

# Farmaceutski vestnik

STROKOVNO GLASILO SLOVENSKE FARMACIJE • PHARMACEUTICAL JOURNAL OF SLOVENIA

P o s e b n a š t e v i l k a • M A J 2 0 0 5 • L E T N I K 5 6

## Gostujoči odgovorni urednik

Aleš Mrhar

## Odgovorni urednik

Borut Štrukelj

## Častni glavni urednik

Aleš Krbavčič

## Glavna urednica

Adrijana Tivadar

## Uredniški odbor

Tajda Gala Miharija

Stanko Gobec

Katja Gombač Aver

Iztok Grabnar

Janja Marc

Franc Vrečer

## Izdajateljski svet

Boštjan Debeljak

Darja Frankič

Mirjana Gašperlin

Mojca Kerec

Mateja Malešič

Robert Pišek

Magda Zimic

Naslov uredništva / Adress of the Editorial Office:

Farmaceutski vestnik, Aškerčeva 7, SI-1000 Ljubljana,

telefon/phone: 386 1 476 95 00

Farmaceutski vestnik izdaja Slovensko farmacevtsko društvo,

Dunajska 184a, 1000 Ljubljana, Telefon (01) 569 26 01

Transakcijski račun pri Novi LB d.d. Ljubljana:

02010-0016686585.

Izhaja štirikrat letno.

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

Za tuje naročnike 100 US\$.

Avtor fotografije na naslovnici, Silvo Koder

Tiska: COLLEGIUM GRAPHICUM

Naklada: 2900 izvodov

Letnik 2005 sofinancira Ministrstvo za visoko šolstvo, znanost in tehnologijo.

Farmaceutski vestnik (Pharmaceutical Journal of

Slovenia) is published quarterly by the Slovenian

Pharmaceutical Society, Subscription rate in inland

15.000 SIT other countries US\$ 100.

Farmaceutski vestnik is regulary abstracted in:

BIOLOGICAL ABSTRACTS, CHEMICAL ABSTRACTS,

PHARMACEUTICAL ABSTRACTS, MEDICAL & AROMATIC

PLANTS ABSTRACTS AND INBASE / Excerpta Medica

## Beseda gostujočega urednika

Slovensko farmacevtsko društvo tudi v letu 2005, skupaj z jubilejno 30. skupščino SFD, organizira strokovni simpozij. Ta srečanja predstavljajo osrednjo manifestacijo slovenske farmacevtske stroke in znanosti, še posebej zato, ker izbrane teme zajemajo problematiko, ki je aktualna za vse segmente farmacevtske stroke. Po že ustaljenem vzorcu je tudi letos ena od sekcij namenjena sistemski temi, druga novostim v farmakoterapiji, tretja pa v obliki delavnice omogoča aktivno sodelovanje udeležencev simpozija pri obravnavi problemov, vezanih na farmakoterapevtsko temo.

Namen simpozija je dvojen. Po eni strani predstavlja eno najpomembnejših oblik strokovnega izpopolnjevanja farmacevtov, po drugi strani pa predstavlja forum, kjer farmacevti skupaj z drugimi strokovnjaki oblikujejo pristope, preko katerih naj bi se udeležili princip deljene odgovornosti na področju zdravljenja z zdravili. Gre za nadaljevanje aktivnosti na področju sistema upravljanja z zdravili in koncepta izbrane lekarne, ki naj bi po metodologiji programov farmacevtske skrbi zagotovile aktivnejšo vlogo farmacevta pri spremljanju izidov zdravljenja pri posameznem bolniku.

Strokovni odbor se je letos odločil, da v okviru sistemske teme obravnava problematiko informacijskih centrov o zdravilih, farmakoterapevtsko temo predstavlja zdravljenje starostnikov, v okviru učne delavnice pa bo predstavljen pristop k prepoznavanju klinično pomembnih interakcij zdravil za starostnike skupaj z demonstracijo uporabe računalniško podprte informatike.

Sistemska tema »Farmaceutski informacijski centri« bo predstavljena iz različnih vidikov. Najprej bo mag. Boštjan Debeljak opisal organizacijo in dosedanje delo v letu 2004 ustanovljenega Farmaceutskega informacijskega centra pri SFD. V nadaljevanju bo dekan Fakultete za farmacijo prof. dr. Borut Štrukelj izpostavil pomen informacijske in komunikacijske tehnologije za izobraževanje in raziskovanje v farmacevtskih stroki, upoštevajoč interese vseh potencialnih uporabnikov storitev informacijskega centra o zdravilih. Izkušnje na tem področju, predvsem v smislu organizacije, virov in standardov nam bo predstavila mag. Alexandra Topol iz Velike Britanije, kjer v okviru United Kingdom Medicines Information service deluje 16 regionalnih in 250 lokalnih centrov. Le-ti so se v praksi izkazali kot samostojne, nepristranske in od kapitala neodvisne strokovne inštitucije, ki so sposobne iskanja, analiziranja in interpretacije znanstveno-raziskovalnih in strokovnih informacij s področja biomedicine, s poudarkom na tistih, ki se nanašajo na zdravila in njihovo uporabo. V panelni razpravi pričakujemo aktivno udeležbo predstavnikov javnih in bolnišničnih lekarn, farmacevtske industrije ter Agencije za zdravila in medicinske pripomočke, ki bodo predstavili poglede svojih sredin na vlogo in pomen informacijskih centrov v slovenskem zdravstvenem sistemu.

Odločitev za farmakoterapevtsko temo »Zdravljenje starostnikov« ni bila težka. Nasprotno, demografski trendi, ki govorijo o podaljšanju življenjske dobe in zmanjšanju rodnosti ter posledično signifikantnem povečevanju deleža starostnikov, nas opozarjajo, da moramo že sedaj začeti razvijati aktivnosti (npr. internistično geriatrijo kot zdravniško specializacijo in npr. geriatrično farmacijo kot farmacevtsko specializacijo), da bomo zmogli pripraviti nacionalne smernice za obravnavo starostnikov iz zdravstvenega, sociološkega, etičnega in ekonomskega vidika. Temo bo odprl prof. Zoran Grubič s predstavitvijo patofiziologije staranja, prof. Mišo Sabovič pa bo nadaljeval s predstavitvijo celovitega geriatričnega pregleda, ki ga sestavlja devet geriatričnih problemskih področij, med njimi na drugem mestu zdravila. Doc. Irena Mlinarič Raščan in prof. Danijel Kikelj bosta predstavila genska zdravila in antitrombotična zdravila pri starostnikih, dr. Matjaž Jeras pa principe transplantacije organov pri starostnikih. Program bo zaokrožen s predavanjima o odmerjanju zdravil pri starostnikih in interakcijah med zdravili za starostnike, ki sta jih pripravila doc. Vita Dolžan in dr. Iztok Grabnar ter mag. farm. Mihaela Tršinar in dr. Tomaž Vovk. V panelni diskusiji bomo s pomočjo vabljenih udeležencev predstavili širše vidike staranja, tako sociološke in etične kot tudi farmakoepidemiološke in farmakoekonomske.

Učna delavnica »Prepoznavanje klinično pomembnih interakcij zdravil za starostnike in demonstracija uporabe računalniško podprte informatike«, ki jo bo s sodelavci moderiral dr. Aleš Mlinarič, bo skušala preko aktivnega sodelovanja udeležencev simpozija opozoriti na možnosti sodelovanja farmacevtov pri zdravljenju starostnikov in na ta način postaviti gradnike programa farmacevtske skrbi za starostnike. Le na ta način bodo lahko bolniki prepoznali farmacevte kot zdravstvene delavce, ki izvajajo enega od postopkov zdravljenja.

Člani Strokovno-organizacijskega odbora verjamejo, da smo pripravili zanimive vsebine letošnjega simpozija, zato pričakujemo, da bodo v tej številki Farmaceutskega vestnika objavljeni pisni izdelki predstavljali dobro osnovo za pridobivanje novih podatkov, za oblikovanje novih informacij in za kreiranje novih znanj.

Predsednik Strokovno-organizacijskega odbora  
Aleš Mrhar

# Vsebina

Aleš Mrhar

Beseda gostujočega urednika

## *Strokovni članki – Professional Articles*

**Boštjan Debeljak**

Organizacija in delo farmacevtskega informacijskega centra pri SFD

**47**

**Borut Štrukelj**

Strokovna informatika v lekarniški farmaciji: izobraževalni in raziskovalni vidiki

**52**

**Alexandra Topol**

An introduction to UKMi (United Kingdom Medicines Information service)

**55**

**Zoran Grubič**

Patofiziologija staranja  
Pathophysiology of aging

**60**

**Mišo Šabovič**

Bolezni starostnikov  
Diseases in elderly

**68**

**Irena Mlinarič Raščan**

Genska zdravila  
Gene-based medicines

**72**

**Matjaž Jeras**

Transplantacija pri starostnikih  
Transplantation in elderly

**76**

**Danijel Kikelj**

Antitrombotična zdravila pri starostnikih  
Antithrombotic drugs in the elderly

**79**

**Vita Dolžan, Iztok Grabnar**

Odmerjanje zdravil glede na genetski polimorfizem  
Genetic polymorphism and drug dosing in elderly patients

**84**

**Tomaž Vovk, Mihaela Tršinar**

Interakcije med zdravili za starostnike – teoretični in praktični vidiki  
Drug interactions in elderly – theoretical and practical view

**90**

# Organizacija in delo farmacevtskega informacijskega centra pri SFD

Boštjan Debeljak

## Uvod

Hiter razvoj farmacevtskih, medicinskih in tudi drugih znanj zahteva od farmacevtov stalno spremljanje in sledenje razvoja vsaj njihovih ožjih strokovnih področij. Med slovenskimi farmacevti prevladujejo lekarniški farmacevti – farmacevti receptarji. Stalni razvoj novih zdravil, vse obsežnejši podatki o njih, njihovem delovanju, škodljivih stranskih učinkih, njihovem medsebojnem delovanju in drugo predstavlja področje, ki ga je zelo težko poglobljeno spremljati. Po drugi strani pa se z razvojem medijev (medmrežje) in dostopnostjo podatkov večajo zahteve do farmacevtov in njihova odgovornost ob strokovnem tolmačenju in interpretiranju podatkov zdravnikom, laikom osebno in tudi v medijih. Člani Slovenskega farmacevtskega društva smo tako pripravili predlog po organizaciji servisa/centra, ki bi farmacevtom lahko pomagal, oziroma posredoval določene strokovne informacije. Potreba po organizaciji centra je bila potrjena tudi s poizvedovanjem v obliki ankete in na svoji redni skupščini smo člani SFD maja 2004 sprejeli sklep, da v okviru društva organiziramo informacijski center. Objavljen je bil razpis članom za vodenje informacijskega centra in po izboru je bil projekt delovanja centra predstavljen na srečanju v Portorožu v začetku oktobra 2004 (1).

## Načrtovanje delovanja centra

Farmacevti se strokovno uveljavljamo na zelo različnih področjih:

- v prometu z zdravili in medicinskimi pripomočki na debelo in drobno,
- v izdelavi/oblikovanju in preizkušanja zdravil,
- v raziskovalnih dejavnostih (vezano na zdravila in širše),
- v srednješolskem, visokošolskem in podiplomskem izobraževanju,
- na področju laboratorijske klinične biokemije,
- v državni upravi in drugih organih ter strokovnih ustanovah.

Naše znanje, usposobljenost in strokovna informiranost so pogoj za uspešno delo.

Posamezna področja, na katerih delujemo, imajo zgrajeno svojo strokovno podporo, nekatera izredno močno (proizvajalci zdravil, pedagoško-raziskovalne ustanove, kot najpomembnejša Fakulteta za farmacijo).

Tudi nekatere lekarne oziroma javni lekarniški zavodi imajo organizirane službe, ki tako interno (kolegom v lekarni), kot tudi pacientom posredujejo nekatere strokovne informacije.

Iz odgovorov v anketi, ki jo je SFD izvedlo, pa je bilo razvidno, da bi v delovnem okolju, v katerem se farmacevti profesionalno udeležujejo, potrebovali dodatne strokovne usluge. To še posebej velja za lekarniške farmacevte.

Vsakodnevne obveznosti farmacevtom pogosto ne dopuščajo, da bi na določen problem, ki se ob delu, bodisi v lekarni ali na drugih področjih v farmaciji pojavi, lahko hitro poiskali ustrezen odgovor, oziroma ga poizkušali rešiti. Običajno reševanje prestavijo na poznejši čas, ali pa zaradi takojšnjega iskanja odgovora prekinejo redne dnevne obveznosti, kar pa pogosto ni možno, posebno pri delu posameznika ali majhnih delovnih skupin.

Mnogi farmacevti, zlasti lekarniški, pogrešajo tudi pomoč pri pripravi oziroma oskrbo z informativnimi materiali, ki bi bili namenjeni predvsem obiskovalcem njihovih lekarn. Izobraževanje laikov s področja uporabe zdravil in ohranjanja zdravja promovira farmacevtovo delo in krepi zaupanje javnosti do poklica.

Ustanovitev in delovanje centra je tako smiselno, saj bo s posredovanjem strokovnih podatkov, predvsem zahtevnejših, oziroma podatkov o virih, v katerih so podatki dosegljivi, olajšal delo kolegov in jim prihranil čas pri iskanju zanesljivih informacij.

V začetku bodo aktivnosti centra usmerjene predvsem v posredovanje informacij v zvezi z:

- varno in pravilno uporabe zdravil, zlasti kombinacij zdravil pri polipragmatskem zdravljenju,
- iskanjem in pripravi odgovorov na zahtevnejša (kompleksnejša) vprašanja obiskovalcev lekarn,
- podatki o zdravilih, ki niso v prometu v naši državi ali so v prometu kot nujna zdravila za uporabo v humani medicini (6),
- podatki o zdravilnih učinkovinah, njihovem delovanju in uporabi,
- pripravo informativnih gradiv, namenjenih obiskovalcem lekarn,
- podatki o učinkovinah in snoveh, ki jih uporabljajo v prehranskih dopolnilih,

- pripravo izjav in komentarjev za medije, skladno z aktualnimi dogodki v stroki,
- pomočjo pri iskanju strokovnih oseb, na katere bi se lahko obrnili s specifičnim vprašanjem oziroma problemom.

Odgovorov zaenkrat praviloma ne bomo pripravljali v obsežni pisni obliki, temveč v obliki kratkega povzetka .

V začetni fazi delovanja v centru pogodbeno deluje en farmacevt, ki je dosegljiv preko elektronskega naslova. Uporaba elektronskega naslova je smiselna zaradi:

- omejene dosegljivosti farmacevta v centru,
- zanesljivosti prenosa posredovanih vprašanj in odgovorov,
- dokumentiranja kontaktov in posredovanih odgovorov,
- možnosti nadzora – spremljanja dela informativnega centra s strani Slovenskega farmacevtskega društva.

Namen centra ni prevzemati vloge farmacevtov pri posredovanju odgovorov posameznikom (strokovnjakom ali laikom) ali širši skupnosti, temveč pomoč kolegom pri iskanju podatkov in informacij, pri interpretacijah ter pri pripravi odgovorov. Informatijski center ne more prevzemati odgovornosti, ki jo ima farmacevt pri svojem delu. Pri posredovanih odgovorih bodo navedeni uporabljeni strokovni viri, katere bo pripravljalec odgovora lahko uporabil. Končna izbira uporabljenih virov podatkov in oblika posredovanih informacij bo tako ostala odločitev farmacevta, ki je iskal pomoč farmacevtskega informacijskega centra.

V začetku bodo usluge centra lahko koristili vsi člani SFD, dolgoročno pa načrtujemo, da bomo storitve lahko ponudili tudi zdravnikom in bolnikom.

### Uporabljeni viri strokovnih podatkov

Področje zdravil je v naši državi z zakoni in izvršilnimi predpisi celovito pokrito (2). Po drugi strani pa je seznam obveznih strokovnih virov za opravljanje lekarniške dejavnosti relativno skromen (3). Ob upoštevanju, da se veljavni Register zdravil Republike Slovenije (4) navezuje na nacionalno bazo podatkov o zdravilih na medmrežju (5) imamo farmacevti na voljo dokaj obsežno podatkovno zbirko o zdravilih (povzetki glavnih značilnosti zdravila, navodila uporabniku, pomožne snovi ...), ki imajo dovoljenje za promet v naši državi. Pri ugotavljanju in preverjanju možnih medsebojnih delovanj zdravil pa je uporaba navedenih virov zaenkrat zamudna in nepregledna ter zahteva daljše časovno angažiranje in pozorno obdelavo podatkov. Bolj smiselna je zato uporaba obstoječih tujih baz podatkov o zdravilih, ki so prirejene za posredovanje podatkov o možnih medsebojnih delovanjih zdravil.

Na področju zdravil je praktično nujno, da si pomagamo tudi s tujimi strokovnimi viri. Ob odločitvi za pričetek delovanja farmacevtskega informacijskega centra v okviru SFD smo se odločili za nabavo določene tuje strokovne literature o zdravilih, njihovem delovanju, odmerjanju, neželenih škodljivih učinkih, medsebojnem delovanju, toksikologiji, njihovi klinični uporabi, svetovanju ob izdajanju, pa tudi o učinkovinah rastlinskega izvora in področju homeopatije.

Preglednica 1 prikazuje seznam nabavljene strokovne literature s podatki o založniku in letu izdaje.

Zavedamo pa se, da uporaba navedenih literaturnih virov ni zadosten vir strokovnih podatkov. Uporaba medmrežja in preko njega dosegljivih baz in virov podatkov je v današnjem času samoumevna nujnost. Pri tem pa nameravamo ob možni uporabi množice podatkov, ki jih medmrežje nudi, upoštevati zahtevo po uporabi zanesljivih in preverljivih strokovnih virov, v prvi vrsti mednarodnih ali nacionalnih ustanov, ki pokrivajo področje zdravil. Preglednica 2 prikazuje seznam nekaterih podatkovnih zbirk in virov, dosegljivih na medmrežju. Uporaba nekaterih od teh virov je vezana tudi na osebno prijavo v dokazilom profesionalne usposobljenosti (doccheck) oziroma na plačilo (epocrates).

### Perspektive

Zahteve po obvladovanju strokovnih podatkov v zdravstvu, zlasti v zvezi z zdravili in njihovo uporabo bodo v prihodnosti zagotovo še naraščale.

Center bo deloval na nacionalni ravni in si prizadeval za tesno sodelovanje s Fakulteto za farmacijo, Agencijo za zdravila in medicinske pripomočke, Lekarniško zbornico Slovenije, Zavodom za farmacijo in preizkušanje zdravila ter drugimi farmacevtskimi ustanovami državi. Skupaj z njimi lahko FIC prevzame osrednjo vlogo v državi pri posredovanju strokovnih informacij o zdravilih.

FIC lahko olajša strokovno delo farmacevtov, v okviru katerega so dolžni vzpodbujati bolnike k varni, učinkoviti in kakovostni uporabi zdravil. Pri tem je ključnega pomena preverjanje predpisanih kombinacij zdravil in opozarjanje na morebitno povečano tveganje ob sočasni uporabi ali celo nezdržljivosti predpisanih kombinacij zdravil. Posebej pri izrazitih primerih polipragmatskega zdravljenja.

Leto dni je naša država že članica Evropske skupnosti in z vstopom vanjo je privzela tudi zahtevo, da študenti farmacije svojega šolanja ne zaključijo le s pridobljeno izobrazbo, temveč tudi s pridobljenim poklicem lekarniškega farmacevta. To pa za vse študente pomeni obvezno polletno usposabljanje v lekarni. FIC lahko sodeluje pri usposabljanju študentov na tej stopnji izobraževanja, zlasti pri iskanju in pridobivanju zahtevnejših strokovnih podatkov o zdravilih.

Argumentirano pojavljanje v medijih je nujno, če želimo farmacevti promovirati pomembnost in odgovornost svojega poklica. S strokovno podporo FIC-a se bo stroka lahko laže in hitreje odzivala na medijske izzive, tudi ko gre za neustrezno promoviranje zdravil, ki močno zavaja laično javnost.

FIC lahko pripravi kvalitetna informativna gradiva za laično javnost, skladno s smernicami, ki jih sprejema stroka na nacionalni ravni.

Glede na potrebe in odzive kolegov uporabnikov puščamo odprte možnosti tudi za nudenje drugih uslug in razvijanje ter širitev aktivnosti farmacevtskega informacijskega centra.

### Zaključek

Sklep lanske skupščine Slovenskega farmacevtskega društva po organiziranju informacijskega centra se uresničuje, saj je center

opremljen z osnovnimi viri informacij in opremo za komuniciranje ter je praktično že pričel s svojim delovanjem.

Razvili bi ga radi v koristno orodje, da bi lahko nudil strokovne informacije strokovni in laični javnosti. Posredovanje kakovostnih podatkov pa lahko prispeva h kakovosti dela farmacevtov in promociji njihovega poklicnega udejstvovanja.

## Literatura:

1. Farm.vestn 2004;55: 234.

2. Formularium Slovenicum s 6. dopolnilom (2004). Seznam veljavnih zakonov in izvršilnih predpisov o zdravilih in medicinskih pripomočkih za uporabo v humani medicini.

3. Pravilnik o pogojih za opravljanje lekarniške dejavnosti. Ur. l. RS; 37/92: Priloga I, Seznam strokovne literature za lekarno.

4. Register zdravil Republike Slovenije. 8. izdaja. Ministrstvo za zdravje, Urad republike Slovenije za zdravila in Inštitut za varovanje zdravja Republike Slovenije. Ljubljana, oktober 2003.

5. <http://www.zdravila.net>

6. Seznam nujnih zdravil za uporabo v humani medicini. Ur. l. RS; 16/2004.

### Preglednica 1. Seznam nabavljene strokovne literature, SFD - FIC

naslov knjige	izdaja	založba	kraj, leto izida
MARTINDALE The Complete Drug Reference + CD	34. izdaja.	Pharmaceutical Press	London, 2004
Drug Information for the Health Care Professional, Vol.I, USP	24. izdaja	Thomson-Micromedex; revizija US Pharmacopeial Convention Inc.	Rockville, 2003
Advice for the Patient, Vol. II, USP	24. izdaja	Thomson-Micromedex; revizija US Pharmacopeial Convention Inc.	Rockville, 2003
INDEX NOMINUM, International Drug Directory	18. izdaja	Swiss Pharmaceutical Society in Medpharm	Stuttgart, 2004
Pädiatrische Dosistabellen. Mittlere Gebrauchsdosen kindärztlich verwendeter Arzneimittel	13. izdaja	WissenschaftlicheVerlagsgesellschaft mbH	Stuttgart, 2003
Pediatric Dosage Handbook with International Index	11. izdaja	Lexi-Comp in American Pharmacists Association (APhA)	Hudson, 2004
Geriatric Dosage Handbook	9. izdaja	Lexi-Comp in American Pharmacists Association (APhA)	Hudson, 2003
Goodman and Gilman's: The Pharmacological Basis of Therapeutics	10. izdaja	McGraw-Hill in Medical Publishingg Division	2001
H.P.T.Ammon, Arzneimittelneben- und -wechselwirkungen	4. izdaja	Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH	Stuttgart, 2001
Pharmakologie und Toxikologie. Arzneimittelwirkungen verstehen - Medikamente gezielt einsetzen	15. predelana izdaja	Georg Thieme Verlag	Stuttgart, 2003
Drug Interactions Handbook - The New Standard for Drug and Herbal Interactions	2. izdaja.	Lexi-Comp	Hudson, 2004
Applied Therapeutics, The Clinical Use of Drugs	8. izdaja	Lippincott Williams & Wilkins	Baltimore, 2005

## Strokovni članki - Professional Articles

Drugs in Use	3. izdaja	Pharmaceutical Press	London, 2004
Pharmakotherapie in Fallstudien, Lernen an Patientenbeispielen		Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH	Stuttgart, 2002
Akute Vergiftungen. Ratgeber zu Erkennung, Verlauf, Behandlung und Verhütung toxikologischer Notfälle	9. izdaja	Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH	Stuttgart, 1999
Arzneimittel-information und -beratung in der Apotheke. Arzneistoffporträts und Abgabehinweise zu häufig eingesetzten Arzneimitteln	s 3. dopolnilom (2004)	Deutscher Apotheker Verlag	Stuttgart, 2001
Selbstbehandlung. Beratung in der Apotheke	s 6. dopolnilom (2003)	Govi Verlag, izdajatelj / Bundes-apothekerkammer - Zentrum für Arzneimittel-information und Pharmazeutische Praxis	Frankfurt am Main/Eschborn 1994
Tabellen für die pharmazeutische Praxis. Band I - III	2. predelana izdaja s 5. dopolnilom (1998)	Govi Verlag Pharmazeutischer Verlag mbH	Frankfurt am Main, 1982
Rezepturen. Probleme erkennen, lösen, vermeiden		Deutscher Apotheker Verlag	Stuttgart, 2002
Compliance in der Arzneitherapie. Von der Non-Compliance zu pharmazeutischer und medizinischer Kooperation		Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH	Stuttgart, 1999
Selbstinspektion in Apotheken, Fragebogen zur Eigenrevision	3. predelana izdaja	Govi Velag Pharmazeutischer Verlag mbH	Eschborn, 2004
The MERCK INDEX, An Encyclopedia of Chemicals, Drugs and Biologicals	13. izdaja	Merck & Co., Inc.	Whitehouse Station, NJ, 2001
Herbal Medicines	2. izdaja	Pharmaceutical Press	London, 2002
Herbal Drugs and Phytopharmaceuticals	3. izdaja	Medpharm GmbH Scientific Publishers	Stuttgart, 2004
Synonym-Verzeichnis	5. izdaja	Deutscher Apotheker Verlag	Stuttgart, 2003
German Homeopatic Pharmacopoeia 2003 (GHP)		Deutscher Apotheker Verlag	Stuttgart, 2003

### Preglednica 2. Podatkovne zbirke, nekateri medmrežni strokovni viri

Medmrežni naslov	Vir / ustanova
<a href="http://www.zdravila.net">http://www.zdravila.net</a>	Agencija RS za zdravila/MZRS
<a href="http://www.fs.zaf.si">http://www.fs.zaf.si</a>	Zavod za farmacijo in za preizkušanje zdravil/ MZRS
<a href="http://www.uradni-list.si">http://www.uradni-list.si</a>	Uradni list RS
<a href="http://www.eudra.org">http://www.eudra.org</a>	EUDRA = European Drug Regulatory Authorities
<a href="http://www.emea.eu.int">http://www.emea.eu.int</a>	EMA = Evropska agencija za zdravila
<a href="http://www.fda.gov">http://www.fda.gov</a>	FDA = Agencija za prehrano in zdravila (ZDA)
<a href="http://www.epocrates.com">http://www.epocrates.com</a>	
<a href="http://www.drugs.com">http://www.drugs.com</a>	
<a href="http://www.micromedex.com">http://www.micromedex.com</a>	Thomson Micromedex
<a href="http://www.codexalimentarius.net">http://www.codexalimentarius.net</a>	WHO = Svetovna zdravstvena organizacija; FAO/WHO
<a href="http://www2.doccheck.com">http://www2.doccheck.com</a>	nemški strokovni servis za farmacevte in zdravnike

# Strokovna informatika v lekarniški farmaciji: izobraževalni in raziskovalni vidiki

## Angleški naslov

Borut Štrukelj s soavtorji: Mitja Kos, Andreja Čufar, Vojko Kmetec, Aleš Mrhar

### 1 Uvod

Razvoj farmacevtske stroke in znanosti je bil stoletja odvisen od sočasnega razvoja dokumentiranja izkustvenih dognanj, ki so od samega začetka dalje povezovale farmacevta kot ključnega nosilca pri razvoju zdravila, zdravnika kot diagnostika in zdravitelja ter pacienta. Z razvojem sodobnih načinov zapisa in prenosa informacij je dostopnost do poznavanja strokovne izdelave ter učinkovite, ekonomične in varne uporabe zdravil in medicinskih pripomočkov omogočena širšemu krogu strokovnjakov, pacientov in laikov.

