic S, Stone J et al. Effect of the cathepsin K inhibitor odanacatib on bone resorption biomarkers in healthy postmenopausal women: two double-blind, randomized, placebo-controlled phase I studies. *Clin Pharmacol Ther* 2009; 86 (2): 175-182.
110. Bone HG, McClung MR, Roux C et al. Odanacatib, a cathepsin-K inhibitor for osteoporosis: a two-year study in postmenopausal women with low bone density. *J Bone Miner Res* 2010; 25 (5): 937-947.
111. Eastell R, Nagase S, Ohyama M et al. Safety and efficacy of the cathepsin K inhibitor ONO-5334 in postmenopausal osteoporosis: the OCEAN study. *J Bone Miner Res* 2011; 26 (6): 1303-1312.
112. Lindsay R, Gallagher JC, Kagan R et al. Efficacy of tissue-selective estrogen complex of bazedoxifene/conjugated estrogens for osteoporosis prevention in at-risk postmenopausal women. *Fertil Steril* 2009; 92 (3): 1045-1052.
113. Lindsay R. Preventing osteoporosis with a tissue selective estrogen complex (TSEC) containing bazedoxifene/conjugated estrogens (BZA/CE). *Osteoporos Int* 2011; 22 (2): 447-451.
114. Gavriatopoulou M, Dimopoulos MA, Christoulas D et al. Dickkopf-1: a suitable target for the management of myeloma bone disease. *Expert Opin Ther Targets* 2009; 13 (7): 839-848.
115. Costa AG, Bilezikian JP. Sclerostin: therapeutic horizons based upon its actions. *Curr Osteoporos Rep* 2012; 10 (1): 64-72.
116. Padhi D, Jiang G, Stouch B et al. Single-dose, placebo-controlled, randomized study of AMG 785, a sclerostin monoclonal antibody. *J Bone Miner Res* 2011; 26: 19-26.
117. Curatio CME Institute. Bone Metastasis Prevention, Management of Cancer Therapy-Induced Bone Loss, and Emerging Therapies for Cancer-Related Bone Disease. <http://www.curatiocme.com/>. Dostop: 09-10-2012.
118. Hannan RA, Clack G, Rimmer M et al. Effects of the Src kinase inhibitor saracatinib (AZD0530) on bone turnover in healthy men: a randomized, double-blind, placebo-controlled, multiple-ascending-dose phase I trial. *J Bone Miner Res* 2010; 25 (3): 463-471.
119. Henriksen DB, Alexandersen P, Hartmann B et al. Four-month treatment with GLP-2 significantly increases hip BMD: a randomized, placebo-controlled, dose-ranging study in postmenopausal women with low BMD. *Bone* 2009; 45 (5): 833-842.
120. Schaller S, Henriksen K, Sveigaard C et al. The chloride channel inhibitor NS3736 [corrected] prevents bone resorption in ovariectomized rats without changing bone formation. *J Bone Miner Res* 2004; 19 (7): 1144-1153.
121. Sorensen MG, Henriksen K, Neutsky-Wulff AV et al. Diphyllin, a novel and naturally potent V-ATPase inhibitor, abrogates acidification of the osteoclastic resorption lacunae and bone resorption. *J Bone Miner Res* 2007; 22 (10): 1640-1648.
122. Murphy MG, Cerchio K, Stoch SA et al. Effect of L-000845704, an alphaVbeta3 integrin antagonist, on markers of bone turnover and bone mineral density in postmenopausal osteoporotic women. *J Clin Endocrinol Metab* 2005; 90 (4): 2022-2028.
123. Nemeth EF. The search for calcium receptor antagonists (calcilytics). *J Mol Endocrinol* 2002; 29 (1): 15-21.
124. Fukumoto S. [Antagonist for calcium-sensing receptor. JTT-305/MK-5442]. *Clin Calcium* 2011; 21 (1): 89-93.
125. Kimura S, Nakagawa T, Matsuo Y et al. JTT-305, an orally active calcium-sensing receptor antagonist, stimulates transient parathyroid hormone release and bone formation in ovariectomized rats. *Eur J Pharmacol* 2011; 668 (1-2): 331-336.

Ključna hranila za zdravje okostja

Critical nutrients in bone health

Igor Pravst, Cirila Hlastan Ribič

Povzetek: Zdravje okostja ima velik vpliv na kakovost življenja posameznika pa tudi na socialno-ekonomske stroške razvitih držav. Zelo pomembno vlogo pri tem imata pridobitev optimalne maksimalne mineralne gostote kosti (MGK) v mladosti ter upočasnjevanje izgube kostne mase s staranjem. Ko govorimo o bolezenskih stanjih okostja, je potrebno razlikovati med dvema stanjema. *Osteopenija* je pojav zmanjšane MGK in predstavlja dejavnik tveganja za razvoj *osteoporoze*, bolezenskega stanja, za katerega so poleg zmanjšanja MGK značilne tudi spremembe notranje zgradbe kosti in posledično povečana krhkost ter dovzetnost za zlome. Primerna prehrana in zadostna telesna aktivnost sta ključna zaščitna vedenjska dejavnika. Predmet članka je obravnava vloge najpomembnejših hranil pri vzdrževanju zdravega okostja. Poleg kalcija, vitamina D in vitamina K, ki so obravnavani podrobneje, v prispevku razpravljava tudi o nekaterih drugih, za strukturo kosti pomembnih hranilih, predvsem magneziju, beljakovinah in fosforju. Priporočene dnevne vnose z vsemi naštetimi hranili lahko večinoma zagotovimo z uživanjem raznovrstne in uravnotežene prehrane, katere pomemben del tvorijo mlečni izdelki, pelagične ribe in zelena zelenjava. Razprava tudi navaja, v katerih primerih je potrebno razmišljati o dodajanju teh hranil prehrani.

Ključne besede: kalcij, vitamin D, vitamin K, osteoporoza, okostje

Abstract: Bone health has a critical effect on the quality of one's life, and also on the health services, economies and populations as a whole. The maximum attainment of peak bone mass achieved during growth and the rate of bone loss with advancing age are the two principal factors effecting bone health. We must distinguish two different conditions when discussing bone health. *Osteopenia* is a condition of lowered bone mineral density (BMD) and considered as a serious risk factor for the development of *osteoporosis*, which is a skeletal disease characterised both by low bone mass and the microarchitectural deterioration of bone tissue with a consequent increase in bone fragility and susceptibility to fractures. Nutrition is, together with physical activity, the most important exogenous factor influencing these processes. In this review we focused to the role of dietary calcium, vitamin D and vitamin K, the most important dietary factors of bone health, and also discussed some other critical nutrients – magnesium, proteins and phosphorus. While dairy products, fishes and green vegetables are recognized as important foods for bone health, we also discussed in which cases the supplementation should be considered.

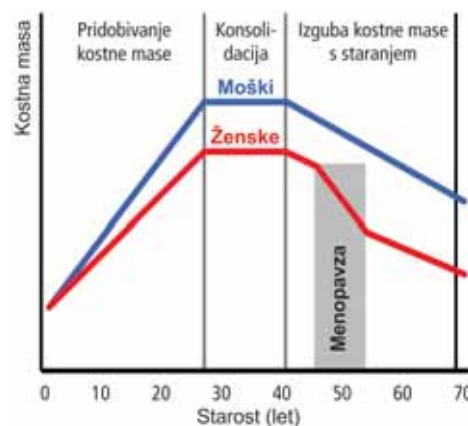
Key words: calcium, vitamin D, vitamin K, osteoporosis, bones

1 Uvod

Na zdravje okostja najbolj vplivata pridobitev optimalne maksimalne mineralne gostote kosti (MGK) v otroštvu in mladosti ter hitrost izgubljanja le-te s staranjem, ki je najvišja pri ženskah v času menopavze. Na Sliki 1 je prikazana shema sprememb kostne mase s staranjem.

Dejavniki življenjskega sloga v obdobju otroštva so ključnega pomena za razvoj optimalne MGK, ki pomembno vplivajo na zdravje okostja tudi v kasnejšem življenjskem obdobju. Rast kostne gostote je največja med adolescenco. Kombinacija zdrave prehrane in zmerne telesne aktivnosti ima večji vpliv na MGK, kot vsak od obeh dejavnikov posebej (2). Telesna aktivnost ima ugoden prispevek le, če ni prekomerna (3), ter ko je vnos kalcija zadosten (4).

Sodobni pogled na nastanek osteoporoze, kronične sistemske bolezni, ki jo najpogosteje povezujemo z zdravjem okostja, je objavljen v tej tematski številki Farmacevtskega vestnika (5). Znano je, da že majhne razlike v MGK lahko pomembno vplivajo na tveganje za zlom kosti (1) ter da na te spremembe lahko vplivamo s primernim vnosom specifičnih, za okostje pomembnih hranil (6), ki so obravnavana v nadaljevanju.



Slika 1: Spremembe kostne mase v različnih obdobjih življenja; prilagojeno iz Loveridge et al. (1) z dovoljenjem.

Figure 1: Changes in skeletal mass throughout the life cycle; adapted from Loveridge et al. (1) with permission.

2 Kalcij

V odraslem telesu človeka je okrog 1 kg kalcija; kar 99% se ga nahaja v okostju in zobeh v obliki kalcijevega fosfata (7). Kalcij je najpomembnejši makroelement za razvoj zdrave kosti in ohranitev njene trdnosti (3). Serumska koncentracija Ca^{2+} je skrbno regulirana.

2.1 Dnevni vnos in potrebe po kalciju

Priporočen dnevni vnos (PDV) oz. referenčna vrednost za kalcij pri označevanju živil in prehranskih dopolnil v Evropski uniji (EU) je 800 mg. V Preglednici 1 so prikazani priporočeni dnevni vnosi kalcija po D-A-CH priporočilih (priporočila Nemškega prehranskega društva (DGE), Avstrijskega prehranskega društva (ÖGE), Švicarskega društva za raziskovanje na področju prehrane (SGE) in Švicarskega prehranskega združenja (SVE), (8)). Na osnovi podatkov aktualnih raziskav je Evropska agencija za varno hrano (EFSA) letos potrdila ustreznost najvišjega dovoljenega odmerka za odrasle (UL, tolerable daily upper intake level) pri 2500 mg (9). Tudi s strani IOM (Institute of Medicine of the National Academies, ZDA) določene UL se za različne populacijske skupine odraslih gibljejo med 2000 in 3000 mg (9,10).

Preglednica 1: Priporočen dnevni vnos kalcija po priporočilih D-A-CH (8)

Table 1: Recommended Daily Intake for Calcium according to D-A-CH (8)

Starost		Nosečnost	Dojenje
0-4 mesecev	220 mg		
5-12 mesecev	400 mg		
1-3 let	600 mg		
4-6 let	700 mg		
7-9 let	900 mg		
10-12 let	1.100 mg		
13-14 let	1.200 mg		
15-18 let	1.200 mg	1.200 mg	1.200 mg
19+ let	1.000 mg	1.000 mg	1.000 mg

Pomanjkanje kalcija predstavlja globalni problem, še posebej pri starostnikih ter bolj izpostavljenih populacijah. Kalcij je eno izmed redkih hranil, ki ga primanjkuje v prehrani prebivalcev razvitih držav (11).

2.2 Viri kalcija v prehrani, njegova absorpcija in ravnotežje

Med posamezniki obstajajo pomembne razlike v sposobnosti za absorpcijo kalcija, ki v splošnem znaša med 25% in 35%. Najpomembnejši vir kalcija v prehrani predstavljajo mleko in mlečni izdelki, ki v povprečju prispevajo do 75% dnevnega vnosa. Zaradi prekomernega vnosa maščob je priporočljivo uživanje manj mastnega mleka in mlečnih izdelkov. Za kalcij iz mlečnih izdelkov je sicer značilna dobra biodostopnost, predvidoma zaradi prisotnosti laktoze, kazeinskih fosfopeptidov in vitamina D (12). Preostanek kalcija zaužijemo pretežno z žiti in zelenjavo, vendar je iz teh virov biodostopnost lahko pomembno slabša, npr. zaradi vsebnosti oksalatov, ki s kalcijem tvorijo netopen kompleks. Meso vsebuje malo kalcija, podobno pa velja tudi za ribe, razen če jih uživamo s kostmi (npr. sardine) (12).

Biodostopnost kalcija iz njegovih soli, ki se uporabljajo v prehranskih dopolnilih (npr. karbonat, laktat, glukonat in citrat), je primerljiva, ko jih uživamo ob obroku, na tešče pa je npr. absorpcija kalcija iz citratne oblike

nekoliko boljša kot iz karbonata (13). Vendar pa je hkrati potrebno upoštevati, da kalcijev citrat na enako maso vsebuje približno pol manj kalcija (21%) kot karbonat (40%) in ga je zato za enak odmerek potrebno zaužiti precej več, hkrati pa je tudi dražji. Kalcijev laktat in glukonat vsebujeta le 13% oz. 9% kalcija, zato so odmerki teh soli še precej višji (13).

V javnosti se pojavlja tudi nekaj manipulacij z različnimi viri kalcija, npr. Okinavski koralni kalcij. Gre za kalcijev karbonat, ki so mu neupravičeno pripisovali mnoge zdravilne lastnosti (13). Koralnega kalcijevega karbonata sicer ne gre enačiti s kalcijem, izoliranim iz morskih alg, ki jih nekatere obmorske države gojijo posebej za ta namen. Za na ta način proizveden kalcijev karbonat je namreč značilna zelo porozna struktura in velika specifična površina, kar naj bi lajšalo njegovo topnost v želodčnem soku in bi lahko prispevalo k lažji absorpciji (14), hkrati pa proizvodnja tega vira ni ekološko sporna.

Absorpcija kalcija v prebavnem traktu je odvisna od več notranjih dejavnikov in poteka deloma pasivno z difuzijo, predvsem pa z aktivnim transportom, ki ima omejeno kapaciteto in ga regulirata obščitnični hormon (PTH) in kalcitriol, aktivna oblika vitamina D. Absorpcija je najučinkovitejša pri nizkem vnosu in visokih potrebah. Učinkovitost absorpcije kalcija se znižuje s staranjem, pri nizkih vrednostih vitamina D in estrogena (13).

2.3 Kdaj je treba biti na primeren vnos kalcija še posebej pozoren

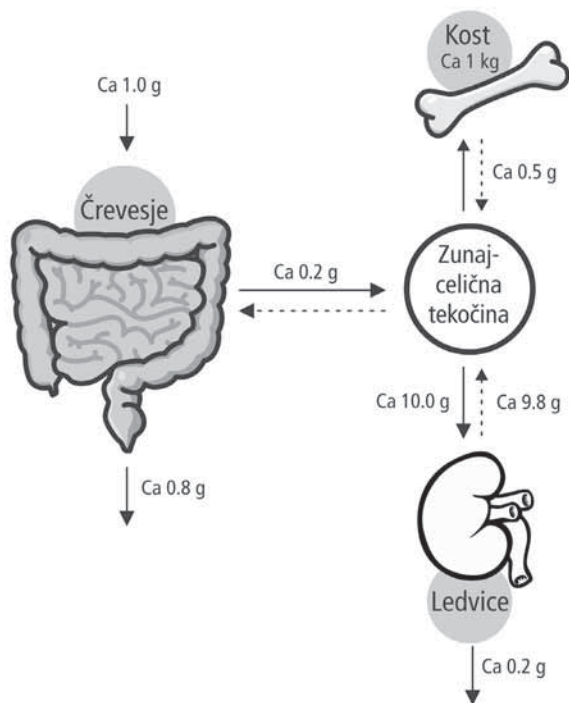
V kosti se vgradi največ kalcija v času razvoja okostja, še posebej pa med adolescenco (12). Raziskava v Sloveniji je pokazala, da kar 79% predšolskih otrok ne dosega dnevno priporočenega vnosa kalcija (15). Tudi precej mladostnikov ne dosega priporočenih vnosov, najnižje vnose kalcija pa so imeli tisti najstniki, ki so bili prepričani, da mlečni izdelki redijo (16). Najnovejša raziskava je sicer pokazala, da je v skupini mladostnikov v času adolescence vnos kalcija najbolj problematičen prav med dekleti (11), pri katerih bi bil z vidika tveganja za razvoj osteoporoze optimalen vnos kalcija najpomembnejši. Vnosi kalcija pri otrocih in mladostnikih niso tako kritični, da jih ne bi bilo mogoče izboljšati s spremembami prehranjevalnih navad, kar potrjuje pomembnost izobraževanja mladih o pomembnosti pestre in uravnotežene prehrane.

Zadosten vnos kalcija je pomemben tudi v odrasli dobi, ko se med vgradnjo in resorpcijo kalcija vzpostavi dinamično ravnotežje (Slika 2). Dokazano je, da zadosten vnos kalcija zavira izgubo kostne mase in tudi zmanjšuje tveganje za zlome (12, 17). Potrebe po kalciju so povečane v menopavzi, ko se zaradi nizkih vrednosti estrogena zmanjša tvorba in poveča resorpcija kosti. Upoštevati je potrebno tudi s starostjo povezano znižano absorpcijo kalcija, ki je pri 65 letih približno polovico nižja kot v času adolescence (16).

Določene skupine v populaciji veljajo za bolj izpostavljene pomanjkanju kalcija. Prehrana brez mlečnih izdelkov, bodisi zaradi osebnih odločitev (npr. vegani) ali zdravstvenih razlogov (npr. pri alergiji na beljakovine mleka), težko zagotovi več kot 450 mg kalcija dnevno (18), zato ga je v teh primerih na podlagi kliničnih analiz smiselno dodajati. Na zadosten vnos morajo biti še posebej pozorne tudi ženske v času pred, med in po menopavzi, ljudje z osteopenijo ali osteoporozo ter starostniki (13). V času nosečnosti in dojenja se sposobnost absorpcije kalcija iz prehrane

poveča (19), zato priporočen vnos kalcija v tem obdobju ni večji od siceršnjega.

Prekomeren vnos kalcija ne prispeva k zdravju okostja in lahko celo predstavlja tveganje za zdravje. Preseganje UL se lahko odrazi s pojavom različnih neželenih učinkov (interakcija z absorpcijo in metabolizmom drugih mineralov, ledvični kamni, hiperkalcemija idr. (20)). Pri bolnikih s hiperkalcemijo je dodajanje kalcija kontraindicirano (13).



Slika 2: Ravnotežje kalcija pri odraslih: Če dnevno zaužijemo okrog 1 g kalcija, se ga približno 200 mg absorbira, 800 mg pa izloči. Iz okostja se dnevno resorbira približno 500 mg kalcija, enaka količina pa se ga v okostje tudi ponovno vgradi. Od približno 10 g kalcija, ki dnevno prepotuje preko ledvic, se ga z urinom izloči 200 mg ali manj, ostali pa se reabsorbira (7).

Figure 2: Calcium balance in adulthood: If 1 g of elemental calcium is ingested daily, about 200 mg will be absorbed and 800 mg excreted. About 500 mg is released by resorption or deposited during bone formation. Of the 10 g of Ca filtered through the kidney per day, only 200 mg or less appears in the urine, with the remainder being reabsorbed (7).

3 Vitamin D

Biološko vlogo vitamina D imata holecalfiferol (vitamin D_3) in ergokalfiferol (vitamin D_2). Holecalfiferol telo naravno sintetizira v koži pod vplivom UV žarkov. Vitamin D v telesu deluje kot prohormon, ki postane biološko aktiven po dveh hidroksilacijah, prvi v jetrih in drugi v ledvicah; na ta način nastane aktiven kalcitriol ($1,25(OH)_2D_3$) (Slika 3) (21).

Najpomembnejša fiziološka vloga vitamina D je vzdrževanje serumske koncentracije kalcija in fosforja s povečevanjem absorpcije v črevesju

(12). Kalcitriol na absorpcijo kalcija vpliva neposredno z vezavo na receptorje celic v povrhnjici tankega črevesja, kjer aktivira beljakovine, odgovorne za aktivni transport kalcija (18). Brez kalcitriola bi absorpcija kalcija potekala le pasivno, vendar je njegova vloga v regulaciji homeostaze kalcija še mnogo širša. Kalcitriol sodeluje tudi pri modulaciji ekspresije preko 50 genov, med drugim tudi za sintezo kalcidiol hidroksilaze, kalbindina, kalcij-vezujoče beljakovine in osteokalcina.

3.1 Fotosinteza vitamina D3

V koži se holecalfiferol tvori dvostopenjsko. Sinteza se začne iz 7-dehidroholesterolu, intermedijata v sintezi holesterola (12). Iz njega v hitri pretvorbi, katalizirani z UVB žarki, nastane prekalcefiferol. Ob zadostni izpostavljenosti sončni svetlobi je ta pretvorba vsega, v koži prisotnega substrata, končana že v nekaj urah. Nasprotno je precej počasnejša druga stopnja, izomerizacija prekalcefiferola v holecalfiferol, ki poteka tudi ponoči. Stopnja epidermalne pigmentacije in intenzivnost UVB žarkov vplivata le na hitrost prve pretvorbe, ne pa na doseženi maksimum koncentracije prekalcefiferola (22). Zaradi tvorbe neaktivnih metabolitov ob nadaljevanju sončenja ni nevarnosti za hipervitaminozo. Ob normalni izpostavljenosti sončnim žarkom se v koži sintetizira 20-50 μ g vitamina D dnevno (12). Če je intenziteta UVB žarkov nizka, tvorba prekalcefiferola v telesu ni zadostna, kar potrjujejo sezonska nihanja koncentracije kalcidiola pri ljudeh v zmernih geografskih območjih (12). V Sloveniji v zimskem obdobju običajna izpostavljenost sončnim žarkom ne omogoča zadostne biosinteze vitamina D, zato je nujen dodaten vnos vitamina D s prehrano (12).

3.2 Dnevni vnos in potrebe po vitaminu D

Pri otrocih se pomanjkanje vitamina D odraža z razvojem rahitisa, pri odraslih pa z osteomalacijo; v obeh primerih gre za prenizko mineralizacijo kosti. Referenčna vrednost za vitamin D pri označevanju živil in prehranskih dopolnil (PDV) je 5 μ g (Op: 1 μ g holecalfiferola ustreza 40 IU; 1 IU = 0,025 μ g). IOM je povprečno dnevno potrebo odraslih in otrok po vitaminu D iz prehranskih virov (EAR; Estimated Average Requirements) določil pri 10 μ g (10). Velik problem pri določitvi ustreznih priporočil je upoštevanje vpliva izpostavljenosti sončni svetlobi na potrebo telesa po prehranskih virih vitamina D, saj je ta v različnih geografskih delih in populacijah zelo različen. Zato se zadnja D-A-CH priporočila nanašajo na potrebo po vitaminu D v odsotnosti endogene sinteze: 10 μ g za dojenčke in 20 μ g za ostale populacije (19). EFSA je leta 2012 povišala UL vrednosti za vitamin D: 25 μ g za dojenčke, 50 μ g za otroke (1-10 let) ter 100 μ g za odrasle (23), ki so zdaj primerljive z UL vrednostmi, ki jih je določil IOM (62,5-100 μ g) (10). Preseganje teh vrednosti ni smotno, saj so visoki vnosi vitamina D povezani s povečanim tveganjem za hiperkalcemijo in hiperkalcemijo (19). Dodajanje občasnih visokih odmerkov vitamina D bi bilo sicer praktično, vendar ni priporočljivo. Kontrolirana raziskava zaužitja visokega odmerka vitamina D (holecalfiferol; 12.500 μ g) enkrat letno na preko 2000 starejših ženskah (>70 let) je v skupini prejemnic vitamina D pokazala povečano tveganje za padce in zlome (24).

Nizki prehranski vnos vitamina D je svetovni javnozdravstveni problem, kar so pokazale tudi študije v Sloveniji. Nizek vnos vitamina D je bil pri nas opažen pri adolescentih (60% priporočenega vnosa) (11), še nižji pa pri predšolskih otrocih (21%) (15). Raziskava prehranske kakovosti zajtrka dijakov je pokazala na slabo pokrivanje potreb po vitaminu D (25).

Podobne raziskave pri odraslih v Sloveniji niso bile narejene, vendar rezultati iz sosednjih držav kažejo na prenizke vnose tega vitamina (11). Tudi pri doječih materah, ki niso izpostavljene sončni svetlobi, vsebnost vitamina D v mleku verjetno ni dovolj visoka za pokritje vseh potreb otroka, še posebej v zimskem času, ko so telesne zaloge vitamina D nizke (12). Poseben problem predstavlja tudi zadosten vnos vitamina D pri ostarelih, vezanih na dom ali različne ustanove, saj so zaradi nizke izpostavljenosti sončni svetlobi potrebe po prehranskem vitaminu D pri njih večje.

3.3 Viri vitamina D v prehrani, njegova absorpcija in metabolizem

Le nekaj živil vsebuje pomembne količine vitamina D, zato je v nekaterih državah obvezno bogatenje določenih izdelkov, npr. margarine. Najpomembnejši prehranski viri vitamina D so sicer ribje olje, pelagične ribe (npr. sled, sardine, skuše), jetra in jajčni rumenjaki (22). Rastline vsebujejo zelo nizke koncentracije vitamina D.

Zaužiti vitamin D se v tankem črevesju učinkovito (ca. 80%) absorbira po mehanizmu, značilnem za maščobotopne molekule (19) ter se nato preko limfnega sistema hitro prenese v jetra, kjer se metabolizira (21). Nasprotno je endogeni vitamin D vezan na serumsko vitamin D-vezavno beljakovino (DBP; vitamin D-binding protein) in se zato metabolizira precej počasneje (12). DBP ima zelo veliko kapaciteto in predstavlja najpomembnejše mesto za shranjevanje vitamina D v telesu, pretežno v obliki kalcidiola. Razpolovni čas kalcidiola v plazmi je približno 10-20 dni, za kalcitriol pa le 3-6 ur (21). Metabolizem vitamina D je shematsko prikazan na Sliki 3 (22).

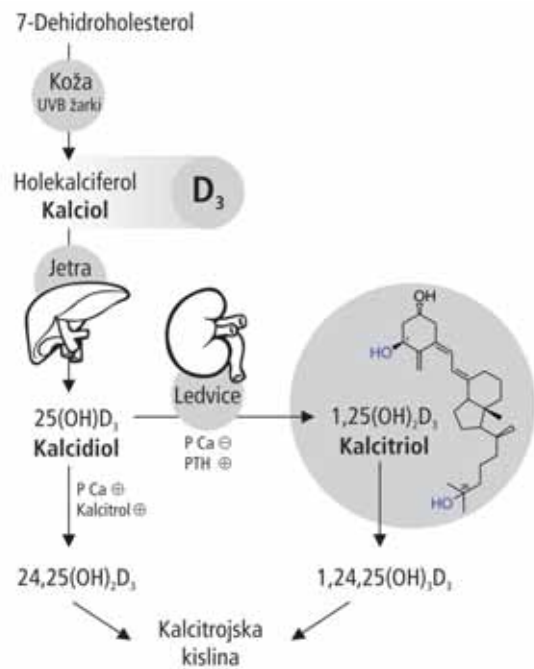
Biolška dostopnost vitamina D₂ in D₃ je primerljiva (19). Za razliko od mnogih drugih maščobotopnih substanc so raziskave pokazale, da je učinek enega večjega odmerka vitamina D zelo podoben, kot če enako visok odmerek razdelimo na več manjših preko celotnega dneva (21).