Fakulteta za farmacijo je kot osrednja pedagoško-znanstvena visokošolska ustanova že od samega začetka v sistem izobraževanja in znanstvenega delovanja vključevala sistem globalnih podatkovnih baz in v kar največji meri izkoriščala dostop do primarnih in sekundarnih literarnih virov in informacije prenašala v prakso, na širše področje zdravstvenih dejavnosti. Največji sinergizem v izmenjavi znanja in informacij se je v preteklosti razvil na področju lekarniške farmacije, kar predstavlja tudi osnovo za ustanovitev sodobnega, širši strokovni in laični javnosti namenjenega informacijskega centra za zdravila (ICZ).

### 2 Pregled nastanka informacijskih centrov za zdravila (ICZ) v svetu in doma

Prvi informacijski centri za zdravila so se pojavili že v devetnajstem stoletju. Tako je dr. John Shaw Billings, kirurg v ameriški državljanski vojni, že leta 1864 ustanovil splošno kirurško knjižnico, ki je bila prvenstveno odgovorna za informacije o takratnih zdravilih in načinih zdravljenja ran, pridobljenih v bitkah. Center se je razvijal dobro desetletje in se 1876 preimenoval v nacionalno medicinsko knjižnico. Leta 1879 so sodelavci knjižnice, ki so bili predvsem zdravniki in far-

macevti, izdali prvi Index Medicus, ki je predstavljal katalog zdravilnih učinkovin, gotovih zdravil, galenskih receptur in medicinskih pripomočkov. Vsak mesec so izdali dopolnitev, vsako leto pa novo, prenovljeno izdajo. Že leta 1890 je Herman Hollerith pod vodstvom dr. Billingsa pripravil prve podatke o zdravilih s pomočjo perforiranega kartičnega sistema, ki je predstavljal predhodnike sodobnih računalniško podprtih baz podatkov. Kasneje je Hollerith ustanovil podjetje z imenom Tabulating Machine Company, ki se je do leta 1902 razvilo v mednarodno podjetje »International Business Machines (IBM)«

Število informacij o zdravilih, znanstvenih in strokovnih člankih je iz leta v leto skokovito naraščalo. Leta 1950 so v ZDA pričeli razvijati preproste računalniške programe z Booleanovimi operatorskimi povezovalci, ki so omogočili prvo selekcioniranje informacij na osnovi izbranega geslovnega profila. Prvi sodobni informacijski center za zdravila so odprli leta 1962 na Fakulteti za farmacijo Univerze v Kentuckyju, ki je postal modelni center za številne sodobne centre v ZDA in širše (1, 2). V letu 1973 je tako delovalo že 54 ICZ v ZDA, ki so jih za medicinske delavce, paciente in laično javnost vodili visoko izobraženi farmacevti. Vzporedno se je razvijala znanstveno strokovna banka podatkov o zdravilnih učinkovinah in znanstvenih publikacijah s širšega področja zdravstva Medlars on-line, ki so jo kasneje poimenovali MEDLINE in še vedno predstavlja temelj osnovne znanstvene podatkovne baze. V letu 1988 se je osnovnim farmacevtsko medicinskim bazam podatkov pridružila še biotehnoška baza NCBI, ki je skupaj z Medline bazo od leta 1997 z dekretom Ameriškega kongresa postala brezplačno dostopna širši javnosti (3). Trenutno deluje v razvitem svetu, kakor tudi v deželah v razvoju nekaj sto izjemno dobro organiziranih informacijskih centrov za zdravila (4). V Sloveniji je najbolj poznan in uporabljan vir baza podatkov o zdravilih pri Agenciji RS za zdravila in medicinske pripomočke.

prof. dr. Borut Štrukelj, mag. farm., Univerza v Ljubljani, Fakulteta za farmacijo, Aškerčeva 7, 1000 Ljubljana  
asist. dr. Mitja Kos, mag. farm., Univerza v Ljubljani, Fakulteta za farmacijo, Aškerčeva 7, 1000 Ljubljana  
mag. Andreja Čufar, mag. farm., Lekarniška zbornica Slovenije, Ulica stare pravde 11, 1000 Ljubljana  
prof. dr. Vojko Kmetec, mag. farm., Univerza v Ljubljani, Fakulteta za farmacijo, Aškerčeva 7, 1000 Ljubljana  
prof. dr. Aleš Mrhar, mag. farm., Univerza v Ljubljani, Fakulteta za farmacijo, Aškerčeva 7, 1000 Ljubljana

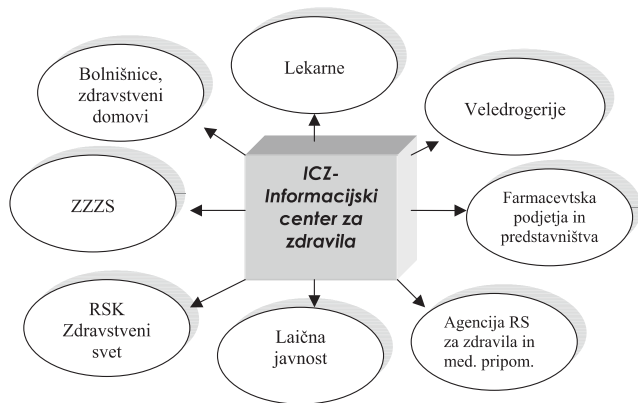
### 3 Vloga sodobne informatike v strokovni, izobraževalni in raziskovalni farmacevtski dejavnosti

Sodoben informacijski center mora biti zasnovan tako, da podpira varno, učinkovito in ekonomsko racionalno uporabo zdravil ter medicinskih pripomočkov s tem, da aktivno ali pasivno podaja na znanstvenih izsledkih temelječe, objektivne ter nepristranske informacije.

ICZ mora biti samostojna, nepristranska in od kapitala neodvisna strokovna institucija, ki je sposobna iskanja, analize in interpretacije znanstveno-raziskovalnih ter strokovnih informacij s področja biomedicine ter še posebno tista, ki se vežejo na zdravila ter njihovo uporabo.

Kljub centralni vlogi farmacevta pa ICZ ne sme biti omejen le z aktivnim in pasivnim krogom farmacevtov, temveč mora biti odprt za širši krog zdravstvenih in drugih delavcev. Termin »farmacevtski informacijski center« nakazuje, da je center namenjen izključno ali pretežno farmacevtom, oziroma da informacije pripravljajo in podajajo le farmacevti, kar je preozko in zato neobetajoče. Standardni termin, ki je že uveljavljen v anglosaških delih sveta, je »Drug Information Center-DIC«, kar lahko enačimo s slovenskim izrazom »informacijski center o zdravilih in medicinskih pripomočkih«.

Aktivnosti ICZ se v širši meri osredotočajo na strokovno javnost, prvenstveno na zdravnike in farmacevte, ne izključujoč ostale zdravstvene delavce. V delovanje in izkoriščanje informacij so vključene zdravstvene institucije kot so lekarne, bolnišnice, zdravstveni domovi, domovi upokojencev, farmacevtska podjetja in njihova predstavništva ter sistemske organizacije, ki so del zdravstvenega sistema oziroma gradijo zdravstveno politiko (Agencija RS za zdravila in medicinske pripomočke, ZZS, Zdravstveni svet, Razširjeni strokovni kolegiji), v sistem pa se redno vključuje tudi laična javnost, ki ji ICZ predstavlja svetovalno in izobraževalno osnovo (slika 1).



**Slika 1:** Osrednja vloga in namembnost ICZ v sistemu varne, učinkovite in ekonomsko racionalne uporabe zdravil ter medicinskih pripomočkov.

### 4 Vizija organiziranja in delovanja ICZ

Dejavnosti ICZ so usmerjene v:

a) **pripravo strokovno znanstvenih informacij glede na potrebo naročnika**

- pripravljane poročila o zdravilih glede na dejanske potrebe in povpraševanje naročnika. Pri tem se uporablja pisne in telefonske načine komuniciranja, kot tudi sodobne medije, npr. e-pošta, svetovni informacijski splet, tele- in videokonference, IP-mobilna povezava, itd. Pri pripravi informacij naj bi bil odločujoč standardiziran odgovor v najkrajšem možnem času (od 0-12 ur), kar je mogoče le z vrhunsko opremljenostjo in dostopom do svetovnih podatkovnih baz, dobro koordinacijo in vključevanjem širše mreže strokovnjakov.

b) **strokovno-analitično dejavnost**

- farmakoepidemiološke in farmakoeekonomske analize v prid javnega zdravja oziroma kot storitev naročniku
- strokovna podpora in koordinacija farmakoterapevtskih skupin
- gradnik nacionalnega farmakovigilančnega sistema

c) **publicistiko**

- spletni informacijski sistem, namenjen informiranju strokovne javnosti o novostih v farmakoterapiji, novih zdravilih, beleženju izkušenj, izmenjava mnenj
- podatkovna baza, namenjena spremljanju kliničnih študij v Sloveniji, njihovih izidov ter povezava s podatki iz kliničnih študij izven meja Slovenije
- spletni informacijski portal o zdravilih za laično javnost
- priprava knjižnih in drugih elektronskih gradiv glede na aktualne potrebe

d) **izobraževalno dejavnost**

- vključevanje strokovnjakov podiplomske in vseživljenske izobraževalne procese
- izobraževanje študentov farmacije (v novem programu je predvidena obvezna strokovna 6-mesečna praksa v lekarniški dejavnosti) ter študentov drugih, z zdravstvom ljudi in živali povezanih študijskih smeri

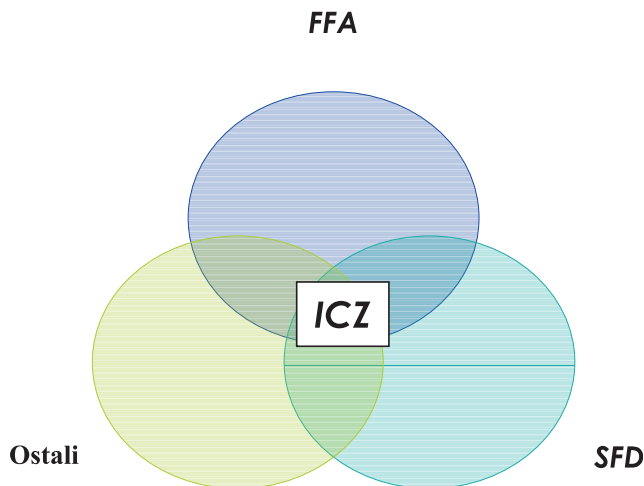
Pri tem mora biti ICZ omogočen dostop in uporaba najširših podatkovnih baz, spletnih strani, preglednih strokovnih publikacij, ki jih uvrščamo v terciarno literaturo, kakor tudi dostop do sekundarne literature (Medline, IPA, EMBASE, Curent Contents, PharmInfoNet, CDER, itd) in primarnih virov literature, kot so osnovni znanstveni, strokovni in klinični članki, povzetki iz simpozijev, informacije proizvajalcev, patenti in zaščitne blagovne znanke in vladne strokovne publikacije (5).

ICZ mora delovati v sodelovanju z znanstveno-izobraževalnimi institucijami. Tako bi slovenski ICZ lahko vključeval obstoječo in razširjeno infrastrukturo Fakultete za farmacijo, ob neposredni povezavi s Slovenskim farmacevtskim društvom in drugimi morebitnimi partnerji.



Glede na veliko vpetost Katedre za socialno farmacijo FFA v področju farmakoepidemiologije s farmakovigilanco, farmakoekonomike, raziskovanja storitev ter s tem povezanih terapevtskih izidov, je smiselno ICZ vključiti v del aplikativnih dejavnosti Katedre za socialno farmacijo FFA (slika 2).

4. Maywald U., Schindler C., Krappweis J., Kirch W. First patient-centered drug information service in Germany—a descriptive study. *Ann Pharmacother* 2004, 38, 2154-2159.
5. Zakon o zbirkah podatkov s področja zdravstvenega varstva (ZZPPZ), Uradni list RS 65/2000 z dne 21.7.2000



Slika 2: Institucionalna umestitev ICZ med partnerje: FFA- Fakulteta za farmacijo; SFD- Slovensko farmacevtsko društvo; Ostali: npr.: Agencija RS za zdravila in medicinske pripomočke, Lekarniška zbornica Slovenije

## 5 Sklepi

Informacijski centri za zdravila predstavljajo v razvitem svetu ogrodno osnovo pri svetovanju in upravljanju z zdravili in medicinskimi pripomočki. Sodoben informacijski center za zdravila, ki temelji na najširšem dostopu do strokovne in znanstvene literature in podatkovnih baz in je namenjen širši strokovni javnosti (farmacevtom, zdravnikom, veterinarjem, medicinskim sestram, ekonomistom, regulatornim organom, itd), kakor tudi laični javnosti, lahko dobro in nemoteno deluje le ob povezavi in v mrežnem sistemu snovalcev in uporabnikov informacijskih storitev. Izdelava in posredovanje informacije morata biti izvedeni hitro, kvalitetno in standardizirano, z vrhunsko usposobljenimi farmacevti in ostalimi strokovnimi zdravstvenimi, naravoslovnimi in družboslovnimi izvedenci, ob pomoči kar najširšega kroga zunanjih strokovnjakov.

## 6 Literatura

1. Chin DN, Chuaqui CE, Singh J. Integration of virtual screening into the drug discovery process. *Mini Rev Med Chem* 2004, 4, 1053-1065.
2. Smith KM. Insight into drug information center. University of Kentucky, College of Pharmacy, 2001.
3. Rosenberg JM, Koumis T., Nathan JP, Cicero LA, McGuire H. Current status of pharmacist-operated drug information centers in the United States. *Am J Health Syst Pharm* 2004, 61, 2023-2032.

# An introduction to UKMi

Alexandra Topol

## Background

UKMi is the United Kingdom Medicines Information service, an NHS pharmacy based service whose aim is to support the safe, effective and efficient use of medicines, by the provision of evidence-based information and advice on the therapeutic use of medicines.

The service has two broad functions:

- To support medicines management within NHS organisations – to take the lead in local development work, such as medicines evaluation, production of guidelines, and training
- To support the pharmaceutical care of individual patients – to provide information and advice for clinical problem solving

About 30 years ago enquiries about medicines and drug therapy were usually referred to the pharmacist, who would be able to supply an answer quickly and would only have to use basic pharmacopoeias and formularies.

Over the last 30 years drug therapy has become increasingly potent and is often associated with a higher incidence of adverse drug reactions. Formulations have also become more complex. In addition there has been an explosion in the amount of medical literature available; for example, there are now over 10,000 medical journals published.

The enquiries today tend to be more complex, more difficult to research and harder to answer. It is often not possible to find the answers by using the basic reference sources. As the number of products and the amount of literature has increased healthcare professionals have required information relating to medicines and drug therapy that is properly evaluated, independent and commercially unbiased.

The first medicines information (MI) services were set up in 1969 to help with clinical problem solving related to the use of medicines, and to develop best practice generally in medicines used. Two centres were established, in London and Leeds. Subsequently every major hospital pharmacy department in the country developed similar centres in response to local demand from secondary and tertiary care. The pharmacists who staff them combine substantial clinical expertise with additional specialist qualifications or experience in MI. Their particular skill is to link the provision of information with clinical interpretation.

## UKMi Organisation

There are now 16 regional and over 250 local centres based in hospitals and health authorities.

A "local" centre serves the medicines information needs of the healthcare professionals in the NHS hospital in which it is situated. These

centres are usually run by a senior medicines information pharmacist who may be aided by junior pharmacists and pharmacy technicians. The number of staff in each centre varies according to the needs of the hospital.

In excess of half a million enquiries a year are handled by local centres, with the answers to most being provided within half an hour. The majority of requests come from doctors and pharmacists within the NHS hospitals, though calls also come from nurses, physiotherapists, dieticians and healthcare professionals.

A "regional" centre serves the medicines information needs of the healthcare professionals within the region it covers, not including those based within NHS hospitals, who can use their own local MI centre. These include GPs, community pharmacists, practice/district nurses, dentists, opticians etc. For example, London Medicines Information centre provides a service for those healthcare professionals in all of North London and the surrounding counties of Hertfordshire and Essex, and parts of Bedfordshire. There is a second London MI centre, which provides medicines information to those in South London and the surrounding counties in the SE of England (Sussex, Kent and Suffolk). The regional centres are usually based in or near a hospital pharmacy department.

The entire MI service works together as a "virtual" national service, which is known as the UKMi network and produces:

- Specialist information and advisory services, such as drugs in pregnancy/breast feeding, drugs in dentistry etc
- Bulletins such as current awareness bulletins
- Horizon scanning for new medicines and new product reviews
- Development of quality assurance programmes
- Pharm-line
- Education and training, including the MI workbook and the computer aided learning programme MiCAL for newly qualified pharmacists

The UKMi Executive group consists of the directors of all the regional centres, who meet every two months to discuss current work issues and plan for the years ahead.

## Resources

UKMi produces a **minimum recommended resources list**, which has approximately 60 text books, 15 databases and 22 medical journals on it. The list is divided up into resources that should be held by every hospital pharmacy, local medicines information centres, regional MI

centres, one regional centre or specialist centres. There are national standards which require that each centre should hold 100% of the resources recommended for them. Table 1 shows some of the recommended resources and which MI centres should hold them.

The full list of the recommended resources can be found at:

[http://www.ukmi.nhs.uk/Policy product/Documents/Minimum Reco Reso List.pdf](http://www.ukmi.nhs.uk/Policy%20product/Documents/Minimum%20Reco%20Reso%20List.pdf)

**Table 1: Examples of recommended resources**

Reference	Category	Location
British National Formulary. BMA & RPSGB	Books: General	Every hospital pharmacy Local MI centres Regional MI centres
Martindale, the complete drug reference. Sweetman S.	Books: General	Every hospital pharmacy Local MI centres Regional MI centres
Herbal medicines. Barnes, J et al.	Books: Alternative medicine	Local MI centres Regional MI centres
Handbook on injectable drugs. Trissel LA.	Books: IV and SC administration	Every hospital pharmacy Local MI centres Regional MI centres
A guide to symptom relief in palliative care. Regnard CFB et al.	Books: Palliative care	Regional MI centres
Drugs in pregnancy and lactation. Briggs GG et al.	Books: Pregnancy and lactation	Local MI centres Regional MI centres
The renal drug handbook. Ashley C et al.	Books: Renal/liver impairment	Local MI centres Regional MI centres
Oxford handbook of acute medicine	Books: Additional resources	Specialist centres
ADIS R&D Insight	Databases	One regional centre to hold
CSM Drug analysis prints	Databases	Local MI centres Regional MI centres
Healix	Databases	One regional centre to hold
TIC TAC	Databases	All regional centres
Adverse drug reaction bulletin	Journal	Local MI centres Regional MI centres
Drug safety	Journal	Regional MI centres
MeReC Bulletin	Journal	Every hospital pharmacy Local MI centres Regional MI centres
Pharmaceutical Journal	Journal	Every hospital pharmacy Local MI centres Regional MI centres

There are two main medicines information websites:

- [www.ukmi.nhs.uk](http://www.ukmi.nhs.uk) is the UKMi website, which contains information to aid enquiry answering and also policy and procedural documents for the various UKMi working groups that exist. Information to aid enquiry answering includes:
  - Frequently asked questions
  - New product reviews and the NewDrugsOnline database of drugs in development
  - The Fridge database of stability data for refrigerated products
  - Reviews of Complementary therapies
  - The Patents database of expiry dates of patents of branded products
  - Regional publications including current awareness bulletins

Policy and procedural documents include:

- Legal and ethical issues that relate to the provision of medicines information
- Manpower issues including competencies for medicines information pharmacists and technicians
- Briefing papers on clinical governance and risk management issues and audit documents for the medicines information enquiry answering service
- Briefing papers and minimum IT specs for medicines information centres
- The 5 year strategy and implementation plan for the UK medicines information network.
- [www.druginfozone.nhs.uk](http://www.druginfozone.nhs.uk) is the website providing medicines information for London and the South East. The information on this site includes daily medical news updates, new product reviews, critically appraised trials, information to aid supplementary prescribers and evidence based resources.

There is a new website currently in development, called the National electronic Library for Medicine, the NeLM, which will eventually hold all the medicines-related information from these two websites, and replace DrugInfoZone. Passwords are required to access various parts of the current two websites, which are restricted to NHS health-care professionals.

### Medicines Information Standards

The Clinical Governance Working Group produces a number of documents to support quality initiatives for medicines information services. (More information on UKMi Working Groups follows later). The quality initiatives include:

- National Standards, which all MI centres must adhere to (see table 2).
- Resources to support enquiry answering including the recommended minimum resources list (see table 1) and standard search

patterns. [These are pointers to the best sources available to help answer particular types of enquiries, <http://www.ukmi.nhs.uk/Policy/product/CGSearchPat.asp>]

- Guidelines on ensuring quality in enquiry answering. For quality assurance purposes enquiries are assessed according to the following categories: documentation, analysis, coverage and answer given. [http://www.ukmi.nhs.uk/Policy/product/cg\\_enq\\_answering.asp](http://www.ukmi.nhs.uk/Policy/product/cg_enq_answering.asp)
- Details of the Incident Reporting system (IRMIS), access to the database and associated support materials. MI Managers can report errors and near misses identified within their MI service on a secure database
- Guidance on what medicines information work should be recorded as an enquiry: <http://www.ukmi.nhs.uk/Policy/product/cgEnquiresToDoc.asp>.

The National Standards are organised into five main sections – see table 2 for the standards. More details on the parameters used to measure each standard can be found at:

<http://www.ukmi.nhs.uk/Policy/product/Documents/DETAILEDSTANDARDS.DOC>

**Table 2: National standards for MI services.**

Section	Standard
<b>Enquiry answering</b>	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. The service is organised to permit prompt handling of enquiries and information on all matters relating to the use of medicines</li> <li>2. MI centres hold the minimum resources appropriate for the provision of the service</li> <li>3. The MI service meets the requirements of its users                             <ol style="list-style-type: none"> <li>4a. Professional expertise and judgement are used in processing MI requests</li> <li>4b. Current systems permit easy access to enquiry records and accurate identification of individual records. Storage complies with local procedures.</li> </ol> </li> </ol>
<b>Education and Training in MI</b>	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Pre-registration graduates and rotational pharmacists should spend at least four weeks in a well-resourced MI centre. They should have access to the UKMi workbook and MiCAL. (standard abbreviated).</li> <li>2. All other pharmacists working in the hospital should have an elementary training programme to orientate them to local MI practice (standard abbreviated).</li> <li>3. Pharmacists appointed to permanent MI posts should complete the training outlined in standard 1, additional sections of the workbook and MiCAL and attend the National Introductory MI Training course within 6 months of appointment.</li> <li>4. Trainers should assess the competencies of pre-registration graduates, rotational pharmacists and newly appointed MI pharmacists using the exercises and criteria in the UKMi workbook and MiCAL, and where appropriate, the RPSGB Performance Standards.</li> </ol>

5. Specialised training for newly appointed MI pharmacist managers should include orientation/induction visits to the Regional MI centre, discuss training needs with their Regional MI Specialist and attend the National Introductory MI Training course. Training according to standards 1-3 should have been completed before or within 3 months of taking up their position. Line managers should also contact the Regional MI specialist to discuss training/development needs of a new MI manager.
6. MI technicians should meet the requirements of the UKMi Accredited MI Training scheme for pharmacy technicians.
7. All MI staff to undertake and document Continuous Professional Development.

<b>Publications</b>	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Adequate procedures are in place to ensure that publications produced are accurate, current and of good quality.</li> <li>2. The publication has achieved its stated aim(s).</li> </ol>
<b>Clinical Governance</b>	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Clinical Governance check performed annually against standard protocol.</li> </ol>
<b>Risk Management</b>	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. The scope of the service offered is clearly defined.</li> <li>2. Adequate resources for provision of the service are maintained.</li> <li>3. Staff providing the service are appropriately qualified and trained.</li> <li>4. Procedures are in place to ensure that information provided is accurate, up to date and of high quality.</li> <li>5. Procedures are in place to ensure that working practices are safe and comply with legal and ethical requirements.</li> </ol>

Local MI centres are audited every three years by their regional centre to ensure that they meet these standards. In the London region we also have a peer review scheme, where local MI managers are divided into groups of four and each MI manager will visit one other local centre in their group, and be visited by another one. During these visits the managers will review a number of enquires that the other centres have done and discuss them, as well as other work that the MI centre may be doing or any problems that they come across.

An individual's performance is reviewed using the Competency Framework. The aim of the framework is to identify the competencies that individuals working in MI either already have, or need to develop, in order to perform their work effectively now and in the future. It can be used for all pharmacists working in MI, from basic grades to managers. There are four main competency areas:

- Delivering the MI service
- Working with people
- Working with information
- Seeing the wider context.

Each area contains 3 or 4 competencies. These are split into two levels – level 1 is for junior MI pharmacists and level 2 is for senior MI pharmacists. It is expected that a pharmacist new to MI would start at level 1 and move through to level 2 as they take on more responsibility for the delivery or provision of the service. The framework can be found at:

<http://www.ukmi.nhs.uk/Policy/product/Documents/CompetencyFrameworkFinal.pdf>

## UKMi Working Groups

There are a number of UKMi working groups which are made up of MI pharmacists from (usually) regional centres and meet several times a year to discuss e.g. service developments, training and support developments, proactive work required etc. There are a number of Working groups (see table 3), the remit of some are explained below.

**Table 3: UKMi Working Groups**

- Clinical Governance
- Education and training
- Information technology
- New products
- NHS Direct
- Primary care
- Technician training

The Education and Training Working Group co-ordinates a number of national initiatives for pharmacists who are new to MI and for those who are running a local MI service.

The National Training Course has been running for 15 years – two courses are held a year and participants learn about a wide range of MI resources, such as how to carry out Medline and Embase searches for medical journal articles, how to use the tablet identification database TICTAC, how to search the internet for medical information, critical appraisal skills, quality assurance of enquiries, Continuing Professional Development and networking. The course is aimed at new MI managers, who must fulfil various competencies to go on the course.

The UKMi workbook and MiCAL (MI computer aided learning) complement each other and contain information for newly qualified pharmacists and pharmacists new to MI to help them with enquiry answering. Information includes an introduction to MI resources, basic Medline searches, legal and ethical issues and basic critical appraisal. There are also a large number of practice enquiries which ensure that the tutee gains experience using the wide range of MI resources that are available to them.

The New Products Working Group (NPWG) co-ordinates the production and maintenance of a wide range of resources on new medicines. The outputs of the NPWG can be found at (some are password protected for NHS healthcare professionals only).

The New Drugs Online database (NDO) contains information on new medicines in development from late phase II to launch. It is password

protected and only available to NHS healthcare professionals. The database also links to a commercial database, called NewDrugFile, which contains more detailed clinical trial information. NDO can be used to simply search for information on new drugs, or to find out what drugs are due to be launched in the future.

Prescribing Outlook (PO) is the national horizon scanning document which contains information on a number of drugs which are due to be launched within the next 18 months. PO is used by hospital senior pharmacy managers and specialist pharmacists who need to know what product launches are on the horizon in order to help them set drug budgets for each financial year. The drugs that are included in PO are those which fall into specific categories, such as first in their class, those which provide a significant improvement in disease management, those which will have a large financial impact and those which have major service implications.

New medicines reviews are written by various regional MI pharmacists and are on either drugs before they are launched or drugs which have already been launched. These reviews are used by a range of pharmacists, such as formulary pharmacists and primary care trust pharmacists, to help decision making on whether a new product can be prescribed by doctors within their locality.

## Other activities

There is a wide range of other activities that UKMi have initiated. These are just some of them:

- Specialist MI services: There are a wide range of specialist MI centres for the use of drugs in various conditions such as in breast milk, dentistry, liver failure, renal failure, pregnancy, porphyria, psychiatry, AIDS, children, oncology and ophthalmology.
- MI-UK mailbase: All MI pharmacists are able to register with the MI-UK email discussion list. This was developed in order for MI pharmacists around the UK to easily contact others with enquiries that they are either finding difficult to answer, or to discuss MI-related issues. All of the past discussions are accessible via the discussion list website, and are password protected.
- Pharm-line®: Pharm-line® is the database for pharmacy practice and prescribing. Started in 1978 as a co-operative venture between UK regional medicines information centres, Pharm-line® is a bibliographic database on pharmacy practice and the clinical use of drugs which now comprises about 155,000 abstracts from major English language pharmaceutical and medical journals.
- NHS Direct: Support for NHS Direct includes help with enquiry answering for medicine related enquiries, training of nurses and health information assistants on how to deal with calls about medicine-related issues and use basic resources to answer these. UKMi also provide training sessions on the use of alternate medicines, drugs in pregnancy, drugs in breast feeding, emergency hormonal contraception, and legal and ethical issues. One audit of medicines-related calls for each site is carried out every two years. [NHS Direct is a telephone medical advisory service for members of the public. It is staffed by nurses and information officers.]
- Guidelines for minimum IT standards for MI computers: Access to a wide range of resources both on-line and on CD Roms is available, and the implementation of a paperless office system (MiDatabank) is in progress, so it is essential that computer software is able to support the requirements and demands of the service. For example, in order to run MiDatabank the recommended IT specifications include a Pentium 2.0 GHz with 256 Mb of RAM, or more and Windows 2000 or XP. Lower specifications will affect the usability and performance of the software. MiDatabank is a dynamic system that allows MI staff to record and store the full details of their clinical enquiries and will be online in 2006.
- The annual UKMi conference. This year sees the 31<sup>st</sup> conference, which is being held in Northern Ireland. MI pharmacists from the UK are all invited to submit posters of work that they have carried out which can be related to e.g. service developments they have implemented or audits carried out. Plenary sessions are on topical issues, such as supplementary prescribing, working with primary care and information technology issues. Parallel sessions (workshops) are carried out on MI specialist topics which have been suggested and chosen by the participants. (Foreign MI pharmacists are also welcome to the conference – details can be found at <http://www.ukmi.nhs.uk/Training/UKMiConf.asf>).

Links to the UKMi website have been listed where appropriate within this document. Much more is on the actual website and it may be useful to those interested in setting up an MI service to have a look at it. However a number of sections are password protected as they are intended for use within the NHS only by pharmacists.

This article presents just a snap-shot view of the activities of the UKMi network. There are many more activities taking place, on both a local and regional level but it is beyond the scope of this paper to detail all of them.

# Patofiziologija staranja

## Pathophysiology of aging

Zoran Grubič

**POVZETEK** Staranje je opredeljeno kot proces, v katerem postopno izgubljanje fizioloških funkcij v organizmu vodi v smrt. V tem prispevku najprej razpravljamo o tem, zakaj ima življensko obdobje starosti majhen pomen s stališča selekcije genov v procesu evolucije in kaj to pomeni za starajočega posameznika. Sledi kratek pregled molekularnih in celičnih mehanizmov, ki so po današnjem prepričanju najverjetneje vpleteni v proces staranja in kjer osrednjo vlogo pripisujejo ravnotežju med škodljivimi mehanizmi, ki jih sprožijo reaktivne kisikove spojine (ROS) in obrambi pred njimi. Večino teh mehanizmov so preučevali na preprostih živalskih modelih, zato v zadnjem delu razpravljamo še o študijah, ki so bolj povezane s staranjem pri ljudeh. Opišemo Wernerjev sindrom, kot primer pospešenega staranja in razpravljamo o pomenu telomeraz kot dejavniku, ki omejuje število celičnih delitev. Na koncu omenimo možnosti vplivanja na procese staranja in opozorimo na etične, socialne in ekonomske probleme, ki bi jih taki posegi lahko sprožili.

**Ključne besede:** staranje, evolucija, reaktivne kisikove spojine, Wernerjev sindrom, telomeraze

**ABSTRACT** Aging is defined as the progressive loss of physiological functions that culminates in death. We start our short review on this subject by explaining poor influence of aging on the evolutionary process of gene selection. We also discuss how the lack of this selection reflects at the level of aging individuals. We continue with molecular and cellular mechanisms which, to our present understanding, underlie the aging process. The balance between damaging effects of reactive oxygen species (ROS) and defense against them has been proposed as a major determinant of this process. Most of these mechanisms were investigated on the simple animal models, therefore we focus our last part of discussion on the studies related to the aging of humans. We describe Werner's syndrome as an example of accelerated aging and discuss the role of telomerases in »counting« of cell divisions. At the end we mention future prospects on how the rate of aging can be modified and also the ethical, social and economical consequences that such interventions might have.

**Key words:** aging, evolution, reactive oxygen species, Werner's syndrome, telomerases

### 1 Uvod

Ko se lotevamo procesov, ki jih pojmujemo kot staranje, se ne moremo izogniti vprašanju, zakaj so živi organizmi prav taki kot so in ne drugačni. Še posebej nas pri tem zanima, zakaj so življenske dobe teh organizmov tako dolge kot so in kaj te dolžine določa. Dokončnega odgovora na to vprašanje za zdaj še ni, številne raziskave pa so ob pomoči modernih tehnik in poskusnih modelov, ki so jim bile na voljo v zadnjem času, pomembno osvetlile to področje. Če smo še pred nekaj desetletji imeli kar okrog 300 »teorij«, ki naj bi pojasnile proces staranja (1), bi danes lahko ugotovili, da celovite podobe o procesih staranja živih organizmov sicer še ni, da pa se pred nami že kažejo njeni grobi obrisi. Od bodočih raziskav torej ne pričakujemo novih »teorij«, ampak prej zapolnitev praznih lis na tej podobi. Namen tega članka je podati kratek pregled trenutnega znanja o patofizioloških procesih staranja. Podrobneje je ta tematika obdelana v številnih preglednih člankih, ki so bili v zadnjem letu in pol objavljeni v uglednih mednarodnih revijah (2, 3, 4, 5, 6).

## 2 Staranje in evolucija

### 2.1 Staranje v luči evlucijske fiziologije

Pri iskanju odgovorov na vprašanja zakaj je človeški organizem tak kot je in kaj določa njegovo življensko dobo, ne moremo mimo teorije evolucije. Vse teorije staranja, ki so bile predlagane v preteklih letih, se opirajo na to teorijo in iščejo v njej svojo potrditev.

Po evlucijski teoriji sta zgradba in delovanje določenega organizma rezultat njegovega prilagajanja na okolje skozi vsa obdobja njegovega razvoja, pri čemer se, v evlucijskem smislu, pojem prilagoditev nanaša na vrsto (species) in ne na njene posameznike. Vrsta je prilagojena na okolje, če uspe ohraniti dovolj visoko rodno, da se njeni posamezniki vseskozi, od generacije do generacije, razmnožijo v številu, ki je dovolj veliko za nadaljnji razplod.

Kot najpomembnejše vodilo, ki določa življensko dobo posameznih vrst, se je v evlucijski fiziologiji uveljavilo načelo žrtvovanja (angl. »trade off«) ene prednosti na račun druge (2, 6). To načelo izhaja iz dveh ugotovitev: 1) v naravnem okolju stresne razmere pomorijo večino posameznikov neke živalske vrste še preden ti dosežejo obdobje starosti in 2) energijski viri, ki so v naravnem okolju na razpolago posameznim organizmom, so omejeni, to pa pomeni, da je v razvoju vsake posamezne vrste moralo priti do kompromisne odločitve, kolikšen del razpoložljive energije vložiti v rast organizma, kolikšen del v obrambne mehanizme in večjo zmožnost popravljanja škode, ki jo povzročajo zunanji dejavniki, spet kolikšen del v shranjevanje energijskih zalog in kolikšen del v reprodukcijo. Ker vsaka od naštetih usmeritev zahteva razvoj energetske zelo zahtevnih celičnih in molekularnih mehanizmov, ni mogoče maksimalno uresničiti vseh. Po darwinističnem načelu naravne selekcije je bilo za preživetje vrste bistveno, da je pri tej izbiri našla optimalno rešitev za svoj razplod. Kot primer lahko opišemo dobro raziskan primer miši. Za to vrsto je znano, da v naravnem okolju že v prvem letu življenja 90% populacije

podleže zunanjim dejavnikom kot so klimatske razmere, pomanjkanje hrane in vrsta predatorjev. V takih razmerah se je v procesih naravne selekcije izkazalo, da je za nadaljevanje vrste optimalno razporediti več energije v hiter in bolj množičen razplod na račun večje rasti in razvoja raznih obrambnih sistemov, kot so na molekularni ravni npr. boljši mehanizmi za obrambo pred oksidativnim stresom (glej spodaj), na ravni organizma pa npr. obdajanje s školjčno lupino, krila, večji možgani in drugi sistemi, ki jih najdemo v živalskem svetu. Kompromisna rešitev je torej mišim prinesla maksimalno življensko dobo 3 let, kar je bilo dovolj za očuvanje vrste vse do danes.

Po drugi strani se je v primeru človeka, kot optimalna razporeditev razpoložljivih energetskih virov, izkazala rešitev, ko se hiter in obilen razplod žrtvuje na račun daljše, a zato večje rasti in boljših obrambnih sistemov. Človek, katerega pribl. 5 milijonov let dolg razvoj se je, razen v zelo kratkem zadnjem obdobju civilizacije, odvijal v divjini, ima tako poleg večje rasti, tudi razvitejše možgane, poleg tega pa še vrsto učinkovitejših molekularnih obrambnih sistemov proti fizikalnim, kemičnim in biološkim okoljskim dejavnikom, ki so potrebni za daljše preživetje. Ti sistemi omogočajo človeku daljše preživetje, s tem pa tudi daljše obdobje reprodukcije za zagotavljanje zadostnega potomstva. Kot vemo nastopi reproduktivno obdobje pri človeku razmeroma pozno (slika 1) in ker potomci potrebujejo daljši čas, da dosežejo sposobnost samostojnega življenja, mora človek v povprečju živeti vsaj nekaj desetletij, da uspe zagotoviti nadaljevanje vrste v naslednjo generacijo.



**Slika 1:** Življenska obdobja v človeški populaciji. Na sliki prikazane dolžine posameznih obdobji niso v pravih časovnih razmerjih. Embriionalno obdobje (e) od oploditve do rojstva traja 266 dni, obdobje rodnosti se (po merilu prve menstruacije) v povprečju začne med 12 in 14 letom in se v povprečju (po merilu nastopa menopavze) konča med 40 in 50 letom. Povprečna pričakovana življenska doba je v razvitem svetu 75 let, maksimalna življenska doba (najvišja starost, ki jo lahko človek doseže) pa se po današnjih ocenah giblje okrog 125 let.

**Figure 1:** Life periods in human population. Lengths of individual periods are not presented in scale. Embryonic period (e) lasts, from conception to birth, 266 days; fertility period begins at the age between 12 and 14 years (menarche) and ends at the age between 40 and 50 years (menopause). Average life expectancy in developed world is 75 years; maximal life span is, to our present estimation, around 125 years.

V podporo optimalni in zato kompromisni razporeditvi razpoložljivih energetskih virov, obrambni mehanizmi, ki jih imamo proti okoljskim dejavnikom, niso popolni. So le dovolj učinkoviti, da so skozi celoten človekov zgodovinski razvoj zaščitili dovolj posameznikov za nadaljevanje vrste. Tako npr. obrambni sistem proti vdoru mikroorganizmov ni dovolj močan, da bi zaščitil vsakega posameznika pred vsako obliko teh stalnih napadalcev (sredi 14. stoletja je npr. kuga pomorila

velik del vsega takratnega človeštva), a je bil skozi vso zgodovino človeštva očitno dovolj učinkovit, da je zagotovil zadosten prehod posameznikov iz generacije v generacijo vse do danes.

V smislu navedenega, se obdobje starosti izkaže ne le kot nepotrebno, ampak za nadaljevanje vrste tudi škodljivo obdobje, saj gre za porabo omejenih energetskih virov za del populacije, ki več ne pripomore k reprodukciji. Ta ugotovitev je, skupaj z odkritji vrste genov, pri katerih ena sama mutacija bodisi podaljša ali pa skrajša življensko dobo (7), pripeljala do teorije o staranju kot o genetsko programiranem procesu. Čeravno na videz logična, pa se je ta teorija iz širšega zornega kota evlucijskih dogajanj izkazala kot težko razložljiva, pa tudi študije na področju evlucijske genetike je niso uspele potrditi (glej spodaj). Danes staranje uspešneje pojasnjuje teorija »somatskega žrtvovanja« (angl. »disposable soma theory«), ki temelji na zgoraj opisanih načelih optimalnega razporejanja razpoložljivih virov. Po tej teoriji vrsta, katere posamezniki v naravnem okolju skoraj nikoli ne dočakajo starosti, svojih omejenih energetskih virov skozi evlucijski razvoj ne vložijo v izgradnjo celičnih molekularnih obrambnih mehanizmov pred zunanjimi stresorji, ki bi sicer podaljšali življensko dobo (glej spodaj), ampak raje v hitrejšo in obilnejšo reprodukcijo (2, 6). Ta odločitev pomeni »žrtvovanje« somatskih celic, saj se, zaradi pomanjkanja in neučinkovitosti teh obrambnih mehanizmov, škodljive spremembe v celicah s časom kopičijo, kar se na zunaj kaže kot staranje. Napredujoče kopičenje škodljivih sprememb (glej spodaj) končno pripelje do funkcionalne odpovedi organizma in smrti.

## 2.2 Staranje v luči evlucijske genetike

V procesu prilagajanja določene živalske vrste na okolje v katerem živi, je v evlucijskem smislu ključnega pomena tudi selekcija znotraj vrste, ta pa se dogaja prek selekcije genov, ki se prenašajo iz generacije v generacijo. Ko gre za preživetje v okolju, nekateri geni in genske kombinacije, oziroma njihovi fenotipi, svojim nosilcem prinašajo prednosti, drugi spet verjetnost preživetja zmanjšujejo. Ker imajo organizmi z večjo sposobnostjo preživetja tudi večjo možnost za razplod, se v neki populaciji, pod pritiski okolja, sčasoma geni, ki so ugodni za preživetje, uveljavijo, neugodni pa se odstranijo. Prav ta selekcija je osnova evlucijske plastičnosti oziroma spremenljivosti organizmov, ki omogoča, da se sčasoma izoblikuje genotip, ki omogoča optimalno izrabo razpoložljive energije ki, kot smo opisali zgoraj, tudi določa življensko dobo. Da do procesa selekcije genov sploh lahko pride, pa je potrebno, da se geni in njihove kombinacije na ravni posameznikov skozi generacije vseskozi spreminjajo. To se dogaja po eni strani na račun različnih genskih kombinacij, ki jih ob mejotičnih delitvah in združitvah zarodnih celic posamezniki podedujejo od svojih staršev, po drugi pa na račun spontanosti in iz okolja sproženih mutacij v zarodnih celicah. Na razplod znotraj posamezne vrste lahko tako gledamo kot na naravni laboratorij, kjer po slučajnem vzorcu nastajajo različne oblike in kombinacije genov, ki se nato, s stališča njihovega vpliva na preživetvene, predvsem pa na reprodukcijske sposobnosti njihovih nosilcev, preizkušajo v okolju.

Gledano s tega zornega kota, obstajajo v organizmu samo dve vrsti celic: zarodne (jajčeca pri ženskah in spermatogoniji pri moških) in somatske (vse ostale celice organizma). Pri tem so zarodne celice, ki se prenašajo iz generacije v generacijo, v nekem smislu nesmrtni, medtem ko je vloga somatskih celic zgolj v tem, da omogočijo ploditev



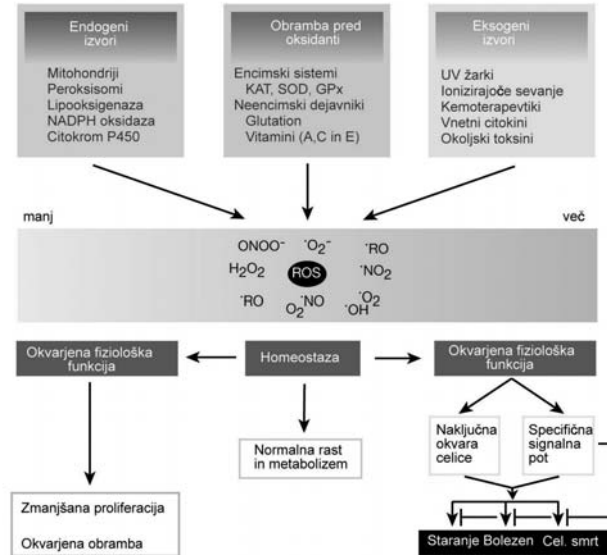
in s tem prenos genov v naslednjo generacijo. Ko govorimo o genskih mutacijah, moramo tako ločiti pomen mutacij v zarodnih celicah od pomena mutacij v somatskih celicah. Medtem ko se prve prenesejo iz generacije v generacijo in, v primeru, da niso smrtonosne, pripomorejo k večji genetski plastičnosti in raznolikosti organizmov, se druge ne dedujejo. Mutacije, ki se skozi vse življenje posameznikov kopičijo v somatskih celicah, povzročajo vse večjo »nestabilnost genoma«, ki se na celični ravni kaže kot vse večje število genskih in drugih okvar. Te se navzven kažejo kot staranje in ki na koncu privedejo do smrti. Ta razlaga daje podporo zgoraj omenjeni teoriji »somatskega žrtvovanja« tudi s stališča evlucijske genetike.

S stališča selekcije genov, so od življenjskih obdobj, prikazanih na sliki 1, pomembna samo obdobja do konca dobe razploda, medtem ko v dobi starosti, ko se geni več ne prenašajo na naslednje generacije, pritiski okolja na to selekcijo ne morejo več vplivati. Vsi tisti geni in njihovi produkti, katerih izražanje vpliva na zdravje in preživetveno sposobnost človeka šele v starosti (ponekje v literaturi jih imenujejo »gerontogeni«), se torej od genov, ki so odločilni za preživetje organizma v zgodnejših obdobjih, pomembno razlikujejo po tem, da njihove kombinacije, spremembe in mutacije niso bile podvržene selekcijskim pritiskom. Vse morebitne okvare teh genov, ki jih je človek v svojih zarodnih celicah pridobil pred ali med obdobjem plodnosti in ki do konca tega obdobja niso povzročale nobenih težav, so se neovirano prenašale na potomce in se kozi generacije, v različnih kombinacijah, kopičile v človeški populaciji. Ker v preteklosti velika večina posameznikov starosti sploh ni dočakala, so se učinki teh genov lahko pokazali le občasno in za človeško populacijo niso predstavljali težav s kakršnimi se srečujemo danes, ko večina posameznikov živi daleč preko reprodukcijskega obdobja. Velika variabilnost in pestrost, ki jo opažamo med posamezniki tako glede trajanja starostnega obdobja kot tudi glede bolezni, okvar in vzrokov smrti, ki jih prinaša to obdobje, izvira v veliki meri prav iz velike pestrosti gerontogenov in njihovih okvar, ki niso bile nikoli izpostavljene selektivnim pritiskom okolja. Tako npr. za sladkorno bolezen tipa 2, ki povzroča težave šele v starosti in ima močan dedni dejavnik, niso uspeli odkriti enoten genski vzorec, ki bi pojasnjeval dedno plat te motnje. Odkrili so sicer že vrsto mutacij na raznih genih, ki so povezani z inzulinskim signaliziranjem, ki je okvarjeno pri tej bolezni, a so bile te mutacije od družine do družine sladkornih bolnikov tipa 2 različne tako po tipu kot po lokaciji, kar je ob nabiranju mutacij po slučajnem vzorcu in njihovem prenosu od generacije do generacije tudi pričakovati. Za razliko od zgodnjih, močni selekciji podvrženih genov, so tako gerontogeni nekakšno »smetišče« najrazličnejših mutacij, ki so se imele možnost kopičiti skozi tisočletja človekovega razvoja (2, 6). Visoka stopnja variabilnosti na ravni starostnih genov, ki jo je omogočila odsotnost selekcijskih pritiskov, je še posebej očitna, če primerjamo natančno programirano in po zaporedju dogodkov podrobno opredeljeno dogajanje v embrionalnem obdobju, s kaotičnim obdobjem staranja, ki se, tako po času, kot tudi dogajanjih v organizmu razlikuje tako rekoč od posameznika do posameznika.

Ta spoznanja so dodatno pripomogla k opuščanju koncepta o staranju kot o genetsko programiranem procesu. Danes staranje razumemo kot posledico individualističnih, stohastičnih in torej po slučajnem vzorcu nastalih okvar, ki se z leti sicer kopičijo, a se po vzorcu od posameznika do posameznika precej razlikujejo.

### 3 Celični in molekularni mehanizmi staranja

Že pred približno sto leti so ugotovili, da imajo živali, ki imajo hitrejši metabolizem (kalorije /kg telesne teže/dan), krajšo življensko dobo. Na podlagi te ugotovitve se je takrat razvila hipoteza »hitrosti življena«, po



Slika 2. Uravnavanje ravni reaktivnih kisikovih spojin (ROS) v celici in celični odgovori nanje. Raven ROS v celici določa ravnotežje med njihovim nastajanjem in obrambo. ROS nastajajo kot posledica znotrajceličnih procesov (zgornje levo polje) ali pa pod vplivom zunanjih dejavnikov (zgornje desno polje). Najmočnejšo obrambo pred njimi (zgornje srednje polje) predstavljajo znotrajcelični encimi oziroma encimski sistemi katalaze (KAT), superoksidne dismutaze (SOD) in glutatijske peroksidaze (GPx). Porušenje ravnotežja bodisi v eno ali drugo smer vodi v celične poškodbe takega ali drugačnega tipa (spodaj), kar se na zunaj lahko kaže tudi kot staranje organizma (desno spodaj). NADPH: reducirana oblika nikotinamidadenin dinucleotidfosfata. (prirejeno po Finklu in Hoolbrook: 10). Izraz reaktivne kisikove spojine ni najbolj posrečen, saj njihov glavni predstavnik, superoksidni anion, ni spojina, ker ga tvori en sam element. Prednost tega izraza je, da se kratica ROS ujema z razrišjeno angl. okrajšavo ROS (angl. "reactive oxygen species") za isto skupino spojin.

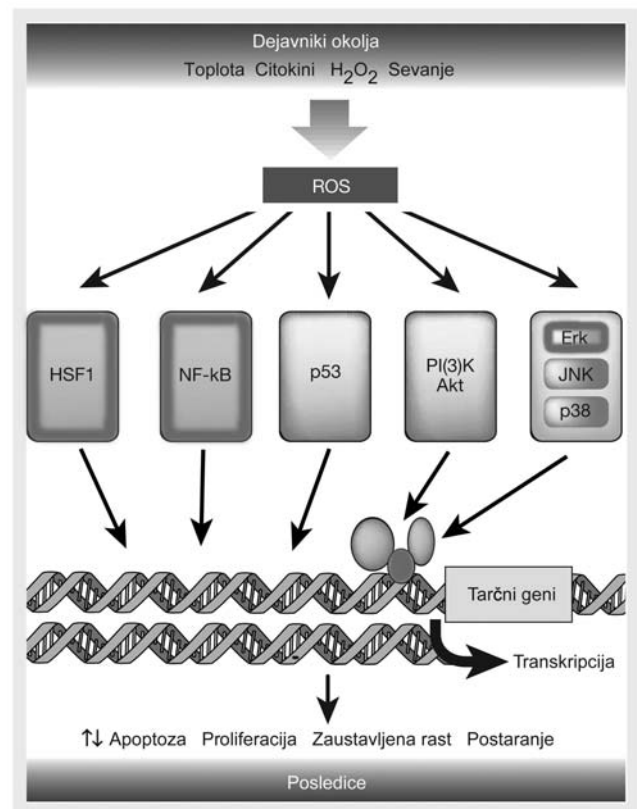
Figure 2. Regulation of the reactive oxygen species (ROS) level in the cell and cellular responses to ROS. Intracellular ROS level reflects the balance between rates of ROS formation and degradation. ROS are generated as a result of intracellular processes (upper left field) or the actions of extrinsic agents (upper right field). The strongest defense against ROS (upper middle field) are intracellular enzymes and enzyme systems: catalase (CAT); superoxide dismutase (SOD) and glutathione peroxidase (GPx). Any disruption of this balance results in cellular damage (bottom). Depending on the extent and type of damage it leads either to cell death, disease or aging. (bottom right). NADPH: reduced form of the nicotinamideadenin dinucleotide phosphate (modified after Finkel and Holbrook; 10).

kateri življensko dobo vsake živalske vrste določa hitrost njenega metabolizma. Približno 50 let pozneje je Harman (8) predlagal »teorijo prostih radikalov«, ki je prispevala prvo mehanistično povezavo med metabolizmom in »hitrostjo življenja«. Staranje naj bi bilo po tej teoriji odsev kumulativnih poškodb, ki se kopičijo v organizmu zaradi škodljivih učinkov prostih radikalov, ki nastajajo v oksidacijskih celičnih metabolnih procesih. Večja »hitrost življenja« kot hitrejši metabolizem torej vodi v hitrejšo nabiranje celičnih poškodb, te pa se na zunan kažejo kot hitrejši proces staranja, temu ustrezno pa je krajša tudi življenska doba. Po tej teoriji torej staranje ni neposreden odsev hitrosti metabolizma, ampak množine prostih radikalov, ki v teh oksidacijskih procesih nastanejo. Izkazalo se je tudi, da pri tem ni merodajna le hitrost nastajanja teh spojin, ampak tudi hitrost njihovega odstranjevanja. Odkritje encima superoksidne dismutaze (9), katerega edina naloga je odstranjevanje superoksidnega aniona, kot osrednjega predstavnika reaktivnih kisikovih spojin (ROS), kot zdaj s skupnim imenom imenujemo proste radikale, pa tudi odkritja, ki so pokazala, da so nekatere ROS udeležene v procesih celičnega signaliziranja (npr. dušikov monoksid, NO) so pripeljala do današnjega prepričanja, da je nastajanje in procesiranje ROS nadzorovan celični proces. V evolucijskem razvoju, kjer živa bitja uporabljajo oksidacijske procese kot edino pot za pridobivanje energije, so se v celicah, po eni strani razvili za ta namen specializirani sistemi (na ravni organel mitohondriji, na ravni reakcijskih sistemov pa piruvatni dehidrogenazni kompleks, b-oxidacija, ciklus trikarboksilnih kislin in dihalna veriga, ki jih najdemo v mitohondrijskem matriksu in notranji mitohondrijski membrani) po drugi pa tudi sistemi za razgradnjo ROS (encimi katalaza, superoksidna dismutaza, glutationska peroksidaza). Razmerje učinkovitosti obeh sistemov uravnava raven ROS v celici. Uravnavanje ravni ROS v celici naj bi bilo po današnjih spoznanjih vrstno specifičen proces, katerega učinkovitost se je, kot rezultat evolucijskih selekcijskih pritiskov, izselekcionirala po načelu zgoraj omenjene teorije somatskega žrtvovanja. Vsaka posamezna živalska vrsta ima torej svoji strategiji preživetja prilagojen način uravnavanja ROS (slika 2), s tem pa tudi temu ustrezno življensko dobo (10) (glej zgoraj).