3.4 Kdaj je treba biti na primeren vnos vitamina D še posebej pozoren

Ob redni izpostavljenosti sončni svetlobi v sončnih mesecih dodajanje vitamina D ni potrebno. Nasprotno zadosten vnos vitamina D s prehrano postane pomemben v času nizke izpostavljenosti sončni svetlobi (19), in sicer v vseh življenjskih obdobjih. Posebna pozornost je potrebna pri populacijah, ki tudi poleti niso dovolj izpostavljene sončni svetlobi, npr. pri tistih starostnikih, ki se zadržujejo v zaprtih prostorih. Dodajanje vitamina D je povezano z zmanjšanim tveganjem za zlome le, če je hkrati zagotovljen zadosten vnos kalcija (26). Pri starejši populaciji je razlog za nižje tveganje za zlome zaradi dodajanja vitamina D tudi zaradi ugodnega vpliva vitamina D na mišične funkcije, zaradi česar se zmanjša tveganje za padec.

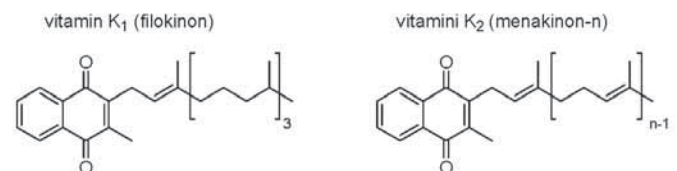
4 Vitamin K

V naravi se nahaja več aktivnih vitaminov K. Medtem ko ima filokinon (vitamin K₁) pretežno nasičeno stransko verigo, ima menakinon (vitamin K₂) poliizoprensko stransko verigo, navadno s 4-9 izoprenskimi enotami (Slika 4). Pomanjkanje vitamina K se odraža v motnjah strjevanja krvi in hemoragični bolezni. Vitamin K ima tudi pomembno vlogo pri mineralizaciji kosti.



Slika 3: Metabolizem vitamina D; prilagojeno iz (22): V koži iz 7-dehidroholesterolu s fotolizo nastane precalciferol, ki se s termično-aktivirano izomerizacijo pretvori v vitamin D₃ (holekalciferol). Ta se v jetrih najprej pretvori v kalcidiol, slednji pa v ledvicah do kalcitriola in 24,25(OH)₂D₃. Uravnavanje metabolizma poteka predvsem na ravni ledvic, kjer nizka serumsko koncentracija kalcija in fosforja ter visoka koncentracija PTH pospešujeta proizvodnjo aktivnega kalcitriola, medtem ko visoka serumsko koncentracija kalcija in fosforja ter nizka vrednost PTH reakcijo obrnejo v smer nastanka neaktivnega derivata 24,25(OH)₂D₃.

Figure 3: The metabolism of vitamin D; adopted from (22): In skin precalciferol is formed by the photolysis from 7-dehydrocholesterol. After thermal-activated isomerization vitamin D₃ (cholecalciferol) is then formed. The liver converts vitamin D to calcidiol and the kidney converts calcidiol to calcitriol and 24,25(OH)₂D₃. Control of the metabolism is exerted primarily at the level of the kidney, where low-serum calcium and phosphorus, and high PTH levels favour the production of calcitriol, whereas high-serum calcium and phosphorus, and low PTH levels favour 24,25(OH)₂D₃ production.



Slika 4: Kemijski strukturi vitaminov K

Figure 4: Chemical structures of vitamin K

Vitamin K je koencim pri karboksilaciji glutamilnih skupin na različnih beljakovinah, pri čemer se le-te pretvorijo v γ -karboksilglutamilne (Gla). Te skupine so med drugim pogoste tudi v osteokalcinu - majhni Gla-beljakovini, ki se sintetizira specifično v kosteh, ter Gla beljakovini kostnega matriksa. Specifična vezavna mesta za vitamin K se nahajajo tudi v jedrih osteoblastov (12).

4.1 Dnevni vnos in potrebe po vitaminu K

Priporočeni dnevni vnosi vitamina K s prehrano (**Preglednica 2**) so ocenjeni tako, da pri večini populacije zagotavljajo serumsko koncentracijo vitamina, ki zagotavlja normalen proces strjevanja krvi (8, 20). Za odrasle se priporoča dnevni vnos 1 μg vitamina K na kilogram telesne teže, referenčna vrednost za označevanje živil (PDV) pa je 75 μg . Za določitev UL ni bilo dovolj podatkov (20).

Preglednica 2: Ocenjen potreben dnevni vnos (AI) vitamina K po priporočilih D-A-CH (8)

Table 2: Estimated Values for Adequate Daily Intake (AI) for Vitamin K according to D-A-CH (8)

Starost		Nosečnost	Dojenje
0-3 mesece	4 μg		
4-12 mesecev	10 μg		
1-3 leta	15 μg		
4-6 let	20 μg		
7-9 let	30 μg		
10-12 let	40 μg		
13-14 let	50 μg		
15-64 let	70 μg	60 μg	60 μg
65+ let	80 μg		

Takšni vnosi so zadostni za polno γ -karboksilacijo koagulacijskih faktorjev (20), ne pa tudi za polno γ -karboksilacijo osteokalcina (27). Pri zdravih odraslih je prav zaradi pomanjkljive γ -karboksilacije približno 10-30% osteokalcina v neaktivni obliki. Pomen tega na zdravje okostja še ni povsem pojasnjen, so pa v raziskavah z menakinonom ugotovili, da večji vnos vitamina poveča delež polno karboksilirane osteokalcina (28).

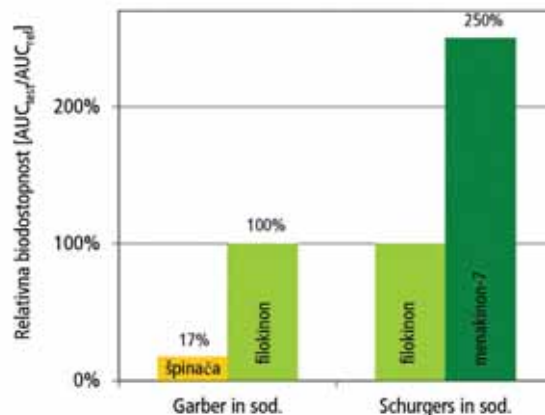
4.2 Viri vitamina K v prehrani, njegova absorpcija in metabolizem

Glavni vir vitamina K v zahodnem svetu predstavlja zelena zelenjava, kjer se vitamin nahaja v obliki filokinona (20). Z vitaminom K so bogati špinata, brokoli, brstični ohrovit in zelje, pa tudi nekatera rastlinska olja in margarine. V precej nižji koncentraciji vitamin K najdemo tudi v mesu, mleku in mlečnih izdelkih ter jajcih, kjer pa se nahaja v obliki menakinonov. Zelo visoke koncentracije menakinonov najdemo v *nattu*, značilnem Japonskem fermentiranem izdelku iz soje (29). Menakinone lahko v določenem obsegu proizvajajo tudi bakterije v črevesju.

Vitamin K se absorbira v tankem črevesju z vključitvijo v hilomikrone in LDL, preko katerih se prenese v zunaj-jetrne celice za pretvorbo v menakinon-4, najpomembnejšo vitamero v večini tkiv (30). Največje zaloge vitamina K so v jetrih. Približno 60% vitamina se izloči z žolčem v obliki konjugiranih neaktivnih metabolitov, preostanek pa z urinom (31).

Filkinonin in menakinoni niso bioekivalentni. Zaradi tesne vezave na tilakoidno membrano kloroplasta je absorpcija filokinona iz zelene

zelenjave omejena, vendar to ne zmanjšuje pomena zelenjave kot najpomembnejšega vira vitamina K v prehrani človeka. Precej boljše je absorpcija filokinona iz izdelkov, v katerih se le-ta nahaja samostojno (32), še bolj biorazpoložljivi pa so menakinoni (33) (**Slika 5**). Vitamere se pomembno razlikujejo tudi v razpolovnih časih. Medtem ko ima filokinon razpolovno dobo le nekaj ur, le-ta pri menakinonih znaša približno 3 dni (33), zaradi česar uživanje menakinonov privede do mnogo višjih koncentracij vitamina K v plazmi. Pri ljudeh, ki uživajo antikoagulate, je potrebno upoštevati, da dnevni vnos preko 50 μg menakinona-7 lahko povzroči klinično pomembne interakcije z osnovno terapijo (33).



Slika 5: Primerjava relativne biodostopnosti vitamina K: Normalizirano na dodatek filokinona. Garber in sod. so primerjali absorpcijo filokinona iz špinata s prehranskim dopolnilom (tableta) (32), medtem ko so Schurgers in sod. primerjali dopolnila, ki sta vsebovali filokinon ali menakinon-7 (33).

Figure 5: Comparison of two relative bioavailability studies for vitamin K: Normalised on a phylloquinone supplement. Garber et al. compared the absorption of phylloquinone from spinach with a tablet formulation (32), while Schurgers et al. compared supplements containing phylloquinone and menaquinone-7 (33).

4.3 Kdaj je treba biti na primeren vnos vitamina K še posebej pozoren

Zadosten vnosa vitamina K je pomemben tako v otroštvu za pridobivanje kostne mase, kot v nadaljevanju življenja za ohranjanje le-te (34). Sistematski pregled kontroliranih raziskav je pokazal, da večji vnos vitamina K (bodisi v obliki filokinona ali menakinonov) zmanjšuje starostno povezano izgubo kostne mase, za vnos menakinonov pa je bil ugotovljen tudi ugoden prispevek na znižanje tveganja za zlome (35).

5 Druga, za okostje pomembna hranila

Razvoj in zdravje okostja sta povezana tudi z mnogimi drugimi hranili. V povezavi s tem se, poleg že obravnavanih hranil, največkrat omenja še magnezij, beljakovine in fosfor pa tudi druga hranila (mangan, cink idr.).

Magnezij

Dobri viri magnezija v prehrani so polnovredna žita, zelenjava, oreški in semena (36). Priporočen dnevni vnos za odrasle je med 300 in 400 mg (D-A-CH). Magnezij po eni strani vpliva na metabolizem indirektno kot kofaktor številnih encimov, po drugi strani pa ima tudi neposredni vpliv na strukturo kosti, saj zmanjšuje velikost kristalov hidroksiapatita in s tem njihovo krhkost (37). Pomanjkanje magnezija lahko vpliva na rast in razvoj kosti, osteoblastično in osteoklastično aktivnost, osteopenijo in lomljivost kosti (36).

Fosfor

Fosfor je takoj za kalcijem drugi najpogostejši mineral v telesu in enako pomemben za strukturo okostja. Vsebujejo ga številna živila, pogosto pa se ga živilom tudi dodaja iz tehnoloških razlogov (npr. dodajanje fosfatov in drugih aditivov živilom). Za razliko od kalcija je absorpcija fosforja mnogo učinkovitejša, v zadnjih desetletjih pa je zaslediti tudi vse večji vnos fosforja v populaciji (38, 39). Povečevanje vnosa fosforja stimulira izločanje PTH in posledično vpliva tudi na absorpcijo in metabolizem kalcija (38). Glede na prehranske vnose fosforja v populaciji, ga ni potrebno dodajati s prehranskimi dopolnili.

Beljakovine

Primeren vnos beljakovin je prepoznan kot pomemben dejavnik za zdravje okostja, prenizek ali previsok vnos pa imata negativen vpliv. Poleg količine zaužitih beljakovin je pomembna tudi količina kalcija v prehrani. Nekatere raziskave so kazale, da se s povečevanjem vnosa beljakovin poveča izločanje kalcija z urinom (40), zaključki novejših študij pa so si nasprotujoči. Pri večini epidemioloških študij je bila namreč ugotovljena pozitivna zveza med uživanjem beljakovin in MGK, medtem ko nekatere študije kažejo na povečano tveganje za zlome pri skupinah z visokim vnosom beljakovin.

6 Sklep

Primeren vnos različnih hranil in redna dnevna telesna aktivnost sta izjemnega pomena tako za razvoj kot za ohranjanje zdravja okostja, najbolj prepoznana s tem povezana hranila pa so kalcij ter vitamina D in K. Priporočene dnevne vnose teh hranil lahko zagotovimo z raznovrstno in uravnoteženo prehrano, v kateri imajo pomembno vlogo mlečni izdelki, še posebej manj mastni, pelagične ribe in zelena zelenjava. Z zadostnim uživanjem raznovrstnih živil v uravnoteženi prehrani večinoma lahko zaužijemo dovolj hranilnih in drugih zaščitnih snovi, da prehranska dopolnila niso potrebna. Naravne snovi v živilih se medsebojno dopolnjujejo in kot celota lahko varujejo pred nastankom različnih bolezni. O dodajanju teh hranil prehrani je potrebno razmišljati v primeru neuravnotežene prehrane (npr. pri izogibanju mlečnim izdelkom), v primeru vitamina D pa predvsem v zimskih mesecih. Pomembno vlogo za zdravje okostja imajo tudi mnoga druga hranila.

7 Zahvala

Za pregled prispevka in koristne napotke se zahvaljujeva prof. dr. Andreji Kocijančič. Za lekturo prispevka se zahvaljujeva Barbari Lapuh.

8 Literatura

1. Loveridge N, Lanham-New SA. Healthy Ageing: Bone Health. In: Stanner S, Thompson R, Buttriss JL, eds. Healthy Ageing. West Sussex: Wiley-Blackwell, 2009: 54-73.
2. Bass SL, Naughton G, Saxon L, Iuliano-Burns S, Daly R, Briganti EM, Hume C, Nowson C. Exercise and calcium combined results in a greater osteogenic effect than either factor alone: A blinded randomized placebo-controlled trial in boys. *J Bone Min Res* 2007; 22: 458-464.
3. Kocijancic A. Postmenopavzalna osteoporozo. *Zdravniški vestnik* 1994; 63 : 595-602.
4. Specker BL. Evidence for an interaction between calcium intake and physical activity on changes in bone mineral density. *J Bone Min Res* 1996; 11: 1539-1544.
5. Mencej Bedrač S., Ostanek., Mlakar V., Zupan J., Kocjan T., Preželj J., Marc J. Sodobni pogled na nastanek osteoporozo. *Farmaceutski vestnik* 2012; 63: 269-278.
6. Schaafsma A, de Vries PJF, Saris WHM. Delay of natural bone loss by higher intakes of specific minerals and vitamins. *Crit Rev Food Sci Nutr* 2001; 41: 225-249.
7. Favus MJ, Goltzman D. Regulation of Calcium and Magnesium. In: Rosen CJ, ed. *Primer on the Metabolic Bone Diseases and Disorders of Mineral Metabolism*. Washington, D.C.: American Society for Bone and Mineral Research, 2008: 104-108.
8. D-A-CH. D-A-CH-Referenzwerte für die Nährstoffzufuhr (DGE-intern 23/2008 vom 18.11.2008). Bonn: German Nutrition Society, 2008.
9. EFSA Panel on Dietetic Products Nutrition and Allergies (NDA). Scientific Opinion on the Tolerable Upper Intake Level of calcium. *EFSA Journal* 2012; 10: 2814.
10. Institute of Medicine Dietary Reference Intakes for Calcium and Vitamin D. Washington, DC: The National Academies Press, 2011.
11. Elmadfa I. *European Nutrition and Health Report 2009*. Basel: Karger, 2009.
12. Geissler C, Powers H. *Human Nutrition*. Edinburgh: Elsevier, 2005.
13. Straub DA. Calcium supplementation in clinical practice: a review of forms, doses, and indications. *Nutr Clin Pract* 2007; 22: 286-296.
14. Assoumani MB. AquaMin, a natural calcium supplement derived from seaweed. *Agro Food Industry Hi-Tech* 1997; 8: 45-47.
15. Hlastan Ribic C, Pokorn D, Polipnik R, Kulnik D. Prehranski vnos slovenskih predšolskih otrok. *Slov pediatr* 2006; 13: 25-31.
16. Fokter SK, Repse-Fokter A, Fokter N. Vnos kalcija kot dejavnik tveganja v preventivi osteoporozo med mladostniki Celjske regije. *Zdravniški vestnik* 2003: 567-570.
17. Heaney RP, Bilezikian JP, Holick MF, Nieves JW, Weaver CM. The role of calcium in peri- and postmenopausal women: position statement of The North American Menopause Society. *Menopause-the Journal of the North American Menopause Society* 2006; 13: 862-877.
18. Bonjour JP, Gueguen L, Palacios C, Shearer MJ, Weaver CM. Minerals and vitamins in bone health: the potential value of dietary enhancement. *Brit J Nutr* 2009; 101: 1581-1596.
19. D-A-CH. Referenzwerte für die Nährstoffzufuhr: Vitamin D. <http://www.dge.de/pdf/ws/Referenzwerte-2012-Vitamin-D.pdf>. Dostopano: 13.4.2012.
20. European Food SA. Tolerable upper intake levels for vitamins and minerals. Parma: EFSA, 2006.
21. van den Berg H. Bioavailability of vitamin D. *Eur J Clin Nutr* 1997; 51: S76-S79.
22. Bikle D, Adams J, Christakos S. Vitamin D: Production, metabolism, mechanisms of action, and clinical requirements. In: Rosen CJ, ed. *Primer on the Metabolic Bone Diseases and Disorders of Mineral Metabolism*. Washington, D.C.: American Society for Bone and Mineral Research, 2008: 141-149.
23. EFSA Panel on Dietetic Products Nutrition and Allergies (NDA). Scientific Opinion on the Tolerable Upper Intake Level of vitamin D. *EFSA Journal* 2012; 10: 2813.
24. Sanders KM, Stuart AL, Williamson EJ, Simpson JA, Kotowicz MA, Young D, Nicholson GC. Annual High-Dose Oral Vitamin D and Falls and Fractures in Older Women A Randomized Controlled Trial. *JAMA - Journal of the American Medical Association* 2010; 303: 1815-1822.
25. Gregoric M, Koch V. Nutritional Quality of Breakfast Eaten by Secondary School Students in Slovenia. *Zdravstveno Varstvo* 2009; 48: 131-142.

26. Tang BM, Eslick GD, Nowson C, Smith C, Bensoussan A. Use of calcium or calcium in combination with vitamin D supplementation to prevent fractures and bone loss in people aged 50 years and older: a meta-analysis. *The Lancet* 2007; 370: 657-666.
27. Vermeer C, Shearer MJ, Zittemann A, Bolton-Smith C, Szulc P, Hodges S, Walter P, Rambeck W, Stocklin E, Weber P. Beyond deficiency: Potential benefits of increased intakes of vitamin K for bone and vascular health. *Eur J Nutr* 2004; 43: 325-335.
28. Tsukamoto Y, Ichise H, Yamaguchi M. Prolonged intake of dietary fermented soybeans (natto) with the reinforced vitamin K-2 (menaquinone-7) enhances circulating gamma-carboxylated osteocalcin concentration in normal individuals. *Journal of Health Science* 2000; 46: 317-321.
29. Kaneki M, Hedges SJ, Hosoi T, Fujiwara S, Lyons A, Crean SJ, Ishida N, Nakagawa M, Takechi M, Sano Y, Mizuno Y, Hoshino S, Miyao M, Inoue S, Horiki K, Shiraki M, Ouchi Y, Orimo H. Japanese fermented soybean food as the major determinant of the large geographic difference in circulating levels of vitamin K2: Possible implications for hip-fracture risk. *Nutrition* 2001; 17: 315-321.
30. Thijssen HHW, Vervoort LMT, Schurgers LJ, Shearer MJ. Menadiol is a metabolite of oral vitamin K. *Brit J Nutr* 2006; 95: 260-266.
31. Kohlmeier M. *Nutrient metabolism*. Amsterdam: Academic Press, Elsevier, 2003.
32. Garber AK, Binkley NC, Krueger DC, Suttie JW. Comparison of phyloquinone bioavailability from food sources or a supplement in human subjects. *J Nutr* 1999; 129: 1201-1203.
33. Schurgers LJ, Teunissen KJF, Hamulyak K, Knapen MHJ, Vik H, Vermeer C. Vitamin K-containing dietary supplements: comparison of synthetic vitamin K-1 and natto-derived menaquinone-7. *Blood* 2007; 109: 3279-3283.
34. Shea MK, Booth SL. Update on the role of vitamin K in skeletal health. *Nutrition Reviews* 2008; 66: 549-557.
35. Cockayne S, Adamson J, Lanham-New S, Shearer MJ, Gilbody S, Torgerson DJ. Vitamin K and the prevention of fractures - Systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Arch Int Med* 2006; 166: 1256-1261.
36. Ilich JZ, Kerstetter JE. Nutrition in Bone Health Revisited: A Story Beyond Calcium. *J Am Coll Nutr* 2000; 19: 715-737.
37. Palacios C. The role of nutrients in bone health, from A to Z. *Crit Rev Food Sci Nutr* 2006; 46: 621-628.
38. Calvo MS, Park YK. Changing phosphorus content of the US diet: Potential for adverse effects on bone. *J Nutr* 1996; 126: S1168-S1180.
39. Pravst I. Risking public health by approving some health claims? – The case of phosphorus. *Food Policy* 2011; 36: 725-727.
40. Heaney RP, Layman DK. Amount and type of protein influences bone health. *Am J Clin Nutr* 2008; 87: 1567S-1570.

Nikelj kot pomemben element v sledovih?

Nickel as important trace element?

Urban Košak, Aleš Obreza

Povzetek: Nikelj je prehodni element, ki v biokemičnih procesih prehaja med stanji z oksidacijskimi števili 0, +1, +2 in +3. Ker nikelj vsebujočih encimov ali kofaktorjev, ki vsebujejo nikelj, pri ljudeh in živalih še niso odkrili, njegova vloga v teh organizmih še ni povsem znana. Pri mikroorganizmih je nikelj sestavni del osmih encimov, ki so ključni za preživetje ne zgolj mikroorganizmov, ki jih vsebujejo, ampak tudi ostalih organizmov. S farmaceutskega vidika je ureaza najbolj pomemben nikelj vsebujoči encim, ki je virulentni dejavnik pri nekaterih patoloških stanjih. Pri ljudeh v strokovni literaturi ni opisanih primerov pomanjkanja niklja, zato uživanje njegovih spojin v obliki prehranskih dopolnil nima racionalne osnove. Poleg tega so nikljeve spojine znani kožni alergeni, povzročajo fibrozo pljuč, zastrupitve ledvic in krvožilnega sistema ter so dokazano kancerogene.

Ključne besede: nikelj, metaloencimi, esencialni element, toksičnost.

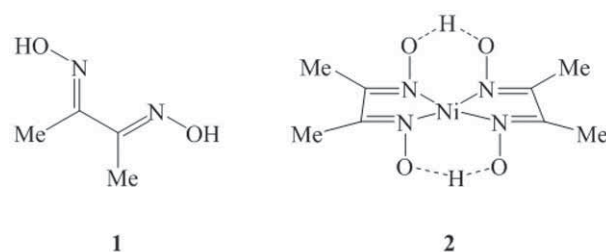
Abstract: Nickel is a transition metal that cycles through redox states 0, +1, +2 and +3 in biochemical processes. The role of nickel in humans and animals is not completely understood due to the lack of knowledge of enzymes or cofactors that include nickel. In microorganisms eight nickel-containing enzymes are known. These enzymes are essential not only to the microorganisms but also to other organisms. From a pharmaceutical standpoint urease is the most important nickel-containing enzyme due to its role as a virulence factor in certain pathological conditions. In humans there is no case of nickel deficiency presented in professional literature, therefore the use of dietary supplements containing nickel has no rational base. Nickel compounds are known to cause skin allergies, lung fibrosis, kidney and cardiovascular system poisoning and stimulate the neoplastic transformation of cells.

Key words: nickel, metalloenzymes, essential element, toxicity.

1 Naravni viri in kemizem nikljevih spojin

Pričujoči prispevek nadaljuje in zaključuje serijo člankov o esencialnih elementih, objavljenih v Farmaceutskem vestniku (1–4) in predstavljenih na podiplomskem izobraževanju za farmacevte na Fakulteti za farmacijo v letu 2009 (5). Kovinski nikelj je prvi izoliral Alexander Cronstedt leta 1751 iz nikljevega arzenida (NiAs), ki je po videzu podoben bakrovemu sulfidu (CuS), iz katerega so v osrednji Nemčiji pridobivali baker. Nikelj je dobil ime po zlih duhovih iz germanske mitologije, ker naj bi le-ti po mnenju rudarjev preprečili pridobivanje bakra iz omenjene rude. (6, 7). V zemeljski skorji ga je manj kot 0,01 masnih %. V naravi je največkrat v obliki sulfidov, arzenidov in arzenatov, zelo redki so nikljevi silikati (6). Nikelj se pojavlja tudi v obliki prašnih delcev v atmosferi, vodotopne nikljeve(II) soli pa so raztopljene v morjih in površinskih sladkih vodah. Elementni nikelj je kemično odporen na zrak, vodo, neoksidirajoče kisline, baze in številna organska topila. Reagira z razredčeno, ne pa tudi s koncentrirano dušikovo(V) kislino (8), saj pri uporabi koncentrirane kisline na površini nastane tanka zaščitna plast oksida in nitrata (6). Za nikelj je značilno, da adsorbira nekatere pline, npr. vodik in ogljikov monoksid. 100 g niklja lahko adsorbira 500–800 mL CO in pri tem nastane nikljev tetrakarbonil $[\text{Ni}(\text{CO})_4]$ (8), ki šele pri 200 °C razpade

nazaj na nikelj in CO (7). Ker lahko nikelj adsorbira vodik, ga uporabljajo kot katalizator (6, 8) pri reakcijah katalitičnega hidrogeniranja. Prisotnost niklja lahko dokažemo z reakcijo z raztopino dimetilglioksima (1) v etanolu. Pri tem nastane kelat škrlatne barve (2) (Slika 1) (8, 9).



Slika 1: Strukturi dimetilglioksima (1) in nikljevega kelata z dimetilglioksimom (2).

Figure 1: Structures of dimethylglyoxime (1) and of nickel chelate with dimethylglyoxime (2).

Znane so spojine niklja z oksidacijskimi števili od -1 do +4, vendar v bioloških sistemih močno prevladujejo nikljeve spojine z oksidacijskim številom +2 (8). V nikelj vsebujočih encimih je nikelj lahko prisoten v

stanjih z oksidacijskim številom 0, +1, +2 ali +3 (10). Za nikelj so značilne koordinacijske spojine, kjer je razporeditev ligandov okrog centralnega kationa lahko oktaedrična, kvadratna, kvadratno piramidalna ali tetraedrična (6).