### 3.1. Molekularni mehanizmi staranja pri preprostejših organizmih

Najučinkovitejši dejavnik, za katerega je bilo v poskusih na živalih nesporno ugotovljeno, da podaljša življensko dobo, je zmanjšan kalorični vnos (ZKV). V poskusih predstavlja to zmanjšanje dieto, ki je po kalorični vrednosti za približno 30 – 40% manjša od vrednosti, ki jo s hrano vnesejo kontrolne živali, ki so hranjene po načelu *ad libitum*. V takih razmerah so pri vseh preiskovanih vrstah: protozojih, vodnih bolhah, pajkih, ribah in tudi podganah opazili tako podaljšanje povprečne kot tudi maksimalne življenske dobe za približno enak odstotek (11). Za človeka teh podatkov ni, vendar pa je prav ponovljivost tega učinka pri vseh drugih vrstah močan argument za sklepanje, da bi poskusi, če bi bili izvedljivi, pokazali enak učinek tudi pri človeku.

V začetku so podaljšanje življenske dobe zaradi ZKV tolmačili preprosto z znižano količino ROS. Ob vsakem vnosu kaloričnih virov (ogljikovih hidratov, maščob in proteinov), se kot stranski učinek potovanja elektronov vzdolž dihalne verige, kar je končna stopnja oksidacije teh snovi, tvorijo ROS, ti pa prek škodljivih učinkov na DNK, celične membrane (lipidna peroksidacija) in beljakovinske molekule,



**Slika 3.** Signalne poti v celici, za katere je bilo ugotovljeno, da jih prek različnih stresnih dejavnikov iz okolja, uravnava ROS. Ti lahko nastanejo v endogenih procesih znotraj celice, ali pa kot odziv na zunanje stresne dejavnike, ki povzročajo oksidativni stres. ROS prek različnih transkripcijskih dejavnikov (HSF 1, NF- $\kappa$ B, in p53) ali pa prek signalnih encimov, ki vplivajo na transkripcijske dejavnike (sistem PI(3)K/Akt, JNK, p38/MAPK), vplivajo tako na gensko podvojevanje, kot tudi na gensko prepisovanje. Kakšen bo končni odgovor celice je odvisno od jakosti in trajanja stresa pa tudi od tipa celice. Debelo obrobljeni so dejavniki, za katere so povezavo s staranjem že ugotovili. Mutacije raznih genov v signalnih poteh, kjer ti sodelujejo, so namreč povzročile bodisi podaljšanje ali skrajšanje življenske dobe poskusne vrste. (prirejeno po Finklu in Hoolbrook: 10).

**Figure 3:** ROS mediated stress signalling in the cell. ROS are formed either in endogenous cellular processes or as a result of exogenous stress stimuli resulting in oxidative stress. ROS affects DNA replication or transcription through the action of various transcription factors (HSF 1, NF- $\kappa$ B, in p53) or signaling enzymes controlling transcription factors (PI(3)K/Akt, JNK, p38/MAPK). The ultimate cell response depends on the nature and duration of the stress as well as on the cell type. Pathways demonstrated to influence aging processes are indicated. by bold frame. Mutations of various genes involved in these pathways have been demonstrated to influence longevity (modified after Finkel and Holbrook; 10).

kopičijo okvare v celici, kar pospeši staranje in vodi v zgodnjo smrt. Ob ZKV je teh okvar manj in življenje zato daljše (11).

Čeravno na videz prepričljiva, se gornja razlaga ni uspela potrditi v poskusih. Poleg tega je vrsta študij pokazala, da ZKV ni edini dejavnik, ki podaljša življensko dobo. Na preprostih živalskih modelih je bilo to mogoče doseči tudi z vzpostavljanjem najrazličnejših drugih razmer, katerih skupni imenovalec pa je bil stresni dejavnik. Ko so po drugi strani ugotovili, da je v teh modelih možno življensko dobo podaljševati ali pa tudi skrajševati tudi z mutacijo določenih genov, med katerimi prevladujejo taki, ki so prek svojih beljakovinskih produktov vključeni v uravnavanje metabolnih procesov in torej ravni ROS, je začelo prevladovati mnenje, da se za podaljšano življensko dobo v razmerah ZKV skriva širše delujoči in izdelan molekularni mehanizem. Po današnjih spoznanjih naj bi ta mehanizem, kot odgovor na stresne razmere, prilagodil procese v organizmu na način, ko se začasno žrtvuje reproduksijske sposobnosti posameznikov na račun njihovega daljšega preživetja. Tako žrtvovanje (angl. »trade off«) je v naravi razširjen pojav. Bakterije v neugodnih razmerah tvorijo dolgožive a v smislu razmnoževanja neaktivne spore, vrsta valjastega črva *Caenorhabditis elegans* v takih razmerah preide v stanje imenovano »dauer«, v katerem se tako oksidacijski procesi kot tudi staranje močno upočasnijo (12), podobno vlogo pa ima tudi hibernacija, ki jo srečamo pri nekaterih sesalcih. Visoka konzervativnost genov, ki so udeleženi v procese, ki uravnavajo opisani pojav, govori v prid hipotezi, da se je tak odgovor na stresne razmere v evolucijskih procesih uveljavil že zelo zgodaj in se ohranil vse do danes, a je zaradi prevlade višjih mehanizmov v uravnavanju metabolizma, ki so se razvili pri bolj razvitih vrstah, kot je npr. človek, postal pri teh vrstah vse bolj prikrit. Logičen je tak mehanizem tudi s stališča zakonov evolucije, saj omogoča posameznikom znotraj vrst, da »prevedrijo« neugodne razmere, svoje reproduksijske sposobnosti, ki ostanejo ob upočasnjenem staranju v takih razmerah ohranjene dalj časa, pa prihranijo za poznejša, ugodnejša obdobja. V zadnjem času se je nabralo precej podatkov, ki kažejo na to, da različne stresne razmere najprej povzročijo »oksidativni stres«, ta pa nato prek ravni ROS vpliva na celo vrsto pomembnih metabolnih poti v organizmu, ki so jih pred tem prepoznali že na drugih raziskovalnih področjih in ki so odgovorne za zgoraj opisane spremembe, (10) (slika 3).

Podrobnejše študije so pokazale, da pri poskusnih glodalcih in celo primatih zmanjšan kalorični vnos (ZKV) zniža incidenco za starost značilnih karcinomov, kot tudi incidenco srčno-žilnih obolenj in upočasnjuje pešanje imunskega sistema, ki je značilno za starost (13). Iz tega sklepajo, da fiziološke spremembe, ki jih povzročijo ZKV, prispevajo k boljšemu splošnemu zdravstvenemu stanju, kar ima za posledico podaljšano življensko dobo. To se ujema tudi z izkušnjami pri človeku, kjer je znano, da je kronično zvečan vnos kalorij dejavnik tveganja za srčno-žilna obolenja, več tipov raka, sladkorno bolezen tipa 2 in še nekatera obolenja, ki bremenijo predvsem starostnike.

Okvir tega pisanja ne dopušča, da bi v podrobnosti opisovali številne hipoteze, poskuse in poskusne modele, ki poskušajo najti razlago za opisane pojave. Omejili se bomo le na nekaj dognanj, ki so bila v zadnjem času deležna večje pozornosti.

### 3.1.1 Vloga sistema Sir pri povezavi zmanjšane kaloričnega vnosa s podaljšano življensko dobo

Iskanje molekularnih mehanizmov, ki bi povezali ZKV z opisanimi učinki in podaljšano življensko dobo, je v poskusih na kvasovkah

(*Saccharomyces cerevisiae*), pripeljalo do odkritja sistema Sir (angl. »silent information regulator«), ki ga sestavlja kompleks beljakovin Sir2, Sir3 in Sir4. Ko so kvasovke iz hranilnega medija z 2% glukozo prenesli v medij z 0,5% glukozo, so ugotovili za okrog 50% podaljšano življensko dobo, ta učinek pa je spremljalo utišanje genov rDNK, s katerih se prepisuje ribozomalna RNK (rRNK). Vlogo sistema Sir pri tem učinku močno podpirajo rezultati poskusov, v katerih so z odstranitvijo beljakovine Sir2 kvasovkam življensko dobo skrajšali, medtem ko so jo pri kvasovkah z dodano kopijo gena SIR2, močno podaljšali (12). Danes je znano, da Sir2 deluje kot od NAD-odvisna deacetilaza. Pri tem NAD ne opravlja vloge prejemnika elektronov in protonov, kar je njegova vloga, kadar deluje kot koencim raznih dehidrogenaz v katabolnih reakcijah, ampak deluje kot aktivator deacetilazne encimske aktivnosti Sir2, tarča deacitiliranja pa so histonske molekule v kromatinu, kar pripelje do utišanja genov za rDNK. Prav odvisnost aktivnosti Sir2 od koencima NAD povezuje ta encim z metabolizmom, kjer je razmerje NAD/NADH pomemben pokazatelj energetskega statusa v celici in je večje ob zmanjšanju vnosa energijskih virov. Izkazalo se je, da je mehanizem Sir zelo konzervativen. Najdemo ga tako pri nižjih kot tudi višjih vrstah, zaradi česar lahko pričakujemo podoben učinek morda tudi pri človeku, čeprav za zdaj še ni znano, katere predele genoma bi Sir2 utišal v teh višjih organizmih in kako bi to utišanje podaljšalo njihovo življensko dobo. V najnovejši literaturi (13) najdemo vrsto predlaganih modelov, kjer se sesalska oblika Sir2, imenovana SIRT1, vključuje v najrazličnejše metabolne poti, pripisujejo pa mu tudi zaščitno vlogo pred nevrodegeneracijo. Raven ROS v celici, ki je pomemben dejavnik v procesu staranja, naj bi SIRT1 zniževal prek uravnavanja izražanja odklopnih proteinov v notranji mitohondrijski membrani. Zvečano število teh beljakovin bi pripeljalo do zmanjšane depolarizacije notranje mitohondrijske membrane, ki jo ustvarja gradient protonov, to pa bi pripeljalo do znižane hitrosti nastajanja ROS.

### 3.1.2 Vloga signalne poti inzulin/inzulinu podoben rastni dejavnik (IGF-1) pri povezavi zmanjšane kaloričnega vnosa in podaljšano življensko dobo.

Poleg kvasovk in vinske mušice, je zelo uporaben model za proučevanje molekularnih mehanizmov staranja tudi že omenjena vrsta valjastega črva *Caenorhabditis elegans* (CAEL) el). Pri CAEL, ki so jim mutirali gen DAF-2, ki kodira receptor za inzulin/IGF-1 oziroma za ustrezne ligande v tem organizmu, so opazili ne le dvakrat daljšo življensko dobo, ampak tudi mladostno obnašanje, ki bi, po analogiji s človekom, pomenilo vedenje in izgled štiridesetletnika pri starosti devetdeset let. Iz opisanih ugotovitev bi lahko torej sklepali, da signaliziranje prek hormonov ne služi le metabolni koordinaciji ampak tudi koordinaciji starostnih procesov med tkivi. Mutacije, ki vplivajo na življensko dobo, so pri CAEL sorazmerno šibke. Močnejše mutacije v tej signalni poti pa povzročijo, da se ličinke teh živali spremenijo v dormantno, stanje, imenovano »dauer«, kjer je rast zaustavljena, obramba proti stresu pa povečana. Prehod v tako stanje je značilen za okoliščine ko gre za pomanjkanje hrane.

Po aktivaciji receptorja inzulin/IGF-1 pride do aktivacije reakcijske kaskade, v kateri ima ključno vlogo fosfatidilinozitol -3-OH kinaza (PI(3)K), končni vpliv na prepis genov pa se s te kaskade prenese prek transkripcijskega dejavnika DAF-16, ki je bistven za opisano podaljšanje življenske dobe (12). Življensko dobo določa prek te

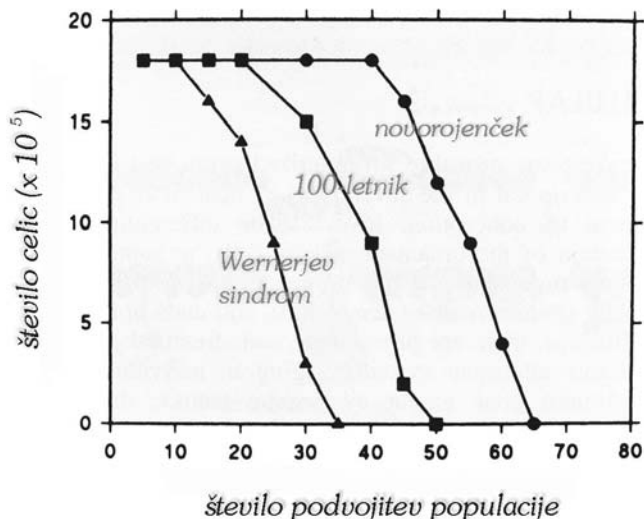
kaskade dvoje tkiv: senzorični sistem, prek katerega žival zaznava spremembe v okolju in njen reprodukcijski aparat, kar kaže na hormonsko uravnavanje procesov staranja pri teh živalih in kar spet pomeni, da lahko reprodukcijski aparat prek ustreznih signalov koordinira čas reprodukcije z procesom staranja. To ne preseneča, saj so tudi pri človeku starostno-specifične spremembe kot npr. puberteta in menopauza uravnavane hormonsko. Če pri CAEL kak dejavnik iz okolja zadrži reprodukcijo, se začnejo izločati signalne molekule, ki upočasnijo staranje na ravni posameznih celic. Tako se žival začne starati počasneje s tem pa ohrani reproduktivno sposobnost za čase, ko bo za razplod več možnosti, kar prinaša prednost tudi v evlucijskem smislu.

### 3.2 Molekularni mehanizmi staranja pri človeku

Kvasovke, vinska mušica in valjasti črv so enostavni in za poskuse dostopni organizmi, poleg tega pa njihova sorazmerno kratka življenjska doba omogoča spremljanje sprememb v njihovih organizmijski skozi celo življenjsko obdobje in tudi skozi več generacij. Vse to so za raziskovanje molekularnih mehanizmov staranja pomembne prednosti, kot vedno pa se ob uporabi takih modelov sprašujemo o veljavnost dobljenih izsledkov na človeškem organizmu. V tem smislu so sicer obetavna opažanja, da so nekateri elementi signalnih sistemov, ki uravnavajo staranje v preprostih živalih, visoko konzervativni in so jih odkrili pri vseh do zdaj proučevanih vrstah. To bi lahko pomenilo, da bi vsaj do neke mere lahko bili vključeni tudi v procese staranja pri človeku, vendar ustreznih dokazov za to še ni. Prav zato je še posebej pomembno ugotoviti, ali obstajajo pri človeku stanja in mehanizmi, ki bi povezovali spoznanja, pridobljena na enostavnejših modelih, s procesom staranja pri človeku.

V raziskavah staranja sta bila do zdaj pri človeku v ospredju dva modela: progerije, ki jih v ožjem smislu pojmuje kot genetske motnje, ki se kažejo kot pospešeno staranje in kulture človeških celic. Med progerijami, ki jih je sicer več, je bilo do zdaj največ raziskav posvečenih Wernerjevemu sindromu (14). Bolniki s tem sindromom so homozigoti za mutacijo v genu, ki kodira encim RecQ iz družine helikaz (15). Helikaze so encimi, ki se v procesu replikacije, torej podvojevanja DNK, vežejo na eno verigo dvojne vijačnice in se, korak za korakom, premikajo vzdolž te verige pri čemer potrebujejo energijo v obliki ATP. Njihovo delovanje razklene dvojno vijačnico, kar je pomembno za nemoten proces podvojevanja DNK. Na klinične znake, ki jih najdemo pri Wernerjevem sindromu, je torej treba gledati kot na posledice motenj v podvojevanju DNK, kar ima za posledico tudi motnje v procesu celičnih delitev. S tem se ujema poskusi, kjer so primerjali delitvene sposobnosti humanih fibroblastov, ki so jih pridobili iz podkožja novorojenčka, stoletne osebe in osebe z Wernerjevim sindromom (slika 4).

Motnje se pri bolniku z Wernerjevim sindromom začnejo v obdobju odrasčanja, ko ne pride do obdobja hitre rasti, ki je značilno za zdrave mladostnike, nizka telesna višina pa se tudi pozneje ne nadoknadi. Že pri tridesetih letih se pri praktično vseh bolnikih pojavijo katarakte, poznejše motnje pa so že bolj raznolike. Najpogostejši znak, ki je v poznejšem obdobju skupen vsem bolnikom, so hude kožne ulceracije v področju gležnjev. Bolniki imajo tipične boleznine starostnega obdobja kot so osteoporoza, sladkorna bolezen tipa 2, ateroskleroza



**Slika 4:** Delitvene sposobnosti humanih fibroblastov, izoliranih iz podkožja novorojenčka, 100 let stare osebe in dvajsetletne osebe z Wernerjevim sindromom. Zmožnost celic, da zrastejo v petrijevki z radijem 100 mm do konfluente (pribl.  $1.8 \times 10^6$  celic) se zmanjšuje z večanjem števila podvojitve populacij. Po določenem in za vsako od omenjenih treh populacij značilnem številu delitev, celice izgubijo delitveno sposobnost in ostanejo ujete v dokončnem stanju poimenovanem celična ostarelost (angl. "senescence"). (prirejeno po Diceu: 16).

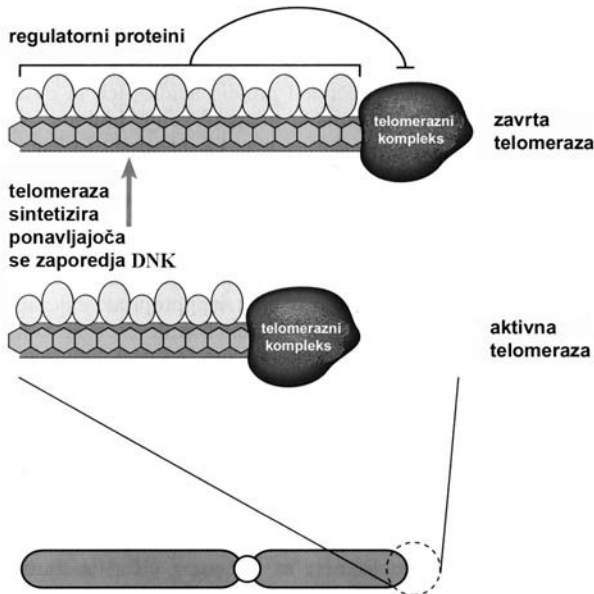
**Figure 4:** Division potential of human fibroblasts isolated from newborn, 100 year old, and 20 year old patient with Werner's syndrome. Cell capacity to grow to confluence (appr.  $1.8 \times 10^6$  cells) decreases by the number of population doublings. After certain number of cell divisions, which is different for each of the three conditions, cells stop to divide and remain captured in a final state named cellular senescence. (modified after Dice: 16).

kot tudi zvečano pojavnost benignih in malignih neoplazem. Vzrok smrti, ki tipično nastopi okrog 47 leta, je ponavadi miokardni infarkt ali kaka od oblik raka.

Čeravno se v splošnem Wernerjev sindrom kaže kot pospešeno staranje, je za zdaj težko najti molekularne mehanizme, ki bi povezali osnovno motnjo na ravni RecQ helikaze z znaki staranja. Motnje na ravni podvajanja DNK bi lahko bile vzrok za pogoste maligne spremembe pri teh bolnikih, kožne spremembe, vključno z ulceracijami v področju gležnjev, pa so najbrž posledica zmanjšane delitvene sposobnosti celic. Ostale motnje je težje pojasniti in so najverjetneje sekundarnega značaja. Trenutne raziskave so usmerjene v iskanje povezav med motnjami na ravni podvojevanja DNK in učinki ROS, ki bi lahko pojasnili to stanje; morda bi v tej povezavi lahko imel svojo vlogo prej omenjeni sistem SIRT2. Seveda pa Wernerjevega sindroma ne gre razumeti kot zgolj pospešeno obliko normalnega staranja, saj gre za redko osnovno motnjo, ki je drugi starostniki nimajo.

Povezavo med motnjami na ravni podvajanja DNK in staranjem ponuja tudi koncept skrajšanja telomer. To so kratke, ponavljajoče se

sekvence DNK (TTAGGG), ki tvorijo linearne konce kromosomov in so pomembne: 1) za zagotavljanje kompletnega podvajanja DNK na koncih kromosomov; opisane sekvence zasidrajo kromosome na nuklearni matriks in razmejujejo kodirajočo DNK od končičev kromosomov in: 2) za zaščito kromosomskih koncev pred fuzijo in razgradnjo; telomere preprečujejo kromosomsko nestabilnost, fragmentacijo in prerazporeditev. Delovanje telomeraz je prikazano na sliki 5.



Slika 5: Vloga telomeraze pri "štetju" celičnih delitev. Telomere so kratke, ponavljajoče se sekvence DNK (TTAGGG), ki tvorijo linearne konce kromosomov (spodaj). Za sintezo opisanih sekvenc je odgovoren poseben ribonukleoprotein, imenovan telomeraza, ki stabilizira dolžino telomer tako, da z dodajanjem teh sekvenc podaljšuje njihove konce. Aktivnost telomeraze zavrejo regulatorne beljakovine, ki na neki stopnji omejijo nadaljnje podaljševanje telomer, kar je torej mehanizem, ki zaznava dolžino telomer (zgoraj). V odsotnosti delovanja telomeraz, se z vsako celično delitvijo izgubi nekaj baznih parov telomer, tako da postajajo le-te s postopnimi delitvami vse krajše in krajše dokler na neki stopnji tega skrajšanja, delitev ni več možna. Celica zastane v G1/S fazi celičnega ciklusa in preide v stanje celične ostarelosti. (prirejeno po Cotranu in sod: 17).

Figure 5: The role of telomerase at "counting" cell divisions. Telomeres are short, repeating DNA sequences (TTAGGG), forming linear chromosomal ends at their tips (bottom). These sequences are synthesized by special ribonucleoprotein called telomerase, which stabilizes telomere length by adding new repeats of these sequences. Telomerase activity is inhibited by regulatory proteins which, at certain stage, stop further telomere lengthening, acting in this way as a mechanism sensing telomerase length (top). In the absence of telomerase, telomeres are losing a couple of base pairs after each division so that telomeres become shorter and shorter until, at the certain level of shortening, division is not possible any more. Cell is captured in G1/S phase of cell cycle and enters the stage of cellular senescence (modified after Cotran et al: 17).

Telomerazna aktivnost je izražena v zarodnih celicah, ob nekoliko nižji aktivnosti jo najdemo tudi v nekaterih matičnih celicah, v somatskih celicah pa je ni. Pomen telomeraznega mehanizma pri pojavu celične ostarelosti podpira ugotovitev, da je v nesmrtnih, rakastih celicah, kjer število delitev ni omejeno, telomeraza ponovno aktivna, tako da se v teh celicah telomere ne krajšajo. Pomen telomeraz v procesu staranja po drugi strani zmanjšuje ugotovitev, da ima oksidativni stres večji učinek na hitrost izgube telomer, kot izguba telomerazne aktivnosti (18).

## 4 Zaključek

Spoznanja, ki so se o patofizioloških mehanizmih staranja nabrala v zadnjih letih, so zanikala prej popularno teorijo, da je staranje genetsko programiran proces. Danes je po splošnem prepričanju proces staranja odsev stohastičnih in torej po slučajnem vzorcu nastalih celičnih sprememb, ki se od posameznika do posameznika dogajajo različno, zaradi česar najdemo tudi glede trajanja starostnega obdobja in dogajanj, ki ga spremljajo, velike individualne razlike. Po drugi strani pa pred sto leti predlagana teorija »hitrosti življenja«, po kateri življensko dobo določa hitrost metaboličnih procesov, vsaj v grobih potezah, še vedno velja. Približno 50 let mlajše ugotovitve, da za okrog 30% znižan vnos kalorij za približno enak odstotek podaljša življensko dobo, so pripeljale do prve mehanistične povezave med hitrostjo metabolizma (pri tem so mišljeni predvsem oksidacijski procesi) in dolžino življenja. Prva, enostavna razlaga, tega pojava, po kateri zmanjšan vnos kalorij zniža raven ROS v celicah, zaradi česar se škodljive spremembe v organizmu nabirajo počasneje in zato ta živi dlje, se ni uspela potrditi v poskusih. Novejše raziskave, ki so jim bile že na voljo moderne molekularno biološke in druge tehnike so po eni strani ugotovile, da raven ROS v celicah ne določa le hitrost njihovega nastanka ampak tudi delovanje encimskih obrambnih sistemov, ki so se kot zaščita pred ROS razvili v celici. Če se raven ROS zaradi neuravnoveženosti med njihovim nastajanjem in njihovim odstranjevanjem zaradi kakršnegakoli vzroka spremeni, pride do proženja kompleksnih mehanizmov, ki v celici uravnavajo metabolne poti in se prek proženja s strani ROS vključujejo v raznih stresnih razmerah. Ti mehanizmi delujejo tudi na ravni genov, kjer prek aktivacije in inaktivacije raznih transkripcijskih dejavnikov, vplivajo na gensko prepisovanje pa tudi podvojevanje in s tem na delitveno sposobnost celic in vrsto drugih procesov, ki so povezani s staranjem. Povezave med procesi staranja in motnjami na ravni DNK so bile ugotovljene tako na ravni samih genov, kjer lahko mutacije enega samega gena močno skrajša ali podaljša življensko dobo, kot tudi na celični ravni, kjer so ugotovili, da je število delitev povezano z aktivnostjo telomeraz. Wernerjev sindrom pa je primer, kjer se dedna motnja na ravni podvajanja DNK, kaže kot hitrejša postaravnost celega organizma.