2 Nikljeve spojine v človeškem organizmu

Zdrava oseba, ki ni dodatno izpostavljena virom nikljevih spojin, ima približno 7,3 µg Ni/kg telesne mase. Nikelj vnesemo v organizem z vdihavanjem, zaužitjem in absorpcijo skozi kožo (8). Približno 25–30 % vdihanega niklja, ki ostane v pljučih, se absorbira v krvni obtok (7). Dnevni vnos nikljevih spojin znaša pri odraslem človeku ob raznovrstni prehrani 35–300 µg, kar tudi v primeru morebitne esencialnosti niklja pri ljudeh več kot zadošča za pokritje dnevni potreb. Stopnja absorpcije (1–25 %) iz gastrointestinalnega trakta je odvisna od kemijske oblike niklja v hrani, celokupne vsebnosti nikljevih spojin in od posameznikove kapacitete absorpcije. Zanimivo je, da ženske absorbirajo 14 %, moški pa 26 % zaužitega niklja. Način vstopa niklja v celice je odvisen od kemijske oblike (8). V vodi netopni delci niklja vstopijo v celice s fagocitozo (7, 8). Nikljev tetrakarbonil je dovolj lipofilen, da lahko prehaja skozi celično membrano (8). V vodi topni NiCl₂ se hitreje transportira skozi membrano celice kot NiO, ki je v vodi praktično netopen. Rastopljeni Ni²⁺ se iz tankega črevesa v krvni obtok absorbirajo z dvostopenjskim mehanizmom. V prvi stopnji, pride do prehoda Ni²⁺ skozi mukozno membrano. V drugi stopnji sledi pasivni transport Ni²⁺ v obliki kompleksov z aminokislinami ali drugim ligandi z nizko molekularno maso iz mukozne celice v krvni obtok (11). Ni²⁺ se lahko iz črevesa absorbirajo tudi skozi kalcijeve ali železove kanalčke ali s transportnim proteinom 1 za dvovalentne katione (7). Eksogena kelatorja hidroksikinolin in kliokvinol (znana dezinficienta) povečata absorpcijo Ni²⁺ iz gastrointestinalnega trakta in vplivata na porazdelitev po organizmu (11).

Glavni transportni proteini, na katere se veže nikelj v krvi, so albumini in α₂-mikroglobulin (7, 8). Pogost način transporta po krvi je kompleks z L-histidinom, ki se lahko transportira tudi skozi membrano celic (8). Nikeljplazmin in nekateri metalotioneini prav tako vežejo in transportirajo nikelj (7). Nikelj se hitro porazdeli v ledvica, pljuča, kožo, nadledvični žlezi, jajčnike pri ženskah in moda pri moških (7, 11). Razpolovni čas nikljevega sulfata NiSO₄ v organizmu je 1–3 dni, nikljevega subsulfida

Ni₃S₂ 5 dni, nikljevega oksida pa več kot 100 dni (7). Absorbirani nikelj se izloči z urinom po kinetiki prvega reda (7, 8, 11).

3 Nikelj kot esencialni element?

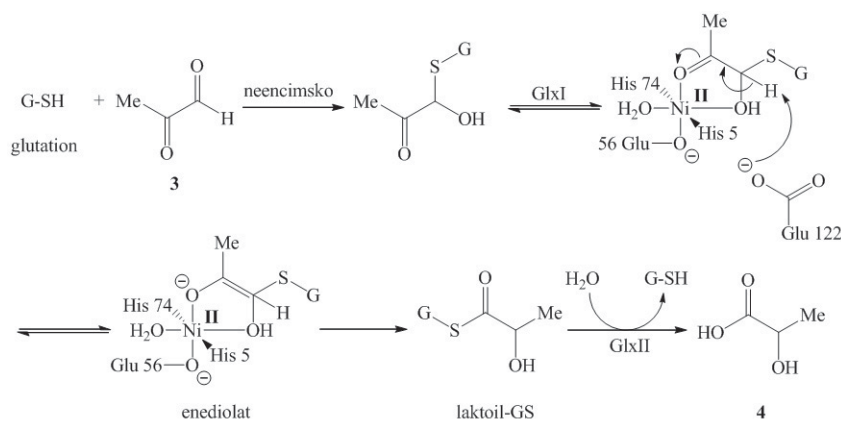
Nikelj vsebujočih encimov ali kofaktorjev, ki vsebujejo nikelj, pri ljudeh in živalih še niso odkrili. Patološka stanja povezana s pomanjkanjem niklja pri ljudeh niso znana (8, 11), zato niklja zaenkrat še ne moremo uvrstiti med esencialne elemente. Posledice pomanjkanja niklja v prehrani domačih živali (kravah, kozah, morskih prašičkih, podganah in ovcah) so domnevno upočasnjena rast in razvoj, znižana plazemska koncentracija glukoze, spremenjena porazdelitev železovih, bakrovih, kalcijevih, cinkovih ionov in vitamina B₁₂ po organizmu, spremembe v pigmentaciji, zmanjšan hematokrit in spremembe v strukturi in funkciji jeter. Čeprav nikelj nima specifične fiziološke funkcije pri živalih, domnevajo, da je nikelj kofaktor za aktivacijo kalcinevrina. Kalcinevrin je multifunkcionalna, s kalmodulinom stimulirana fosfoprotein-fosfataza, ki je pomemben regulator encimov v možganih in mišicah. Nikelj naj bi imel pomembno vlogo pri strukturi in funkcijah celične membrane. Obstajala naj bi povezava med presnovo niklja in vitamina B₁₂ (11). Nikelj je esencialni element za nekatere rastline in mikroorganizme (7, 8, 11, 12).

3.1 Nikelj vsebujoči encimi

Znanih je osem nikelj vsebujočih encimov pri mikroorganizmih. Vsi razen gliksilaze I katalizirajo reakcije pri katerih nastajajo za življenje pomembni plini ogljikov monoksid (CO), ogljikov dioksid (CO₂), metan (CH₄), vodik (H₂), amoniak (NH₃) ali kisik (O₂) (**Preglednica 1**). Nikelj se v teh encimih verjetno pojavlja zato, ker lahko prehaja med stanji z oksidacijskimi števili 0, +1, +2 in +3 (10).

Gliksalaza I

Gliksalaza I (GlxI) in gliksalaza II (GlxII) katalizirata pretvorbo metilglioksala (**3**) in laktat (**4**) (**Slika 2**) (10, 13). Metilglioksal je stranski produkt številnih encimskih reakcij, ki kovalentno reagira z DNA in proteini v celici (13). Gliksalaza ščiti celico pred poškodbami, ki jih povzroča toksični metilglioksal (10, 13). Nikljev ion je v encimu v oktaedrskem koordinacijskem okolju in je med reakcijo v stanju z oksidacijskim številom +2 (10). Gliksalazo I z nikljem v aktivnem mestu najdemo v *Escherichia coli* in nekaterih patogenih mikroorganizmih (npr.



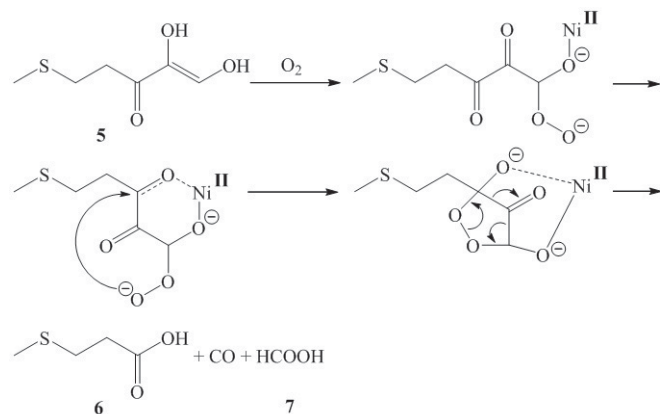
Slika 2: Shema pretvorbe metilglioksala (**3**) v laktat (**4**), ki jo katalizirata GlxI in GlxII.

Figure 2: Scheme of conversion of methylglyoxal (**3**) to lactate (**4**) catalysed by GlxI and GlxII.

Yersinia pestis (13). Pri kvasovkah in ljudeh je v aktivnem mestu glioksalaze I cinkov ion (10, 13).

Acireduktion-dioksigena

Številni mikroorganizmi (npr. *E. coli* in *Klebsiella pneumoniae*) regenerirajo metiltioadenozin, ki nastane pri biosintezi poliaminov, iz *S*-adenozilmetionina, nazaj v izhodni amin. Ključni intermedij te regeneracije je acireduktion (1,2-dihidroksi-3-okso-5-(metiltio)pent-1-en) (5) (Slika 3) (13). Acireduktion-dioksigena ima v aktivnem mestu Ni^{2+} , ki je heksakoordiniran s tremi histidini, eno glutaminsko kislino in dvema molekulama vode. Med reakcijo se oksidacijsko število niklja ne spremeni (Slika 3). Kisik se ne veže na Ni^{2+} , pri reakciji pa nastanejo 3-(metiltio)propanojska kislina (6), CO in metanojska kislina (7) (Slika 3) (10).



Slika 3: Shema pretvorbe acireduktiona (5) v 3-(metiltio)propanojsko kislino (6), metanojsko kislino (7) in CO, ki jo katalizira acireduktion dioksigena.

Figure 3: Scheme of conversion of acireductone (5) to 3-(methylthio)propanoic acid (6), formic acid (7) and CO, catalysed by acireductone dioxygenase.

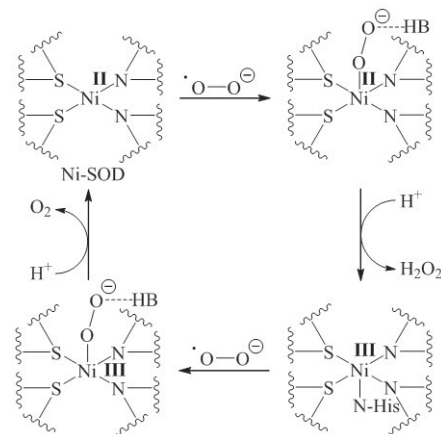
Nikljeva superoksid-dismutaza

Superoksid-dismutaze so del celične obrambe pred reaktivnimi kisikovimi zvrstmi, ker katalizirajo pretvorbo superoksidnega radikala v kisik in vodikov peroksid (10, 13). Nikljevo superoksid-dismutazo (Ni-SOD) najdemo pri številnih sevih *Streptomyces* (npr. *S. coelicolor* in *S. seoulensis*) (18). Gen za Ni-SOD najdemo pri cianobakterijah, morskih gamaproteobakterijah in enostavnih morskih evkariontih. Med reakcijo prehaja nikelj v aktivnem mestu Ni-SOD med stanjema z oksidacijskima številoma +2 in +3 (Slika 4) (10).

Ureaza

Ureaza katalizira hidrolizo sečnine (8) v amoniak (NH_3) in karbamsko kislino (9), ki se nato dekarboksilira do ogljikovega dioksida in še eno molekulo amoniaka (Slika 5). Številni mikroorganizmi uporabljajo nastali amoniak za sintezo arginina in purinov. Vse bakterije, alge, glive in rastline imajo ureazo, ki vsebuje nikljeva iona. V nekaterih primerih je ureaza virulentni dejavnik (13). Bakterija *Helicobacter pylori*, ki je povezana z nastankom peptičnega ulkusa in želodčnega raka, s pomočjo ureaze nevtralizira kislino okolje v želodcu in tako omogoča lastno preživetje (8, 10, 13). Zato je možna povezava med vnosom niklja, rastjo *H. pylori* in nastankom peptičnega ulkusa ter rakom želodca (10). Ureaza je virulentni dejavnik pri nastanku

sečnih kamnov zaradi bakterij (npr. *Proteus mirabilis*), encefalopatiji zaradi amoniaka in nekaterih drugih patoloških stanjih pri ljudeh in živalih (13). Ureaza ima dinuklejev center. Ni1 je vgrajen v kvadratno piramidno, Ni2 pa v psevdooktaedrično okolje. Oba niklja sta pri reakciji v stanju z oksidacijskim številom +2 (Slika 5) (10).



Slika 4: Shema pretvorbe superoksida v kisik (O_2) in vodikov peroksid (H_2O_2), ki jo katalizira Ni-SOD.

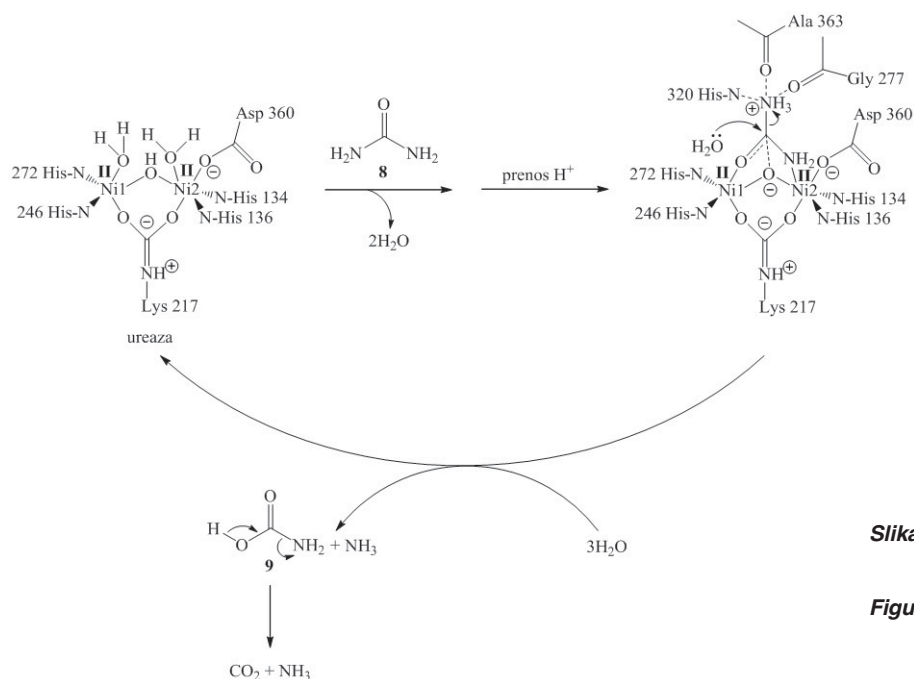
Figure 4: Scheme of conversion of superoxide to oxygen (O_2) and hydrogen peroxide (H_2O_2) catalysed by Ni-SOD.

Nikelj-železova-hidrogenaza

Hidrogenaze katalizirajo reverzibilno oksidacijo vodika (H_2) (13). Anaerobni mikroorganizmi odstranjujejo vodik iz okolja in sklaplajo njegovo oksidacijo z redukcijo različnih končnih akceptorjev elektronov (O_2 , NO_3^- , SO_4^{2-} , CO_2 in fumarat) (10). Nekateri anaerobni mikroorganizmi uporabljajo tvorbo vodika za sproščanje odvečnega redukcijskega potenciala (13). Znani so trije razredi hidrogenaz: (i) železove hidrogenaze; (ii) nikelj-železove hidrogenaze (Ni-Fe hidrogenaze) in nikelj-železo-selenove hidrogenaze; in (iii) hidrogenaze, ki ne vsebujejo niklja ali železa (19). Najpogostejše so Ni-Fe hidrogenaze (13). Med reakcijo prehaja nikelj v teh encimih med stanji z oksidacijskimi števili +1, +2 in +3 (Slika 6) (10).

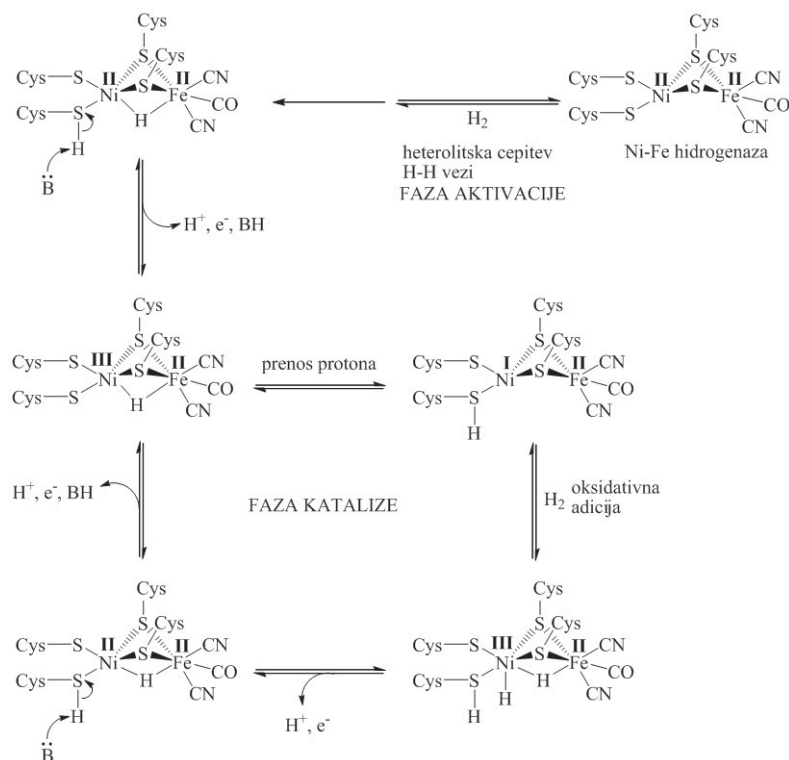
Nikelj-železo-žveplova ogljikov monoksid-dehidrogenaza

Ogljikov monoksid-dehidrogenaza (CO-dehidrogenaza) je encim, ki katalizira reverzibilno oksidacijo CO v CO_2 (10, 13). Znana sta dva tipa CO-dehidrogenaz. Molibden-molibdopterin citozin dinukleotid-[2Fe-2S]-FAD vsebujoče CO-dehidrogenaze najdemo pri nekaterih aerobnih mikroorganizmih. Nikelj-železo-žveplo vsebujoče CO-dehidrogenaze (Ni-Fe-S CO-dehidrogenaze) pa najdemo pri različnih anaerobnih mikroorganizmih (npr. *Rhodospirillum rubrum* in *Carboxythermus hydrogenoformans*) (13). Z reakcijo, ki jo katalizira CO-dehidrogenaza, lahko mikroorganizmi uporabljajo CO ali CO_2 kot edini vir ogljika in CO kot edini vir energije. Mikrobi vsako leto odstranijo in oksidirajo 10^8 ton CO iz nižjih plasti zemeljske atmosfere in tako prispevajo k zagotavljanju nizke koncentracije CO v ekosistemih. Mikrobi lahko uporabljajo CO kot intermedij v bioenergijskih ciklih in sklaplajo oksidacijo CO s tvorbo H_2 . V zgodnjih obdobjih razvoja Zemlje naj bi bilo v atmosferi veliko CO, zato domnevajo, da so bile reakcije, ki jih katalizirata CO-dehidrogenaza in



Slika 5: Shema pretvorbe sečnine (8) v amoniak in karbamsko kislino (9), ki jo katalizira ureaza.

Figure 5: Scheme of conversion of urea (8) to ammonia and carbamic acid (9) catalysed by urease.



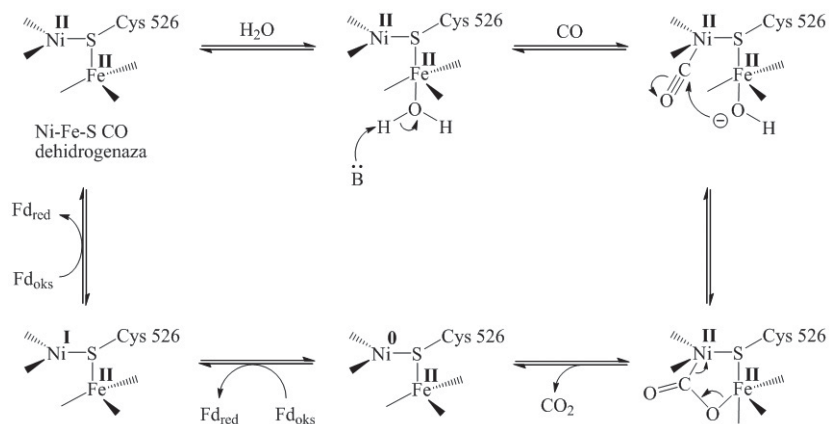
Slika 6: Shema reverzibilne oksidacije vodika, ki jo katalizira Ni-Fe hidrogenaza.

Figure 6: Scheme of reversible oxidation of hydrogen catalysed by Ni-Fe hydrogenase.

acetilkoencim A-sintaza, bistvene za evolucijo življenja na Zemlji (10). Nikelj v Ni-Fe-S CO-dehidrogenazi med reakcijo prehaja med stanji z oksidacijskimi števili 0, +1 in +2 (15). Feredoksin (Fd) ima pri reakciji vlogo zunanega redoks proteina (**Slika 7**) (10).

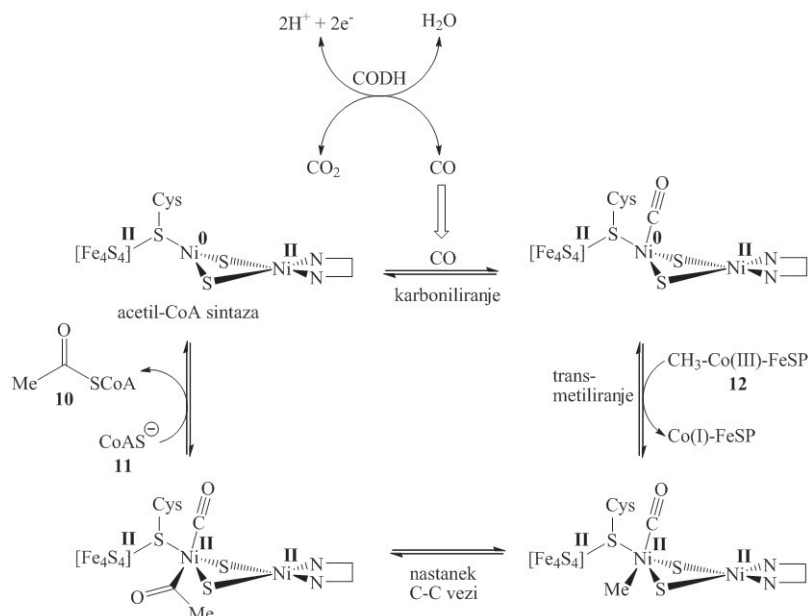
Acetilkoencim A-sintaza

Acetilkoencim A-sintazo (acetil-CoA-sintaza) najdemo pri nekaterih metanogenih, sulfat reducirajočih in acetogenih mikroorganizmih (13). Metanogene bakterije pretvarjajo acetat v CH_4 in CO_2 ter sklapljajo razgrajevanje acetata s sintezo adenzin trifosfata (ATP). Acetogene



Slika 7: Shema reverzibilne oksidacije CO v CO₂, ki jo katalizira Ni-Fe-S CO-dehidrogenaza.

Figure 7: Scheme of reversible oxidation of CO to CO₂ catalysed by Ni-Fe-S CO dehydrogenase.



Slika 8: Shema reverzibilne pretvorbe koencima A (11) v acetilkoencim A (10), ki jo katalizirata Ni-Fe-S CO-dehidrogenaza (CODH) in acetil koencim A-sintaza.

Figure 8: Scheme of reversible conversion of coenzyme A (11) to acetyl-coenzyme A (10) catalysed by Ni-Fe-S CO dehydrogenase (CODH) and acetyl-coenzyme A synthase.

bakterije so anaerobni mikroorganizmi, ki tvorijo acetat kot produkt avtotrofne rasti v ogljikovem dioksidu in vodiku ali kot produkt fermentacije ogljikovih hidratov (14). Acetil-CoA-sintaza sodeluje z Ni-Fe-S CO-dehidrogenazo in katalizira reverzibilno reakcijo sinteze acetilkoencima A (acetil-CoA) (10) iz CO₂, koencima A (CoASH) (11) in metilne skupine, ki jo prispeva metilirani korinoidni žveplo-železov protein (CH₃-Co(III)-FeSP) (12) (Slika 8 in Slika 9). Pri reakciji nastaja CO, ki prehaja med aktivnima mestoma CO-dehidrogenaze (CODH) in acetil-CoA-sintaze (10). Predlagana sta dva mehanizma reakcije (10, 15). Pri prvem prehaja nikelj v aktivnem mestu acetil-CoA-sintaze med stanjema z oksidacijskima številoma 0 in +2 (Slika 8), pri drugem pa med stanji z oksidacijskimi števili +1, +2 in +3 (Slika 9) (15).

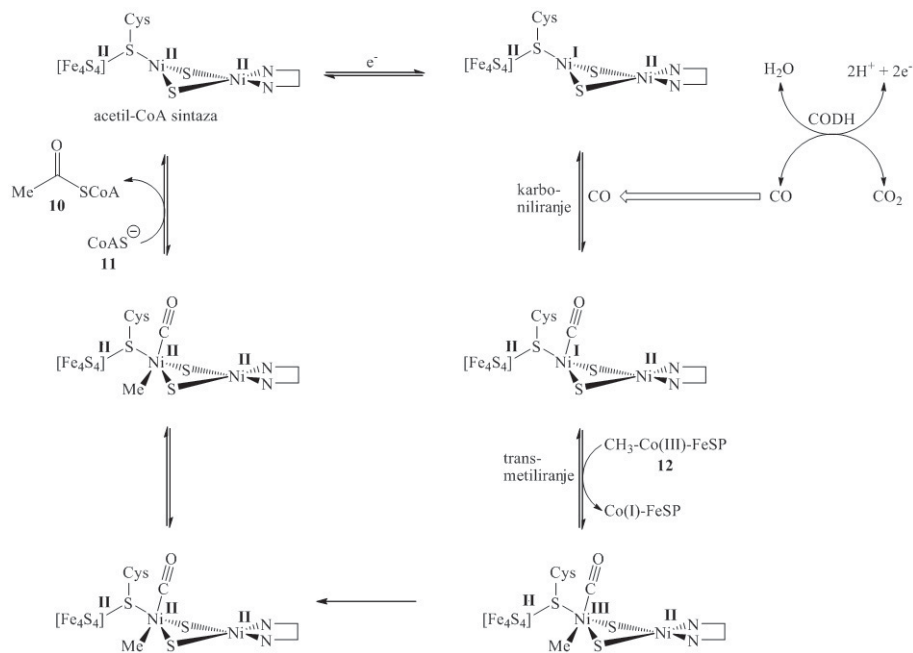
Metilkoencim M-reduktaza

Metanogeni organizmi so odgovorni za biološki nastanek CH₄. Tvorijo ga z reakcijo, ki jo katalizira metilkoencim M-reduktaza (metil-CoM-

reduktaza). Ta encim katalizira pretvorbo metilkoencima A (metil-CoM) (13) in N-7-merkaptioheptanoiltreoninfosfata (CoBSH) (14) v CH₄ in heterodisulfid CoMS-SCoB (15) (Slika 10). CoBSH je elektron donor pri omenjeni reakciji. Katalitični center encima je nikeljev hidrokorfin z imenom koencim F₄₃₀ (16) (Slika 11). Ker ima koencim F₄₃₀ v svoji strukturi le 5 dvojnih vezi, je najbolj reduciran tetrapirrol v naravi (10, 16). Le nikelj z oksidacijskim številom +1 lahko sproži katalizo (10). Predlagana sta dva mehanizma reakcije. Mehanizem I vključuje organokovinski metil-nikeljev intermedij, nikelj pa med reakcijo prehaja med stanji z oksidacijskimi števili +1, +3 in +2 (Slika 10). Mehanizem II vključuje metilni radikal, nikelj pa med reakcijo prehaja med stanjema z oksidacijskima številoma +1 in +2 (Slika 10) (10, 16).