Med preprostimi živalskimi modeli, kjer je bilo pridobljenega največ znanja o molekularnih mehanizmih staranja in človekom, obstajajo velike razlike, kar vzbuja dvom o možnosti da bi ti mehanizmi na enak način delovali tudi pri človeku. Po drugi strani pa visoka konzervativnost komponent teh mehanizmov v posameznih živalskih vrstah in ugotovitve, da so nekateri od teh mehanizmov v nekoliko preurejeni obliki in v nekoliko drugačni soodvisnosti z drugimi sistemi prisotni tudi pri človeku, vzbujajo upanje, da bi bilo možno z ustreznimi posegi na farmakološki ravni ali kakimi drugimi sredstvi,

vplivati na procese staranja tudi pri človeku. Mnogi raziskovalci pa seveda že zdaj opozarjajo na vrsto etičnih, socialnih in ekonomskih problemov, ki bi jih taki posegi utegnili povzročiti.

**Zahvala** Avtor se zahvaljuje dr. Katarini Miš, asist. dr. Tomažu Maršu in asist. mag. Marku Jevšku za njihov trud pri izdelavi slik.

### 5 Literatura

1. Medvedev ZA. An attempt at a rational classification of theories of aging. *Biol Rev Camb Philos Soc*, 1990; 65: 375 – 398.
2. Kirkwood TBL. Understanding the odd science of aging. *Cell*, 2005; 120: 437-447.
3. Nemoto S, Finkel T. Ageing and the mystery of Arles. *Nature*, 2004; 429: 149-152.
4. Dufour E, Larsson N-G. Understanding aging: revealing order out of chaos. *Biochim Biophys Acta*, 2004; 1658: 122-132.
5. Rattan SI. Aging, anti-aging, and hormesis. *Mech Ageing Dev*, 2004; 125: 285-289.
6. Kirkwood TB, Austad SN. Why do we age? *Nature*, 2000; 408: 233-238.
7. Browner WS, Kahn AJ, Ziv E, Reiner AP, Oshima J, Cawthon RM, Hsueh WC, Cummings SR. The genetics of human longevity. *Am J Med*, 2004; 117: 851-860.
8. Harman D. Aging: a theory based on free radical and radiation chemistry. *J. Gerontol*, 1957; 2: 298-300.
9. McCord JM, Fridovich I. Superoxide dismutase. An enzymatic function for erythrocyperin (hemocuperin). *J Biol Chem*, 1969; 244, 6049-6055.
10. Finkel T, Holbrook NJ. Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing. *Nature*, 2000; 408: 239-247.
11. Weindruch R. Caloric restriction and aging. *Scient American*, 1996; Jan: 32 – 38.
12. Guarente L, Kenyon C. Genetic pathways that regulate ageing in model organisms. *Nature*, 2000; 408: 255-262.
13. Bordone L, Guarente L. Calorie restriction, SIRT1 and metabolism: understanding longevity. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2005; 6: 298-305.
14. Martin GM, Oshima J. Lessons from human progeroid syndromes. *Nature*, 2000; 408: 263-266.
15. Epstein CJ, Motulsky AG. Werner syndrome: entering helicase era. *Bioessays* 1996; 18:1025-1027
16. Dice JF. Cellular and molecular mechanisms of aging. *Physiol Rev*, 1993; 73: 149-159.
17. Cotran RS, Kumar V, Collins T. Cellular pathology II: Adaptation, Intracellular Accumulations, and Cell Aging. In: Robbins pathologic basis of disease. 6<sup>th</sup> ed. Philadelphia: W.B.Saunders Company, 1999: 31-49.
18. von Zglinicki T. Replicative senescence and the art of counting. *Exp Gerontol*, 2003; 38: 1259-1264.

# Bolezni starostnikov

## Diseases in elderly

Mišo Šabovič

**Izvleček:** Za pravilno obravnavanje zdravstvenih težav pri starejših moramo poznati in upoštevati nekatere značilnosti. Osnovni princip sodobne internistične geriatrije je celostna obravnava, ki zahteva skupno in istočasno obravnavanje bolezni, gerontoloških sindromov in okrnjenega funkcionalnega stanja. Med omenjenimi stanji obstaja namreč stalna povezava; okvara enega lahko povzroči okvaro drugih dveh in nadaljne poslabšanje. V takšnih primerih govorimo o »domino« sindromu. »Domino« sindrom preprečujemo z aktivnim iskanjem in ustreznim ojačanjem oz. zdravljenjem šibkih členov v verigi: bolezni, gerontoloških sindromov in funkcionalnega stanja. V zadnjih letih se je v ta namen uveljavil celovit geriatrični pregled (CGP) in celovit geriatrični pristop. CGP je natančen sistematični pristop, ki omogoča ustrezno in pravilno oceno zdravstvenega stanja starostnika, prepoznavanje bolezni in geriatričnih sindromov ter ugotavljanje funkcionalnega stanja bolnika. Posebno pozornost posvetimo devetim najpomembnejšim problemskim področjem starostnikov. Eno najpomembnejših področij je (neustrezno) jemanje zdravil in polipragmazija ter posledični pogosti stranski učinki zdravil. Zato bi kakovost obravnave starostnika nedvomno izboljšalo sodelovanje farmacevta s specifičnim znanjem geriatrične farmacije.

**Abstract:** The appropriate medical management of elderly population has specificities, which physicians should know and consider. A basic principle of modern geriatric medicine is a comprehensive and complex approach, that includes parallel management of disorders, gerontologic syndromes and functional (dys)ability, since these three factors are tightly connected. The disturbance of one of them results in disturbance of other two and further deterioration. This phenomenon is called "domino" syndrome. The strengthening of weak links in the chain of disorders, gerontologic syndromes and functional (dys)ability could prevent it. This can be achieved by using "comprehensive geriatric assessment", a recently introduced systematic approach. This approach allows appropriate and accurate estimate of patient's medical state. A particular attention is focused on ten issues; one of the most important is an inappropriate use of medications. Therefore, the pharmacist with specific knowledge of geriatric pharmacology would undoubtedly improve the quality of above-mentioned approach.

## Uvod

V zadnjih desetletjih se tako v Sloveniji kot v drugih delih razvitega sveta prebivalstva izrazito stara. Petinšestdeset let stari oziroma starejši bolniki že sedaj predstavljajo več kot polovico obravnavanih bolnikov v ambulantah in bolnišnicah. Poseben problem predstavlja zdravljenje bolnikov v domovih starejših občanov, posebej na negovalnih oddelkih. Različnost pristopa k internističnemu zdravljenju starejših in mlajših bolnikov je pripeljala do razvoja posebne stroke, (internistične) geriatrije, ki na svojstven način obravnava starejše bolnike. V prihodnjem desetletju lahko pričakujemo še dodatno izrazito povečanje deleža starejših bolnikov. Zato je potrebno v praksi udeležiti sodobne pristope za zdravljenje starostnikov, ki jih v primerjavi z »običajnim« pristopom odlikuje sistematičnost, racionalnost in večja učinkovitost ter verjetno tudi manjši stroški (1).

## Sodobni pristopi v geriatrični medicini - celovit geriatrični pristop

Specifično internistično obravnavo starejših bolnikov zaznamuje predvsem značilna istočasna prisotnost, vzročno-posledična povezanost in prepletenost treh stanj: bolezni, gerontoloških sindromov in okrnjenega funkcionalnega (fizičnega in psihičnega) stanja (4, 5). Vsa tri stanja slabšajo kvaliteto življenja, hkrati pa poslabšanje kateregakoli izmed treh brez ustreznega in hitrega zdravljenja poslabša ostali dve stanji, predvsem, kadar gre za istočasno motnjo le-teh. Vzpostavijo se značilne nepovratne pozitivne zanke, ki

povzročajo vse večji upad fizičnih in psihičnih funkcij, poslabšanje bolezni in gerontoloških sindromov. Pri akutnih boleznih in akutnih poslabšanih kroničnih boleznih te povezave poslabšajo zdravstveno stanje in se nemalokrat končajo s smrtjo straostnika.

Nov celostni pristop v obravnavanju starostnikov, ki so ga v zadnjih letih razvili v ZDA je rezultat spoznanj pomembnosti povezav med kroničnimi boleznimi, gerontološkimi sindromi in okrnjenim funkcionalnim stanjem (5, 6). Za tovrstni pristop je značilna sistematičnost, ki temelji na aktivnem iskanju popravljivih (šibkih) členov med kroničnimi boleznimi, gerontološkimi sindromi in funkcionalnim stanjem. Najdene popravljive (šibke) člene poskusimo omiliti ali ozdraviti in tako ojačati verigo zdravja. Ojačenje popravljivih (šibkih) členov verige tako ob akutnem poslabšanju stanja kot v stabilnem stanju je najpomembnejše načelo celostnega pristopa.

## Pomembna istočasna prisotnost več kroničnih (degenerativnih) bolezni

Starejši bolniki pogosto boleajo za več kroničnimi degenerativnimi boleznimi hkrati. S starostjo se njihovo število in izrazitost večajo, številni organski sistemi so vse bolj prizadeti. Kar 55% ljudi v starostni skupini nad 65 let ima pomembne simptomatske degenerativne spremembe na sklepih, 40% ima okvare sluha in 25% ima motnje vida. Omenjene bolezni predvsem vplivajo na funkcionalne sposobnosti starostnika. Več kot polovica posameznikov starejših od 65 let ima arterijsko hipertenzijo, vsaj polovica ima bolj ali manj izrazite

znake aterosklerotične bolezni (koronarna bolezen, možganska kap, periferna arterijska okluzivna bolezen). Srčni infarkt in njegovi zapleti so najpogostejši razlog umrljivosti. Najpogostejši in hkrati najslabše zdravljen dejavnik tveganja za aterosklerozo je arterijska hipertenzija. Narašča tudi pogostnost sladkorne bolezni tip II, malignih bolezni in kronične obstruktivne pljučne bolezni. S staranjem izrazito narašča pojavnost neurodegenerativnih bolezni, me njimi daleč najpomembnejša demenca. Ne smemo pa zanemariti depresije, pogostega in preredko prepoznanega stanja.

Dobra tretjina starejših bolnikov ima vsaj tri izmed navedenih kroničnih degenerativnih bolezni, delež bolnikov z omenjenimi kroničnimi boleznimi pa s staranjem dodatno narašča (2). Omenjene bolezni močno vplivajo na umrljivost in funkcionalno stanje starostnikov, hkrati pa zmanjšujejo fizične in psihične sposobnosti.

### Gerontološki sindromi

Pri starostnikih veliko pogosteje kot pri mlajših bolnikih opažamo značilna stanja, ki jih imenujemo gerontološki sindromi. Okvare oz. zmanjšanje določenih funkcij, ki so pomembne za zagotavljanje kvalitete življenja so odraz gerontoloških sindromov. Med najpogostejše gerontološke sindrome prištevamo inkontinenca urina, inkontinenca blata ali obstipacija, preležanine, depresijo, demenco, delirij, osteoporozo, slabšo prehranjenost, idr. Razlogi za pojav sindromov so različni, končna okvara pa je enaka. Poznavanje neposrednega vzroka je za zdravljenje ključnega pomena, vendar pogosto onemogočeno. S poznavanjem osnovne motnje lahko le-to omilimo ali povsem odstranimo, posredno pa omilimo tudi posledično nastali gerontološki sindrom. Znano je, da se gerontološki sindromi med hospitalizacijo še dodatno poslabšajo.

### »Domino« sindrom

Kronične bolezni, gerontološki sindromi in funkcionalno stanje so medsebojno vzročno-posledično povezani; ob poslabšanju enega izmed teh treh dejavnikov sledi poslabšanje ostalih dveh. Potek medsebojnega vplivanja je običajno počasen in postopen. Kompenzatorni mehanizmi postopno oslabijo, kronične bolezni in gerontološki sindromi postanejo vse bolj izraženi, funkcionalno stanje starostnika pa se slabša. Zdravstveno stanje bolnika starostnika pride do stopnje, ko že majhna motnja, ki vpliva na kateregakoli izmed naštetih dejavnikov, povzroči porušenje celotnega sistema; podobno kakor, da bi podrli eno domino, ki nato poruši celo skupino domin. Vsak poskus zdravljenja v tem napredovalnem obdobju je večinoma obsojen na neuspeh. Pri uspešnem zdravljenju starostnikov si za cilj zato zadamo preprečevanje pogojev, ki omogočijo nastanek »domino« sindroma. To preprečevanje je nadvse pomembno pri bolnikih zdravljenih v bolnišnicah in tudi pri bolnikih v domovih starejših občanov. »Domino« sindrom lahko uspešno preprečimo ali omilimo z iskanjem šibkih, a popravljivih členov omenjene verige.

### Strategija iskanja popravljivih (šibkih) členov in preprečevanje »domino« sindroma

Celostna geriatrična obravnava stremi k zagotavljanju stabilnosti verige oz. posameznih členov le-te, ki lahko prepreči »domino« sin-



**Slika 1:** Značilna povezava med kroničnimi boleznimi, gerontološkimi sindromi in funkcionalnim stanjem pri starostnikih, strategija iskanja popravljivih členov in »domino« sindrom.

drom (slika 1). Zelo številnih šibkih členov pogosto ne moremo jasno razpoznavati, zato je potrebno aktivno in sistematično iskanje. Iskanje in ojačenje šibkih členov je izjemno pomembno tako v primeru akutne bolezni kakor tudi v stabilnem obdobju starostnika. Pri prizadevanju za stabilnost verige moramo preveriti vse njene člene, torej kronične bolezni, gerontološke sindrome in okrnjene funkcionalne aktivnosti. Vsakemu odkritemu šibkemu členu poskušamo poiskati neposredni vzrok, kar nam omogoči ustrezno ukrepanje. Pogosto je možno »šibki« člen okrepiti z nefarmakološkimi ali farmakološkimi ukrepi in tako izboljšati zdravstveno stanje starostnika. Šibke člene najbolj sistematično poiščemo in nato, če je le možno omilimo z uporabo celovitega geriatričnega pregleda.

## Celovit geriatrični pregled

### Devet glavnih geriatričnih problemskih področij

Na izid zdravstvene obravnave starejših bolnikov najpomembneje vpliva devet glavnih problemskih področij (slika 2). Iskanje popravljivih členov na teh področjih lahko nedvomno bistveno izboljša oskrbo starejšega bolnika. Pomembna so sledeča področja:

#### 1. Diagnoze/bolezni

- seznam diagnoz oz. bolezni;
- razporejanje le-teh po resnosti, stopnji reverzibilnosti in vplivu na funkcije (mobilnost, prehranjenost, kognitive funkcije, kontinenca,...).

#### 2. Zdravila

- seznam vseh zdravil (tudi zdravil, ki se dobijo brez recepta);
- ocena smiselnosti in racionalnosti zdravljenja z uporabljenimi zdravili, ocena možnosti predoziranja, toksičnih in stranskih učinkov.



### 3. Prehranjenost

- ugotoviti stopnjo prehranjenosti (»body mass index«),
- seznam možnih etioloških dejavnikov pri podhranjenem bolniku in razporejanje le-teh po reverzibilnosti ter seznam ukrepov.

### 4. Kontinenca

- seznam možnih etioloških dejavnikov (bolezni, zdravila, spremembe bivalnega okolja, zaprtje,...);
- razporejanje etioloških dejavnikov po stopnji reverzibilnosti in seznam ukrepov.

### 5. Defekacija/obstipacija

- seznam možnih etioloških dejavnikov za zaprtje (bolezni, zdravila, nepokretnost, depresija,...);
- razporejanje etioloških dejavnikov po stopnji reverzibilnosti in seznam ukrepov.

### 6. Spoznavne funkcije

- točno opredeliti kognitivne motnje
- seznam možnih etioloških dejavnikov (bolezni, terapija, spremembe bivalnega okolja, depresija, zaprtje,...)
- razporejanje etioloških dejavnikov po stopnji reverzibilnosti in seznam ukrepov.

### 7. Čustva

- točno določiti anksioznost, agitacijo, depresijo, motnje spanja in apetita, pomanjkanje volje,...);
- seznam možnih etioloških dejavnikov (bolezni, zdravila, spremembe bivalne okolice, delirij, zaprtje,...);
- razporejanje etioloških dejavnikov po stopnji reverzibilnosti in seznam ukrepov.

### 8. Mobilnost

- točno opredeliti nepomičnost, hojo v in izven bivališča, uporabo transportnih sredstev;
- seznam možnih etioloških dejavnikov za zmanjšano mobilnost (bolezni, zdravila, depresija, inkontinenca, življenjski slog,...);
- razporejanje etioloških dejavnikov po stopnji reverzibilnosti in seznam ukrepov.

### 9. Sodelovanje pri zdravstveni oskrbi

- opredeliti aktivno in pasivno sodelovanje pri zdravstveni oskrbi;
- seznam možnih etioloških dejavnikov (neprimeren zdravstveni plan, neprimeren oskrbnik, bolezni, zdravila, depresija, motnje osebnosti,...);
- razporejanje etioloških dejavnikov po stopnji reverzibilnosti in seznam ukrepov.

Največ znanja in časa terja »obdelava« podatkov in iskanje ter potrjevanje vzrokov, ki so privedli do določene motnje. Raziskave kažejo, da se v večini primerov trud izplača, saj pogosto ugotovimo

dejavnike, ki do pregleda še niso bili obravnavani in na katere lahko vplivamo.

**Slika 2:** Kontrolni pomnilnik glavnih problemskih področij pri starostnikih; omogoča enostavno in pregledno spremljanje bolnika, potem ko je bil le-ta temeljito pregledan

Glavna problemska območja	Ocena obravnave
1 Diagnoze	So diagnoze pravilne in
2 Zdravila	zdravljenje ustrezno?
3 Prehranjenost	Sta privzem hranil in
4 Kontinenca	odvajanje
5 Defekacija	primerna?
6 Spoznavne funkcije	Kako bolnik razmišlja (demenca?),
7 Čustva	čustvuje (depresija?),
8 Mobilnost	in funkcionira?
9 Sodelovanje pri zdravljenju	Je sodelovanje vseh vpletenih oseb ustrezno?

Neustrezno zdravljenje z zdravili je izjemno pogosto, znanje zdravnikov na tem področju pa v večini primerov preskromno, zato je pri obravnavi bolnikov zaželeno sodelovanje farmacevtov s specifičnim znanjem geriatrične farmakologije. Takšen pristop je zakonsko uveljavljen v domovih za starejše občane v ZDA.

## Zaključek

Na povečevanje deleža starejših bolnikov mora konkretno, pravočasno in ustrezno odgovoriti tudi stroka. Predvsem gre za spremembe na dveh izjemno pomembnih nivojih: dodatno izobraževanje zdravnikov za specifično zdravljenje starejših in ustanovitev takoimenovanih »bolnišnic na domu«. Dodatno izobraževanje bi bilo nujno za zdravnike, ki delujejo v domovih za starejše in tudi za druge zdravnike, ki zdravijo starostnike.

Pomembno vlogo v obravnavanju starostnikov bi moral imeti tudi farmacevt s specifičnim znanjem geriatrične farmacije. Zanimivo je, da v ZDA že obstaja specializacija iz »geriatrične farmakologije« za farmacevte.

Druga sprememba je namenjena zmanjšanju hospitalizacij starejših. Zdi se, da bi bila ustrezna rešitev ustanovitev »bolnišnic na domu«. Princip delovanja takšne bolnišnice temelji na ohranjanju bolnikov v domačem okolju, zdravnik in medicinska sestra pa bolnika obiskujeta na domu in ga zdravita podobno kot v bolnišnici. V bolnišnici deluje več zdravnikov (in tudi farmacevt) različnih specializacij: delujejo kot »mobilna« bolnišnica. Takšne bolnišnice bi poleg izboljšanja kvalitete zdravljenja »starejših« in tudi drugih bolnikov, pri katerih ni nujna hospitalizacija, zmanjšale stroške zdravljenja hospitalizacija predstavlja pomemben delež v stroških zdravljenja. V tujini so se takšne bolnišnice izkazale za zelo uspešne.

Vključitev farmacevta v multidisciplinarni tim, ki skrbi za starostnike, bi nedvomno vplivala na kakovost in racionalnost obravnave starostnikov. Verjetno bi bilo potrebno pripraviti tudi nacionalne smernice za

zdravljenje starostnikov, pri katerih bi skupno sodelovali različni strokovnjaki in bi olajšali in izboljšali obravnavanje starostnikov.

Upamo, da nas ob uveljavljanju novih pristopov v prakso ne bo prehitel čas oz. staranje.

### Literatura

1. Landefeld CS. Improving health care for older persons. *Ann Intern Med* 2003; 139:421-4.
2. Ferri FF. Biology, epidemiology and demographics of aging. V: *Practical guide to the care of the geriatric patient*. (second edition). Ferri FF, Fretwell MD, Wachtel TJ (eds). Mosby; 1997; 9-13.
3. Cassel CK. Successful aging. How increased life expectancy and medical advances are changing geriatric care. *Geriatrics* 2001; 56:35-9.
4. *Comprehensive geriatric assesment V: Practical guide to the care of the geriatric patient*. (second edition). Ferri FF, Fretwell MD, Wachtel TJ (eds). Mosby; 1997; 9-13.
5. Gallo JJ, Fulmer T, Paveza GJ, Reichel WM, Paveza GJ. *Handbook of geriatric assesment*. Jones & Batlett Pub; 2003: 1-361.
6. *Comprehensive geriatric assesment. V: The Merck Manual of Geriatrics*. (third edition). Beers MH, Berkow R (eds). Merck Research Laboratories; 2000: 40-46.
7. Landefeld CS. Improving health care for older persons. *Ann Intern Med* 2003; 139:421-4.
8. Ferri FF. Biology, epidemiology and demographics of aging. V: *Practical guide to the care of the geriatric patient*. (second edition). Ferri FF, Fretwell MD, Wachtel TJ (eds). Mosby; 1997; 9-13.
9. Cassel CK. Successful aging. How increased life expectancy and medical advances are changing geriatric care. *Geriatrics* 2001; 56:35-9.
10. *Comprehensive geriatric assesment V: Practical guide to the care of the geriatric patient*. (second edition). Ferri FF, Fretwell MD, Wachtel TJ (eds). Mosby; 1997; 9-13.
11. Gallo JJ, Fulmer T, Paveza GJ, Reichel WM, Paveza GJ. *Handbook of geriatric assesment*. Jones & Batlett Pub; 2003: 1-361.
12. *Comprehensive geriatric assesment. V: The Merck Manual of Geriatrics*. (third edition). Beers MH, Berkow R (eds). Merck Research Laboratories; 2000: 40-46.

## DOTIK ALOE VERE

**Blagovna znamka Fruit of the Earth** temelji na razvoju nežnih, neagresivnih kozmetičnih izdelkov, ki so osnovani na naravnih sestavinah starodavnih rastlin.

**Izdelki niso preizkušeni na živalih**, saj je zavzeto načelo spoštovanja in odgovornosti do narave.

**Kot uvoznik, smo se v Bimedii pridružili** tej filozofiji, saj se zavedamo, da si z vsakodnevnego telesa posvečamo pozornost in si s tem izkazujemo ljubezen.

Verjamemo, da lahko uporaba izdelkov Fruit of the Earth v vaš vsak dan prinese trenutek ugodja, ki ga z ljubeznijo občutite na svoji koži.

Tokrat vam predstavljamo Aloe vera gel, edinstven izdelek iz linije Fruit of the Earth, ki predstavlja temelj blagovne znamke.



Alojin gel vsebuje od 96 do 99% vode in služi, ki vsebuje preko 200 različnih bioloških substanc, predvsem polisaharide. Le-ti v kombinaciji z ostalimi aktivnimi spojinami blagodejno delujejo na kožo pri:

- prekomernem sončenju,
- vnetju kože,
- kožnih obolenjih
- ognjokih
- drugih manjših poškodbah povrhnjice.

Aloe vera gel Fruit of the Earth je na slovenskem tržišču prisoten že od leta 1996. Vsakoletna rast prodaje kaže na dejstvo, da izdelek zadovoljuje zahtevne potrebe slovenskih kupcev.

**Za dodatne informacije smo vam na voljo:**

- Bimedia d.o.o., Šmartinska 10, Ljubljana
- kontakt: Aleš Hiti, 01/439-17-90, 041/704 - 429
- več o nas na: [www.bimedia.si](http://www.bimedia.si)

## Fruit of the Earth

**Učinkovita ljubezen do vaše kože!**

# Genska zdravila

## Gene-based medicines

Irena Mlinarič-Raščan

**Povzetek:** Genska zdravila so terapevtiki, ki vsebujejo rekombinanten genski material v obliki fragmentov nukleinskih kislin in se uporabljajo za nadomestitev genskega produkta ali za izničenje njegove funkcije. Prednost terapije z genskimi zdravili je v vzročnem pristopu k zdravljenju, pri katerem odpravljamo molekularno motnjo z dodajanjem ali odvzemanjem funkcije ciljnemu genu. Najšibkejša točka pri razvoju genskih zdravil je neuspešen transportni sistem, kar je vzrok slabemu ciljanju, toksičnosti in kratkotrajnosti terapije ter pojavu imunskih reakcij. Začetki razvoja genske terapije so bili usmerjeni predvsem v nadomestno terapijo monogenskih dednih bolezni, medtem ko je večina novih genskih zdravil namenjena zdravljenju kompleksnih obolenj kot so rak, imunska obolenja in nevrodegenerativne bolezni. Genska regulacije delovanja celic pri starostnikih je usmerjena predvsem v dvig kvalitete življenja. V skrbi za zdravje starostnikov vzbuja posebno veliko pozornosti genska terapija Alzheimerjeve bolezni.

**Ključne besede:** genska zdravila, Alzheimerjeva bolezen

**Abstract:** Gene-based medicines are therapeutic modalities of recombinant nucleic acids capable of interfering with gene function either by replacing its function or by silencing it. The main advantage of gene-based medicines is in targeting a molecular defect of treated pathogenesis. Current methods of gene delivery are still inadequate for successful applications and high efficiencies, causing unwanted toxicity and immune reactions. Genetic disorders that arise from mutations in a single gene are the best candidates for gene therapy. Despite this, recent developments of gene therapy are largely focused on treatment of complex disorders with combined effects of variations in many genes such as cancer, immune dysfunctions and neurodegenerative disorders. Modulation of gene function in geriatric population is intended to improve the quality of life of older persons. Gene therapy of Alzheimer's disease attracts a vast interest of researchers as well as geriatric population.

**Key words:** Gene therapy, Alzheimer's disease

### 1 Uvod

Izraz genska zdravila uporabljamo za terapevtike, ki vsebujejo genski material, kot so fragmenti nukleinskih kislin DNA ali RNA. Uporabljajo se za nadomestitev manjkajočega oziroma defektnega genskega produkta ali interferirajo z njegovim izražanjem. Začetki genske terapije segajo v leto 1990, ko je bila v ZDA odobrena prva klinična študija, in sicer za zdravljenje hude kombinirane imunske pomanjkljivosti (angl. severe combined immunodeficiency-SCID), vzrok katere je mutacija v genu za adenozin deaminazo. V celične kulture limfocitov T so z retovirusnim vektorjem vnesli zdrav gen za adenozin deaminazo (1). Pozneje so bile odobrene in izvajane še klinične študije v Milanu, Parizu in Londonu, ki so se uspešno zaključile za 17 pacientov, pri katerih je prišlo do rekonstrukcije imunskega sistema (2). Sicer uspešen razvoj genskega zdravljenja je leta 2003 zaustavilo nepričakovano poročilo o resnih stranskih učinkih genskega zdravljenja, ki so se pojavili pri pacientih s hudo kombinirano imunsko pomanjkljivostjo, vezano na X kromosom (X-SCID). Tri leta po sicer uspešnem genskem prenosu in rekonstrukciji imunskega sistema so se pri treh od skupno 15 pacientov pojavili znaki levkemije, kar je bila posledica integracije retrovirusnega vektorja v protoonkogen LMO 2 (3, 4). Ameriška agencija za hrano in zdravila (Food and drug administration, FDA) je po tem poročilu zaustavila 27 kliničnih poizkusov, pri katerih so uporabljali retrovirusne vektorje, kar je razvoj genske terapije zelo zavrla (5).

Začetki razvoja genske terapije so bili usmerjeni predvsem v nadomestno terapijo dednih obolenj, torej v dostavo zdravih genov v

izbrane celice ali tkiva, medtem ko je večina novih genskih zdravil usmerjena v zdravljenje rakastih obolenj in predstavlja v letu 2004 kar 60 odstotkov vseh kliničnih poskusov na področju genskega zdravljenja. Razvoj genskih zdravil je po podatkih svetovnega telesa ameriškega inštituta za zdravje (National Institute of Health-NIH, Recombinant DNA Advisory Committee-RAC) v zadnjih petnajstih letih spremljalo okrog 900 kliničnih študij, od tega okrog 600 v ZDA (6).

### 2 Genska zdravila

Gensko terapijo ali vnos genskih zdravil v celico izvajamo z namenom spremeniti funkcijo v genomu zapisani informaciji in s tem poseči v dejanski vzrok bolezni, ki je lahko posledica pomanjkljivega izražanja genov ali tvorbe nefunkcionalnega proteina, kakor tudi prekomernega izražanja genov ali sinteze prekomerno aktiviranega proteina. Z gensko modulacijo tako v primeru pomanjkanja funkcije gena dodajamo želeni gen, ki bo proizvajal manjkajoči protein. V primeru prekomerne aktivnosti bomo gen utišali ali poskušali doseči razgradnjo njegovih produktov. Z genskim zdravljenjem posegamo v bolezenska stanja, kjer je vzrok genske deformacije znan. Najuspešnejše so terapije monogenskih dednih bolezni, kot je primer cistične fibroze, kombinirane dedne pomanjkljivosti (SCID), nevrodegenerativnih obolenj, diabetesa in drugih. Genska zdravila pa se uveljavljajo tudi pri zdravljenju kompleksnih poligenetskih disfunkcij kot so rak, starostne demence in imunske disfunkcije. Osnovni pogoj pri načrtovanju genskega zdravila je dobro razumevanje molekularnih osnov bolezni (7).

### 2. 1 Opredelitev tarčne molekule

Iskanje genske motnje nekega bolezenska stanja je do nedavnega temeljilo na družinski anamnezi in segregaciji bolezni, ki se je pojavljala v družini po ključu dedovanja. Prav tako je iskanje odgovornega gena omogočala predhodna citogenetska analiza, ki je opredelila kromosomske nepravilnosti in posledično identifikacijo gena. Sodobni pristopi iskanja tarčnih molekul vključujejo tehnologije visokih zmogljivosti, kot so DNA mikročipi, ki omogočajo presejanje celotnega genskega prepisa celice, torej nekakšen odtis genske aktivnosti stanja celic. Primerjava genskih prepisov zdravih in patoloških celic, takoimenovana analiza diferencialne ekspresije genov, prikaže razlike na molekularnem nivoju, kar vodi v identifikacijo osnovne genske motnje (8).

### 2. 2 Načrtovanje genskih zdravil

Razvoj genskega zdravila je možen, ko je znan tarčni gen, funkcija kodiranega proteina in njegova ekspresija v specifičnih celicah in tkivih. Centralna dogma molekularne biologije pravi, da se v genomu zapisana informacija izrazi s prepisom v informacijsko RNA (mRNA) in njenim prevajanjem v aminokislinsko zaporedje. Modulacija v genomu zapisane informacije je torej možna na vseh stopnjah od DNA preko mRNA do proteina. Genska zdravila oblikujemo z namenom, da moduliramo osnovno motnjo in hkrati zadovoljimo principom optimalne terapije.

**Genski transfer.** Potreba po dodajanju genske funkcije je izražena v primeru delecije gena ali pri korekciji mutiranega, nefunkcionalnega gena. Dodajanje genske funkcije se uporablja tudi pri vnosu t.i. ubijalskih genov, ki s svojo ekspresijo povzročijo smrt celice, kar izkoriščamo pri genski terapiji raka. Naslednji primer je dodajanje *de novo* funkcije, kot je primer vnosa genskih zapisov encimov za aktivacijo predzdravil. Primer predstavlja citozin deaminaza, ki katalizira pretvorbo predzdravila v toksični 5-fluorouracil. Vnos in prepis celotnega gena je problematičen predvsem pri velikih genih, kot je primer pri genu za distrofin, katerega mRNA je dolga 14 kb in predstavlja resno oviro za uspešno gensko terapijo pri pacientih z Dushenovo mišično distrofijo (9).

**Delecija genske funkcije.** Oblikovanje genskih zdravil je možno tudi za utišanje genske funkcije ali izbris njegovega prepisa. Funkcijo prekomerno izraženega gena lahko moduliramo z dodatnim izražanjem mutirane kopije gena. Produkt mutiranega gena deluje po principu **dominanto negativne funkcije** (10). Najpogosteje se za utišanje genske funkcije uporabljajo **oligonukleotidna zdravila**. Tehnologija temelji na hibridizaciji komplementarnih fragmentov nukleinskih kislin, DNA in ali RNA. **Protismiselni oligonukleotidi** so oblikovni komplementarni fragmenti ciljanega gena ali mRNA. Z vezavo na mRNA se tvori kompleks dvoverižne RNA, ki ga specifično prepoznajo RNaze in razgradijo. Pri uporabi **alkilirajočih oligonukleotidov** ciljamo dvoverižno DNA, ki se zaradi posledičnega zamreženja ne prepisuje v RNA. **Interferirajoče RNA sekvence** predstavljajo najnovejše tipe genskih zdravil. Dvoverižna RNA (kratka, interferirajoča, siRNA) se veže v encimski kompleks, ki jo denaturira in ji omogoči vezavo na komplementarno mesto na tarčni mRNA, ki ga prepoznajo in razrežejo RNaze (11).

### 2. 3 Dostavni sistemi

DNA je relativno obstojna molekula, ki tudi prosto prehaja v celice in iz njih. Uspešnost terapije je odvisna od doseganja kriterijev kot so; (a) zahtevana učinkovita doza aplikiranega genskega zdravila, (b) ciljan

vnos v celico in /ali v jedro, (c) ustreznost integracija v genom in (d) čas izražanja vnesenega gena. Uspešna genska terapija mora biti celično in tkivno specifična, kar zahteva načrtovanje ciljnega dostavljanja. Izbira dostavnega sistema poteka sočasno z oblikovanjem genskega fragmenta in je pogojena z naravo genske motnje ter specifikom celice, v katero želimo vnesti zdravilo. S tehnologijo rekombinantne DNA vnesemo genske fragmente v ustrezen vektor, ki bo omogočil uspešen vnos dednega materiala v celico oziroma njeno jedro (12).

#### 2.3.1 Nevirusni vektorji

Najenostavnejša metoda aplikacije bi bila seveda **aplikacija gole DNA**, vendar njen prehod v večino celic in tkiv ni enostaven. Mišične celice sicer lahko sprejmejo DNA, ko je elektroporirana ali injicirana v procesu obstreljevanja celice z DNA.

**Uporaba kationskih liposomov** omogoča prenos linearne in plazmidne DNA ter RNA. Liposome lahko apliciramo tudi *in vivo* (i.v. ali v tkivo). Liposomi, ki vsebujejo terapevtsko DNA, so sposobni preiti plazemsko membrano tarčne celice. Vnos terapevtske DNA lahko dosežemo tudi s kemično vezavo DNA na molekulo, ki se veže na specifične celične receptorje, nato pa se ovije s plazemsko membrano tarčne celice in prehaja v notranjost.

Liposomi, prekriti s polimeri polietilen glikola (PEG), se uporabljajo tudi za prenos genov v možgane, saj so virusni vektorji preveliki za prehod hematoencefalne bariere (13). Najnovejše raziskave dostavnih sistemov, ki prihajajo iz Univerze Case Western Reserve in Copernicus Therapeutics (Ohio, Cleveland), vključujejo izdelavo tako imenovanih nano-liposomov premera 25 nm, ki lahko prenašajo terapevtsko DNA tudi skozi pore jedrne membrane (14).

#### 2.3.2 Virusni vektorji

Za vnos genskih zdravil v celice se poslužujemo virusnih vektorjev, ki so primerno modulirani, in izkoriščamo le njihovo sposobnost prodiranja v celico in vnosa genskega materiala (12). **Retrovirusni vektorji** se uporabljajo najpogosteje. Gre za RNA viruse, ki lahko okužijo le celice, ki se hitro razmnožujejo, preneseno genetsko informacijo preprišejo v DNA, ki se nato integrira v gostiteljski genom. Retrovirusne vektorje uporabljamo pri *ex vivo* modulacijah celic z zadovoljivo proliferacijsko sposobnostjo. Ne moremo jih uporabljati pri živčnih, mišičnih, jetrnih ali pljučnih celicah. Slaba stran retrovirusne terapije je v slabi integraciji v genomsko DNA, saj se virusni vektor z DNA iz organizma odstrani že po kakem tednu. Bolj uspešno se uporabljajo spremenjeni **lentivirusi**, med katere spada tudi HIV, sicer tudi RNA virus. Prednost lentivirusnih vektorjev je boljša integracija v genom in zadovoljiva ekspresija vnesenega gena, ki ostane stabilen do šest mesecev po vnosu, ter sposobnost infekcije celic, ki se ne delijo. Kot vektorji se uporabljajo tudi **adenovirusi**, ki so virusi z dvoverižno DNA. Sposobni so infekcije celic v mirovanju in med delitvijo ter se ne integrirajo v genom inficirane celice, pač pa se razmnožujejo ekstrakromosomsko. Prav tako se uporabljajo **adeno-pridruženi virusi z enoverižno DNA**, ki lahko vgradijo genetski material na točno določeno mesto na kromosom 19.

### 2.4 Selekcija ciljnih celic

Moralna in etična načela današnje družbe dovoljujejo spremembo genskega materiala somatskih celic, medtem ko je genska manipulacija človeških zarodnih celic etično vprašljiva.

Gensko zdravilo se v celico lahko vnese zunaj telesa, modificirana celica se nato transplantira nazaj v pacienta, ali pa se zdravilo aplicira in se terapija izvaja v telesu (12). **Ex vivo:** celice najprej odstranimo iz pacienta ali darovalca in jih vzgajamo v kulturi ter jih genetsko modificiramo *in vitro*. Selekcionirane in pomnožene celice nato vnesemo v pacienta, kjer delujejo kot biološka mikročrpalka za izločanje nekega proteina. **In situ:** Gensko zdravilo apliciramo lokalizirano v nek organ. **In vivo:** Gre za sistemski vnos genskega zdravila, ki kroži po organizmu, po možnosti pa se ciljno vsadi v zelene celice in direktno modificira gostiteljski genom. Prednosti *in vivo* genske terapije je predvsem v enostavnosti postopka, saj se vnos gena izvede z vbrizganjem vektorja v tarčni organ ali obtok. Med pomanjkljivosti pa sodijo nespecifičnost infekcije tarčnih celic, toksičnost in sprožitvev imunskega odziva. Prednosti *ex vivo* genskega vnosa so v možnosti selekcije izbranih celic, kar omogoča ciljno dostavo, možnost izvedbe testov integracije, nivoja ekspresije in imunokompatibilnosti. Nujen pogoj za izvedbo terapije je, da se celice delijo in jih lahko vzdržujemo v *in vitro* pogojih, kot npr. primarne fibroblaste, matične celice, tumorske celice, Schwannove celice ali endotelne celice.

## 3 Genska terapija pri Alzheimerjevi bolezni

### 3.1 Alzheimerjeva bolezen kot posledica prekomerne smrti nevronov

Staranje celice in posledično organizma lahko razlagamo s teorijo poškodbe celice, ki naj bi bila rezultat akumuliranih mutacij, pa tudi s teorijo programiranega staranja, torej genetske regulacije procesa staranja celice. Vsaka celica ima namreč kodiran program svoje smrti, njen propad je fiziološko reguliran proces, imenovan apoptoza. To je gensko reguliran proces, ki se sproži po vplivu dejavnikov iz okolja, dejansko pa gre za odgovor celice, ki ni več sposobna popravljati napak, ki jih povzroči neka poškodba. Z razumevanjem molekularnega delovanja celic in vzdrževanjem homeostaze med proliferacijo in apoptozo lahko posežemo v proces staranja, v najpreprostejši obliki s preprečevanjem faktorjev poškodb celice, kot so izogibanje ultravijoličnim žarkom ter s sodobnimi oblikami genske manipulacije (15).

Primer genske terapije, ki je še prav posebej aktualna v starostnem obdobju, je genska modulacija nevronske aktivnosti pri Alzheimerjevi bolezni, ki je najpogostejša nevrodegenerativna bolezen, in sicer prizadene v Sloveniji okrog 10.000 bolnikov, v ZDA pa naj bi bilo pacientov več kot 10 milijonov. Predstavlja vzrok skoraj 60% vseh starostnih demenc. Število bolnikov narašča predvsem zaradi staranja prebivalstva, saj bolezen večinoma prizadene starejše od 65 let, in sicer je incidenca v tej starostni skupini 5-10%. Bolezen je posledica izgube nevronov v subkortikalnih bazalnih segmentih, ki so pomembni za sintezo živčnih prenašalcev, kar se odraža v pomanjkanju acetilholina, noradrenalina in serotonina. Klinična slika bolezni, značilna prisotnost amiloidnih plakov in izguba sinaps pri Alzheimerjevi bolezni korelirajo z degeneracijo holinergičnega sistema, ki namreč modulira aktivnost nevronov v tarčnih regijah in naj bi bil odgovoren za kognitivno sposobnost posameznika (16).

Zdravljenje Alzheimerjeve bolezni je simptomatsko, lajša posledice bolezni in upočasnjuje napredovanje znakov bolezni. Terapije, ki

poskušajo zmanjšati ali preprečiti disfunkcijo holinergičnih nevronov, izboljšajo kognitivno funkcijo. Najpomembnejša zdravila spadajo v skupino zaviralcev acetilholinesteraze, ki povečujejo nivo acetilholina v možganih. Inhibitorji acetilholinesteraze imajo le skromen vpliv na ostale simptome, kot so nemir, depresija, motnje spanja. Razvoj novih terapevtikov je usmerjen v preprečevanje izgube nevronov, kar naj bi omogočilo dvig živčnih funkcij ali celo preprečilo izgubo celic. Veliko pozornosti se posveča raziskavam ravnih faktorjev živčnega sistema, za katere je znano, da povečujejo preživetje in ohranjajo funkcijo nevronov (17).

### 3.2 Vloga živčnega rastnega dejavnika

Živčni rastni dejavnik (angl. nerve growth factor – NGF) spada med nevrotrofične molekule, ki v razvojnem obdobju živčevja spodbujajo rast, diferenciacijo in preživetje razvijajočih se živčnih celic. V odraslem obdobju je NGF odgovoren za inhibicijo intrinzičnih mehanskih apoptoz. Na ta način prispeva k ohranjanju njihovega fenotipa in morfoloških značilnosti (18). Pomanjkanje trofične podpore povzroči apoptozo živčnih celic tako po poškodbi možganov (mehanske poškodbe, vnetje, virusne okužbe) kot tudi pri nevrodegenerativnih boleznih, odgovorno pa naj bi bilo tudi za starostno odmiranje živčnih celic. Prav zato so se v zadnjih letih raziskave usmerile v intenzivno proučevanje njihove potencialne terapevtske vloge pri zdravljenju nevrodegenerativnih obolenj in poškodb živčnega sistema. V centralnem živčnem sistemu so identificirali številne nevrotrofične molekule, ki jih glede na podobnost lahko razvrstimo v več družin. Najbolje preučena je družina »klasičnega neurotrophina«, ki združuje NGF, neurotrophin-3 in neurotrophin-4/5. NGF je prototip družine, izločajo ga nevroni hipokampusu in neokorteksa tekom celotnega življenjskega obdobja, veže se na specifične receptorje, ki so prisotni na holinergičnih aksonskih končičih. Nato se retrogradno transportira do telesnih holinergičnih celic. NGF deluje tudi lokalno na aksonski končič, in sicer signalizira preko rTrkA in p75NTR receptorjev ter aktivira signalno pot preko tirozin kinaz. Nivo NGF proteina je pri Alzheimerjevih pacientih znižana v subkortikalnih nevronih, medtem ko je nivo ekspresije v korteksu in hipokampusu nespremenjen.

Pri delu na eksperimentalnih živalskih modelih so odkrili, da vodi dodajanje NGF v odrasle možgane do manjše izgube holinergičnih celic in reverzno holinergično atrofijo pri staranju. Na osnovi takih raziskav se je porodila domneva, da bi bilo lahko dovajanje NGF potencialna terapija pri Alzheimerjevih bolnikih. Možen način modulacije izražanja subkortikalnih nevronov je genska terapija, s katero dosežemo lokaliziran, ciljan in omejen vnos NGF v možgane (19).

### 3.3 Genska terapija z ravnim faktorjem

Terapija z NGF naj bi predvsem doprinesla k regeneraciji subkortikalnih bazalnih holinergičnih nevronov, kar predstavlja le delno regeneracijo nevronov. Za uspešno zdravljenje bo z vnosom več specifičnih ravnih faktorjev potrebno ciljati tudi druge populacije nevronov. Koncept genskega vnosa ravnih faktorjev je lahko pomemben tudi pri zdravljenju drugih nevrodegenerativnih boleznih, npr. Parkinsonove bolezni, Huntingtonove bolezni in amiotrofne lateralne skleroze (20).

Julija 2004 se je pričela izvajati 1. faza klinične študije genske terapije z živčnim ravnim faktorjem CERE-110 (21). Kot vektor se uporablja tip adeno-priduženega virusa. Namen prve faze študija je določiti

potrebno dozo, tolerabilnost in biološko aktivnost genskega zdravila oziroma učinkovitost in varnost genskega transferja. V 1. fazi klinične študije bo vključenih šest pacientov z milejšo obliko bolezni. CERE-110 je oznaka za zdravilo, ki ima rekombinanten NGF vključen v adeno-pridružen tip vektorja. Pacienti bodo podvrženi injiciranju genskega zdravila CERE-110 v regije možganov. Aplikacija zdravila je ciljana obojestransko v točno predpisan segment možganov. Predviden je vnos dveh doz zdravila, nato štiritedensko opazovanje. V primeru, da se bo zdravilo izkazalo za varno, bodo aplikacijo po treh mesecih ponovili. Opazovali bodo serijo varnostnih in nevrofizioloških parametrov. Glavno vprašanje je, ali bo NGF značilno zmanjšal upad kognitivnih funkcij in ali NGF poveča aktivnost preostalih holinergičnih nevronov v možganih zdravljenih pacientov.

### 4 Regulatorni postopki pri genski terapiji

Evropska agencija za zdravila (EMA, European Medical Agency) ima oblikovano telo strokovnjakov za gensko terapijo, ki izdaja priporočila na področju genske terapije. Sicer pa so v državah evropske unije dovoljenja za izvajanje kliničnih študij genske terapije v pristojnosti nacionalnih komisij za biomedicinsko etiko oziroma relevantnih ministrstev. Zakonodaja, interpretacija in dovezetnost za nove terapije se med posameznimi državami EU razlikujejo (22). V ZDA izvajata nadzor nad postopki genske terapije FDA in NIH oziroma njegovo svetovalno telo RAC, ki svetuje o primernosti postopkov genske terapije, vodi pa tudi javno dostopno bazo podatkov o kliničnih preskusih (23).

### 5 Zaključek

Razvoj genskih zdravil in terapevtskih postopkov je v razmahu, predvsem v letih po končanem sekveniranju humanega genoma, ko so postali znani številni novi geni in smo v fazi odkrivanja genskih osnov patologij. Tako razvoj tehnologije rekombinantne DNA in tehnologij visokih zmogljivosti kakor tudi poznavanje molekularnega ustroja celice omogočata uspešne in ciljane manipulacije genetskega materiala od genomske DNA do informativne RNA (mRNA). Kljub ogromnemu napredku znanja in razumevanja mehanizmov pa je uveljavitev genske terapije v klinični praksi še vedno v fazi kliničnih testiranj in pod ostrim nadzorom strokovnih in regulatornih oblasti. Kritike, da genska terapija ne izpolnjuje pričakovanega hitrega napredka, so dejansko opravičljive z velikim številom različnih kliničnih poskusov, ki se ukvarjajo z reševanjem kompleksnih genskih disfunkcij, kot so rakasta obolenja in neurodegenerativne motnje.

### 6 Literatura

1. Blaese RM, Culver KW, Anderson WF. The ADA human gene therapy clinical protocol. *Hum Gene Ther* 1990; 1: 331-337.
2. Cavazzana-Calvo M, Fischer A. Efficacy of gene therapy for SCID is being confirmed. *Lancet* 2004; 364: 2155-2156.
3. Cavazzana-Calvo M, Thrasher A, Mavilio F. The future of gene therapy. *Nature* 2004; 427: 779-781.
4. Cavazzana-Calvo M, Hacein-Bey-Abina S, Fischer A. Gene therapy of X-linked severe combined immunodeficiency. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2002; 2: 507-509.

5. *Cellular & Gene Therapy*. (10. 3. 2005). US Food and Drug Administration. Pridobljeno 1. 4. 2005 s svetovnega spleta: .
6. Crofts C, Krimsky S. Emergence of a scientific and commercial research and development infrastructure for human gene therapy. *Hum Gene Ther* 2005; 16: 169-177.
7. Mueller RF. *Emery's Elements of Medical Genetics*. 11<sup>th</sup> ed. Leeds: Churchill Livingstone, 2001.
8. Glenys T. Mapping of disease loci. V: Kalow W. *Pharmacogenomics*. 1<sup>st</sup> ed. New York: Marcel Dekker, Inc., 2001.
9. Romero NB, Braun S, Benveniste O et al. Phase I study of dystrophin plasmid-based gene therapy in Duchenne/Becker muscular dystrophy. *Hum Gene Ther* 2004; 15: 1065-1076.
10. Suto R, Tominaga K, Mizuguchi H et al. Dominant-Negative Mutant of C-Jun Gene Transfer: A Novel Therapeutic Strategy for Colorectal Cancer. *Gene Therapy* 2004; 11: 187-193.
11. Ill CR, Chiou HC. *Gene Therapy Progress and Prospects: Recent progress in transgene and RNAi expression cassettes*. *Gene Ther* 2005; 7: [pred objavo]
12. Gardlik R, Palffy R, Hodosy J et al. Vectors and delivery systems in gene therapy. *Med Sci Monit* 2005; 11: RA110-121.
13. Huwyler J, Wu D, Pardridge WM. Brain drug delivery of small molecules using immunoliposomes. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996; 93:14164-14169.
14. *Gene Therapy*. (19. 10. 2004). Human Genome Program. Pridobljeno 29. 4. 2005 s svetovnega spleta: [http://www.ornl.gov/sci/techresources/Human\\_Genome/medicine/genetherapy.shtml](http://www.ornl.gov/sci/techresources/Human_Genome/medicine/genetherapy.shtml).
15. Mlinarič-Raščan I. Molekularni mehanizmi programirane celične smrti. *Farm Vestn* 2000; 51: 295-299.
16. Humpel C, Weis C. Nerve growth factor and cholinergic CNS neurons studied in organotypic brain slices. Implication in Alzheimer's disease? *J Neural Transm Suppl* 2002; (62): 253-263.
17. The role of nerve growth factor receptors in cholinergic basal forebrain degeneration in Alzheimer disease. *J Neuropathol Exp Neurol* 2005; 64: 263-272.
18. Ullrich A, Gray A, Berman C et al. Human beta-nerve growth factor gene sequence highly homologous to that of mouse. *Nature* 1983;303: 821-825.
19. Tuszynski MH, Sang H, Yoshida K et al. Recombinant human nerve growth factor infusions prevent cholinergic neuronal degeneration in the adult primate brain. *Ann Neurol* 1991; 30: 625-636.
20. Tuszynski MH, Sang H, Alksne J et al. Growth factor gene therapy for Alzheimer disease. *Neurosurg Focus* 2002; 13:1- 5.
21. CERE-110 in Subjects with Mild to Moderate Alzheimer's Disease. *ClinicalTrials.gov*. (25. 5. 2005). US National Institutes of Health. Pridobljeno 29. 4. 2005.s svetovnega spleta: .
22. Report from the CHMP Gene Therapy Expert Group Meeting. (27. 10. 2004). EMA/CHMP/ 127803/2004.
23. NIH and FDA Launch New Human Gene Transfer Research Data System. *NIH News*. (26. 3. 2004). National Institutes of Health. Pridobljeno 1. 4. 2005 s svetovnega spleta: .

# Transplantacija pri starostnikih

## Transplantation in elderly

dr. Matjaž Jeras

**Povzetek:** Nezadržno staranje prebivalstva terja ustrezne pristope k terapevtski obravnavi številnih akutnih in kroničnih bolezni starostnikov. Allogenska transplantacija darovanih organov in tkiv predstavlja pomemben način zdravljenja določenih bolezenskih stanj tudi v starosti. Za zagotovitev učinkovitega in varnega presajanja pa moramo upoštevati spremembe v delovanju imunskega sistema, ki so posledica staranja, pogoste komorbidnosti ostarelih bolnikov ter naravo in potek bolezni, ki jih skušamo na ta način pozdraviti. Sedanji pristopi k presajanju tkiv in organov so skupaj z razvojem novih transplantacijskih postopkov usmerjeni predvsem v zagotavljanje bistveno manjšega tveganja za prejemnika in za izboljšane učinkovitosti samega posega.