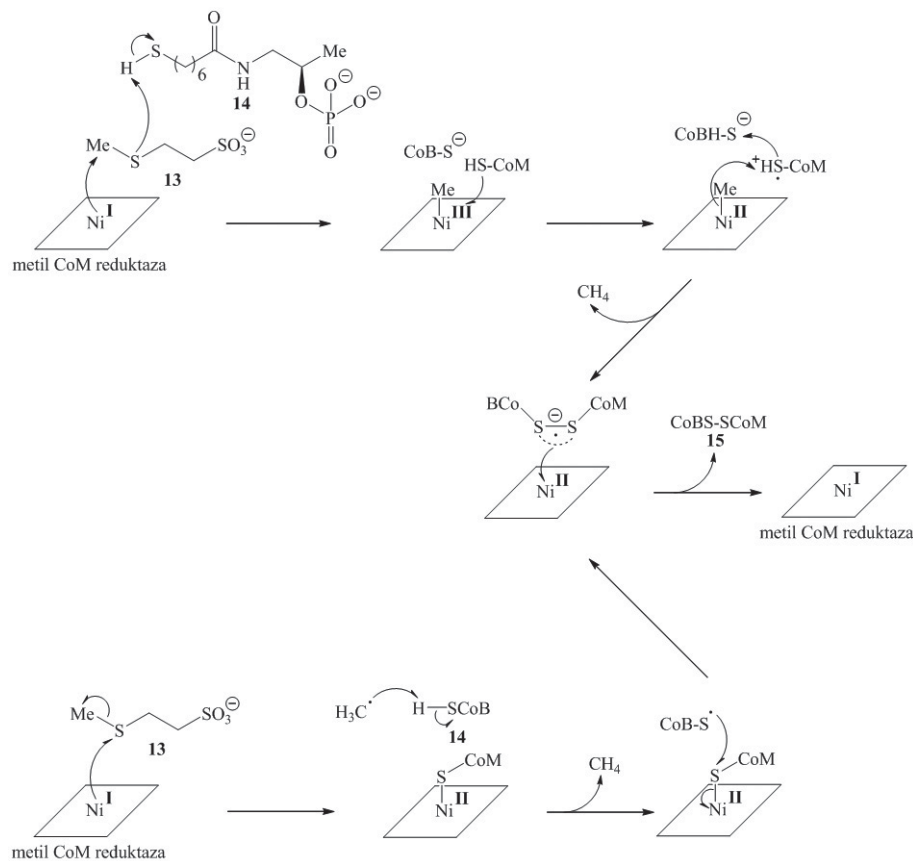
4 Toksičnost nikeljevih spojin

Nikeljeve spojine so uvrščene med kancerogene na osnovi podatkov raziskav na živalih in dokazov kancerogenosti iz človeških študij (7).



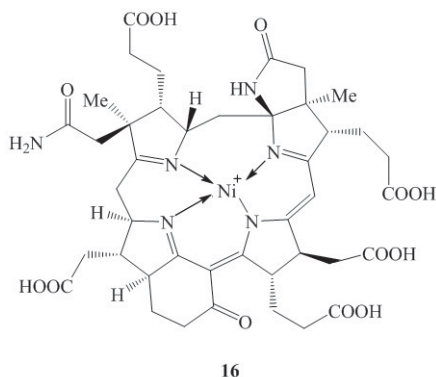
Slika 9: Shema reverzibilne pretvorbe koencima A (11) v acetilkoencim A (10), ki jo katalizirata Ni-Fe-S CO dehidrogenaza (CODH) in acetilkoencim A-sintaza.

Figure 9: Scheme of reversible conversion of coenzyme A (11) to acetyl-coenzyme A (10) catalysed by Ni-Fe-S CO dehydrogenase (CODH) and acetyl-coenzyme A synthase.



Slika 10: Shema pretvorbe CoMSH (13) v CH₄, ki jo katalizira metil koencim M-reduktaza. Predlagani mehanizem I je prikazan na zgornjem, predlagani mehanizem II pa na spodnjem delu sheme.

Figure 10: Scheme of conversion of CoMSH (13) to CH₄ catalysed by methyl-coenzyme M reductase. Proposed mechanism I is shown in the upper part of the scheme. Proposed mechanism II is shown in the lower part of the scheme.



Slika 11: Struktura nikljevega hidrokorfina (koencim F_{430}) v metilkoencim M-reduktazi.

Figure 11: Structure of nickel hydrocorphin (coenzyme F_{430}) present in methyl-coenzyme M reductase.

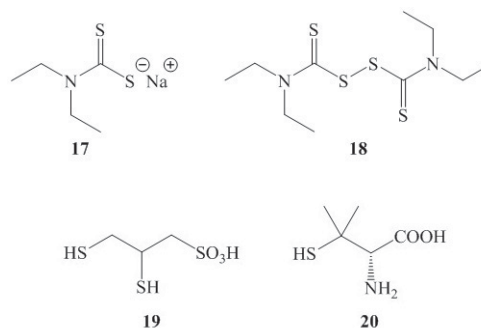
Delavci v nikljevih rafinerijah imajo povečano pojavnost raka na pljučih in raka nosne votline (17). Največje tveganje za razvoj teh oblik raka imajo delavci, ki so močno izpostavljeni nikljevemu sulfidu, nikljevemu oksidu ali elementnemu niklju (7). Pri delavkah v nikljevih rafinerijah so opazili povečano število spontanah splavov (8).

Raziskave na živalih so pokazale, da so v vodi netopne nikljeve spojine (npr. nikljev subsulfid (Ni_3S_2)) močnejši kancerogeni kot v vodi topne nikljeve spojine (17). Nikljeve spojine poškodujejo genski material tako, da povzročijo razpad DNA, mutacije, poškodbe kromosomov, transformacijo celic in motnje v mehanizmih za popravilo DNA (7, 18). Posledice izpostavljenosti niklju so znižane količine celičnega glutationa, oksidativne poškodbe DNA in proteinov, lipidna peroksidacija in zavrtost encimov, ki popravljajo DNA. Vzrok za toksične učinke niklja so morda motnje, ki naj bi jih ta element povzročal pri metabolizmu železa, kalcija, magnezija ali mangana (18).

Glava tarča nikljevih spojin so limfociti v katerih se vežejo na celično membrano, evkromatin, mitohondrije in Golgijev aparat. Nikelj naj bi povzročil smrt limfocitov s povzročitvijo različnih oblik oksidativnega stresa, izgubo membranskega potenciala mitohondrijev in destabilizacijo homeostaze kalcija (19).

Nikljeve spojine so alergeni, ki pogosto povzročajo preobčutljivostne reakcije (12). Primer takšne reakcije je z nikljem povzročeni alergijski kontaktni dermatitis, ki se pojavlja pri 10-20 % populacije (7). Ta oblika dermatitisa je celično posredovana imunska reakcija tipa IV do katere pride po stiku dovzetne osebe s senzitivizirajočimi nikljevimi spojinami. Reakcija je odvisna od indukcije specifičnega imunskega odziva (12). Klinični simptomi nikljevega dermatitisa vključujejo vnetje in ekcem ter se pojavijo 24-74 ur po stiku z delci niklja v zraku, raztopinami spojin niklja ali kovinskimi delci, ki vsebujejo nikelj (npr. kovanci in nakit) (7, 12).

Izbrana učinkovina za zdravljenje zastrupitve z nikljevimi spojinami je natrijev dietilditiokarbamat (DDTC) (17) (Slika 12). Za terapijo nikljevega dermatitisa in zastrupitve z nikljevimi spojinami se pogosto uporablja disulfiram (18) (Slika 12). Poleg prej omenjenih se za zdravljenje zastrupitev z nikljevimi spojinami uporabljata tudi kelatorja 2,3-dimerkapto-1-propansulfonska kislina (19) in D-penicilamin (20) (Slika 12) (7).



Slika 12: Strukture učinkovin, ki se uporabljajo za terapijo zastrupitev z nikljevimi spojinami.

Figure 12: Structures of drugs used in therapy of intoxication with nickel compounds.

5 Sklepi

Nikelj sodi med esencialne mikroelemente, ki ga praktično vsi mikroorganizmi na Zemlji nujno potrebujejo za nemoten proces biokemičnih reakcij. Najdemo ga v osmih encimih, ki so prisotni v mikroorganizmih. Ti encimi so ključni za življenje ne samo mikroorganizmov, ki jih vsebujejo, ampak tudi ostalih organizmov, saj pri reakcijah, ki jih katalizirajo nastajajo za življenje pomembni plini ogljikov monoksid (CO), ogljikov dioksid (CO_2), metan (CH_4), vodik (H_2), amoniak (NH_3) ali kisik (O_2). Čeprav pri sesalcih še niso odkrili nikelj vsebujočega encima ali kofaktorja, domnevajo, da vodi pomanjkanje niklja v prehrani domačih živali do različnih patoloških stanj. Zaradi pomena niklja za mikroorganizme, je razumljivo, da je nikelj nujen za normalen razvoj črevesne mikroflore pri živalih in ljudeh. Obstajala naj bi povezava med vnosom niklja in razvojem nekaterih patoloških stanj (npr. peptični ulkus, rak želodca, sečni kamni, encefalopatije). V strokovni literaturi ni opisanih primerov pomanjkanja niklja oziroma njegovih ionov pri ljudeh. Izpostavljenost nizkim odmerkom niklja v okolju je nenevarna ljudem, medtem ko izpostavljenost visokim odmerkom povzroči spremembe homeostaznih mehanizmov celice, oksidativni stres in nastanek abnormalnih proteinov. Te spremembe vodijo do motenj pri izražanju genov in metabolnih procesov v celici.

6 Literatura

1. Obreza A. Vanadij v živem organizmu in farmaciji. *Farm Vestn* 2003; 54: 713-718.
2. Obreza A. Terapevtski pomen anorganskih borovih spojin in njihova toksičnost. *Farm Vestn* 2004; 55: 463-468.
3. Obreza A. Molibden kot pomemben element v sledovih. *Farm Vest* 2008; 59: 16-20.
4. Hrast M, Obreza A. Vloga silicijevih spojin v živih organizmih. *Farm Vestn* 2010; 61: 37-41.
5. Vovk T, Obreza A. Prehranska dopolnila I : minerali in vitamini : diplomsko izobraževanje. Ljubljana: Fakulteta za farmacijo, 2009. 173 str.
6. Lazarini F, Brenčič J Splošna in anorganska kemija. Državna založba Slovenije, Ljubljana, 1992, 498-501.
7. Klaassen CD. Casarett & Doull's Essentials of Toxicology: The basic science of poisons. Sedma izdaja, MacGraw-Hill, New York, 2007; 346-347 in 950-951.
8. Denkhaus E, Salmikow. Nickel essentiality, toxicity, and carcinogenicity. *Crit Rev Oncol Hematol* 2002, 42: 35-56.
9. Auterhoff H. Lehrbuch der Pharmazeutischen Chemie. Štirinajsta izdaja, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft, Stuttgart, 1999; 187.

10. Ragdale SW. Nickel-based Enzyme Systems. J Biol Chem 2009; 284: 18571-18575.
11. Phipps T, Tank SL, Wirtz J, Brewer L, Coyner A, Ortega LS, Fairbrother A. Essentiality of nickel and homeostatic mechanisms for its regulation in terrestrial organisms. Environ Rev 2002; 10: 209-261.
12. Acevedo F, Serra MA, Ermolli M, Clerici L, Vesterberg O. Nickel-induced proteins in human HaCaT keratinocytes: annexin II and phosphoglycerate kinase. Toxicology 2001; 159: 33-41.
13. Mulrooney SB, Hausinger RP. Nickel uptake and utilization by microorganisms. FEMS Microbiol Rev 2003; 27: 239-261.
14. Watt RK, Ludden PW. Nickel-binding proteins. Cell Mol Life Sci 1999; 56: 604-625.
15. Evans DJ. Chemistry relating to the nickel enzymes CODH and ACS. Coord Chem Rev 2005; 249: 1582-1595.
16. Ragdale SW. Nickel and the carbon cycle. J Inorg Biochem 2007; 101: 1657-1666
17. Costa M, Davidson TL, Chen H, Ke Q, Zhang P, Yan Y, Huang C, Kluz. Nickel carcinogenesis: Epigenetics and hypoxia signaling. Mutat Res 2005; 595: 79-88.
18. Kelly MC, Whitaker G, White B, Smyth MR. Nickel(II)-catalysed oxidative guanine and DNA damage beyond 8-oxoguanine. Free Radic Biol Med 2007; 42: 1680-1689.
19. M'Bemba-Meka P, Lemieux N, Chakrabarti SK. Role of oxidative stress, mitochondrial membrane potential, and calcium homeostasis in nickel sulfate-induced human lymphocyte in vitro. Chem-Bio Interact 2005; 156: 69-80.

**Oncology
Trusted Generics: Total Care**

The Fresenius Kabi oncology portfolio

- Devices, i.v. solutions and drugs
- Parenteral and enteral nutrition
- Compounding services and home care

Safety in the pharmacy

- Colour safety concept extended to generic oncology portfolio
- Clear, safe and easily understandable system

Controlling the supply chain, bringing value

- State of the art production facilities and processes
- Audited and approved by international regulatory bodies including the FDA, MHRA, WHO and TGA

Enhancing data provision

- Dedicated oncology research and development ensures high quality products

Total Cancer Care

Carriers for reconstitution
I.v. solutions
Medical devices
Reliable drug delivery
Supporting patient recovery
Enteral nutrition
Parenteral nutrition
Nutrition for the critically ill
Trusted cytostatics and other iv. drugs

Zastopnik za Slovenijo:
Medias International d.o.o.,
Trgovanje in trženje z medicinskim materialom
Leskoškova cesta 9D, 1000 Ljubljana, Slovenija
Tel.: 01/ 52 02 300, Faks: 01/ 52 02 495
www.medias-int.si, info@medias-int.si

medias international

FRESENIUS KABI
caring for life

Pluripotentne matične celice v embrionalnem razvoju in pri odraslem

Pluripotent stem cells during embryo development and in the adult

Mojca Jež, Matija Veber, Primož Rožman

Povzetek: Glede na njihovo sposobnost za diferenciacijo matične celice delimo na totipotentne, pluripotentne, multipotentne in unipotentne. Zigota je totipotentna, z razvojem in staranjem osebk pa se potentnost vseh matičnih celic organizma zmanjšuje. Poznamo več vrst pluripotentnih matičnih celic – embrionalne matične celice, pluripotentne linije iz spolnih celic, inducirane pluripotentne celice, celice epiblasta ter domnevno pluripotentne celice, ki se nahajajo v tkivih odraslega osebk. Po prevladujoči teoriji vsako tkivo vsebuje tudi majhno populacijo matičnih celic, ki so ohranile sposobnost samoobnavljanja in diferenciacije. Največji potencial za diferenciacijo imajo embrionalne matične celice, ki se lahko v pogojih *in vitro* razvijejo v praktično vse tipe celic ter so zato tudi najzanimivejše za uporabo v medicini. V zadnjem času so mnoge študije nakazale, da imajo odrasle matične celice verjetno širšo potentnost, kot se je domnevalo do sedaj, hkrati pa nimajo slabosti embrionalnih matičnih celic.

Ključne besede: pluripotentnost, embrionalne matične celice, somatske matične celice, embrionalni razvoj

Abstract: According to their capabilities for differentiation stem cells can be totipotent, pluripotent, multipotent and unipotent. After fertilization, zygote is the ultimate totipotent cell. Cells arising during embryonic development have a lesser potency. Different pluripotent cell types are known: embryonic stem cells, embryonic germ cells, induced pluripotent stem cells, epiblast stem cells, and still controversial pluripotent stem cells isolated from the adult tissues. It is currently recognized that every tissue contains a small population of stem cells that are capable of self-renewal and differentiation. Embryonic stem cells have the broadest potential for differentiation because they are capable of turning into every cell type in our bodies. This is the reason why they are the most interesting for use in medicine. Lately, a lot of new studies have shown that somatic stem cells have broader potency than it has been expected until now and at the same time do not have any of embryonic stem cell drawbacks.

Key words: pluripotency, embryonic stem cells, somatic stem cells, embryonic development

1 Uvod

V človekovem telesu se nahaja posebna vrsta celic, ki jih ohranimo v sebi vse življenje in nam omogočajo, da se naša tkiva in organi obnavljajo kljub poškodbam in okvaram, do katerih prihaja v vsakdanjem življenju. To so matične celice – nediferencirane celice v živih bitjih s tremi ključnimi lastnostmi: sposobnostjo samoobnavljanja, potentnostjo, to je sposobnostjo diferenciacije v različne, bolj usmerjene celične vrste; ter plastičnostjo, kar pomeni, da se lahko spremenijo v celice tkiv drugih zarodnih plasti. Glede na njihovo potentnost matične celice delimo na totipotentne, pluripotentne, multipotentne in unipotentne. Manj kot so celice diferencirane, večja je njihova potentnost (preglednica 1).

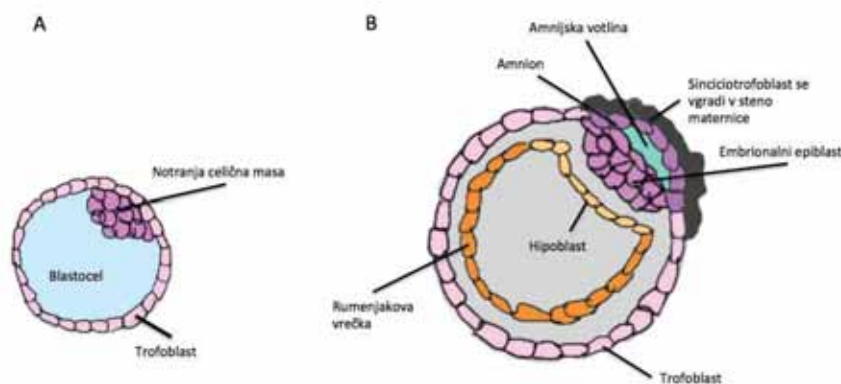
Spreminjanje potentnosti celic najlažje spremljamo skozi embrionalni razvoj organizma, ko se njihova potentnost zmanjšuje. Z združitvijo moške in ženske spolne celice nastane zigota, ki je najprimitivnejša

totipotentna celica. Iz nje se razvije celoten organizem, vključno z izvenembrionalnimi membranami in placento. Z delitvami celic se njihova potentnost zmanjšuje, obenem pa pada tudi delež celic s širokim razvojnim potencialom. Prve blastomere po prvih delitvah ohranjajo totipotentnost, zato se lahko iz vsake razvije nov zarodek (2). Na stopnji morule zarodek sestavlja 16 celic, ki se delijo na majhno skupino celic v notranjosti in večje število zunanjih celic. Na naslednjih stopnjah razvoja se ti dve skupini celic dokončno ločita, kar predstavlja prvo diferenciacijo v embrionalnem razvoju sesalcev. Zunanja plast celic tvori trofoblast, ki neposredno ne prispeva k razvoju zarodka, saj se iz njega razvije placenta. Iz notranje skupine celic, tako imenovane notranje celične mase (ICM, ang. Inner Cell Mass), (slika 1) se razvije zarodek (3). Celice notranje celične mase so pluripotentne in ne več totipotentne, saj iz njih ne more več nastati placenta. Pluripotentne celice torej prispevajo k razvoju vseh treh zarodnih plasti (endo-, mezo- in ektoderma), ne morejo

Preglednica 1: Matične celice imajo lahko različne stopnje potentnosti (1).

Table 1: Stem cells have different differentiation potential (1).

Totipotentne matične celice	Sposobne so tvoriti celoten organizem, vključno z ekstraembrionalnim tkivom. V naravi so totipotentne celice samo zigota in blastomere, ki nastanejo v zgodnjih celičnih delitvah zarodka do stadija morule. Po nastanku blastociste pride do prve diferenciacije celic in izgube totipotentnosti.
Pluripotentne matične celice	Sposobne so tvoriti vse telesne celice, vključno s spolnimi celicami, ne morejo pa več tvoriti celotnega zarodka vključno z ekstraembrionalnimi tkivi. Primer pluripotentnih matičnih celic so embrionalne matične celice.
Multipotentne matične celice	Lahko tvorijo različne tipe celic, ki pa vsi pripadajo isti zarodni plasti. Večina tkivno specifičnih matičnih celic iz odraslih tkiv je multipotentnih. Primer multipotentne matične celice je krvotvorna matična celica.
Unipotentne matične celice	So tkivno specifične in se lahko razvijejo v samo eno celično linijo, imajo pa sposobnost samoobnavljanja, po kateri se razlikujejo od somatskih celic (npr. mišične matične celice).



Slika 1: Preoblikovanje blastociste pred gastrulacijo

A) Blastocista pred implantacijo v steno maternice. Embriionalne matične celice izoliramo iz notranje celične mase (ICM).

B) Preoblikovanje blastociste – notranja celična masa se razdeli na hipoblast in epiblast. Epiblast je del, iz katerega se razvije zarodek. Iz njega lahko izoliramo epiblastne pluripotentne matične celice.

Figure 1: Blastocyst development before gastrulation.

A) Blastocyst before implantation into the endometrium of the uterus. Embryonic stem cells are isolated from inner cell mass (ICM).

B) Blastocyst development – inner cell mass is divided into hypoblast and epiblast. Embryo develops from epiblast. Epiblast is also a source of epiblast-derived stem cells.

pa tvoriti trofoblasta (1). Notranjost zarodka se nato napolni s tekočino, ki jo izločajo celice morule, in zarodek se preoblikuje v blastocisto. V njej sta še vedno dve skupini celic – ICM in trofoblast –, vmes pa je s tekočino napolnjena votlina, imenovana blastocel. Pred gastrulacijo poteka preoblikovanje blastociste.

Plast celic ICM, ki se nahaja bliže blastocelu, se loči od ostalih celic in tvori hipoblast oziroma primitivni endoderm. Celice hipoblasta, ki z notranje strani (pod trofoblastom) obdajo blastocel, se razvijejo v rumenjaskovo vrečko, tako da ne prispevajo k razvoju embrionalnih tkiv. Preostali del ICM nad hipoblastom se imenuje epiblast. Skupino celic, iz katere se bo razvil zarodek, imenujemo embrionalni epiblast. Na vrhu epiblasta se iz druge skupine celic tvori amnion kot obloga amnijske votline, ki jo napolni amnijska tekočina (slika 1) (3). Celice epiblasta so, tako kot celice ICM, pluripotentne (4).

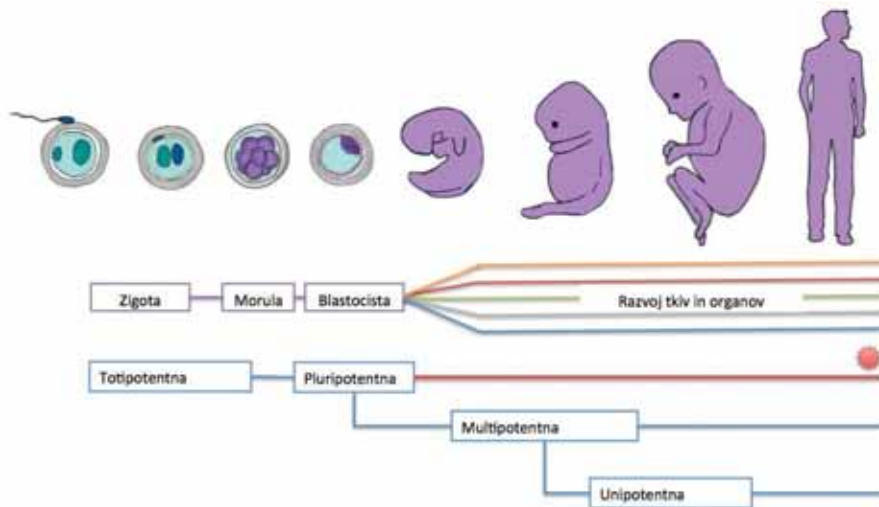
Gastrulacija je naslednja stopnja embrionalnega razvoja. Poteka ob strukturi, imenovani primitivna proga. Na sprednjem delu primitivne proge je razširitev, ki jo imenujemo Hensenov vozle. Takoj po nastanku primitivne proge in Hensenovega vozla začnejo celice epiblasta preko teh dveh struktur potovati proti blastocelu. Skupina celic, ki pride v

blastocel preko primitivne proge, izrine hipoblast in na njegovem mestu začne tvoriti celično plast, iz katere se razvija endoderm embrija ter del izvenembrionalnih membran, druga skupina celic pa se razširi v blastocel med epiblast in hipoblast ter tvori rahlo celično plast, iz katere se razvija mezoderm embrija in mezodermalni del izvenembrionalnih membran. Tiste celice, ki ostanejo na površini, tvorijo ektoderm embrija (3). Tako po gastrulaciji dobimo tri ločene zarodne plasti. V vsaki izmed njih se nahajajo multipotentne matične celice, ki lahko tvorijo samo tkiva, značilna za zarodno plast, iz katere izhajajo.

V nadaljnjem razvoju se preko organogeneze izoblikujejo vedno bolj diferencirani celični tipi, kar vodi do končne diferenciacije celic, ki sestavljajo tkiva in organe. V tkivih in organih odraslega oseba se nahajajo tkivno specifične multipotentne in unipotentne matične celice (slika 2).

2 Pluripotentne matične celice

Klasične pluripotentne celice so le embrionalne matične celice (EMC). Poleg njih poznamo še nekaj drugih tipov pluripotentnih ali njim podobnih



Slika 2: Na različnih razvojnih stopnjah razvoja osebk se nahajajo matične celice z različnim razvojnim potencialom. Novejša dognanja nakazujejo, da ima tudi odrasel človek matične celice z razširjenim razvojnim potencialom (rdeča črta, označena z zvezdico).

Figure 2: At different stages of development an organism harbours stem cells with different differentiation potential. Recent data suggests that stem cells with broad differentiation potential exist even in the adult (red line marked with asterisk).

matičnih celic. Transkripcijski dejavniki OCT4 (ang. octamer-binding transcription factor 4), SOX2 (ang. sex determining region Y-box 2) in NANOG imajo osrednjo vlogo v zgodnjem embrionalnem razvoju in so potrebni tudi za ohranjanje pluripotentnosti matičnih celic *in vitro*. Proteini OCT4, SOX2 in NANOG se vežejo na več skupnih regulatornih mest in tvorijo transkripcijsko mrežo, v kateri regulirajo tako drug drugega kot tudi sami sebe. Poleg teh treh označevalcev, ki se najpogosteje uporabljajo za identifikacijo pluripotentnih celic, se pogosto uporabljajo še SSEA-4 in SSEA-3 (ang. stage-specific embryonic antigen-4 in 3), TRA-1-60, TRA-1-81, REX1 (drugo ime ZFP42, ang. Zinc finger protein 42) in CRIPTO1 (drugo ime TDGF1, ang. teratocarcinoma-derived growth factor 1).

Embrionalne karcinomske celice (celice ECC, iz ang. Embryonal Carcinoma Cells) so bile prve odkrite pluripotentne celice. Našli so jih v teratocarcinomih, tumorjih, ki vsebujejo neorganiziran nabor različnih somatskih celic, ki pripadajo vsem trem zarodnim plastem, poleg njih pa so odkrili tudi nekaj celic ECC. Celice ECC so pluripotentne matične celice teh tumorjev in so sposobne tako samoobnavljanja kot diferenciacije. Večina celičnih linij ECC ima omejen razvojni potencial in po injiciranju v mišjo blastocisto (kar je eden izmed klasičnih testov za dokazovanje pluripotentnosti) slabo sodeluje pri nastanku himernih zarodkov, verjetno zaradi akumulacije mnogih genetskih sprememb, do katerih pride med nastankom in rastjo tumorsko spremenjenih celic (5).

Embrionalne matične celice so pluripotentne matične celice, ki jih najdemo v zgodnjem zarodku – blastocisti (~5. dan po oploditvi) in jih lahko osamimo iz njene notranje celične mase. EMC so iz mišjih zarodkov prvič pridobili leta 1981 (6, 7), iz humanih pa leta 1998 (8). Izoliramo jih lahko tudi iz morule (9) ali pa jih pridobimo iz posameznih izoliranih blastomer (10). Za EMC so značilne pluripotentnost, asimetrična celična delitev in sposobnost diferenciacije v vse tri zarodne plasti. Izražajo gene in proteine OCT4, SOX2 ter NANOG, ki omogočajo

vzdrževanje njihovega nediferenciranega stanja. V pogojih *in vitro* jih lahko diferenciramo v celice vseh treh zarodnih plasti. Če jih vbrizgamo v miši SCID (ang. Severe Combined Immunodeficiency) z oslabilnim imunskim odzivom, te tvorijo teratome. Ta test *in vivo* služi za potrditev diferenciacije v vse tri zarodne plasti. Podoben test za dokaz pluripotentnosti, ki pa zaradi etičnih zadržkov ni izvedljiv na človeških EMC, je opazovanje njihovega sodelovanja pri razvoju osebk po injiciji v blastocisto (11).

Teoretično se torej EMC lahko razvijejo v katero koli celico. Iz njih lahko ustvarimo različne celične linije, z optimizacijo postopkov in izbiro biološko prenosljivih in razgradljivih tridimenzionalnih nosilcev pa pričakujejo, da bodo nekoč služile za izdelavo katerega koli tkiva ali organa. Človeške EMC so na začetku pridobivali iz nadštevilnih blastocist po postopku oploditve *in vitro*. Ker pri tem postopku zarodek uničimo, se glede uporabe EMC porajajo številna moralno-etična vprašanja. Zato so v zadnjem času razvili precej alternativnih metod, s katerimi lahko pridobimo EMC brez uničenja zarodka. Pri nas zakon dovoljuje delo z EMC pod pogojem, da niso načrtno ustvarjene za raziskovalne namene, ampak so odpadni produkt pri medicinskih postopkih. Poleg tega za vsako raziskavo, ki vključuje uporabo EMC, potrebujemo posebno etično dovoljenje Komisije RS za medicinsko etiko Ministrstva za zdravje (www.kme-nmec.si/). Klinična uporaba EMC zaenkrat ostaja vprašanje prihodnosti, saj se pri njihovi aplikaciji pojavljajo številni stranski učinki. Ker nimajo še razvitih nadzornih genetskih mehanizmov, lahko pride do nastanka neželenega tkiva ali celo tvorbe teratomov. Problemi pri klinični uporabi EMC pa so tudi posledica alogenskega izvora celic, saj lahko pride do nezaželenega imunskega odziva prejemnika na presajene celice (1).

Matične celice epiblasta (EpiMC) so pluripotentne matične celice, izolirane na poznejši stopnji embrionalnega razvoja, ko se ICM že razdeli

na hipoblast in epiblast (slika 1). Tudi matične celice iz mišjega epiblasta lahko, tako kot EMC, uspešno gojimo v kulturi in jih diferenciramo v vse tri zarodne plasti (4, 12). EpiMC, podobno kot EMC, izražajo značilne označevalce pluripotentnosti OCT4, SOX2 in NANOG ter tvorijo teratome po injekciji v miši SCID. Zanje je značilno, da ob vnosu v mišjo blastocisto ne prispevajo k razvoju himere. Pogoji, v katerih jih gojimo *in vitro*, ter mreža transkripcijskih dejavnikov, ki jo izražajo, imajo več značilnosti humanih kot mišjih EMC. Zato bi lahko sklepali, da so humane EMC pravzaprav bolj podobne celicam epiblasta kot pa celicam ICM (4), kar nam omogoča boljše razumevanje razlik med mišjimi in človeškimi EMC.

Embrionalne germinalne (spolne) celice (EGC) je prvi opisal Shambloott s sodelavci leta 1988 (13). Primordialne germinalne celice so osamili iz spolnih grebenov 5–9 tednov starih splavljenih humanih zarodkov ter jih namnožili *in vitro*. Po gojenju v kulturi te celice postanejo pluripotentne, zato jih imenujemo celice EGC. Po svojih značilnostih so zelo podobne EMC oz. EpiMC, vendar je zanje značilno, da postanejo pluripotentne šele po gojenju v kulturi. Takoj po osamitvi namreč niso sposobne sodelovati pri razvoju zarodka, če jih vbrižgamo v mišjo blastocisto, ampak to stanje dosežejo šele po predhodnem gojenju v kulturi ob prisotnosti specifičnih rastnih dejavnikov. Pri tem pride do neke vrste dediferenciacije zarodnih celic v EGC (1,14). Prvotno je zarodna (germinalna) celica v slovenskem medicinskem izrazoslovju pomenila celico v določenem predelu organa, npr. v epiteliju, ki se lahko hitro namnoži. Kasneje se je ta izraz bolj uveljavil kot prevod angleškega termina »germ cell«, zato danes zarodna celica pomeni spolno celico oziroma njene prednice.

Inducirane pluripotentne matične celice (celice iPS, iz ang. induced Pluripotent Stem Cells) so pluripotentne celice, ki jih umetno dediferenciramo iz odraslih somatskih celic. Celice iPS so pridobili s transfekcijo somatskih celic z zgodnjimi embrionalnimi geni, ki se značilno močno izražajo v pluripotentnih EMC (geni *OCT4*, *SOX2*, *c-Myc* in nekateri drugi) (15–17). Za prenos genov se lahko uporabijo retrovirusi ali drugi načini vnosa, reprogramiranje pa je mogoče tudi z vnosom proteinov ali določenih majhnih molekul. Celice iPS z izražanjem omenjenih genov pridobijo vse lastnosti pluripotentnih celic, zato so precej podobne EMC. Predvidevajo, da bodo te celice po premostitvi določenih tehničnih problemov lahko izdelovali »po meri« bolnika in jih uporabljali za avtologno zdravljenje, pri katerem ne bo prihajalo do imunskega zavračanja (1, 17).

3 Domnevno pluripotentne matične celice pri odraslem

Na področju biologije matičnih celic obstaja veliko zmede zaradi neustreznih definicij. Po prevladujoči teoriji se potentnost vseh matičnih celic organizma z njegovim razvojem in staranjem zmanjšuje, vsako tkivo odaslega pa ohranja majhno populacijo somatskih matičnih celic. Kot smo že omenili, imajo največji potencial za diferenciacijo EMC, ki se lahko razvijejo v vse tipe celic v telesu (8). Takih celic naj odrasel človek ne bi imel. Pri odraslih smo do nedavnega poznali le multipotentne matične celice, kot so npr. mezenhimske matične celice (MMC), ki se lahko razvijejo v tkiva mezoderma (hrustanec, kost in mišice), krvotvorne matične celice, ki tvorijo vse krvne in imunske celice, endotelijske matične celice, ki se lahko razvijejo v različne vrste endotelija, in še

nekatero druge. Poleg tega, da so te celice po definiciji multipotentne, raziskovalci ugotavljajo, da so sposobne tudi nepričakovanega preskoka v tkiva druge zarodne plasti. Tako npr. krvotvorne matične celice lahko razvijemo v celice jeter, ki po definiciji pripadajo endodermu, mezenhimske matične celice pa v živčne celice, ki pripadajo ektodermu. Ta pojav še ni pojasnjen in ga pripisujejo plastičnosti matičnih celic. Do pred kratkim je nasplošno veljalo prepričanje, da imajo somatske matične celice v primerjavi z EMC manjšo sposobnost samoobnavljanja in so multipotentne.

V zadnjem času pa več avtorjev poroča o različnih vrstah matičnih celic, ki so jih identificirali v različnih tkivih odraslih ljudi in za katere kaže, da so pluripotentne (18–24) (preglednica 2). Če te celice dejansko obstajajo v odraslem organizmu, bi lahko predstavljale odlično alternativo EMC za uporabo v regenerativni medicini, saj njihovo pridobivanje ni etično sporno. Vendar pa se zdi, da jih je v odraslih tkivih izjemno malo, zato so njihovo pridobivanje, dokazovanje in uporaba tehnično zelo zahtevni. Različne raziskovalne skupine so takim celicam nadele različna imena, npr. zelo majhne, embrionalnim matičnim celicam podobne celice (celice VSEL, ang. Very Small Embryonic-like Stem Cells) (22), embrionalnim matičnim celicam podobne celice iz popkovnične krvi (celice CBE, ang. Cord Blood-derived Embryonic-like stem cells) (21), celice MIAMI (ang. Marrow-Isolated Adult Multilineage Inducible Cells) (24), multipotentne celice, prednice odraslega (MAPC, angl. Multipotent Adult Progenitor Cells) (19) in multipotentne matične celice odraslega (celice MASC, ang. Multipotent Adult Stem Cells) (18). Obstaja tudi več poročil o pluripotentnih celicah v humanem ovariju in testisih, na primer, embrionalnim celicam podobne matične celice odraslega (celice ESC-A, ang. Embryonic-like Stem Cells of the Adult) (20). Povsem verjetno je, da so vse te celične populacije z različnimi imeni pravzaprav ena populacija primitivnih matičnih celic, ki so jih izolirali in karakterizirali na različne načine in jim pri tem naredili različna imena. V nadaljevanju so podrobneje opisane različne vrste matičnih celic pri odraslih, za katere nekatere raziskovalne skupine trdijo, da so pluripotentne.

Mezenhimske matične celice (MMC) uvrščamo med stromalne celice kostnega mozga (KM) z dvojno vlogo – predstavljajo izvor celic nekrvotvornih tkiv in so hkrati hranilne in podporne celice za rast in diferenciacijo krvnih celic in ostalih tkiv, saj sintetizirajo komponente zunajceličnega matriksa in rastne dejavnike. Diferencirajo se lahko v celice kosti, hrustanca, mišic, kože, verjetno pa tudi v celice drugih zarodnih plasti (ekto- in endoderma), vendar to še ni povsem raziskano. Delujejo tudi imunomodulatorno, saj zmanjšujejo imunski odziv (1). V zadnjem času so v populaciji mišjih in humanih mezenhimskih matičnih celic odkrili tudi izražanje pluripotentnih označevalcev OCT4, SSEA-4 in NANOG, kar je verjetno posledica prisotnosti nediferencirane primitivne populacije mezenhimskih matičnih celic (25).

Multipotentne prednice odraslega ali celice MAPC, ki jih je opisala Verfaillie s sodelavci leta 2001, so matične celice, ki imajo EMC podoben diferenciacijski potencial. Izolirani so jih iz mišjih in podganjih tkiv pa tudi iz človeškega KM. V kulturi jih gojimo v pogojih, ki so podobni pogojem za gojenje EMC. Po 21 dneh gojenja kažejo telomerazno aktivnost in izražajo OCT4, SSEA-1, NANOG in REX-1. Sposobne so tudi samoobnavljanja in diferenciacije v različne linije. Človeške celice MAPC ohranjajo normalno dolžino telomer po več kot 80 podvojitvah, mišje pa celo po več kot 120 (19). V pogojih *in vitro* se lahko diferencirajo v vse tri zarodne plasti, če jih presadimo v mišji SCID, pa ne tvorijo teratomov,

Preglednica 2: Domnevno pluripotentne matične celice in njihove značilnosti

Table 2: Supposedly pluripotent stem cells and their characteristics

Celice	Vrsta*	Izvor	Označevalci pluripotentnosti	In vitro diferenciacija**	Tvorba teratomov	Intrablastocistna injekcija***
MMC	h, m	Kostni mozeg, vezivno tkivo organov	OCT4, SSEA-4, NANOG	Vse tri zarodne plasti	/	/
MAPC	h, m, p	Kostni mozeg, mozgani in druga tkiva	Telomeraza, OCT4, SSEA-1, REX-1, NANOG	Vse tri zarodne plasti	NE	Injicirane celice sodelujejo pri razvoju zarodka
MIAMI	h	Kostni mozeg	Telomeraza, OCT4, REX-1	Vse tri zarodne plasti	NE	/
MASC	h	Kostni mozeg, jetra, srce	Telomeraza, OCT4, NANOG, REX-1	Vse tri zarodne plasti	NE	/
ESC-A	h	Površinski epitelij jajčnika	OCT4, NANOG, SSEA-4, SOX-2	Oociti	NE	/
CBE	h	Popkovnična kri	OCT4, SSEA-4, TRA-1-81, TRA-1-60	Vse tri zarodne plasti	/	/
VSEL	h, m	Kostni mozeg, popkovnična in periferna kri, druga tkiva	Telomeraza, OCT4, NANOG, REX-1	Vse tri zarodne plasti	NE	Po injekciji v blastocisto ne sodelujejo pri razvoju zarodka.

* h – humane, m – mišje, p – podganje

**Vse tri zarodne plasti – uspešna diferenciacija v endo-, mezo- in ektoderm

***Za humane matične celice je ta test neetičen.

temveč se diferencirajo v različne linije, te pa se vključijo v tkiva (26). Celice MAPC so edine domnevno pluripotentne matične celice odraslih tkiv, za katere je bilo dokazano, da ob vnosu v blastocisto prispevajo k razvoju večine celic zarodka (27).

Celice MIAMI, ki jih je leta 2004 opisal Schiller s sodelavci, so izolirali iz KM oseb, starih od 3 do 72 let. Osamili so jih s posebnimi pogoji gojenja, s katerimi so poskušali čim bolj posnemati razmere v mikro okolju v KM. Celice MIAMI so adherentne, njihov premer je od 7 do 10 µm, imajo malo citoplazme in se hitro delijo. Njihova morfologija in diferenciacijski potencial ostajata nespremenjena tudi po 52 podvojitvah. V pogojih *in vitro* lahko se celice MIAMI diferencirajo v vse tri zarodne plasti. Po vnosu v miši SCID ne tvorijo tumorjev (24).

Celice MASCID, o katerih je poročal Beltrami s sodelavci leta 2007, so izolirali iz človeških jeter, srca in KM. Vse so izražale gene, značilne za pluripotentne celice (OCT4, NANOG in REX-1), kazale pa so tudi telomerazno aktivnost. Celice MASC imajo širok diferenciacijski potencial in se lahko diferencirajo v ektoderm (živčne celice), mezoderm (kost in mišice) in endoderm (jetra). Po injiciranju v miši SCID ne tvorijo

tumorjev. Opazili so tudi, da imajo celice MASC, osamljene iz različnih tkiv, podoben transkripcijski profil, zato menijo, da predstavljajo skupno populacijo celic (18).

Embrionalnim podobne matične celice odraslega (celice ESC-A), ki jih je opisala Virant-Klun s sodelavci leta 2008, so avtorji osamili iz površinskega epitelija jajčnikov bolnic s prezgodnjo menopavzo. Te celice so pozitivne na označevalce OCT4, SOX2, NANOG in na površinski antigen SSEA-4. So majhne (2–4 µm), okrogle oblike, rumenkaste barve in vsebujejo vakuolo. V površinskem epiteliju jajčnika so torej prisotne potencialne matične celice embrionalnega značaja, ki se v pogojih *in vitro* lahko razvijejo v jajčnim podobne celice in druge vrste celic. Te jajčnim podobne celice se lahko pod določenimi pogoji celo spremenijo v blastociste, kar pomeni, da pride do začetka partenogenetskega razvoja zarodka (20). Ta dognanja nakazujejo, da bo določene vrste neplodnosti kmalu mogoče zdraviti na nove načine.

Embrionalnim matičnim celicam podobne celice iz popkovnične krvi (celice CBE) je leta 2005 v popkovnični krvi odkril McGuckin s sodelavci. Celice CBE so podobne EMC in se lahko razvijejo v krvne

celice pa tudi v celice nehematopoetskih tkiv (npr. hepatocite). Izražajo embrionalne označevalce OCT4, SSEA-4 in SSEA-3 ter TRA-1-60 in TRA-1-81. V kulturi se pritrldijo na podlago, tako da jih lahko ohranjamo v nediferenciranem stanju več kot 13 tednov. V kulturi rastejo v skupkih, ki so podobni embrioidnim telescem (21).

Celice VSEL, ki jih je leta 2007 opisala Kucia s sodelavci, so najprej izolirali iz mišjega KM, kasneje pa tudi iz človeškega KM ter popkovnične in periferne krvi. Ta populacija celic je negativna na označevalce linijsko usmerjenih celic (Lin-) ter pozitivna na CD133, CD34, CXCR4 (ang. C-X-C chemokine receptor type 4). Človeške VSEL so majhne (3 do 5 μm), imajo visoko razmerje med površino jedra in površino citoplazme in odprto strukturo kromatina, izražajo transkripcijska dejavnika OCT4 in NANOG, značilna za pluripotentne matične celice, ter površinski označevalec SSEA-4 (23). Celice VSEL so zelo redke. Iz 50 do 100 ml popkovnične krvi jih lahko izoliramo največ 10 do 20 tisoč (28). Celice VSEL bo potrebno še natančneje funkcijsko opredeliti. Največja razlika med celicami VSEL in EMC je v tem, da prve ne prispevajo k razvoju zarodka po injekciji v blastocisto (29).

4 Biološka vloga različnih pluripotentnih matičnih celic

Nastanek in biološka vloga različnih pluripotentnih matičnih celic še nista popolnoma pojasnjena. Predvsem se zastavlja vprašanje, kakšno je razmerje med EMC in primordijalnimi germinalnimi celicami (PGC). Vedeti moramo, da so EMC pravzaprav celice, gojene v nefiziološkem okolju, to je, *in vitro*. Označevalci zgodnjih spolnih celic se izražajo že v večini nediferenciranih EMC, medtem ko se označevalci zrejših spolnih celic začnejo izražati šele ob diferenciaciji v zarodne celice. Nasprotno pa celice takoj po izolaciji ICM ne izražajo vseh omenjenih zarodnih genov (30, 31). Glede na dosegljive podatke so EMC še najbolj podobne zgodnjim zarodnim celicam. Zato kaže, da je možna tudi nova hipoteza o nastanku EMC iz zgodnjih germinalnih celic, saj sta si transkripcijska profila EMC in PGC zelo podobna. Poleg tega pa v kulturi le majhen del celic, izoliranih iz ICM, tvori kolonije EMC, kar bi utegnilo pomeniti, da se EMC lahko razvijejo samo iz redkih predniških zarodnih celic (32). Razumevanje izvora EMC je ključno za razumevanje njihove biologije ter za boljše razumevanje pridobivanja celic iPS in EMC pri živalskih vrstah, pri katerih izolacija EMC do zdaj še ni bila uspešna. Nekoliko bolj jasna je povezava med ostalimi pluripotentnimi vrstami celic. Izolirane celice PGC postanejo med gojenjem *in vitro* pluripotentne in jih imenujemo EGC. Če pride do rakave transformacije, lahko PGC postanejo maligne in tvorijo teratokarcinome, v katerih se nato nahajajo v obliki matičnih celic tumorjev (celice ECC).

Povezava med EMC oziroma PGC in somatskimi celicami z razširjenim razvojnim potencialom so najbolje raziskali na primeru celic VSEL. Nekateri avtorji menijo, da se embrionalnim celicam podobne matične celice, ki se nahajajo v odraslih tkivih (torej celice MASC, MIAMI, MAPC, CBE in ESC-A), verjetno ostanek iz embrionalnega obdobja življenja. Med migracijo PGC v spolne grebene se lahko zgodi, da manjša populacija celic zapusti svojo običajno pot in potuje skupaj s krvotvornimi matičnimi celicami v KM ali v druge organe. Tako so Zuba-Surma in sodelavci dokazali, da je število celic VSEL v fetalnih jetrih povečano ravno v obdobju, ko je tam tudi največ krvotvornih matičnih celic (33). Primerjali so tudi epigenetski profil obeh vrst celic. Znano je, da med

migracijo celic PGC pride do izbrisa njihovega genskega vtisnenja (imprintinga). To naj bi preprečevalo možnost nenadzorovanih delitev, partenogeneze in tvorbe teratomov. Vendar pa lahko iz PGC z ustreznimi postopki gojenja kljub temu pridobimo pluripotentne EGC. Podobno bi lahko veljalo tudi za celice VSEL, za katere še niso mogli dokazati, da bi lahko po intrablastocistni injekciji prispevale k razvoju zarodka. Primerjava metilacijskih profilov DNA med PGC oziroma EMC in VSEL je pokazala, da imajo vse omenjene vrste celic nekaj genov podobno vtisnjenih, hkrati pa se metilacija genov, povezanih s proliferacijo med njimi bistveno razlikuje, kar ima verjetno za posledico prej omenjene biološke razlike (29).

Za skoraj vse naštete matične celice iz neonatalnih in odraslih tkiv je značilno, da so z različnimi postopki gojenja iz njih uspeli pridobiti domnevno pluripotentne celice. Pri tem ni jasno, ali so te celice zgolj rezultat reprogramiranja, ki ga sprožijo različni pogoji gojenja, ali pa so posledica dejanske prisotnosti pluripotentnih celic *in vivo*. Možno je namreč, da gojenje *in vitro*, še posebej v prisotnosti različnih rastnih dejavnikov, povzroči reaktivacijo embrionalnih genskih lokusov in s tem celično dediferenciacijo (34). Izjema so celice VSEL, ki so jih izolirali neposredno iz različnih tkiv brez predhodnega gojenja *in vitro*. Znano je, da imajo označevalci pluripotentnosti nadpovprečno število psevdogenov (35). Trenutno je znanih šest visoko homolognih psevdogenov za OCT4, 10 za NANOG, 16 za STELLO in 6 za CRIPTO1. Nekateri psevdogeni se prepisujejo in tudi prevajajo, zaradi svoje podobnosti s parentalnim genom pa lahko v različnih eksperimentih dajo lažno pozitivne rezultate. Zaradi napačne razlage signalov iz ozadja pri poskusih barvanja s protitelesi proti proteinom, pomembnim za vzdrževanje pluripotentnosti, in lažno pozitivnih rezultatov pri zaznavanju izražanja embrionalnih genov z metodami PCR, se pojavljajo številna vprašanja o verodostojnosti tovrstnih raziskav (36). Najzanesljivejši dokaz pluripotentnosti odraslih matičnih celic bi bila namreč injekcija v blastocisto ter nato dokaz, da te celice sodelujejo pri razvoju zarodka, vendar tega do sedaj še niso mogli dokazati na zanesljiv in ponovljiv način.

5 Sklep

Od vseh pluripotentnih celic imajo EMC največji potencial za uporabo v medicini, čeprav še niso rešeni številni problemi, povezani z njimi. Zato postajajo vse bolj zanimive pluripotentne matične celice odraslega, saj naj ne bi tvorile tumorjev, njihova izolacija je etično nesporna, prisotne so vse življenje, lahko bi jih pridobili iz vsakega bolnika in jih nato uporabili za njegovo lastno, to je avtologno zdravljenje, ki ne bi povzročalo zapletov, povezanih z imunskim odzivom na tuje tkivo. Vendar so glavne ovire, ki preprečujejo učinkovito uporabo v regenerativni medicini, še vedno nepremostljive. Teh celic je izredno malo, njihova izolacija je zahtevna, težko je tudi gojenje v kulturi. Uspehe pri gojenju embrionalnim podobnih matičnih celic odraslega navaja le ena raziskovalna skupina (23). Vprašanje, katere matične celice bodo najbolj uspešne za regenerativno medicino, ostaja neodgovorjeno. Ni še jasno, ali bodo to celice VSEL, celice iPS ali EMC ali pa bo na koncu prevladala kakšna nova metodologija.