**Ključne besede:** *imunska senescenca; transplantacija ledvic; transplantacija kostnega mozga.*

**Abstract:** The inevitable ageing of human population is a driving force for development of adequate therapies aimed at treating numerous acute and chronic diseases in elderly. Allogeneic organ and tissue transplantation is remaining an attractive and important therapeutic approach in aged patients. In order to assure efficient and safe transplantation, alterations in immune system caused by immunosenescence, frequent comorbidities in older patients as well as the nature and course of their transplantation-treatable diseases, must fully be considered. Current approaches to tissue and organ transplantation together with development of new techniques in this field, are directed towards providing a lower risk for transplant recipients as well as improved overall efficiency of the procedure itself.

**Keywords:** *immunosenescence; kidney transplantation; bone – marrow transplantation.*

### 1 Uvod

Samo v prejšnjem stoletju smo ljudje pridobili več let pričakovane povprečne življenske dobe kot v zadnjih 10.000 letih skupaj, kar je poleg boljših splošnih življenjskih razmer ter prehrane najverjetneje posledica uporabe antibiotikov in različnih cepiv. To izjemno povečanje možnosti za daljše preživetje, je skupaj z vse manjšo rodnostjo, ki prevladuje v razvitem delu sveta, ustvarilo nepredvidene demografske razmere, v katerih prevladuje ostarelo prebivalstvo. Število ljudi, ki so stari 60 let ali več je v številnih zahodnoevropskih državah že doseglo razmerje 1 / 4. Če pa se bo takšen trend nadaljeval, bi lahko že leta 2050 dosegli odnos 1 / 3 (1). Med ostarelimi pa je prav najstarejša skupina ljudi (>85 let) tista, katere število se najhitreje povečuje. Ker v svetu medicina hitro napreduje in se v splošnem zdravstvena oskrba prebivalstva ves čas izboljšuje, je jasno, da se bo omenjeni trend še nadaljeval.

Med staranjem se zmanjšuje homeostatska sposobnost organizma, s tem pa se povečuje njegova ranljivost, kar se kaže v zmanjšani odzivnosti na okoljske dražljaje in v povečani nagnjenosti k obolenju in smrtnosti. Znano je, da se obseg umrljivosti med osebami, stari mi več kot 60 let povečuje 25- krat hitreje, glede na tiste v starostni skupini od 25 – 44 let. Vzroki za smrtnost pri ostarelih so v primerjavi z osebami stari mi med 25 in 44 let v primeru določenih bolezni izrazito pogostejši, naprimer pri raku za 43-krat, pljučnici in gripi za 89-krat, pri srčnih boleznih za 92-krat ter pri možganski kapi in kroničnih pljučnih boleznih za več kot 100-krat (2). Vsi ti podatki kažejo na izjemno pomembno vlogo imunosti v starosti, saj je dojemljivost za večino bolezni v precejšnji mere povezana prav z učinkovitim delovanjem imunskega sistema. Spremembe v njegovem delovanju pa

seveda pomembno vplivajo tudi na uspešnost presajanja tkiv in organov v tem življenjskem obdobju.

Število bolnikov z dokončno odpovedjo ledvic se stalno povečuje. V večini držav razvitega dela sveta je danes povprečna starost pacientov na dializi približno 65 let (3). Presaditev ledvic je tudi v primeru starejših bolnikov postopek, ki predstavlja veliko boljši način zdravljenja kot dializa. Poleg velikega števila ostarelih pacientov pa postajajo vse starejši tudi nesorodni umrli darovalci organov. Zaradi vse večje potrebe po darovanih organih se je v zadnjih nekaj letih močno spremenil odnos do uporabe le-teh tudi v primeru starejših donorjev. Tako prihajajo vse bolj v ospredje transplantacijski programi, ki upoštevajo usklajevanje starosti darovalca in prejemnika. Primer takšnega pristopa je program »stari za stare«, ki teče v okviru Eurotransplanta, neprofitne mednarodne organizacije za izmenjavo organov nesorodnih umrlih darovalcev, katere polnopravna članica je od leta 2000 tudi Slovenija. Seveda pa takšni pristopi poleg etičnih odpirajo tudi številna druga vprašanja povezana predvsem z njihovo uspešnostjo in ekonomsko vrednostjo.

Tudi na področju presajanja kostnega mozga oziroma krvotvornih matičnih celic (KMC) za zdravljenje malignih hematoloških bolezni, zlasti različnih vrst levkemij, je bila starost bolnikov in darovalcev dolgo časa omejitveni dejavnik. Vzrok za to so zelo agresivni mieloablativni protokoli za pripravo bolnikov na transplantacijo (visoki sistemski odmerki kemoterapevtikov ali obsevanje celotnega telesa), s pomočjo katerih uničijo njihov oboleli kostni mozeg in ki jih lahko prežive le mlajši pacienti z ustrešno kondicijo. V zadnjih letih pa so uspeli razviti nemieloablativne postopke kondicioniranja, ki bistveno zmanjšujejo obolevnost in umrljivost bolnikov in so zato primerni tako za starejše kot za, z medicinskega stališča, šibkejše bolnike (4).

## 2 Spremembe v imunskem sistemu starostnikov

S staranjem organizma se zmanjšuje učinkovitost njegovih zaščitnih oziroma obrambnih mehanizmov, za katere skrbi imunski sistem. Proces, ki je odgovoren za takšne negativne spremembe imenujemo imunska senescenca. To je pojem, ki ga je leta 1969 utemeljil Roy Walford (5). Prizadeti sta tako prirojena kakor tudi pridobljena imunost. Prvo opredeljujejo razmeroma omejene zmožnosti v smislu imunskega odziva medtem ko je druga, zahvaljujoč številnim izjemno polimorfnim različicam receptorjev in njihovih ligandov, neverjetno raznovrstna in prilagodljiva. Med pglavitne dejavnike prirojene imunosti sodijo dendritične celice (DC), makrofagi, naravne celice ubijalke (NK) ter sistem komplementa, za pridobljeno imunost pa so odgovorni limfociti T (CD4<sup>+</sup> in CD8<sup>+</sup>) in B. Osnovni mehanizem delovanja prirojene imunosti je nastanek povišane telesne temperature, s katero poskuša organizem uničiti povzročitelja okužbe. Ljudje, ki so stari več kot 65 let pa pogosto tudi v primeru resnih bakterijskih okužb nimajo vročine, najverjetneje zato, ker je njihov centralni živčni sistem premalo dojemljiv za imunske dražljaje (citokini in drugi dejavniki vnetja) in ne reagira dovolj hitro in učinkovito na infekcijo. Zaradi daljše življenjske dobe mora naš imunski sistem delovati dlje, pri čemer pa stalno slabi. Zato se lahko v organizmu postopoma pojavijo razmere, ki vodijo v kronično vnetje, to pa nato prizadene vse organe in v navezi z genetskimi predispozicijami povzroči za starost značilne kronične bolezni (osteoporozna, diabetes tipa 2, Alzheimerjeva bolezen, ateroskleroza).

Senescenco pridobljene imunosti pa v glavnem povzročajo spremembe v populacijah limfocitov T. V starosti se namreč močno zmanjša število naivnih limfocitov T, to je celic, ki še niso prišle v stik z antigeni. Nadomestijo jih določeni kloni spominskih limfocitov T, ki pa imajo le omejen repertoar prepoznavanja antigenov, saj jih lahko aktivirajo le tisti, ki so tekom življenja povzročili njihovo klonalno ekspanzijo (6, 7, 8). Takšne spominske celice, čeprav je njihovo število običajno veliko, lahko torej prepoznavajo le omejen nabor antigenov. Nasprotno pa staranje ne vpliva bistveno na celokupno število limfocitov B. Vidne so le spremembe v njihovem repertoarju med imunskim odzivom, saj spremenjeni spekter izraženih imunoglobulinskih genov ter povečana frekvenca somatskih mutacij vplivata na kakovost, pri čemer pa ne nujno tudi na obseg protitelesnega imunskega odziva (9). V tabelah 1 in 2 so predstavljene ključne spremembe celične in protitelesne imunosti, ki so posledica staranja:

**Tabela 1. Spremembe celično posredovane imunosti.**

Dejavnik	Sprememba
Število spominskih limfocitov T	+
Število naivnih limfocitov T	-
Število CD8 <sup>+</sup> CD28 <sup>-</sup> limfocitov T	+
Število limfocitov T, aktiviranih in vivo	+
Število avtoreaktivnih limfocitov T	+
Celična aktivacija in proliferacija	-
Učinkovitost celic T pomagalik (CD4 <sup>+</sup> ) in citotoksičnih limfocitov T (CD8 <sup>+</sup> )	-
Proizvajanje interleukina-2 (IL-2)	-
Izražanje receptorjev za IL-2	-
Proizvajanje interleukinov-6 in -10 (IL-6, IL-10)	+
Prepoznavanje molekul pglavitnega kompleksa tkivne skladnosti – antigenov HLA (Human Leukocyte Antigens)	-

**Tabela 2. Spremembe protitelesne imunosti.**

Dejavnik	Sprememba
Število na antigene odzivajočih se limfocitov B	-
Število klonalno namnoženih limfocitov B	+
Število limfocitov B, aktiviranih in vivo	+
Število avtoreaktivnih limfocitov B	+
Izražanje transmembranskih imunoglobulinov	-
Celokupna proizvodnja IgG <sub>1</sub> , IgG <sub>2</sub> , IgG <sub>3</sub> in IgA	+
Celokupna proizvodnja IgM in IgG <sub>4</sub>	-
Proizvajanje visoko-afinitetnih protiteles	-
Proizvajanje protiteles zoper organizmu tuje antigene	-
Proizvajanje protiteles zoper avtoantigene	+

Na prvi pogled bi torej lahko rekli, da so spremembe imunskega sistema starostnikov ugodne za transplantacijo, saj bi lahko omogočale zmanjšano sposobnost za nastanek in potek imunskih odzivov na tuje tkivo (aloreaktivnost) ter s tem vplivale na obseg zavrnitvenih oziroma aloimunskih reakcij po presaditvi. Seveda pa največkrat temu ni tako. Ne smemo namreč pozabiti, da je alogenski imunski odziv pri človeku zaradi vpletenosti do 10% vseh limfocitov T izjemno obširen in učinkovit. Poleg tega pa šibkejši imunski mehanizmi, ki jih še dodatno oslabi obvezna imunosupresivna terapija, niso kos številnim izzivom, ki jih poleg aloreaktivnosti transplantacija povzroča. Zato pri starejših ljudeh po takšnem posegu poleg zavrnitvenih reakcij oziroma nastanka bolezni presadka zoper gostitelja, obstaja tudi zelo velika nevarnost usodnih infekcij ali pojava sekundarnih malignih obolenj.

## 3 Transplantacija ledvic umrlih nesorodnih darovalcev

Ključni dejavnik, ki odloča kateri od starostnikov bodo ostali na dializi in kateri so kandidati za presaditev ledvic, je komorbidnost. Sicer pa obstajajo številni dokazi o tem, da starost sama po sebi ne predstavlja kontraindikacije za transplantacijo ter da je takšna terapija varna in da zagotavlja približno dvakrat daljše preživetje bolnikov s presadkom, kot pa če bi se zdravili z dializo (10, 11). Višja starost ob presaditvi izrazito negativno vpliva na trajanje preživetja transplantirane ledvice. Poleg tega pa med dolgotrajnim spremljanjem starejših transplantirancev kar 40% izgub presadkov pripišejo smrti bolnikov z delujočimi presajenimi organi (11). Kljub večji stopnji umrljivosti po transplantaciji pa ima ta način zdravljenja zaradi daljšega preživetja transplantiranih bolnikov v primerjavi s tistimi na dializi ter zaradi stalnega izboljševanja uspešnosti presaditev, še vedno dovolj velike prednosti, zlasti v smislu boljše kakovosti življenja (12). Ob tem pa se porajajo predvsem etična vprašanja, ki izvirajo iz dejstva, da močno primanjkuje organov in da je včasih precej težko upravičiti njihovo uporabo za starejše bolnike, ki imajo seveda omejeno pričakovano življenjsko dobo (11). V zadnjih desetih letih so zato veliko časa posvetili preučevanju modela, v katerem poleg klasičnih zahtev glede ujemanja v krvnih skupinah, čimboljše skladnosti v tkivnih antigenih HLA (HLA-DR > -B > -A) in bolnikove alosenzibilizacije (prisotnost specifičnih protiteles anti-HLA), upoštevajo tudi starostno ujemanje med darovalcem in prejemnikom. Slednje pomeni, da naj ledvico starejšega darovalca dobi starejši prejemnik, kar naj bi bilo ugodno tako s fiziološkega kakor tudi z imunološkega stališča (3). Na tej osnovi so v okviru Eurotransplanta leta 1999 začeli s posebnim pro-



gramom ESP (Eurotransplant Senior Program), ki je zaradi dobrih rezultatov še vedno aktiven.

## 4 Transplantacija alogenskih krvotvornih matičnih celic

Zgornja starostna meja za nesorodne prostovoljne darovalce KMC je 55 let, in sicer zaradi dejstva, da je kakovost oziroma regenerativna sposobnost krvotvornih matičnih celic po tej starosti precej zmanjšana. Nasprotno pa so, v primeru sorodniške alogenske transplantacije KMC, dobrodošli tudi starejši darovalci. Tako smo pri nas uspešno opravili dve presaditvi, kjer sta bila darovalca starejša od 60 let.

Kakšen pa je vpliv starosti pri bolnikih, oziroma prejemnikih alogenskih KMC? Pri nesorodnih alogenskih presaditvah na splošno še vedno prevladuje mnenje, da starejši bolniki niso primerni kandidati za takšen poseg, saj je zaradi nesorodnosti med darovalcem in prejemnikom presadka tveganje za različne zaplete, kot so: akutna bolezen presadka zoper gostitelja (aGvHD – acute Graft versus Host Disease), ko presajene imunsko zmožne celice prepoznajo prejemnikovo tkivo kot tuje in ga zato uničujejo ter različne hude in pogosto usodne infekcije, preveliko.

Pri transplantaciji KMC uporabljajo intenzivne mieloablativne postopke priprave bolnikov, s katerimi jim s pomočjo intenzivne kemoterapije in/ali obsevanja uničijo njihov kostni mozeg ter s tem vir rakavih celic, obenem pa v prejemnikih alogenskih KMC zagotovijo imunosupresivne pogoje, ki preprečujejo zavračanje presadka. Takšna terapija, skupaj s presajenimi alogenskimi krvotvornimi matičnimi celicami predstavlja veliko tveganje za nastanek resnih post-transplantacijskih zapletov, ki so v največji meri odvisni od stopnje tkivne skladnosti med darovalcem in prejemnikom, starosti, komorbidnosti in same bolezni (4). Z razvojem nemieloablativnih protokolov, ki so bistveno manj toksični za bolnike, pa je postala presaditev alogenskih KMC dostopna tudi tistim, ki zaradi starosti ali komorbidnosti niso bili primerni kandidati zanje (4, 13). Bistvo takšnega pristopa je, da z blažjo kemoterapijo (običajno kombinacija purinskega analoga in alikilanta) ali pa z enkratno nizko dozo (200 cGy) obsevanja celotnega telesa, s predhodno uporabo fludarabina, dosežejo določeno stopnjo imunosupresije, ne uničijo pa v celoti kostnega mozga bolnika, s čimer omogočijo, da lahko pacient preživi tudi v primeru, če pride do zavrnitve presadka (4). Po infuziji alogenskih KMC nato spremljajo nastanek, obstoj in stabilnost mešanega himerizma darovalčevih in prejemnikovih krvnih celic, ki je pokazatelj prijemanja presadka, poleg tega pa naj bi omogočal tudi učinkovito uničevanje rakavih celic (GvL – Graft versus Leukemia), ki ga sprožijo in vodijo darovalčeve, pri tem pa sodelujejo tudi prejemnikove imunsko zmožne celice (14). V primeru, ko ne opazijo znakov aGvHD nato s pomočjo infuzij darovalčevih levkocitov (DLI – Donor Leukocyte Infusion) skušajo v prejemniku doseči popolno prevlado donorjevega fenotipa (4). Takšen pristop k transplantaciji pa je seveda primeren le za zdravljenje tistih vrst rakavih obolenj, ki so dojemljiva za GvL (npr. kronična mieloična levkemija, kronična limfocitna levkemija, akutna mieloična levkemija).

## 5 Zaključek

Zaradi podaljševanja življenjske dobe prihaja do sprememb tudi na področju transplantacije tkiv in organov, ki predstavlja pomemben

način zdravljenja za starostnike. Na osnovi novih dognanj, ki so posledica hitrega razvoja medicine, imunologije in drugih znanosti skušajo razviti postopke, ki bi omogočili še varnejše in uspešnejše presaditve tako pri mlajših kot pri starejših bolnikih. Poleg že obstoječih pristopov, kot sta program »stari za stare« (ledvica) ter nemieloablativno kondicioniranje bolnikov pred presaditvijo krvotvornih matičnih celic, potekajo v svetu številne raziskave za izboljšanje učinkovitosti trenutne transplantacijske dejavnosti. Tako skušajo pri presajanju alogenskih KMC ob preprečitvi nastanka življenjsko nevarne akutne bolezni presadka zoper gostitelja, zagotoviti specifične mehanizme delovanja transplantiranih celic zoper zaostale rakave celice (specifični citotoksični limfociti T in aloreaktivne naravne celice ubijalke) oziroma uporabiti adoptivni prenos imunosti (protitumorski citotoksični limfociti T, pripravljeni *in vitro*). Na področju transplantacije organov pa so veliko raziskav usmerili v preučevanje mehanizmov vzpostavljanja dolgotrajne tolerance na neskladne tkivne antigene HLA med darovalcem in prejemnikom presadka (tolerogene dendritične celice, regulatorni limfociti T). Ker so dosedanj izsledki omenjenih študij precej obetavni, lahko že v nekaj letih pričakujemo nove, klinično uporabne protokole.

## 6 Literatura

1. Vasto S, and Caruso C. Immunity & Ageing: a new journal looking at ageing from an immunological point of view. *Immunity & Ageing* 2004; 1: 1-4.
2. Troen BR. The biology of ageing. *Mt Sinai J Med* 2003; 70: 3-22.
3. Baid-Agrawal S, Reinke P, Schindler R et al. WCN 2003 Satellite Symposium on Kidney Transplantation in Elderly, Weimar, Germany, June 12-14, 2003. *Nephrol Dial Transplant* 2004; 19: 43-46.
4. Storb RF, Champlin R, Riddell SR et al. Non-myceloablative transplants for malignant disease. *Hematology* 2001: 375-391.
5. Walford RL. The immunologic theory of ageing. Copenhagen, Munksgaard, 1969.
6. Fagnoni FF, Vescovini R, Passeri G et al. Shortage of circulating naïve CD8(+) T cells provides new insights on immunodeficiency in aging. *Blood* 2000; 95: 2860-2868.
7. Franceschi C, Bonafe M, Valensin S. Human immunosenescence: the prevailing of innate immunity, the failing of clonotypic immunity, and the filling of immunological space. *Vaccine* 2000; 18: 1717-1720.
8. Pawelec G, Akbar A, Caruso C et al. Is immunosenescence infectious? Contribution of persistent Herpes viruses to immunosenescence and influence on human longevity. *Trends Immunol* 2004; 25: 406-410.
9. Weksler ME. Changes in the B-cell repertoire with age. *Vaccine* 2000; 18: 1624-1628.
10. Schaubel D, Desmeules M, Mao Y et al. Survival experience among elderly end-stage renal disease patients. *Transplantation* 1995; 60: 1389-1394.
11. Oniscu GC, Brown H and Forsythe JLR. How great is the survival advantage of transplantation over dialysis in elderly patients? *Nephrol Dial Transplant* 2004; 19: 945-951.
12. Wolfe RA, Ashby VB, Milford EL et al. Comparison of mortality in all patients on dialysis, patients on dialysis awaiting transplantation, and recipients of a first cadaveric transplant. *N Engl J Med* 1999; 341: 1725-1730.
13. Giral S, Anagnostopoulos A, Shahjahan M et al. Nonablative stem cell transplantation for older patients with acute leukemias and myelodysplastic syndromes. *Seminars in Hematology* 2002; 39: 57-62.
14. Childs R, Clave E, Contentin E et al. Engraftment kinetics after nonmyeloablative allogeneic peripheral blood stem cell transplantation: full donor T-cell chimerism precedes alloimmune responses. *Blood* 1999; 94: 3234-3241.

# Antitrombotična zdravila pri starostnikih

## Antithrombotic drugs in the elderly

Danijel Kikelj

POVZETEK: V članku so predstavljene antitrombotične učinkovine – antikoagulant, antiagregatorne učinkovine in fibrinolitiki s poudarkom na njihovi uporabi za preprečevanje in zdravljenje tromboemboličnih zapletov pri starostnikih.

**Ključne besede:** antitrombotiki, antikoagulant, antiagregatorne učinkovine, fibrinolitiki, inhibitorji trombina, starostniki

ABSTRACT: An overview of antithrombotic drugs comprising anticoagulants, antiplatelet agents and fibrinolytic drugs is presented with emphasis on their application for prevention and treatment of thromboembolic diseases in the elderly.

**Keywords:** antithrombotics, anticoagulants, antiplatelet agents, fibrinolytic drugs, thrombin inhibitors, elderly patients

### 1 Uvod

Hemostaza je kompleksen za življenje neobhodno potreben proces, ki vodi do zaustavitve krvavitve pri poškodbi žilne stene. Hemostaza vključuje adhezijo in aktivacijo krvnih ploščic ter koagulacijo krvi. Tromboza je v nasprotju s hemostazo patološki proces, pri katerem pride do aktivacije hemostaznih mehanizmov v odsotnosti krvavitve. Venska tromboza je pogosto povezana z zastajanjem krvi v venah. Trombusi, ki nastanejo v venah, imajo veliko vsebnost fibrina in majhno vsebnost krvnih ploščic. Vzrok arterijske tromboze je pogosto ateroskleroza in arterijski trombusi imajo veliko vsebnost krvnih ploščic. Trombus, ki se odtrga od žilne stene, potuje s krvjo kot embolus in lahko na svoji poti zamaši tanjše žile v srcu in možganih ter tako povzroči srčni infarkt in možgansko kap. Medtem ko je v proces hemostaze potrebno le redko posegati, sta preprečevanje in zdravljenje tromboze ter njenih posledic kot so npr. možganska kap, infarkt miokarda in pljučni embolizem terapevtsko zelo pomembna [1].

S staranjem dramatično poraste pojavnost trombotičnih zapletov zaradi povečanja koncentracije fibrinogena, faktorjev VIII in IX ter drugih koagulacijskih proteinov v primerjavi z antikoagulacijskimi faktorji v krvi. K povečani pojavnosti trombotičnih obolenj v starosti prispevajo tudi povečana aktivnost trombocitov, povečanje koncentracije interleukina-6 in C-reaktivnega proteina ter spremembe v steni žil. Tudi debelost je v starosti pogost protrombotični dejavnik, ker je adipozno tkivo pomemben izvor inflamatornih citokinov in inhibitorja aktivatorja plazminogena [2].

Možganska kap in infarkt miokarda sta pogost vzrok smrti pri starostnikih. Možganska kap je po pogostosti tretji vzrok smrti v razvitih državah. Pojavnost možganske kapi raste eksponentno s starostjo in doleti pri starosti nad 85 let 300 izmed 100.000 oseb na leto. Čeprav tretjino možganskih kapi doživijo osebe mlajše od 65 let, je pri osebah nad 65 let starosti skoraj 90% smrti zaradi možganske kapi [3]. Tudi pojavnost venske tromboembolije je najpogostejša pri osebah stare-

jših od 65 let. Preprečevanje in zdravljenje venske tromboze [4] in možganske kapi [5-7] je zaradi pogostosti pri starostnikih še posebej aktualno, uporaba antitrombotičnih zdravil pri starostnikih pa je razdelana v številnih smernicah [8-10].

V tem prispevku bom podal pregled obstoječih antitrombotičnih učinkovin in nekaterih antitrombotičnih učinkovin v razvoju s posebnim poudarkom na njihovi uporabi pri starostnikih.

### 2 Antitrombotične učinkovine

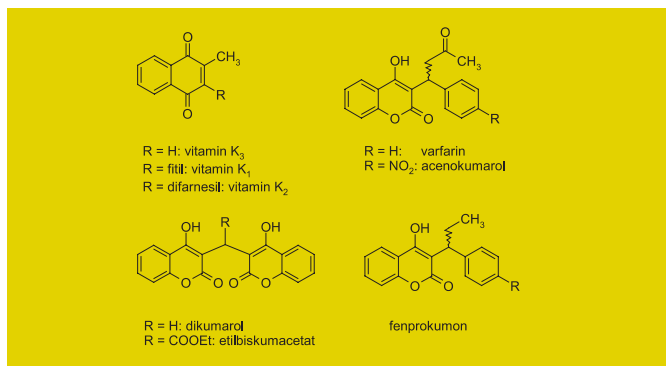
Antitrombotične učinkovine, ki jih uporabljamo za preprečevanje in zdravljenje tromboemboličnih zapletov obsegajo (i) antikoagulate, ki preprečujejo pretvorbo fibrinogena v fibrin, (ii) antiagregatorne učinkovine, ki preprečujejo aktivacijo in agregacijo trombocitov in (iii) fibrinolitike, ki razgrajujejo fibrinske strdke.

#### 2.1 Antikoagulant

Antikoagulant so učinkovine, ki preprečujejo pretvorbo topnega fibrinogena v netopni fibrin in tako preprečujejo strjevanje krvi. Ločimo (i) indirektno antikoagulate, ki zavirajo biosintezo koagulacijskih faktorjev in (ii) direktne antikoagulate, ki zavirajo encimsko delovanje koagulacijskih faktorjev.

##### 2.1.1 Antagonisti vitamina K

Indirektno antikoagulate predstavljajo kumarini z glavnimi predstavniki varfarinom, acenokumarolom, fenprokumonom in etilbiskumacetatom. Kumarini so antagonisti vitamina K, ki zaradi strukturne podobnosti z njim preprečujejo posttranslacijsko  $\gamma$ -karboksilacijo glutaminske kisline koagulacijskih faktorjev II, VII, IX in X z zaviranjem encima vitamin K-epoksid-reduktaze, ki vrši redukcijo vitamina K do ustreznega hidrokinona, kateri je potreben kot kofaktor pri  $\gamma$ -karboksilaciji glutaminske kisline [11]. Delovanje kumarinov nastopi šele po nekaj dnevih, ko pade koncentracija v krvi že prisotnih koagulacijskih



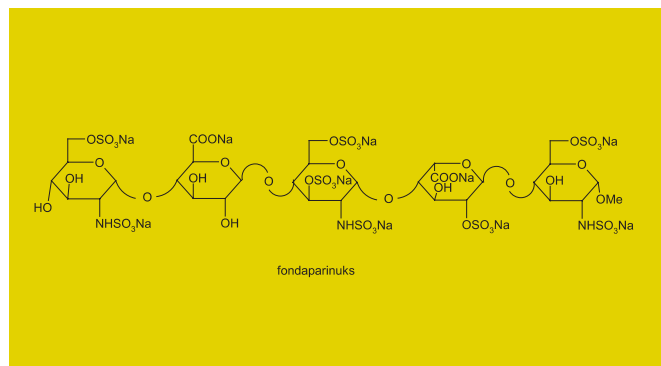
faktorjev pod kritično mejo. Kljub prednosti, ki jo predstavlja možnost peroralne aplikacije, je terapija z antagonistom vitamina K zahtevna, saj je potrebno skrbno nadzorovanje protrombinskega časa, da ne pride do krvavitev. Interakcije antagonistov vitamina K s številnimi učinkovinami, ki se npr. vežejo na plazemske beljakovine ali inducirajo jetrne encime, predstavljajo nadaljnje probleme pri njihovi terapevtski uporabi. Pri starejših pacientih je učinek antagonistov vitamina K močnejši tako v zgodnji indukcijski fazi kot tekom dolgotrajnega zdravljenja, pri njih pa so pogost neželeni učinek tudi krvavitve, zato zahteva uporaba peroralnih antikoagulantov pri starostnikih posebno pozornost [12-14].