6 Literatura

1. Rožman P, Jež M. Matične celice in napredno zdravljenje, pojmovnik. Celjska Mohorjeva družba; 2011.

2. Tarkowski AK, Ozdzinski W, Czolowska R. Identical triplets and twins developed from isolated blastomeres of 8- and 16-cell mouse embryos supported with tetraploid blastomeres. *The International journal of developmental biology* 2005; 49 (7): 825–32.
3. Gilbert SF. *Developmental Biology*. 6th ed. Sinauer Associates; 2000.
4. Tesar PJ, Chenoweth JG, et al. New cell lines from mouse epiblast share defining features with human embryonic stem cells. *Nature* 2007; 448 (7150): 196–9.
5. Andrews PW. Human teratocarcinomas. *Biochimica et biophysica acta* 1988; 948 (1): 17–36.
6. Martin GR. Isolation of a pluripotent cell line from early mouse embryos cultured in medium conditioned by teratocarcinoma stem cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 1981; 78 (12): 7634–8.
7. Evans MJ, Kaufman MH. Establishment in culture of pluripotential cells from mouse embryos. *Nature* 1981; 292 (5819): 154–6.
8. Thomson JA, Itskovitz-Eldor J, et al. Embryonic stem cell lines derived from human blastocysts. *Science* 1998; 282 (5391): 1145–7.
9. Strelchenko N, Verlinsky O, et al. Morula-derived human embryonic stem cells. *Reproductive biomedicine online* 2004; 9 (6): 623–9.
10. Klimanskaya I, Chung Y, et al. Human embryonic stem cell lines derived from single blastomeres. *Nature* 2006; 444 (7118): 481–5.
11. Smith KP, Luong MX, Stein GS. Pluripotency: toward a gold standard for human ES and iPS cells. *Journal of cellular physiology* 2009; 220 (1): 21–9.
12. Brons IGM, Smithers LE, et al. Derivation of pluripotent epiblast stem cells from mammalian embryos. *Nature* 2007; 448 (7150): 191–5.
13. Shambloott MJ, Axelman J, et al. Derivation of pluripotent stem cells from cultured human primordial germ cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 1998; 95 (23): 13726–31.
14. Yu J, Thomson JA. Pluripotent stem cell lines. *Genes & development* 2008; 22 (15): 1987–97.
15. Takahashi K, Yamanaka S. Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors. *Cell* 2006; 126 (4): 663–76.
16. Yu J, Vodyanik MA, et al. Induced pluripotent stem cell lines derived from human somatic cells. *Science* 2007; 318 (5858): 1917–20.
17. Takahashi K, Tanabe K, et al. Induction of pluripotent stem cells from adult human fibroblasts by defined factors. *Cell* 2007; 131 (5): 861–72.
18. Beltrami AP, Cesselli D, et al. Multipotent cells can be generated in vitro from several adult human organs (heart, liver, and bone marrow). *Blood* 2007; 110 (9): 3438–46.
19. Reyes M, Lund T, et al. Purification and ex vivo expansion of postnatal human marrow mesodermal progenitor cells. *Blood* 2001; 98 (9): 2615–25.
20. Virant-Klun I, Zech N, et al. Putative stem cells with an embryonic character isolated from the ovarian surface epithelium of women with no naturally present follicles and oocytes. *Differentiation; research in biological diversity* 2008; 76 (8): 843–56.
21. McGuckin CP, Forraz N, et al. Production of stem cells with embryonic characteristics from human umbilical cord blood. *Cell proliferation* 2005; 38 (4): 245–55.
22. Kucia M, Wysoczynski M, et al. Identification of very small embryonic like (VSEL) stem cells in bone marrow. *Cell and tissue research* 2008; 331 (1): 125–34.
23. Kucia M, Halasa M, et al. Morphological and molecular characterization of novel population of CXCR4+ SSEA-4+ Oct-4+ very small embryonic-like cells purified from human cord blood: preliminary report. *Leukemia* 2007; 21 (2): 297–303.
24. D'ippolito G, Diabira S, et al. Marrow-isolated adult multilineage inducible (MIAMI) cells, a unique population of postnatal young and old human cells with extensive expansion and differentiation potential. *Journal of cell science* 2004; 117 (Pt 14): 2971–81.
25. Pochampally RR, Smith JR, et al. Serum deprivation of human marrow stromal cells (hMSCs) selects for a subpopulation of early progenitor cells with enhanced expression of OCT-4 and other embryonic genes. *Blood* 2004; 103 (5): 1647–52.
26. Jahagirdar BN, Verfaillie CM. Multipotent adult progenitor cell and stem cell plasticity. *Stem cell reviews* 2005; 1 (1): 53–9.
27. Jiang Y, Jahagirdar BN, et al. Pluripotency of mesenchymal stem cells derived from adult marrow. *Nature* 2002; 418 (6893): 41–9.
28. Zuba-Surma EK, Ratajczak MZ. Overview of very small embryonic-like stem cells (VSELS) and methodology of their identification and isolation by flow cytometric methods. *Current protocols in cytometry* 2010; (9): 9.29.
29. Shin D-M, Liu R, et al. Molecular signature of adult bone marrow-purified very small embryonic-like stem cells supports their developmental epiblast/germ line origin. *Leukemia* 2010; 24 (8): 1450–61.
30. Clark AT, Bodnar MS, et al. Spontaneous differentiation of germ cells from human embryonic stem cells in vitro. *Human molecular genetics* 2004; 13 (7): 727–39.
31. Zwaka TP, Thomson JA. A germ cell origin of embryonic stem cells? *Development* 2005; 132 (2): 227–33.
32. Chu L-F, Surani MA, et al. Blimp1 Expression Predicts Embryonic Stem Cell Development In Vitro. *Current biology* 2011; 21 (20): 1759–65.
33. Zuba-Surma EK, Kucia M, et al. Fetal liver very small embryonic/epiblast like stem cells follow developmental migratory pathway of hematopoietic stem cells. *Annals of the New York Academy of Sciences* 2009; 1176: 205–18.
34. Page RL, Ambady S, et al. Induction of stem cell gene expression in adult human fibroblasts without transgenes. *Cloning and stem cells* 2009; 11 (3): 417–26.
35. Debleena P, Chirn G-W, Strassel C, Kemp DM. Multiple retroseudogenes from pluripotent cell-specific gene expression indicates a potential signature for novel gene identification. *The Journal of biological chemistry* 2005; 280 (8): 6265–8.
36. Liedtke S, Stephan M, Kögler G. Oct4 expression revisited: potential pitfalls for data misinterpretation in stem cell research. *Biological chemistry* 2008; 389 (7): 845–50.

Rožmarinska kislina

Rosmarinic acid

Matej Sova

Povzetek: Rožmarinska kislina, ester kavne in 3,4-dihidroksifenilmlečne kisline, je aktivna sestavina številnih zdravilnih rastlin in začimb. V prispevku so predstavljeni njena biosinteza, kratak pregled glavnih bioloških učinkov in potencialna terapevtska uporaba.

Ključne besede: rožmarinska kislina, biosinteza, antioksidant, protimikrobno delovanje, protivnetno delovanje

Abstract: Rosmarinic acid, an ester of caffeic acid and 3,4-dihydroxyphenyllactic acid, is an active component of several medicinal plants and spices. This article presents the biosynthesis of rosmarinic acid and provides a brief description of its main biological activities and potential therapeutic use.

Keywords: rosmarinic acid, biosynthesis, antioxidant, antimicrobial activity, anti-inflammatory activity

1 Uvod

Rožmarinska kislina je ester kavne in 3,4-dihidroksifenilmlečne kisline (slika 1). Najdemo jo v številnih rastlinah, predvsem v različnih vrstah družin srhkolistovk (*Boraginaceae*) in usnatnic (*Lamiaceae*). Predstavlja eno izmed aktivnih sestavin zdravilnih rastlin, kot so žajbelj (*Salvia officinalis*), poprova meta (*Mentha piperita*), vrtni timijan (*Thymus vulgaris*), melisa (*Melissa officinalis*) in navadni gabez (*Symphium officinale*) (1). Zaradi njene polifenolne strukture jo uvrščamo med čreslovine oziroma tanine. Italijanska kemika Scarpati in Oriente sta jo leta 1958 prvič izolirala iz navadnega rožmarina (*Rosmarinus officinalis*) in jo po tej rastlini tudi poimenovala. Ima pomembno vlogo v rastlinah, saj predvidevajo, da nastopa kot obrambna molekula proti številnim patogenom in herbivorom (2).

Rožmarinska kislina vsebuje dva kateholna (1,2-dihidroksibenzenska) obroča, kar prispeva k njeni polarnosti. Po intravenski aplikaciji izkazuje zelo nizko toksičnost (pri miših je LD₅₀ 561 mg/kg) in se hitro odstrani iz

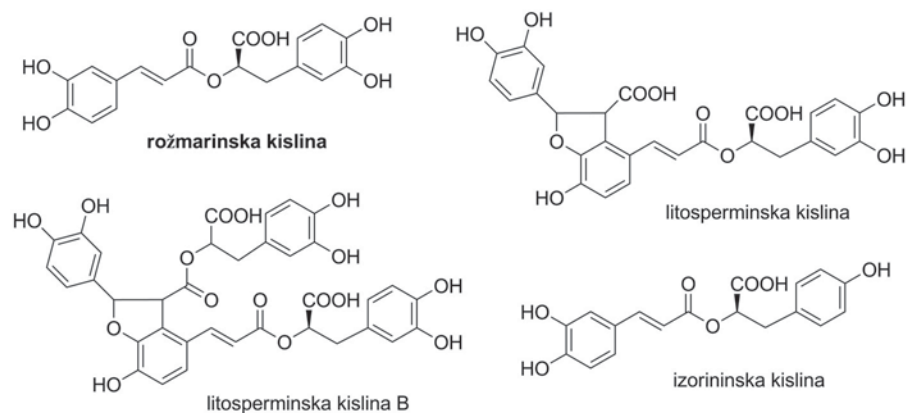
krvnega obtoka (razpolovni čas je devet minut) (2). V literaturi so opisani številni biološki učinki rožmarinske kisline (1, 2). Predvsem je poznana po svojem antioksidativnem in protivnetnem delovanju, zato jo najdemo v številnih kozmetičnih pripravkih in prehranskih dopolnilih (1, 2).

2 Biosinteza in kemizem

V rastlinah se rožmarinska kislina sintetizira iz L-fenilalanina ali L-tirozina (slika 2) (1, 2). Identificirani so bili številni derivati rožmarinske kisline, med katerimi so najbolj poznane izorininska kislina, litosperminska kislina (konjugat rožmarinske in kavne kisline) in litosperminska kislina B (slika 1) (2).

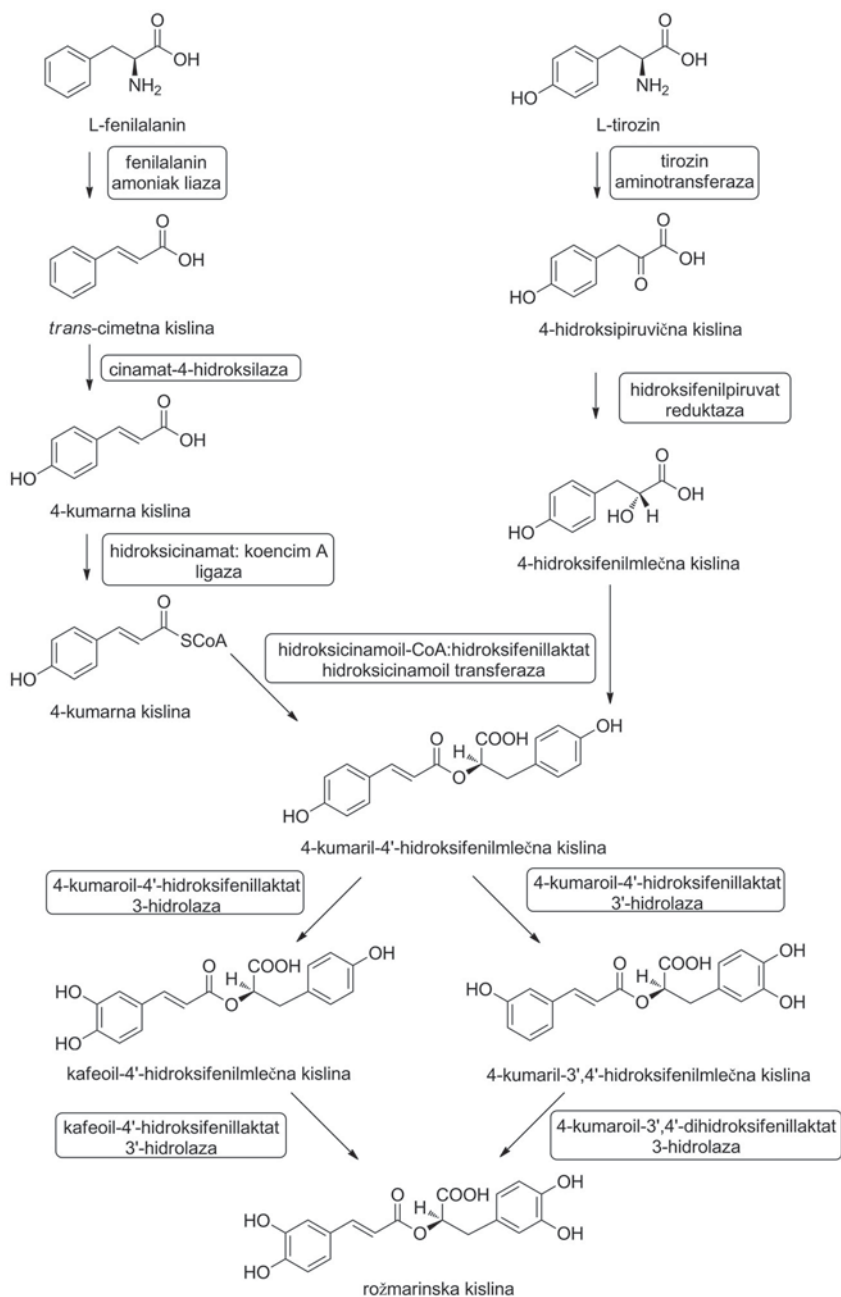
3 Biološki učinki

Za rožmarinsko kislino so opisani številni biološki učinki, med katerimi so glavni predvsem antioksidativno, protivnetno, antikarcenogeno, antiangiogeno, protimikrobno, hepatoprotektivno, antidepresivno, antinevrodegenerativno in antifibrozo delovanje (2–4).



Slika 1: Rožmarinska kislina in njeni derivati.

Figure 1: Rosmarinic acid and its derivatives.



Slika 2: Biosinteza rožmarinske kisline (2).

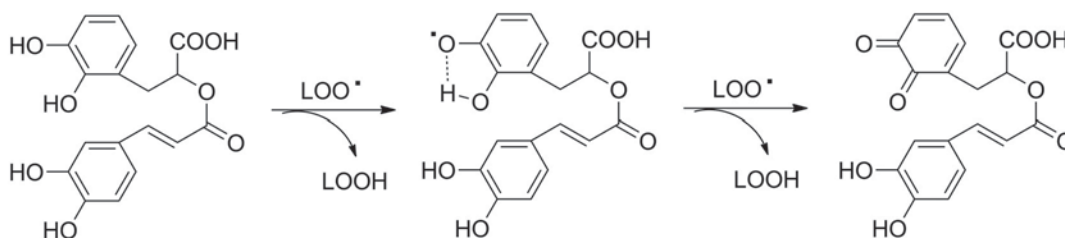
Figure 2: Biosynthesis of rosmarinic acid (2).

3.1 Antioksidativno delovanje

Antioksidativne lastnosti rožmarina in žajblja so poznane že kar nekaj časa in jih pripisujejo predvsem trem glavnim sestavinam: karnozoijski kislini, karnozolu in rožmarinski kislini (5). Dokazano je, da rožmarinska kislina deluje kot lovilec reaktivnih kisikovih vrst in je inhibitor lipidne peroksidacije (3, 5). V *in vitro* študijah je značilno inhibirala tvorbo superoksidnega radikala in peroksidov v celični kulturi človeških levkemijskih celic HL-60 in se izkazala kot boljši lovilec superoksidnega radikala v primerjavi z askorbinsko kislino (6). Prepreči tudi oksidacijo lipoproteinov nizke gostote (LDL) in kaže sinergistično delovanje z likopenom. Med testiranimi antioksidanti likopenom, vitaminom E,

tokotrienolom, glabridinom, karnozolno kislino in česnom je rožmarinska kislina v največjem obsegu zavirala oksidacijo LDL, ki so jo inducirali s pomočjo APPH (2,2'-azobis(2-amidino-propan)dihidroklorida) (7). Kot ena izmed glavnih sestavin naj bi rožmarinska kislina prispevala k antioksidativnemu delovanju zdravilnih rastlin, kot sta rožmarin in ženikej (*Sanicula europaea*) (3), ki se uporabljajo v kozmetični industriji.

Antioksidativno delovanje rožmarinske kisline povezujejo z njeno strukturo, v kateri je nujni strukturni fragment za delovanje katehol, ki tvori intramolekularno vodikovo vez med prostim vodikom hidroksilne skupine in fenoksilnim radikalom, kar vpliva na večjo stabilnost radikala (slika 3).



Slika 3. Mehanizem antioksidativnega delovanja rožmarinske kisline; LOO^{\bullet} je lipidni peroksilni radikal (8).

Figure 3. Antioxidant activity mechanism of rosmarinic acid; LOO^{\bullet} is the lipid peroxyl radical (8).

Dodatni vodik lahko tako prispeva k sposobnosti rožmarinske kisline, da nadzira oksidacijo radikala. Prednost rožmarinske kisline je zato ravno v prisotnosti štirih fenolnih skupin, ki se kot donorji protonov vpletajo v radikalske reakcije (8).

3.2 Protivnetno delovanje

Poleg antioksidativnega delovanja je rožmarinska kislina poznana tudi po svojem protivnetnem delovanju. Osnova protivnetnega delovanja naj bi bila zaviranje lipoksigenaz in ciklooksigenaz ter vmešavanje v sproščanje histamina iz mastocitov (2, 9). Opisano je tudi, da rožmarinska kislina zavira aktivacijo komplemента *in vitro* kot tudi *in vivo*, aktivacijo pa zavira po obeh poteh, klasični in alternativni (9–11). Eden izmed mehanizmov za protivnetno delovanje rožmarinske kisline naj bi bilo tudi zaviranje signalizacije, ki poteka preko receptorjev na T-celicah (9). Poleg tega sta omenjena še dva splošna mehanizma za protivnetno delovanje rožmarinske kisline: zaviranje sinteze adhezijskih molekul, kemokinov in eikozanoidov ter zaviranje aktivacije vnetnih celic, inducirane preko oksidativnega stresa (12).

3.3 Antikarcenogeno delovanje

Objavljene so bile številne *in vitro* študije, v katerih so dokazali potencialno protirakavo delovanje rožmarinske kisline. Na različnih rakavih celičnih linijah je rožmarinska kislina kazala protitumor, apoptozno in antiproliferativno delovanje. Tako je na primer rožmarinska kislina inducirala apoptozo pri dveh celičnih linijah humanega karcinoma debelega črevesa HCT-15 in CO115; pri človeških levkemijskih celicah U937 pa je zavirala preko TNF- α povzročeno tvorbo reaktivnih kisikovih zvrsti in aktivacijo proteinskega kompleksa, ki nadzira transkripcijo DNK (Nf κ B), ter ojačala preko TNF- α povzročeno apoptozo (13).

Podobno so protitumorne učinke rožmarinske kisline opazili tudi pri študijah na živalskih modelih. Peroralna aplikacija rožmarinske kisline (100 mg/kg telesne teže) pri hrčkih, ki so jim inducirali karcinogenozo s 7,12-dimetilbenz[a]antracenom, je popolnoma preprečila tvorbo tumorjev. Dokazali so, da rožmarinska kislina zavre karcinogenozo preko spodbujanja aktivnosti detoksifikacijskih encimov ter izboljša status lipidne peroksidacije in antioksidantov (14). Podobne rezultate so dobili pri ekstraktih iz rastlinske vrste *Perilla frutescens*, kjer antikarcenogeno delovanje rožmarinske kisline pripisujejo dvema mehanizma: protivnetnemu delovanju (zaviranje sinteze adhezijskih molekul, kemokinov in eikozanoidov) in antioksidativnemu delovanju, kot je na primer zaviranje antioksidativne poškodbe DNK (15).

3.4 Antiangiogeno delovanje

Rožmarinska kislina zavira številne pomembne korake pri angiogenezi (fiziološkem procesu rasti novih krvnih žil iz že obstoječih žil), vključno s proliferacijo, migracijo in adhezijo pri človeških umbilikalnih venskih endotelijskih celicah (HUVEC). Prav tako tudi znižuje znotrajcelične koncentracije reaktivnih kisikovih zvrsti, od peroksida odvisno ekspresijo žilnega endotelijskega rastnega dejavnika in sproščanje interleukina 8 v endotelijskih celicah. Na podlagi tega sklepajo, da je antiangiogeno delovanje povezano z njenim antioksidativnim delovanjem (16).

3.5 Protimikrobno delovanje

Rožmarinska kislina izkazuje opazno protibakterijsko delovanje proti bakterijam vrst *Bacillus subtilis*, *Micrococcus luteus* in *Escherichia coli* (17). Protibakterijsko delovanje pa je značilno tudi za številne ekstrakte rastlin, ki vsebujejo rožmarinsko kislino in eterična olja. Metanolni ekstrakti rožmarina, ki so vsebovali 30 % karnozojske kisline, 16 % karnozola in 5 % rožmarinske kisline, so bili učinkoviti proti številnim po Gramu pozitivnim bakterijam (minimalna inhibitorna koncentracija, MIC, med 2 in 15 μ g/mL), po Gramu negativnim bakterijam (MIC med 2 in 60 μ g/mL) in kvasovkam (MIC 4 μ g/mL). Vodni ekstrakti, ki so vsebovali približno 15 % rožmarinske kisline, in prav tako čista rožmarinska kislina so imeli protibakterijsko delovanje proti *Staphylococcus aureus* (18).

Poleg protibakterijskega delovanja ima rožmarinska kislina tudi protivirusno delovanje. Najbolj pogosto se omenja njen protivirusni učinek proti virusu *Herpes simplex*, ki ga izkoriščamo pri terapiji okužb s tem virusom v obliki ekstraktov melise, ki vsebujejo rožmarinsko kislino (2). Omeniti je treba tudi protivirusno delovanje derivatov kavne kisline, med katerimi je tudi rožmarinska kislina, proti virusu HIV (19). Rožmarinska kislina izkazuje zaviralno delovanje na HIV-1 integrazo, prav tako pa neposredno zavira reverzno transkriptazo in vpliva na značilne faze zgodnje naravne endogene reverzne transkripcije (20).

Opisano je tudi protiglivično delovanje rožmarinske kisline, saj naj bi zavirala rast glivice *Candida albicans*, ki je pri človeku lahko priložnostni patogen (21).

3.6 Ostali biološki učinki

Zaradi antioksidativnega delovanja rožmarinske kisline številni ekstrakti rastlin izkazujejo hepatoprotektivno delovanje pri študijah na podganah in miših (22, 23). V literaturi je opisano tudi antidepresivno delovanje rožmarinske kisline, vendar natančen mehanizem delovanja še ni dokončno poznan (24). Zaradi zaščite človeških dopaminergičnih živčnih

celic pred z vodikom peroksidom inducirano apoptozo ima rožmarinska kislina tudi antinevrodgenerativni učinek in ima zato pomembno vlogo pri preprečevanju nevrodgenerativnih bolezni, kot so Alzheimerjeva bolezen, parkinsonizem, Huntingtonova bolezen in bolezen motoričnih nevronov (25, 26). Zanimiv je tudi njen *in vitro* in *in vivo* antifibrozni učinek, ki so ga dokazali na kulturi jetrnih celic z inducirano fibrozo (4).

Rožmarinska kislina ima potencialno uporabo pri preprečevanju ali zdravljenju bronhialne astme, peptične razjede, vnetnih bolezni, hepatotoksičnosti, ateroskleroze, ishemične bolezni srca, katarakte, raka in slabe mobilnosti spermijev (27). Lahko bi jo uporabljali tudi kot alternativo pri antiretrovirusni terapiji, vendar pa so za omenjeno uporabo potrebne še dodatne študije (20). Na eksperimentalnem modelu je bilo tudi dokazano, da rožmarinska kislina ščiti pred sepso preko zaviranja sproščanja proinflamatornega faktorja in preko izboljšanja hemodinamike (28). Ker je močan antioksidant, se kaže njena potencialna uporaba pri različnih alergijskih protivnetnih boleznih pri človeku. V klinični študiji so dokazali, da je rožmarinska kislina iz perile (*Perilla frutescens*) učinkovita pri zdravljenju sezonskega alergijskega rinokonjunktivitisa (8, 29).

4 Terapevtska uporaba in uporaba v kozmetologiji

Rožmarinska kislina je znana sestavina različnih kozmetičnih pripravkov in parfumov. Raztopljena v mandljevem olju se uporablja pri različnih masažah, kjer kaže pozitivne relaksacijske učinke na mišice in žilce, izboljšuje cirkulacijo v koži in ima zato pozitivne učinke pri zatekanju in celulitu. Zaradi njene protimikrobne aktivnosti jo lahko uporabljamo pri aknah in ostalih kožnih infekcijah. Pogosto se uporablja tudi proti izgubi las, saj izboljšuje cirkulacijo krvi in posledično povečuje rast las. Za rastlinske ekstrakte so dokazali zaščitno vlogo las pred zunanjimi agensi predvsem zaradi njenega antioksidativnega delovanja. Uporabljamo jo lahko pri različnih težavah z lasmi oziroma lasiščem, kot so zgodnja plešavost in prhljaj, zato se pogosto uporablja kot ena izmed aktivnih sestavin v šamponih in losjonih (30).

5 Sklep

Rožmarinska kislina se kot sestavina začimb uporablja v vsakodnevni prehrani. Čista spojina in različni rastlinski ekstrakti imajo številne dokazane biološke učinke, med katerimi se najbolj pogosto omenjajo antioksidativno, protivnetno in protimikrobno delovanje. Dandanes se rožmarinska kislina uporablja predvsem v kozmetičnih izdelkih in v obliki rastlinskih ekstraktov za zdravljenje infekcij z virusom herpes. Zaradi netoksičnosti, dobre peroralne absorpcije in zdravju koristnih učinkov ima rožmarinska kislina velik potencial za uporabo pri preprečevanju in tudi zdravljenju številnih bolezni.

6 Literatura

- Petersen M, Abdullah Y, Benner J, Eberle D, Gehlen K, Hücherig S, Janiak V, Kim KH, Sander M, Weitzel C, Wolters S. Evolution of rosmarinic acid biosynthesis. *Phytochemistry* 2009; 70(15–16): 1663–1679.
- Petersen M, Simmonds MSJ. Rosmarinic acid. *Phytochemistry* 2003, 62: 121–125.
- Furtado RA, Rezende de Araujo FR, Resende FA, Cunha WR, Tavares DC. Protective effect of rosmarinic acid on V79 cells evaluated by the micronucleus and comet assays. *J Appl Toxicol* 2010; 30: 254–259.
- Li GS, Jiang WL, Tian JW, Qu GW, Zhu HB, Fu FH. *In vitro* and *in vivo* antifibrotic effects of rosmarinic acid on experimental liver fibrosis. *Phytomedicine* 2010; 17(3–4): 282–288.
- Kosar M, Göger F, Can Başer KH. In vitro antioxidant properties and phenolic composition of *Salvia virgata* Jacq. from Turkey. *J Agric Food Chem* 2008; 56: 2369–2374.
- Nakamura Y, Ohto Y, Murakami A, Ohigashi H. Superoxide scavenging activity of rosmarinic acid from *Perilla frutescens* Britton Var. *acuta* f. *viridis*. *J Agric Food Chem* 1998; 46: 4545–4550.
- Fuhrman B, Volkova N, Rosenblat M, Aviram M. Lycopene synergistically inhibits LDL oxidation in combination with vitamin E, glabridin, rosmarinic acid, carnosic acid, or garlic. *Antioxid Redox Signal* 2000; 2(3): 491–506.
- Hall III CA, Cuppett SL. Structure-activities in natural antioxidants. In: Ruoma OI, Cuppett SL. *Antioxidant methodology: in vivo and in vitro concepts*. The American Oil Chemists Society, 1997: 145–157.
- Lee J, Jung E, Lee J, Park D. Rosemary (Rosmarinic acid). In: Aggarwal BB, Kunnumakkara AB. *Molecular targets and therapeutic uses of spices: modern uses for ancient medicine*. World Scientific Publishing, 2009: 341–371.
- Peake PW, Pussell BA, Martyn P, Timmermans V, Charlesworth JA. The inhibitory effect of rosmarinic acid on complement involves the C5 convertase. *Int J Immunopharmacol* 1991; 13(7): 853–857.
- Englberger W, Hadding U, Etschenberg E, Graf E, Leyck S, Winkelmann J, Parnham MJ. Rosmarinic acid: a new inhibitor of complement C3-convertase with anti-inflammatory activity. *Int J Immunopharmacol* 1988; 10(6): 729–737.
- Osakabe N, Takano H, Sanbongi C, Yasuda A, Yanagisawa R, Inoue K, Yoshikawa T. Anti-inflammatory and anti-allergic effect of rosmarinic acid (RA); inhibition of seasonal allergic rhinoconjunctivitis (SAR) and its mechanism. *Biofactors* 2004; 21(1–4): 127–131.
- Mutanen M, Niku M, Oikarinen S. Green leafy vegetables in cancer prevention. In: Mutanen M, Pajari A-M. *Vegetables, whole grains, and their derivatives in cancer prevention*. Springer, 2011: 41.
- Anusuya C, Manoharan S. Antitumor initiating potential of rosmarinic acid in 7,12-dimethylbenz(a)anthracene-induced hamster buccal pouch carcinogenesis. *J Environ Pathol Toxicol Oncol* 2011; 30(3): 199–211.
- Osakabe N, Yasuda A, Natsume M, Yoshikawa T. Rosmarinic acid inhibits epidermal inflammatory responses: anticarcinogenic effect of *Perilla frutescens* extract in the murine two-stage skin model. *Carcinogenesis* 2004; 25(4): 549–557.
- Huang SS, Zheng RL. Rosmarinic acid inhibits angiogenesis and its mechanism of action in vitro. *Cancer Lett* 2006; 239(2): 271–280.
- Kuhnt M, Pröbstle A, Rimpler H, Bauer R, Heinrich M. Biological and pharmacological activities and further constituents of *Hyptis verticillata*. *Planta Med* 1995; 61: 227–232.
- Moreno S, Scheyer T, Romano CS, Vojnov AA. Antioxidant and antimicrobial activities of rosemary extracts linked to their polyphenol composition. *Free Radic Res* 2006; 40(2): 223–231.
- Bailly F, Cotellet P. Anti-HIV activities of natural antioxidant caffeic acid derivatives: toward an antiviral supplementation diet. *Curr Med Chem* 2005; 12(15): 1811–1818.
- Dubois M, Bailly F, Mbemba G, Mouscadet JF, Debyser Z, Witvrouw M, Cotellet P. 2008. Reaction of rosmarinic acid with nitrite ions in acidic conditions: discovery of nitro- and dinitroso-rosmarinic acids as new anti-HIV-1 agents. *J. Med. Chem.* 51: 2575–2579.
- Gohari AR, Saeidnia S, Shahverdi A, Yassa N, Malmir M, Mollazade K, Naghinejad A. Phytochemistry and antimicrobial compounds of *Hymenocraete calycinus*. *EurAsia J BioSci* 2009; 3: 64–68.
- Amin A, Hamza AA. Hepatoprotective effects of Hibiscus, Rosmarinus and Salvia on azathioprine-induced toxicity in rats. *Life Sci* 2005; 77(3): 266–278.
- Osakabe N, Yasuda A, Natsume M, Sanbongi C, Kato Y, Osawa T, Yoshikawa T. Rosmarinic acid, a major polyphenolic component of *Perilla frutescens*, reduces lipopolysaccharide (LPS)-induced liver injury in D-galactosamine (D-GalN)-sensitized mice. *Free Radic Biol Med* 2002; 33: 798–806.
- Ito N, Yabe T, Gamo Y, Nagai T, Oikawa T, Yamada H, Hanawa T. Rosmarinic acid from *Perillae Herba* produces an antidepressant-like effect in mice through cell proliferation in the hippocampus. *Biol Pharm Bull* 2008; 31: 1376–1380.
- Lee HJ, Cho HS, Park E, Kim S, Lee SY, Kim CS, Kim do K, Kim SJ, Chun HS. Rosmarinic acid protects human dopaminergic neuronal cells against hydrogen peroxide-induced apoptosis. *Toxicology* 2008; 250: 109–115.

26. Alkam T, Nitta A, Mizoguchi H, Itoh A, Nabeshima T. A natural scavenger of peroxynitrites, rosmarinic acid, protects against impairment of memory induced by A β 25-35. *Behavioural Brain Research* 2007; 180 (2): 139–145.
27. al-Sereiti MR, Abu-Amer KM, Sen P. Pharmacology of rosemary (*Rosmarinus officinalis* Linn.) and its therapeutic potentials. *Indian J Exp Biol* 1999; 37(2): 124–130.
28. Jiang WL, Chen XG, Qu GW, Yue XD, Zhu HB, Tian JW, Fu FH. Rosmarinic acid protects against experimental sepsis by inhibiting proinflammatory factor release and ameliorating hemodynamics. *Shock* 2009; 32(6): 608–613.
29. Osakabe N, Takano H, Sanbongi C, Yasuda A, Yanagisawa R, Inoue K, Yoshikawa T. Anti-inflammatory and anti-allergic effect of rosmarinic acid (RA); inhibition of seasonal allergic rhinoconjunctivitis (SAR) and its mechanism. *Biofactors* 2004; 21(1–4): 127–131.
30. Monographs in herbal principles: Rosemary. In: Burlando B, Verotta L, Comara L, Bottini-Massa E. *Herbal Principles in Cosmetics: Properties and mechanisms of action*. CRC Press, Taylor & Francis Group, 2010: 303–307.



Svoj rojstni dan
si deliš še z najmanj
devetimi milijoni ljudi
po vsem svetu.

Naše glavno poslanstvo je izboljševanje kakovosti življenja. Na temeljih te vrednote smo postali ena vodilnih svetovnih v raziskave in razvoj usmerjenih farmacevtskih družb. Raziskujemo, razvijamo, proizvajamo in tržimo zdravila in cepiva, ki preprečujejo in zdravijo številne bolezni. Proizvajamo tudi izdelke za nego zob in ustne votline. S prisotnostjo na vseh svetovnih trgih, tudi v Sloveniji, želimo aktivno prispevati k zdravju vseh ljudi.

Naredite več, počutite se bolje, živite dlje.



Novice iz sveta farmacije

prof. dr. Borut Štrukelj, mag. farm.

FDA odobrila uporabo tofacitiniba za zdravljenje revmatoidnega artritisa

FDA je 6. 11. 2012 izdala dovoljenje za promet z zdravilom Xeljanz®, ki vsebuje tofacitinib. Zdravilo je namenjeno odraslim bolnikom s srednjim do močnejše izraženim revmatoidnim artritisom, pri katerem je odzivnost na metotreksat majhna ali je sploh ni.

Revmatoidni artritis je avtoimuna bolezen s specifičnimi avtoprotelesmi. Samo v Združenih državah Amerike trpi za revmatoidnim artritisom 1,5 milijona bolnikov, v Evropi pa je bolnikov okoli 800.000. Tofacitinib je zaviralec encimov iz skupine kinaz Januz. Učinkovitost in varnost tofacitiniba so ugotavljali v sedmih kliničnih študijah in ugotovili znatno izboljšavo pri bolnikih, ki so jemali tofacitinib v primerjavi s placebom. Glede varnosti opozarjajo predvsem na povečano nevarnost okužb, ki vključujejo tudi oportunistične mikroorganizme, vključujoč tuberkulozo. Prav tako naj bi teoretično obstajala večja verjetnost za obolenostjo za nekaterimi oblikami raka, a v študijah tega niso statistično potrdili, kljub temu pa FDA zahteva budno spremljanje željenih učinkov v postmarketinških študijah. Najbolj izraženi neželjeni učinki so bili povečanje števila respiratornih okužb, glavobol, diareja ter povečano vnetje nosnega kanala in grla. Prav tako so zasledili nekoliko povečane vrednosti jetrnih encimov, nivo LDL in celokupnega holesterola v krvi.

Vir: FDA Press Release, November 2012

Odobritev prvega zdravila za zmanjšanje verjetnosti okužbe s HIV virusom

Kombinacijo učinkovin emtricitabin in tenofovir fumarata je pod imenom Truvada® odobril Ameriški Urad za zdravila in hrano FDA, kot prvo zdravilo, ki dokazano zmanjša verjetnost okužbe s HIV virusom pri neokuženih posameznikih, pri katerih je verjetnost okužbe večja zaradi stika s HIV okuženim bolnikom. Truvada® je torej profilaktično zdravilo, predvsem za tiste, ki imajo partnerja, okuženega s HIV virusom, a sami niso okuženi. Farmacevtska družba Gilead Sciences posebej poudarja, da je nujno prej testirati posameznika, saj je Truvada® namenjena le tistim, ki dokazano nimajo prisotnih protiteles proti HIV virusu v krvi.

Pred tem je FDA isto zdravilo odobrilo v kombinaciji z ostalimi protivirusnimi učinkovinami za zdravljenje s HIV virusom okuženih odraslih in otrok, starejših od 12 let. V okviru nove indikacije bodo Truvada® profilaktično dnevno jemali uporabniki, ki bodo v stiku z

bolnikom, okuženim s HIV virusom, a imetnik dovoljenja za promet opozarja, da je nujno potrebno vključevati še vse ostale metode varne spolnosti in zaščite pri stiku z okuženimi bolniki, vključno z rednim testiranjem. V ZDA se vsako leto na novo okuži 45.000 odraslih in mladostnikov, kljub široko zastavljenim preventivnim akcijam.

Varnost in učinkovitost zdravila Truvada® je bila dokazana v dveh velikih, randomiziranih, dvojno-slepih in s placebom nadzorovanih kliničnih študijah s skupno 2499 HIV negativnih prostovoljcev moškega spola, ki so imeli spolne odnose s HIV pozitivnimi partnerji oziroma partnerji z neznanim HIV statusom. Zdravilo Truvada® je zmanjšalo nove okužbe s HIV virusom za 42% primerjalno s placebom, kar kaže na dobro učinkovitost preskušane zdravila. V drugi klinični študiji je sodelovalo 4758 heteroseksualnih parov, pri katerih je bil en partner HIV pozitiven. V študiji so primerjali učinkovitost zdravila Truvada® proti placebo in dokazali kar 75% manjšo verjetnost okužbe s HIV virusom pri parih, ki so uporabljali zdravilo Truvada®, primerjalno s placebom.

Najpogostejši neželjeni učinki, ki so jih opazili v študijah, so bili: diareja, navzeja, abdominalna bolečina, glavobol in izguba teže. Zelo malo je bilo resnih neželjenih zapletov, opazili so predvsem nefrotoksičnost in neravnovesje v zorenju celic imunskega sistema.

Kot pogoj za pridobitev dovoljenja za promet je moralo podjetje Gilead Sciences zbirati izolate tistih posameznikov, ki so se kljub jemanju Truvada® okužili in spremljati potencialen nastanek rezistence virusa HIV na zdravilo. Prav tako so morali izjemno natančno spremljati potek nosečnosti in stanje plodu v primeru zanositev ob sočasnem jemanju zdravila Truvada®. Pri obeh opazovanih parametrih niso zasledili nikakršnih nepričakovanih rezultatov.

Vir: FDA Press Release, avgust 2012

Prvo cepivo proti meningitisu B v EU

Evropska Agencija za zdravila EMA je preko Evropske Komisije (EC) odobrila registracijo cepiva Bexsero® (Novartis) za preprečevanje meningitisa B, ki je namenjeno odraslim in otrokom, starejših od dveh mesecev. Meningitis, ki ga povzroča bakterija seroskupine B *Neisseria meningitidis* prizadene sicer lahko vse starostne skupine, a najbolj predvsem dojenčke in mlajše otroke, saj kar 10% otrok, ki se okužijo in pri katerih je bakterija prizadela možganske ovojnice, umre. Pri 20% otrok z meningitisom pa so doživljenjsko prizadete nekatere možganske funkcije, predvsem sluh. V EU je bolezen bistveno pogostejša kot v ZDA, zato je družba Novartis zaprosila za dovoljenje za promet najprej Evropsko zvezo, načrtujejo pa vložitev prošnje za registracijo cepiva na FDA in letu 2013. Neželjeni učinki se kažejo predvsem kot blago

povišanje temperature, kar pa je običajno tudi pri drugih cepivih, saj gre za pozitivno reakcijo organizma zaradi aktivacije imunskega sistema in s tem nastanka specifičnih protiteles. V klinični študiji, kjer so primerjali neželjene učinke po cepljenju s cepivom Bexero® v primerjavi z drugimi cepivi, so opazili sicer večji odstotek tistih bolnikov, ki so imeli rahlo povišano temperaturo, resnih neželenih učinkov pa niso opazili.

Vir: EMA Press Office, November 2012

Optimizem pri družbi NOVARTIS: do leta 2017 vsaj 14 novih zdravil

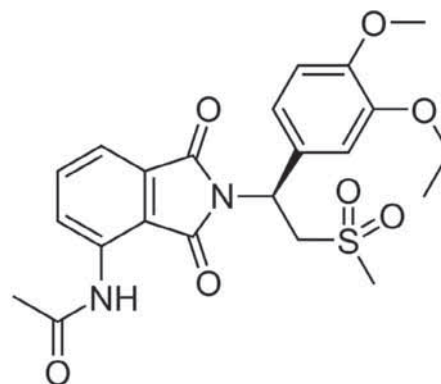
Na tiskovni konferenci v Bostonu je predstavnik družbe Novartis sporočil, da pričakujejo vsaj 14 novih zdravil, ki bi lahko predstavljala tržne uspešnice (ang. blockbuster) v naslednjih petih letih, predvsem na področju raka, srčnožilnih obolenj in respiratornih težav. Tako bodo nadomestili izpad dohodkov, ki jih povzročajo izteki obstoječih patentov. Nekateri analitiki farmacevtskega tržišča opozarjajo, da je napoved mogoče preoptimistična, saj eni od najnovejših Novartisovih zdravil Gilenya® in Lucentis® še nista dosegla pričakovanih donosov, predvsem pa se v borbi za tržišče bliža registracija konkurenčnih zdravil za iste indikacije družb Biogen Idec in Regeneron, ki naj bi bili na razpolago v letu 2013.

Novartis ima trenutno 139 projektov v kliničnih preizkušanjih z več kot 70 novimi zdravilnimi učinkovinami. Trenutno najbolj perspektivno je zdravilo Serelaxin® za zdravljenje bolnikov z akutnim srčnim dogodkom. Serelaxin® je rekombinantni vazoaktivni peptid relaksin-2. V reviji Lancet so leta 2012 objavili obsežno klinično študijo, ki kaže na visoko stopnjo preživetja po nenadnem srčnem dogodku ob uporabi rekombinantnega relaksina-2. Druga potencialno uspešna učinkovina ima eksperimentalno ime LCZ686. Njeno registracijo pričakujejo v drugi polovici leta 2014. Največ pa si obetajo od onkoloških zdravil, saj pričakujejo, da se bodo bolniki po izteku patentnih pravic zdravila Glivec® preusmerili na novo zdravilo Tasigna®, ki je indicirana za zdravljenje kronične mieloidne levkemije.

Vir: PharmaNews, november 2012

Apremilast učinkovit pri psoriatičnem artritisu

Psoriatični artritis je s kožno luskavico povezana kronična, serološko negativna (kar pomeni, da v krvi bolnikov ni revmatoidnih dejavnikov) vnetna sklepna bolezen. Ta lahko poteka kot simetrično vnetje malih sklepov rok in stopal, ki je podobno revmatoidnemu artritisu, ali kot nesimetrično vnetje posameznih večjih sklepov, kar je bolj pogosto. Prav tako so za psoriatični artritis značilne obarvane pikčaste vdolbinice na nohtih. Nekako 20 % vseh, ki zbolijo za luskavico, kažejo manjše ali bolj izražene znake psoriatičnega artritisa. Za lajšanje težav in zmanjševanje napredovanja bolezni je družba Celgene razvila učinkovino apremilast.



Apremilast

V tretji fazi klinične raziskave z imenom PALACE-1 se je apremilast izkazal kot dobra potencialna učinkovina za lajšanje znakov in simptomov pri psoriatičnem artritisu, predvsem pri bolnikih, ki se slabo odzovejo na že uveljavljene antirevmatike oziroma biološka zdravila. Apremilast je talidomidni analog, ki deluje kot zaviralec PDE4 in ga uvrščamo v skupino ostalih znanih zaviralcev fosfodiesteraze tipa 4. Na ta način se zniža nivo proinflammatoryh citokinov in poveča nivo protivnetnih citokinov.

Prav tako so vsopodbudni preliminarni rezultati dveh vzporednih študij PALACE 2 in PALACE 3, ki bodo objavljeni do konca leta 2012. Na osnovi pozitivnih rezultatov, ki kažejo na to, da bo apremilast varno peroralno zdravilo za lajšanje znakov psoriatičnega artritisa, bo družba Celgene vložila dokumentacijo za pridobitev dovoljenja za promet na FDA v prvi polovici 2013.

V študiji je 504 bolnikov z srednjim do zelo izraženim psoriatičnim artritisom prejelo 30 mg apremilasta dvakrat dnevno, oziroma placebo. Predvsem pri bolnikih, ki prej niso prejeli biološka zdravila, so opazili izrazit učinek izboljšanja v primerjavi s placebom. Neželjeni učinki so bili v povprečju za 2 odstotka bolj izraženi v skupini, ki so jih zdravili z apremilastom, kot v placebo skupini, kar uvršča apremilast med učinkovine z izraženo zahtevano varnostjo.

Vir: Medscape Today, 16. Nov. 2012

Iz društvenega življenja

60. obletnica Dolenjske podružnice SFD

Marjan Balkovec, mag. farm., spec.

Dolenjska podružnica SFD je 11. oktobra 2012 v dvorani Krka v Novem mestu slovesno praznovala 60 let svojega delovanja. Že od ustanovitve 12. maja 1952 je imelo društvo nalogo povezovati farmacevtske delavce in jim pomagati pri njihovem strokovnem izobraževanju. Najbolj aktivni člani društva so leta 1954 dali pobudo za ustanovitev Farmacevtskega laboratorija Krka, ki je do danes prerasel v deseto največje generično podjetje na svetu, peto v Evropi. Društvo je 16 let vodila mag. Marta Slapar, ki je bila najpomembnejša pomočnica mag. Andrijaniča pri začetnem razvoju Krke. Kasneje so se v vodstvu podružnice izmenjavali farmacevti iz lekarn in Krke. V zadnjem desetletju pa podružnico vodijo lekarniški farmacevti. Člani društva so pomembno prispevali k razvoju slovenske in jugoslovanske farmacije. Danes imamo na Dolenjskem razvito mrežo javnih lekarn in svetovno priznano generično farmacevtsko podjetje Krka, tovarna zdravil, d.d., Novo mesto. Da je Krka postala ponos Dolenjske in Slovenije, je poleg predanih zaposlenih v veliki meri prispevalo njeno vodstvo, ki je imelo že od samih začetkov pravo vizijo razvoja in rasti.

Ker znanja ni nikoli dovolj, naš poklic zahteva stalno izobraževanje. Dolenjska podružnica po svojih najboljših močeh prispeva k strokovnemu napredku njenih članov. V zadnjih sedmih letih, odkar vodimo računalniške evidence, smo imeli natančno 60 strokovnih predavanj, ki se jih je udeležilo 3682 članov. Zato je bilo tudi ob jubileju organizirano predavanje o aktualni problematiki Procesu staranja – kako jih zavreti. Vodja Kliničnega oddelka za endokrinologijo, diabetes in presnovne bolezni v KC Ljubljana prof. Marija Pfeifer je predstavila najnovejša odkritja na področju zaviranja procesov staranja in poudarila, da živimo v času hudega pomanjkanja vitamina D. Glavni vzrok je naraščanje indeksa telesne mase. Ko indeks preseže vrednost čezmerne prehranjenosti, se začne vrednost vitamina D nižati, saj maščobno tkivo absorbira več vitamina D in ne pride do krvi in celic, ki ga potrebujejo. Najpomembnejša stvar v boju proti staranju je redna telesna aktivnost, pomaga zdrav življenjski slog. Zmanjšati je treba stres, potrebujemo dovolj spanja, zdravo prehrano. Občasno moramo občutiti lakoto, da se telo prečisti.

Predstavniki pokrovitelja srečanja in generalni direktor ter predsednik uprave Krke d.d. Jože Colarič je v svojem nagovoru poudaril pomen farmacevtov v podjetju. Dejal je, da se v družbi zavedajo, kako pomembno je, da ves čas razvijajo nove izdelke, saj kar 54% prihodkov ustvarijo z izdelki, ki so na trgu manj kot pet let. Direktor Colarič, ki je tudi



Organizatorji in gostje praznovanja 60-letnice Dolenjske podružnice



Udeleženci so z zanimanjem spremljali program na odru

častni član SFD, je napovedal nadaljnjo plodno sodelovanje Krke s SFD in Dolenjsko podružnico.

Dolenjska je »zibelka in trdnjava slovenske farmacije«, je poudaril predsednik SFD dr. Gašper Marc. A ne le to, nikjer drugje ni farmacija tako vpeta v okolje in nikjer ne uživa tako velikega ugleda, kar je zasluga tudi dela Dolenjske podružnice.

Predsednica Dolenjske podružnice v letih 1999 – 2005 in sedanja direktorica Dolenjskih lekarn magistra Zofija Vitkovič je v svojem nagovoru izpostavila pomen lekarniškega poklica. Izrazila je spoštovanje do vseh, ki so razvijali farmacevtsko stroko na Dolenjskem in znali prepoznati njene razvojne možnosti, ki se danes odražajo v razviti lekarniški mreži in Krki, tovarni zdravil. Kakovostna zdravila, ki so danes na voljo, niso zadostno jamstvo, da z njimi dosežemo tudi pričakovani uspeh zdravljenja. Opozorila je, da se premalo zavedamo, da je od trenutka ko bolnik odnese zdravilo iz lekarne, uspeh zdravljenja v rokah bolnika samega. Le bolnik, ki bo imel dovolj informacij o svojem zdravilu, bo dober sodelavec v procesu zdravljenja. Zato je pri zdravljenju z zdravili ključna vloga lekarniškega farmacevta kot svetovalca, ki s svojim znanjem o zdravilih prispeva k varni in pravilni uporabi zdravil.

Skrb za zdravje je v zavesti posameznika ena od najvišjih vrednot, ki se z razvojem znanosti in tehnologije še povečuje, zato lahko pričakujemo, da bodo tudi potrebe po lekarniških storitvah v bodoče vse večje. Magistra Vitkovič je opozorila na pomen strokovne neodvisnosti farmacevta, ki temelji na znanju, na povezovanju z ostalimi zdravstvenimi poklici in usmerjenosti k bolniku.

Predsednik Dolenjske podružnice SFD od leta 2005 naprej, Marjan Balkovec, je predstavil delovanje podružnice. Ta je po številu članov tretja podružnica v Sloveniji s trenutno 440 člani. Poleg rednih zelo dobro obiskanih predavanj vsako leto organizirajo tudi strokovne ekskurzije, kjer obišejo farmacevtske tovarne, lekarne in botanične vrtove, tudi parfumerijo v Grassu. Med drugim so si ogledali tovarno zdravil Hemofarm v Srbiji, nepozabni Krakov s slanim rudnikom Wielicka. V spominu za vedno ostane obisk botaničnih vrtov in stare lekarne v Rosenheimu na Bavarskem, ogled Salzburga in prelepega Salzkammerguta z mestom Hallstadt v Avstriji...

V zadnjih petih letih so organizirali v mesecu juniju botanično – etnološke ekskurzije pod vodstvom mag. Kukmana po Dolenjski in Beli krajini. Zelo radi se udeležujejo športno – kulturnih in družabnih prireditev, ki jih

organizira SFD. Dolenjska podružnica je bila v letih 2006 in 2007 organizator Martinovanja, ki so se ju množično udeležili člani SFD iz vse Slovenije.

V preteklem desetletju je osem članov prejelo društvena priznanja - Minařikovo odličje oz. priznanje za delo v farmacevtski stroki, farmacevtskem društvu ali za druge zasluge in prispevke pri razvoju farmacije.

Kljub vsesplošni krizi bo Dolenjska podružnica tudi v bodoče nadaljevala delo po preizkušeni poti in iskala nove izzive.

Praznovanje 60-letnice je obogatil kulturni program, za katerega so poskrbeli plesalci Plesnega kluba Novo mesto.

6. simpozij Homeopatske sekcije SFD: Homeopatija v slovenskih lekarnah

dr. Maruša Hribar, mag. farm., Tanja Šegula, mag. farm.

Homeopatska sekcija pri Slovenskem farmacevtskem društvu je v soboto, 6. oktobra organizirala že tradicionalni 6. simpozij z naslovom Homeopatija v slovenskih lekarnah. Simpozij je potekal v prostorih Kemofarmacije v Ljubljani. Izbrana tema Homeopatija v slovenskih lekarnah je privabila 80 slušateljev magistrov farmacije iz cele Slovenije, z že obstoječim znanjem iz homeopatije (od skupno 400). To dokazuje, da lekarniški farmacevti kritično sprejemamo razvoj medicinskih znanosti, sledimo evropskim in svetovnim trendom v združevanju klasične in komplementarne medicine ter se neprestano strokovno izobražujemo.

Namen srečanja je bil poglobitev homeopatskega znanja in seznanitev z novostmi. V prvem delu je predavateljica Tanja Šegula, mag. farm., predstavila **Homeopatsko lekarno za samozdravljenje**. Podan je bil pregled 56 osnovnih homeopatskih zdravil, homeopatska potovalna lekarna ter pregled težav in zdravljenja. Dopoldanski del simpozija je predavateljica strnila z delavnico izbranih primerov terapije iz lekarniške prakse.

V popoldanskem delu je predavateljica dr. Maruša Hribar, mag. farm., predstavila temo z naslovom **Psihične težave in homeopatija**. Predstavljen je bil sindroma izgorelosti in hiperaktivnih otrok. Predavanje je navedlo primere homeopatskega zdravljenja psihičnih težav in njihovo razrešitev. Obravnavani so bili tudi primeri iz prakse.

Kemofarmacija je omogočila izdajo priročnika **Homeopatska lekarna za samozdravljenje**, Pregled osnovnih homeopatskih zdravil, avtorice Tanje Šegula, ki so ga prejeli udeleženci simpozija. Priročnik so skupaj z novembrsko številko FARMAinfo prejele tudi vse lekarne.

Naše znanje raste samo, če sprašujemo in delimo znanje z drugimi. 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 večšino, kakor vse ostale, je potrebno stalno izpopolnjevati, za kar je bil simpozij čudovita priložnost.

Iskrena hvala vsem udeležencem simpozija za podporo integracije homeopatije v slovenski zdravstveni sistem, katerega del so tudi lekarne.

In memoriam

Danica Fux Ilc, mag. farm.

V toplem začetku septembra 2012 smo se na Žalah zbrali na mestu, ki ga je arhitekt – umetnik namenil osredotočenju na spomine in bolečino slovesa: najgloblji spomin hrani družina, ki ji je Danica bila varuh doma in ognjišča – odtod tudi njihova največja bolečina. Nam vsem je na tem mestu dano sporočilo časa: da vzame ostrino bolečini in izbistri spomine.

Različne dele življenjske poti si posamezniki delimo z Danico.

Iz kraja otroštva in varnosti družine Fux v rojstni Metliki jo je šolanje v zgodnjih petdesetih letih privedlo na gimnazijo Poljane.

Tukaj smo sošolci in sošolke spoznali njen prijetni značaj, a tudi čut za pravičnost in odločnost: epizoda takega spomina je njeno posredovanje pri ravnatelju gimnazije, ko so nekateri z ocenami nezadovoljni dijaki profesorico ruščine obtožili »protidržavnega agitiranja« - za tiste čase kar resno in nevarno ovadbo. Prav Daničina zavzetost in pogumnost je razkrila in preprečila lažno krivico.

Po maturi se je poljanski »osmi a« razšel po svojih življenjskih poteh; Danica je vedela kaj želi: Farmacijo.

Ni čakala na tedaj obljubljeni popolni študij farmacije na PMF v Ljubljani, temveč se je takoj vpisala na Fakulteto za farmacijo na Vseučilišču v Zagrebu.

Diplomirala je 1960 leta med prvimi v letniku. Že naslednje leto se je po kratki lekarniški praksi, kot diplomirana farmacevtka zaposlila v veletrgovini z zdravili Kemofarmaciji (veletrgovina je bila ustanovljena 1947 kot povsem centralno vodena uprava za razdeljevanje zdravil in je z leti pridobivala samostojnost in postala takrat največja in najpomembnejša ustanova primarne distribucije zdravil).

Danici so zaupali odgovorno delo vodenja prometa z narkotiki in strupi. Kot vestna in sposobna farmacevtka je v Kemofarmaciji opravljala vedno

zahtevnejše posle in svoje delovanje v Kemofarmaciji sklenila na mestu vodje prodajne službe.

Leta 1974 je prešla v novo ustanovljeno podjetje Bayer Pharma, ki je bilo takrat nekaj posebnega: bilo je ustanovljeno 1972 leta s solastniškimi deleži matične firme Bayer iz Leverkusna in ljubljanskega Leka; namen je bil razširiti ponudbo zdravil firme Bayer v takratni Jugoslaviji in izven nje. Danica je prevzela vodenje farmakoinformacijske službe, ki je bila zanjo in njene sposobnosti pravi izziv.

Kljub zahtevni službi je Danica že od leta 1962 zavzeto sodelovala pri delu v Slovenskem farmacevtskem društvu. Prisotna je bila pri strokovnih aktivnostih društva: simpozijih ob letnih skupščinah SFD in pri organizaciji Jugoslovanskih sestankov o sodobni farmakoterapiji, začetih na pobudo SFD. Pri tem je pomagala tudi s pridobivanjem sponzorskih sredstev. S sodelavci v društvu je posebno spretnost izkazala v težavnih letih med 1989 in 1991, ko je bila predsednica SFD.

V utemeljivi ob dodelitvi Minafikovega priznanja 1991 so navedene njene zasluge pri zagotavljanju poslovnih prostorov SFD, pri ustanavljanju Lekarniške zbornice – vse v okviru velikih političnih in družbenih sprememb. Slovensko farmacevtsko društvo se je takrat zavzemalo za vrnitev tradicionalnega strokovnega naslova magister farmacije in enakopravnejši položaj farmacije v zdravstvenem sistemu.

V tistem težkem obdobju je Danico posebej veselilo, da ji je ob vsestranski podpori sodelavk v tajništvu društva in drugih kolegov uspelo pripraviti proslavo štiridesete obletnice SFD.

Tudi po upokojitvi je Danica ostala zvesta farmacevtskemu delu. Poleg pomoči naraščajočim družinam svojih hčera in sodelovanju pri administraciji soprogovega stomatološkega dela, je našla čas za karitativno delo: med vojno na Hrvaškem in v Bosni je sodelovala pri ocenjevanju in razvrščanju podarjenih zdravil in medicinskih pripomočkov. S farmacevtskim delom je pro bono publico pomagala ambulantni za zdravstveno nezavarovane osebe v Mostah.

Sošolke in sošolci 8 a razreda 53/54 gimnazije Poljane imamo Danico pred očmi kot sopotnico na vsakoletnih ponovitvah sedaj že davnega maturitetnega izleta. Več poti smo skupaj opravili na njeno pobudo.

Ali je bilo naključje, da smo pomlad 2012 na njen predlog doživljali in skupaj z njo popotovali po Beli Krajini in spremljali njeno neposredno besedo o kraju njene mladosti ter se v muzeju v Metliki ustavili pred postavitvijo stare lekarniške oficine?

Lep spomin!

V imenu sošolcev in farmacevtskih kolegov Aleš Krbavčič



Ivan Gornik, mag. farm.

Posloval se je gospod Ivan Gornik. Rojen v Mislinji 30.11.1930. leta, je končal osnovno šolo v Nazarjah in gimnazijo v Pančevu. V času študija na farmacevtski fakulteti v Beogradu je bil aktivni član jugoslovanske rokometne reprezentance, ki je 1955leta na svetovnem prvenstvu dosegla peto mesto.

Po končanem študiju 1962. leta se je zaposlil v Centralni lekarni v Pančevu, 1. maja 1964 pa je postal upravnik Lekarne v Slovenj Gradcu, kamor je takrat spadala tudi lekarna Dravograd.

Pod njegovim vodstvom so postavili v Slovenj Gradcu tudi galenski in analitski laboratorij, v Mislinji pa so opremili novo lekarno. Bil je aktiven član Koroškega zdravstvenega sveta, Izvršnega odbora farmacevtskega društva Slovenije ter Združenja lekarn Slovenije.

Leta 1977 je tovarna Lek ustanovila svoj prvi obrat na Prevaljah in Ivan Gornik je prevzel njegovo vodenje. Pakiranju zdravil se je čez leta pridružil program izdelave umetnih zob in izdelkov za zobozdravstvo. Leta 1979 je Ivan Gornik postal direktor TOZD Dren, kakor so se takrat imenovali obrati Leka na Prevaljah. V 90. letih so na Prevaljah zgradili nov obrat za proizvodnjo in opremljanje ampicilinskih in amoksilinskih zdravil. Število zaposlenih je naraslo čez 200.

Ivan Gornik se je upokojil leta 1992, a je ostal aktiven še naprej; tako je bil izvoljen 1996. leta v svet občine Slovenj Gradec.

Aktivno je deloval tudi v Slovenskem farmacevtskem društvu. Bil je član upravnega odbora SFD v mandatu 1974 - 1975, en mandat je tudi vodil Sekcijo seniorjev. Za svoje delo na strokovnem in organizacijskem področju je leta 2000 prejel Minařikovo priznanje.

Ivana Gornika so cenili sodelavci, ker je bil strokovnjak in osebnost, strog, ko je bilo treba, sicer pa prijazen in pripravljen pomagati, cenjen med sodelavci in kolegi. Pogrešali ga bomo.

Mag. Marija Lešnjak, mag. farm.

Razpis za podelitev društvenih priznanj za leto 2013

Odbor za podeljevanje društvenih priznanj objavlja razpis za podelitev društvenih priznanj v letu 2013. Podružnice in sekcije prijavijo kandidate skladno z določili Pravilnika o podeljevanju društvenih priznanj najkasneje **do 31. januarja 2013.**

Za utemeljitev uspešnosti kandidata mora predlagatelj navesti pozitivne spremembe v delovnem okolju, ki so posledica kandidatovih aktivnosti. Iz predloga mora biti razvidno, kako je kandidat v smislu kvalitete in kvantitete presegal svoje obveznosti, ki izhajajo iz opisa del in nalog delovnega mesta, ki ga zaseda. 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: **info@sfd.si** in v enem izvodu v tiskani obliki tajništvu Slovenskega farmacevtskega društva **najkasneje do 31. januarja 2013.** Elektronsko oddane prijave, posredovane po elektronski pošti, morajo biti popolnoma enake kot pisne, poslana z navadno pošto.

Spoštovani bralci, avtorji in recenzenti!

*V imenu uredništva Farmacevtskega vestnika
se vam želim tudi ob koncu leta 2012 zahvaliti za sodelovanje.
V prihajajočem letu pa vam želimo veliko zdravja ter osebnih uspehov.
V upanju, da bomo še tako dobro sodelovali
in naš/vaš Farmacevtski vestnik še izboljšali.*

Z lepimi željami,

Petra Slanc Može – glavna urednica

Recenzenti:

prof. dr. Ales Krbavčič, mag. farm. • dr. Aleš Berlec, mag. farm. • izr. prof. dr. Aleš Obreza, mag. farm.
dr. Andrijana Tivadar, mag. farm. • doc. dr. Bojan Doljak, mag. farm. • prof. dr. Borut Štrukelj, mag. farm.
doc. dr. Bratkovič Tomaž, mag. farm. • doc. dr. Damjan Janeš, mag. farm. • prof. dr. Danijel Kikelj, mag. farm.
izr. prof. dr. Iztok Grabnar, mag. farm. • izr. prof. dr. Janja Marc, mag. farm. • doc. dr. Marko Anderluh, mag. farm.
doc. dr. Matjaž Jeras, mag. farm. • prof. dr. Mirjana Gašperlin, mag. farm. • doc. dr. Mojca Lunder, mag. farm.
doc. dr. Rok Orel, dr. med • prof. dr. Samo Kreft, mag. farm. • doc. dr. Simon Žakelj, mag. farm.

Farmaceutski vestnik

Letnik 63, 2012 - Letno kazalo

Pregledni in izvirni znanstveni članki

Patofiziološki vidiki bolečine (Toni J)	3
Zdravila za zdravljenje bolečine (Kerec Kos M)	6
Zdravljenje in vodenje akutne pooperativne bolečine (Faganeli N)	10
Pediatric Pain Management (Haider D)	14
Analgezija v nosečnosti, med porodom in v času dojenja (Močnik Rožnik S)	15
Sheme zdravljenja pri kronični bolečini in glavni mehanizmi interakcij z analgetiki (Premuš Marušič A)	21
Prilagajanje odmerjanja analgetikov glede na ledvično in jetrno funkcijo (Petre M)	28
Neželeni učinki analgetikov, ekvivalenčni odmerki in prilagajanje terapije (Jošt M)	33
Ali depresija boli? (Strbad E)	38
Zdravljenje bolečine pri revmatoidnem artritisu (Kolarič B)	40
Zdravljenje bolečine paliativnega bolnika (Sonc M)	44
Analgetične raztopine pri zdravljenju paliativnega bolnika (Eberl A)	51
Integriran pristop iskanja spojin vodnic naravnega izvora z uporabo eksperimentalnih in računalniško podprtih metod (Mukič J, Perdih A, Šolmajer T)	54
Vpliv nanotehnologije na razvoj zdravil (Kristol J)	67
Novosti na področju farmacevtske nanotehnologije (Kocbek P)	75
Nanozdravila (Cegnar M, Kerč J)	82
Koristi in tveganja uporabe nanotehnologij v živilski industriji (Filipič M)	88
Bolezni grla in diagnostika (Hočevnar Boltežar I)	92
Vnetje srednjega ušesa in zapleti (Gros A)	96
Izbrane učinkovine kemijskega izvora v terapiji vnetij nosu, obnosnih votlin, ušesa in grla (Anderluh M)	100
Izbrana zdravila naravnega izvora za zdravljenje bolezni ORL (Kreft S)	109
Sodobna cepiva proti vnetju srednjega ušesa (Štrukelj B)	112
Parametri vključevanja konjugiranih pnevmokoknih cepiv v slovenski zdravstveni sistem (Janžič A, Locatelli I, Devetak A, Kos M)	116
Lekarniški farmacevt in boleznin ušes, nosu in grla (Cvirn Novak M, Čater N, Urbanc M, Vovk T)	122
Usklajevanje zdravljenja z zdravili pri prehodnih bolnikov med različnimi ravnmi zdravstvene oskrbe (Jančar P, Knez L, Mrhar A)	133

Usklajevanje zdravljenja z zdravili v Lekarnah Maribor (Pavšar H)	137
Usklajevanje zdravljenja z zdravili v domu starejših občanov (Bončina K)	140
Iritativni kontaktni dermatitis: od mehanizmov do vrednotenja iritantov (Gosenca M, Gašperlin M)	145
Oksidacijski stres in nosečnost (Rejc B, Osredkar J, Geršak K)	153
Spremljanje neželenih učinkov zdravil (Schmidt J, Šmid A, Mlinarič-Raščan A)	162
Pregled pomembnejših inhibitorjev 5 α -reduktaz tipa 1 in 2 (Beranič N, Lanišnik Rižner T, Gobec S)	168
Biološki učinki derivatov cimetine kisline (Sova M)	178
Epidemiologija in smernice zdravljenja kroničnih bolezni (Petek Šter M)	205
Od kontroliranih kliničnih raziskav do na dokazih temelječega zdravljenja z zdravili (Grabnar I)	211
Priporočila za zagotavljanje kakovosti prehranskih dopolnil (Pravst I, Blaznik U, Krbavčič A, Kreft S, Kušar A, Mičović E, Razinger B, Recek M, Repe J, Rogelj I, Stibilj V)	216
Sistematični pregled raziskav vrednotenja koristi klinične farmacije in farmacevtske skrbi (Kos M, Bečan D)	225
Ocena potencialnih in klinično pomembnih interakcij pri bolnikih s srčno žilnimi obolenji ter priporočila za ukrepanje lekarniškega farmacevta (Madjar B, Pisk N)	232
Poimenovanje zdravil ter njihov vpliv na vsakdanjo lekarniško prakso (Antončič M)	242
Sodobni pogled na nastanek osteoporoze (Mencej Bedrač S, Ostanek B, Mlakar V, Zupan J, Kocjan T, Preželj J, Marc J)	269
Zdravljenje osteoporoze danes in jutri (Mencej Bedrač S, Zupan J, Kocjan T, Mlakar V, Preželj J, Marc J, Ostanek B)	279
Ključna hranila za zdravje okostja (Pravst I, Hlastan Ribič C)	290
Nikelj kot pomemben element v sledovih? (Košak U, Obreza A)	297
Pluripotentne matične celice v embrionalnem razvoju in pri odraslem (Jež M, Veber M, Rozman P)	305
Rožmarinska kislina (Sova M)	312

Strokovni prispevki k simpoziju

Strokovna vloga farmacevtov pri izdaji zdravil na obnovljive recepte (Pislak M, Potočnik Benčič D, Markez S)	249
Psihološki vidik pri obravnavi kroničnega pacienta (Mejaš N)	253
Farmacevt zdravniku – predstavitev projekta Gorenjskih lekarn (Koder B, Pisk N, Rakovec R)	255

Novice iz sveta farmacije

64, 259, 317

Novi doktorji znanosti v letu 2011

185

Iz društvenega življenja

198, 198, 319

In memoriam

321

Farmaceutski vestnik

Vol 63, 2012 - Content

Review and original scientific articles

Pathophysiological aspects of pain (Toni J)	3
Analgesic drugs (Kerec Kos M)	6
Acute postoperative pain management (Faganeli N)	10
Bolečina pri pediatričnih bolnikih (Haider D)	14
Analgesia in pregnancy during labour and breast feeding (Močnik Rožnik S)	15
Treatment algorithms in chronic pain and mechanism of interactions with analgesics (Premuš Marušič A)	21
Dose adjustment of analgesics in kidney or liver impairment (Petre M)	28
Side effects of analgesics and titration of pain management (Jošt M)	33
Does depression hurts? (Strbad E)	38
Pain management in rheumatoid arthritis (Kolarič B)	40
Pain treatment in the palliative patient (Sonc M)	44
Analgesic solutions for the treatment of the palliative patient (Eberl A)	51
Integrated approach in the search of novel natural products as lead compounds using experimental and computer-based approaches (Mukič J, Perdih A, Šolmajer T)	54
Implication of nanotechnology on development of medicines (Kristl J)	67
Novelties in the field of pharmaceutical nanotechnology (Kocbek P)	75
Nanomedicines (Cegnar M, Kerč J)	82
The benefits and potential risks of the use of nanotechnology in food industry (Filipič M)	88
Laryngeal diseases and diagnosis (Hočevar Boltežar I)	92
Middle ear infection and complications (Gros A)	96
Selected synthetic drugs for the treatment of rhinitis, sinusitis, ear and throat inflammation (Anderluh M)	100
Selected herbal medicinal products in otolaryngology (Kreft S)	109
Novel vaccines against otitis media (Štrukelj B)	112

Uptake parameters of pneumococcal conjugate vaccines into the Slovenian health care system (Janžič A, Locatelli I, Devetak A, Kos M)	116
Community pharmacist and diseases of ear, nose and throat (Cvirn Novak M, Čater N, Urbanc M, Vovk T)	122
Medication reconciliation at patients transition across the healthcare interfaces (Jančar P, Knez L, Mrhar A)	133
Medication reconciliation in Community pharmacy Maribor (Pavšar H)	137
Medication reconciliation in nursing home (Bončina K)	140
Irritative contact dermatitis: from mechanisms of irritation to irritants' assessment (Gosenca M, Gašperlin M)	145
Oxidative stress and pregnancy (Rejc B, Osredkar J, Geršak K)	153
Monitoring of adverse drug reactions (Schmidt J, Šmid A, Mlinarič-Raščan A)	162
An overview of important 5α-reductase type 1 and 2 inhibitors (Beranič N, Lanišnik Rižner T, Gobec S)	168
Biological effects of cinnamic acid derivatives (Sova M)	178
Epidemiology and guidelines for the management of chronic diseases (Petek Šter M)	205
From controlled clinical trials to evidence-based pharmacotherapy (Grabnar I)	211
Recommendations for the quality assurance of food supplements (Pravst I, Blaznik U, Krbavčič A, Kreft S, Kušar A, Mičović E, Razinger B, Recek M, Repe J, Rogelj I, Stibilj V)	216
Systematic review of studies evaluating benefits of clinical pharmacy and pharmaceutical care services (Kos M, Bečan D)	225
The evaluation of the potential and clinically important interactions in patients with cardiovascular diseases and guidelines for the community pharmacist intervention (Madjar B, Pisk N)	232

Naming of drugs and impact thereof on day-to-day pharmaceutical practice (Antončič M)	242	Pluripotent stem cells during embryo development and in the adult (Jež M, Veber M, Rozman P)	305
Up-to-date insight on the development of osteoporosis (Mencej Bedrač S, Ostanek B, Mlakar V, Zupan J, Kocjan T, Preželj J, Marc J)	269	Rosmarinic acid (Sova M)	312
Treatment of osteoporosis now and in the future (Mencej Bedrač S, Zupan J, Kocjan T, Mlakar V, Preželj J, Marc J, Ostanek B)	279	<i>Professional articles from the symposium</i>	
Critical nutrients in bone health (Pravst I, Hlastan Ribič C)	290	The professional role of pharmacists in repeat dispensing system (Pislak M, Potočnik Benčič D, Markež S)	249
Nickel as important trace element? (Košak U, Obreza A)	297	The psychological aspect in the treatment of chronic patient (Mejaš N)	253
		Pharmacist to a doctor - presentation of the Gorenjske lekarnе project (Koder B, Pisk N, Rakovec R)	255

Farmaceutski vestnik Index avtorjev - Index of authors

Anderluh M	100	Jukič M	54	Petek Šter M	205
Antončič M	242	Kerč J	82	Petre M	28
Balkovec M	319	Kerec Kos M	6	Pisk N	232, 255
Bečan D	225	Knez L	133	Pislak M	249
Beranič N	168	Kocbek P	75	Potočnik Benčič D	249
Blaznik U	216	Kocjan T	269, 279	Pravst I	216, 290
Bončina K	140	Koder B	255	Premuš Marušič A	21
Cegnar M	82	Kolarič B	40	Preželj J	269, 279
Cvirn Novak M	122	Kos M	116, 225	Rakovec R	255
Čater N	122	Košak U	297	Razinger B	216
Devetak A	116	Krbavčič A	216	Recek M	216
Eberl A	51	Kreft S	109, 216	Rejc B	153
Faganelli N	10, 259	Kristl J	67	Repe J	216
Filipič M	88	Kušar A	216	Rogelj I	216
Gašperlin M	145	Lanišnik Rižner T	168	Rozman P	305
Geršak K	153	Locatelli I	116	Schmidt J	162
Gobec S	168	Madjar B	232	Sonc M	44
Gosenca M	145	Marc J	269, 279	Sova M	178, 312
Grabnar I	211	Markež S	249	Stibilj V	216
Gros A	96	Mejaš N	253	Strbad E	38
Haider D	14	Mencej Bedrač S	269, 279	Šegula T	320
Hlastan Ribič C	290	Mičović E	216	Šmid A	162
Hočevnar Boltežar I	92	Mitrovič S	259	Šolmajer T	54
Hribar M	320	Mlakar V	269, 279	Štrukelj B	112, 317
Jančar P	133	Mlinarič-Raščan I	162	Tekavčič Gover T	64
Janžič A	116	Močnik Rožnik S	15	Toni J	3
Jež M	305	Mrhar A	133	Urbanc M	122
Jošt M	33	Obreza A	297	Veber M	305
		Osredkar J	153	Vovk T	122
		Ostanek B	269, 279	Zupan J	185, 269, 279
		Pavšar H	137		
		Perdih A	54		

Mycamine® izloči vse glavne vrste kandidate¹⁻⁵



Zdaj na voljo tudi v Sloveniji.

 **MYCAMINE®**
mikafungin

širokospektralni antimikotik^{2,3}

Ime zdravila: MYCAMINE 50 mg in 100 mg prašek za raztopino za infundiranje **Sestava zdravila:** Ena viala vsebuje 50 mg oz. 100 mg mikafungina (v obliki natrijeve soli). Po pripravi raztopine vsebuje 1 ml raztopine 10 mg oz. 20 mg mikafungina (v obliki natrijeve soli). Zdravilo vsebuje laktozo. **Farmacevtska oblika:** prašek za raztopino za infundiranje **Terapevtske indikacije:** Odrasli, mladostniki in otroci (vključno s novorojenčki): zdravljenje invazivne kandidoze, preprečevanje glivičnih okužb s Candido pri bolnikih, po alogenski presaditvi hematopoetskih matičnih celic, ali bolnikih, pri katerih je treba pričakovati nevtropenjo 10 dni ali več. Odrasli, mladostniki, stari 16 let ali več, in starejši: zdravljenje kandidoze požiralnika pri bolnikih, za katere je intravensko zdravljenje primerno. Zdravilo Mycamine naj se uporabi le, če uporaba drugih antimikotikov ni primerna. **Odmerjanje in način uporabe:** Invazivna kandidoza: 100 mg/dan (telesna masa > 40 kg), 2 mg/kg/dan (telesna masa ≤ 40 kg), zdravljenje okužbe z glivami Candida mora trajati najmanj 14 dni. Kandidoza požiralnika: 150 mg/dan (telesna masa > 40 kg), 3 mg/kg/dan (telesna masa ≤ 40 kg). Bolniki morajo zdravilo Mycamine prejemati še vsaj 1 teden po tem, ko so klinični znaki in simptomi že izginili. Okužbe z glivami Candida: 50 mg/dan (telesna masa > 40 kg), 1 mg/kg/dan (telesna masa ≤ 40 kg). Bolniki morajo zdravilo Mycamine prejemati še vsaj 1 teden po tem, ko je število nevtrofilcev v območju normalnih vrednosti. Po pripravi raztopine in redčenju je treba raztopino dati v obliki intravenske infuzije v približno eni uri. **Kontraindikacije:** Preobčutljivost za zdravilno učinkovino, druge etinokandine ali kate-

rokoli pomožno snov. **Posebna opozorila in previdnostni ukrepi:** Pri podganah, ki so zdravilo prejemale 3 mesece ali več, so opazili razvoj žarišč spremenjenih hepatocitov (FAH) in hepatocelčnih tumorjev. Pomembnosti te ugotovitve za terapevtsko uporabo pri bolnikih ni mogoče izključiti. Za zmanjšanje tveganja adaptivne regeneracije in morebiten posledičen nastanek jetrnih tumorjev na najmanjšo možno mero, je v primeru značilnega in trajnega povišanja ALT/AST priporočljiva predčasna prekinitivna terapija. Zdravljenje z mikafunginom mora biti osnovano na temeljiti oceni razmerja med tveganjem in koristjo, še posebej pri bolnikih s hudimi motnjami v delovanju jeter, ali kronično boleznijo jeter, za katero je bilo ugotovljeno, da predstavlja preneoplastično stanje, kot je napredovala jetrna fibroza, ciroza, virusni hepatitis, neonatalna jetna bolezen ali prirojeni encimski defekt, ali bolnikih deležnih sočasnega zdravljenja s hepatotoksičnimi in/ali genotoksičnimi zdravili. Otroci, stari eno leto ali manj, utegnejo biti bolj nagnjeni k poškodbam jeter. V času zdravljenja z mikafunginom se lahko pojavijo anafilaktične/anafilaktoidne reakcije, vključno s šokom. Poročali so o pojavu ekfoliativnih kožnih reakcij, kot npr. Stevens-Johnsonovega sindroma in toksične epidermalne nekrolize. V redkih primerih so poročali o pojavu hemolize. Mikafungin lahko povzroči težave z ledvicami, ledvično odpoved in nenormalne izvide ledvičnega delovanja. **Medsebojno delovanje z drugimi zdravili in druge oblike interakcij:** Mikafungin ima majhen potencial za interakcije z zdravili, ki se presnavljajo s pomočjo encimov CYP3A. Izpostavljenost itraconazolu, sirolimusu in nifedipiru je bila ob prisotnosti mikafun-

gina nekoliko povečana. Sočasno dajanje mikafungina in amfotericina B deoksikolata je dovoljeno le, ko koristi jasno odtehtajo tveganja, in ob natančnem spremljanju toksičnosti amfotericina B deoksikolata. Bolnike, ki prejemajo sirolimus, nifedipin ali itraconazol v kombinaciji z zdravilom Mycamine, je treba spremljati zaradi možnosti pojave toksičnosti sirolimusa, nifedipina ali itraconazola ter po potrebi zmanjšati njihove odmerke. **Neželeni učinki:** Pogosti neželeni učinki: levkopenija, nevtropenija, anemija, hipokalemija, hipomagnezija, hipokalciemija, glavobol, flebitis, navzea, bruhanje, driska, bolečine v trebuhu, povečane krvne vrednosti alkalne fosfataze, aspartat aminotransferaze, alanin-aminotransferaze, povečana koncentracija bilirubina v krvi (vključno s hiperbilirubinemijo), nenormalni testi jetrne funkcije, izpuščaji, pireksija, mrzlica. Nekateri učinki so pogostejši pri otrocih: trombocitopenija, tahikardija, hipotenzija, hiperbilirubinemija, hepatomegalija, akutna ledvična odpoved, povečana vrednost sečnine v krvi. Za ostale neželene učinke glejte SmPC. **Imetnik dovoljenja za promet:** Astellas Pharma Europe B.V., Elisabethhof 19, 2353 EW Leiderdorp, Nizozemska **Način in režim predpisovanja ter izdaje zdravila:** H Datum zadnje revizije besedila: 08/2011 **Literatura:** 1. Povzetek glavnih značilnosti zdravila Mycamine, avgust 2011. 2. Espinel-Ingroff A, Rev Iberom Micol 2003; 20: 121-136. 3. Tawara S, et al. Antimicrob Agent Chemother 2000; 44: 57-62. 4. Kuse ER, et al. Lancet 2007; 369: 1519-1527. 5. Pappas PG, et al. Clin Infect Dis 2007; 45: 883-893

Samo za strokovno javnost.



Pot do zdravja

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

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

01 470 98 00 | www.kemofarmacija.si