### 2.1.2 Heparini

Med telesu lastne direktne antikoagulate prištevamo heparin [1]. Nefrakcioniran heparin predstavlja skupino sulfatiranih mukopolisaharidov z molekularno maso 6000 do 30000, ki so prisotni v mastocitih skupaj s histaminom. Zaradi številnih karboksilnih in sulfatnih skupin v molekuli je heparin ena najmočnejših kislin v človeškem organizmu. Pridobivajo ga z ekstrakcijo iz govejih pljuč ali mukoze svinjskega črevesa. Nizkomolekularni heparini z molekularno maso 4000 do 6000, ki jih dobijo s hidrolizo tako dobljenega nefrakcioniranega heparina, postopoma izpodrivajo naravni heparin.

Heparin zavira koagulacijo tako *in vivo* kot tudi *in vitro* z aktivacijo antitrombina III, ki z vezavo v aktivno mesto trombina in drugih serinskih proteinaz inhibira njihovo encimsko aktivnost. Heparin se veže na antitrombin III s svojim značilnim pentasaharidnim fragmentom, kar povzroči spremembo konformacije antitrombina in posledično povečanje njegove afinitete do aktivnega mesta trombina. Za inhibicijo trombina z antitrombinom III je potrebna tvorba kompleksa heparina z antitrombinom in trombinom, medtem ko je za inhibicijo faktorja Xa zadostna samo tvorba kompleksa heparina z antitrombinom III. Nizkomolekularni heparini povečajo inhibitorno delovanje antitrombina III samo na faktor Xa, ne pa tudi na trombin, ker so njihove molekule premajhne, da bi se lahko istočasno vezale na antitrombin III in trombin [15-17].

Ker vsebuje heparin številne ionizirane skupine, se ne absorbira iz prebavil, zato ga je potrebno aplicirati intravensko ali subkutano. Po intravenski aplikaciji delovanje nastopi takoj, po subkutani aplikaciji učinek nastopi po eni uri. Razpolovni čas intravensko apliciranega heparina je od 40 do 90 minut. Nizkomolekularne heparine apliciramo subkutano in imajo dajši razpolovni čas ter bolj predvidljivo farmakokinetiko, zato zadošča aplikacija enkrat do dvakrat dnevno, pacienti pa si nizkomolekularne heparine lahko aplicirajo sami [1, 16]. Zdravljenje s heparinom je zaradi nevarnosti povzročanja krvavitev



treba spremljati s koagulacijskimi preiskavami, npr. merjenjem aktiviranega parcialnega tromboplastinskega časa. Inaktivacijo heparina povzroči njegov antagonist *protamin* – močno bazičen protein, ki s heparinom tvori neaktiven kompleks. Protaminijev sulfat v nekaterih primerih uporabljajo za preprečevanje s heparinom povzročenih krvavitev. Drugi resni neželeni učinek heparinov je trombocitopenija, ki lahko preko poškodbe žilne stene, ki jo povzročajo protitelesa proti kompleksu heparina s trombocitnim faktorjem 4, vodi do tromboze. S heparinom povzročena trombocitopenija in tromboza sta lahko smrtno nevarni komplikaciji pri zdravljenju s heparini. Pojavljata se lahko pri bolnikih vseh starosti, vendar sta najbolj pogosti pri starostnikih, ker je pri njih uporaba heparina pogostejša kot pri ostali populaciji [18]. V letu 2002 je bil v terapijo uveden nov sintezni direkti antikoagulant fondaparinux - pentasaharid, ki z vezavo na antitrombin III povzroči selektivno inhibicijo faktorja Xa. Uporablja se za profilakso in zdravljenje globoke venske tromboze in tromboemboličnih dogodkov ter za preprečevanje tromboze pri operaciji kolka in kolena [19].

### 2.1.3 Inhibitorji trombina

Trombin je osrednji encim koagulacijske kaskade, ki nastane iz protrombina pod vplivom serinske proteinaze faktorja Xa. Trombin katalizira pretvorbo vodotopnega fibrinogena v netopni fibrin s cepitvijo peptidne vezi med argininom in glicinom v aminokislinskem zaporedju Gly-Val-Arg-Gly-Pro-Arg. Nastali fibrin tvori mehansko ogrodje krvnega strdka. Trombin cepi tudi koagulacijske faktorje V, VIII in XIII ter aktivira trombocitni trombinski receptor, zaradi česar je močan stimulant agregacije trombocitov [20].

Pred petnajstimi leti objavljena kristalna struktura humanega trombina [21, 22] je omogočila strukturno podprto načrtovanje inhibitorjev trombina, rezultat katerega je več sto selektivnih inhibitorjev trombina, ki so večinoma peptidomimetične spojine, ki oponašajo aminokislinsko zaporedje fibrinogena, ki se umešča v aktivno mesto trombina.

*Hirudin* je polipeptid iz 65 aminokislin, izoliran iz pijavke *Hirudo medicinalis* z antikoagulantnim delovanjem, ki izredno močno inhibira trombin (K<sub>i</sub> = 20 fM) s tvorbo nekovalentnega kompleksa. C-terminalni del hirudina se veže na vezavno mesto za fibrinogen, N-terminalni del hirudina pa prekrije aktivno mesto trombina [23, 24]. V naravnem hirudinu je aminokislina tirozin v C-terminalnem delu sulfatirana, kar pa ni slučaj v rekombinantnih hirudinih *lepirudinu* [25] in *desirudinu* [26], ki so zato nekoliko slabši inhibitorji trombina.

*Hirulogi* so bivalentni peptidni inhibitorji trombina, ki so bili načrtovani kot kombinirani inhibitorji, ki se vežejo v aktivno mesto in v vezavno

mesto za fibrinogen. *Bivalirudin* je prvi hirulog, ki je bil uveden v terapijo decembra 2002 kot antikoagulant pri transluminalni koronarni angioplastiki [28]. *Bivalirudin* je polipeptid sestavljen iz 20 aminokislin, ki predstavljajo inhibitor aktivnega mesta trombina D-Phe-Pro-Arg povezan preko verige Pro-(Gly)<sub>4</sub> z dodekapeptidnim analogom C-terminalnega dela hirudina. V *bivalirudinu* je cepljiva vez Arg-Gly zamenjana z vezjo Arg-Pro, ki jo trombin cepi bistveno počasneje. Zaradi njegove peptidne narave je treba *bivalirudin* aplicirati parenteralno [29].

*Argatroban* je močan inhibitor trombina s 40 nM konstanto inhibicije, ki je bil načrtovan in razvit pred objavo kristalne strukture trombina s postopno modifikacijo spojine vodnice N $\alpha$ -tozil-L-arginina [30]. Rentgenska struktura kompleksa *argatrobana* s humanim trombinom [22] je pokazala, da se piperidinski obroč *argatrobana* veže v S2 žep in je skoraj paralelen arilsulfonamidni skupini v distalnem žepu aktivnega mesta, medtem ko se gvanidinska skupina veže v S1 žep, kjer tvori vodikovo vez z Asp189. *Argatroban* je bil leta 1990 registriran na Japonskem za zdravljenje perifernih tromboz, junija 2000 pa ga je FDA registrirala kot antikoagulant za zdravljenje tromboze pri pacientih s trombocitopenijo povzročeno s heparinom. Aprila 2002 je bil registriran za uporabo pri perkutani koronarni intervenciji pri pacientih s tveganjem za trombocitopenijo povzročeno s heparinom. Zaradi prisotnosti močno bazične gvanidinske skupine (pKa = 13), ki preprečuje absorpcijo iz gastrointestinalnega trakta, je treba *argatroban* aplicirati parenteralno [31].

*Ksimelagatran* je bil registriran decembra 2003 v Franciji kot prvi peroralni inhibitor trombina z antikoagulantnim delovanjem in predstavlja 50 let po uvedbi varfarina prvi peroralni antikoagulant z novim mehanizmom delovanja. Maja 2004 je *ksimelagatran* uspešno zaključil registracijski postopek medsebojnega priznavanja v Evropi za preprečevanje tromboemboličnih dogodkov pri ortopedskih operacijah kolka in kolena, v ZDA pa FDA registracijo *ksimelagatrana* kot peroralnega antikoagulanta zaenkrat še ni odobrila. *Ksimelagatran* je dvojno predzdravilo nizkomolekularnega nekovalentnega inhibitorja trombina *melagatrana*, ki izkazuje slabo biološko uporabnost po peroralni aplikaciji [32, 33]. *Melagatran* je tripeptidomimetični inhibitor trombina, ki oponaša aminokislinsko zaporedje D-Phe-Pro-Arg, ki je služilo kot spojina vodnica za številne peptidomimetične inhibitorje trombina [34]. *Melagatran* vsebuje benzamidinski mimetik stranske

verige arginina in azetidin-2-karboksilno kislino kot mimetik prolina. Nenaravna aminokislina D-cikloheksilglicin oponaša D-fenilalanin, ki se veže v S<sub>3</sub> žep encima. Način vezave *melagatrana* v aktivno mesto trombina so študirali z rentgensko kristalografijo [35]. Nedavna raziskava je pokazala, da ni bilo starostnih razlik v absorpciji in biotransformaciji *ksimelagatrana*. Hitrejše renalno izločanje *ksimelagatrana* pri mlajših je posledica razlike v delovanju ledvic pri mlajši populaciji in starostnikih [36]. Direktni inhibitorji trombina se uporabljajo tudi za zdravljenje s heparinom povzročene trombocitopenije pri starostnikih [18].

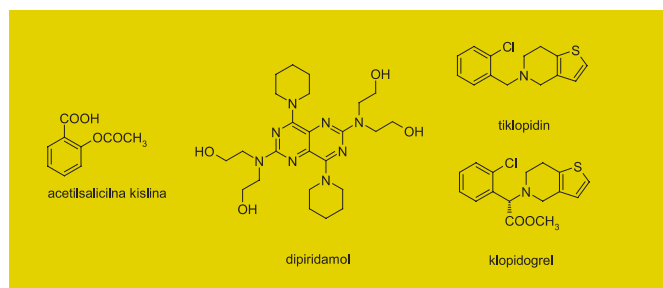
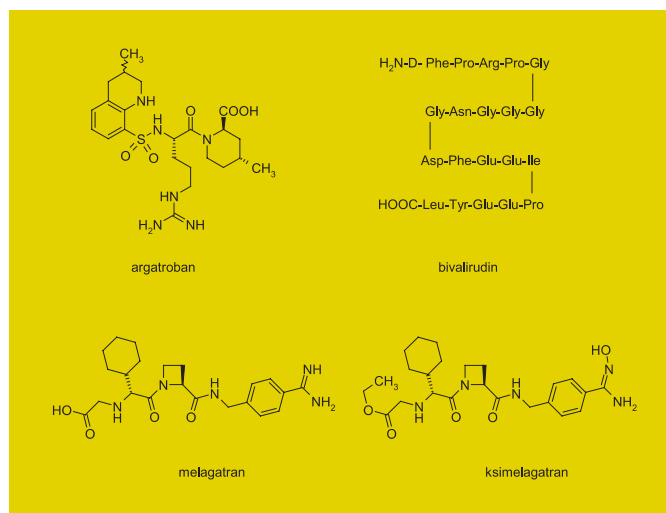
## 2.2 Zaviralci agregacije trombocitov

Trombociti igrajo pomembno vlogo v procesu hemostaze. Njihova aktivacija sproži zaporedje reakcij, ki imajo za posledico (i) spremembo oblike trombocitov, (ii) izločanje adenozin difosfata (ADP), serotonin in rastnih faktorjev, (iii) biosintezo mediatorjev, (iv) izpostavitve fosfolipidov na površini, ki povzročijo tvorbo trombina in nadaljnjo aktivacijo trombocitov in (v) agregacijo trombocitov. Agregacijo trombocitov stimulirajo številni agonisti kot kolagen, trombin, ADP in tromboksan A<sub>2</sub>, ki sprožijo ekspresijo glikoproteinskih IIb/IIIa (GP IIb/IIIa) receptorjev na površini trombocitov. Integrinski GP IIb/IIIa receptorji vežejo fibrinogen preko ionske interakcije z RGD aminokislinskim zaporedjem fibrinogena. Našteti biokemijski mehanizmi so tarče učinkovin, ki zavirajo agregacijo trombocitov [1].

### 2.2.1 Acetilsalicilna kislina, dipiridamol, tiklopidin in klopidozel

*Acetilsalicilna kislina* kot inhibitor ciklooksigenaze učinkovito zavre biosintezo tromboksana A<sub>2</sub> (TXA<sub>2</sub>) v trombocitih. Trombociti ne morejo sintetizirati nove ciklooksigenaze, zato traja zaviralni učinek acetilsalicilne kisline na aktivacijo trombocitov s TXA<sub>2</sub> toliko časa, dokler se v krvi ne pojavijo novi trombociti (7-10 dni). Dnevna doza 160 mg acetilsalicilne kisline lahko popolnoma zavre trombocitno ciklooksigenazo [1]. Nobenih dokazov ni, ki bi govorili o različnem delovanju acetilsalicilne kisline na agregacijo trombocitov pri starostnikih, zato je koristnost uporabe acetilsalicilne kisline za preprečevanje ishemičnih žilnih zapletov pri starostnikih v sekundarni prevenciji enaka ali večja od koristi pri mlajši populaciji. V primarni prevenciji je pri uporabi acetilsalicilne kisline treba upoštevati razmerje med koristnostjo in tveganjem krvavitve, ki je pri starostnikih večje kot pri mlajši populaciji [37].

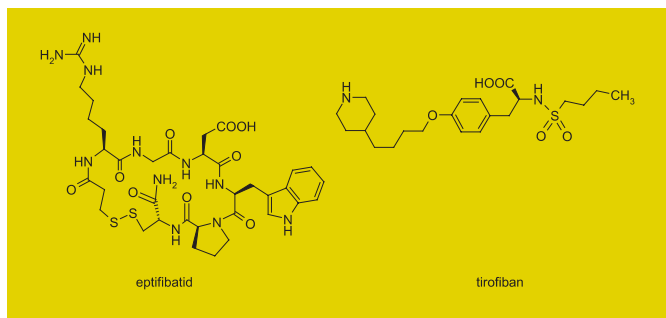
*Dipiridamol* spreminja normalno funkcijo trombocitov preko zviševanja koncentracije cikličnega adenozinmonofosfata z inhibicijo fosfodiesteraze. Za preprečevanje tromboze se uporablja običajno v kombinaciji z acetilsalicilno kislino [1]. *Tiklopidin* in *klopidozel* sta tienopiridina, ki po metabolični aktivaciji delujeta kot antagonist



P2Y<sub>12</sub> podtipa receptorja za ADP in tako preprečujeta aktivacijo trombocitov [38]. Uporabljata se za prepečevanje tromboze pri cerebrovaskularni in koronarni arterijski bolezni pri bolnikih, ki ne prenašajo acetilsalicilne kisline. Preprečevanje trombotičnih zapletov z acetilsalicilno kislino, tiklopidinom in klopidogrelom pri starostnikih je predmet nedavno objavljenega preglednega članka [39].

### 2.2.2 Antagonisti fibrinogeneskega receptorja

Antagonisti glikoproteinskega IIb/IIIa receptorja, ki se nahaja na trombocitih in z ionsko interakcijo veže RGD aminokislinsko zaporedje fibrinogena, zavirajo agregacijo trombocitov neodvisno od načina aktivacije. V zadnjih desetih letih so bili sintetizirani številni mimetiki zaporedja Arg-Gly-Asp (RGD) kot potencialni antagonisti fibrinogeneskega receptorja, od katerih sta bila v terapijo uvedena *tirofiban* in ciklični heksapaptid *eptifibatid* kot intravensko uporabna zaviralca agregacije [40]. Peroralnih antagonistov fibrinogeneskega receptorja ni na trgu, ker klinična testiranja niso opravičila njihove terapevtske uporabnosti [41]. *Abciximab* je hibridno mišje/človeško monoklinalno protitelo proti GPIIb/IIIa receptorju, ki se poleg heparina in acetilsalicilne kisline uporablja pri rizičnih pacientih med koronarno angioplastiko. Tudi izkušnje z uporabo antagonistov fibrinogeneskega receptorja pri starostnikih so dobro dokumentirane [39, 42].



### 2.3 Fibrinolitiki

Doslej omenjeni antikoagulantni in zaviralci agregacije trombocitov preprečujejo nastajanje trombusov. Če pa je do nastanka krvnega strka v obtočilih že prišlo, uporabljamo za njegovo razgradnjo trombolitične učinkovine. Ob aktivaciji koagulacijske kaskade se aktivira tudi fibrinolitični sistem preko delovanja endogenih aktivatorjev plazminogena kot so tkivni aktivator plazminogena (tPA), urokinazni aktivator plazminogena (uPA) ter kalikrein in elastaza. Aktivatorji plazminogena so serinske proteinaze, ki plazminogen vezan na fibrinskih nitih v trombusu pretvorijo v plazmin. Plazmin cepi peptidne vezi med aminokislinama arginin in lizin in tako razgrajuje ne samo fibrin in fibrinogen ampak tudi koagulacijske faktorje II (trombin), VII in VIII ter tako povzroči razgradnjo krvnega strdka. Plazmin je aktiven samo v krvnem strdku, v cirkulaciji ga hitro razgradijo inhibitorji plazmina [1].

*Streptokinaza* je protein izoliran iz kultur beta hemolitičnega streptokoka C, ki v kompleksu z proaktivatorjem plazminogena pretvarja plazminogen v plazmin. Uporabnost streptokinaze za razgradnjo strdkov pri arterijski in venski trombozi, pljučnem embolizmu in miokardnem infarktu omejujeta zelo kratek razpolovni čas (manj od 30 minut) in

preobčutljivostne reakcije, ki so posledica predhodnih streptokoknih infekcij. *Anistreplaza* je predzdravilo kompleksa streptokinaze in plazminogena, ki nima fibrinolitične aktivnosti zato ker je lizin v aktivnem mestu plazminogena aciliran. Šele po vezavi kompleksa na fibrinogen se odcepi na lizin vezana anizolna skupina s hidrolizo in tako se plazminogen reaktivira. S tem pristopom je dosežena selektivnost delovanja anistreplaze v krvnem strdku. *Alteplaza*, *duteplaza* in *reteplaza* so rekombinantni tkivni aktivatorji plazminogena z visoko afiniteto za plazminogen vezan na fibrin v krvnem strdku, ki se uporabljajo pri bolnikih s protitelesi na streptokinazo. V visokih dozah je njihova selektivnost manjša, zato lahko pride do aktivacije prostega plazminogena in posledično do krvavitev. *Urokinaza* je trombolitična proteinska učinkovina z zelo kratkim razpolovnim časom (manj kot 15 minut), ki pretvarja plazminogen v plazmin. Dobljena je iz humanih neonatalnih ledvičnih celic gojenih v tkivni kulturi. Zaradi izvora človeški organizem ne zazna urokinaze kot tuj protein, zato urokinaza nima antigenskih lastnosti [1,5]. Uporaba trombolitičnih učinkovin je pomembna sestavina reperfuzijske terapije po akutnem infarktu miokarda pri starostnikih [43].

### 3 Sklep

Poleg predstavljenih antitrombotičnih učinkovin, ki se danes uporabljajo v terapiji, in predstavljajo pomembno skupino zdravil za zdravljenje starostnikov, lahko v prihodnosti pričakujemo uvedbo novih antitrombotičnih učinkovin kot rezultat intenzivnih raziskav novih inhibitorjev trombina [44], faktorja Xa [45], faktorja VIIa [46] in drugih koagulacijskih faktorjev [47, 48], antiagregatornih učinkovin [49] dualnih inhibitorjev koagulacijskih encimov [50] in antitrombotičnih učinkovin z dvojnimi mehanizmi delovanja [51] ter raziskav novih tarč za antitrombotične učinkovine [52].

### 4 Literatura

- (a) Rang HP, Dale MM, Ritter JM, Moore PK. Pharmacology - Fifth Edition. Churchill Livingstone, 2003: 314-329. (b) Palmer RB. Antithrombotics, thrombolytics, coagulants and plasma extenders. In: Williams DA, Lemke TL. Foye's Principles of Medicinal Chemistry -Fifth Edition. Lippincott Williams & Wilkins, 2002: 604-628.
- Wilkerson WR, Sane DC. Aging and thrombosis. *Semin Thromb Hemost* 2002; 28: 555-567.
- Bonita R. Epidemiology of stroke. *Lancet* 1992; 339: 342-344.
- DiMinno G, Tufano A. Challenges in the prevention of venous thromboembolism in the elderly. *J Thromb Haemost* 2004; 2: 1292-1298.
- Barnett, H J M. Stroke prevention in the elderly. *Clin Exper Hypert* 2002; 24: 563-571.
- Muir KW, Roberts M. Thrombolytic therapy for stroke - A review with particular reference to elderly patients. *Drugs & Aging* 2000; 16: 41-54.
- Fagan SC. Stroke prevention in the elderly. *The Consultant Pharmacist* 2003; 18: Suppl. A, 10-13.
- Di Minno G, Tufano A, Cerbone AM. Antithrombotic drugs for older subjects - Guidelines formulated jointly by the Italian Societies of Haemostasis and Thrombosis (SISSET) and of Gerontology and Geriatrics (SIGG). *Nutr Metabol Cardiovasc Dis* 2001; 11: 41-62.
- Haemostasis and thrombosis task force for the British committee for standards in haematology. Guidelines on oral anticoagulation: third edition. *Br J Haematol* 1998; 101: 374-87.

10. Dalen JE, Hirsh J. Fifth ACCP consensus conference on antithrombotic therapy. *Chest* 1998; 114 (5 Suppl.): 439s-769s.
11. Whitton DS, Sadowski JA, Suttie JW. Mechanisms of coumarin action: significance of vitamin K epoxide inhibition. *Biochemistry* 1978; 17:1371-1377.
12. Ansell J, Hirsh J, Poller, L, Bussey H, Jacobson A, Hylek E. The Pharmacology and management of the vitamin K antagonists. *Chest* 2004; 126: 204S-233S.
13. Sebastian JL, Tresch DD. Use of oral anticoagulants in older patients. *Drugs & Aging* 2000; 16: 409-435.
14. Debray M, Pautas E, Couturier P, Franco A, Siguret V. Oral anticoagulants in the elderly. *Rev Méd Interne* 2003; 24: 107-117
15. Hirsh J, Warkentin TE, Shaughnessy SG, Anand SS, Halperin JL, Raschke R, Granger C, Ohman EM, Dalen JE. Heparin and low-molecular-weight heparin: mechanisms of action, pharmacokinetics, dosing, monitoring, efficacy, and safety. *Chest* 2001; 119 (Suppl. 1), S64-S94 (2001).
16. Pineo GF, Hull RD. Low-molecular-weight heparin for the treatment of venous thromboembolism in the elderly. *Clin Appl Thromb Hemost* 2005; 11: 15-23.
17. Desai UR. New antithrombin based anticoagulants. *Med Res Rev* 2004; 24: 151-181.
18. Tardy-Poncet B, Tardy B. Heparin-induced thrombocytopenia - Minimising the risks in the elderly patient. *Drugs & Aging* 2000; 16: 351-364.
19. Petitou M, van Boeckel CAA. A synthetic antithrombin III binding pentasaccharide is now a drug! What comes next? *Angew Chem Int Ed* 2004; 43: 3118-3133.
20. Kimball SD. Thrombin active site inhibitors. *Curr Pharm Design* 1995; 1: 441-468.
21. Bode W, Mayr I, Baumann U, Huber R, Stone SR, Hofsteenge J. The refined 1.9 Å crystal structure of human alpha-thrombin: interaction with D-Phe-Pro-Arg chloromethylketone and significance of the Tyr-Pro-Trp insertion segment. *EMBO J* 1989; 8: 3467-3475.
22. Banner DW, Hadvary P: Crystallographic analysis at 3.0 Å resolution of the binding to human thrombin of four active site-directed inhibitors. *J Biol Chem* 1991; 266: 20085-20093.
23. Salzet M. Leech thrombin inhibitors. *Curr Pharm Design* 2002; 8: 493-503.
24. Rydel TJ, Tulinsky A, Bode W, Huber R. Refined structure of the hirudin – thrombin complex. *J Mol Biol* 1991; 221: 583-601.
25. Greinacher A, Lubenow N. Recombinant hirudin in clinical practice: focus on lepirudin. *Circulation* 2001; 10: 1479-1484.
26. Matheson AJ, Goa KL. Desirudin – a review of its use in the management of thrombotic disorders. *Drugs* 2000; 60: 679-700.
27. Böhm HJ, Klebe G, Kubinyi H. Wirkstoffdesign. Spektrum, 1996: 560-565.
28. <http://www.fda.gov/cder/foi/label/2000/208731bl.pdf>
29. Gladwell TD. Bivalirudin: A direct thrombin inhibitor. *Clin Therapeutics* 2002; 24: 38-58.
30. Hijikata Okunomiya A, Okamoto S. A strategy for a rational approach to designing synthetic selective inhibitors. *Semin Thromb Hemost* 1992; 18: 135-149.
31. Walenga JM. An overview of the direct thrombin inhibitor argatroban. *Pathophysiol Haemost Thromb* 2002; 32 (Suppl 3): 9-14.
32. Crowther MA, Weitz JI. Ximelagatran: the first oral direct thrombin inhibitor. *Expert Opin Inv Drugs* 2004; 13: 403-413.
33. Bergsrud EA, Gandhi PJ: A review of the clinical uses of ximelagatran in thrombosis syndromes. *J Thromb Thrombolys* 2004; 16: 175-188.
34. Rewinkel JBM, Adang AEP. Strategies and progress towards the ideal orally active thrombin inhibitor. *Curr Pharm Design* 1999; 5: 1043-1075.
35. Dullweber F, Stubbs MT, Musil D, Stürzebecher J, Klebe G. Factorising ligand and affinity: A combined thermodynamic and crystallographic study of trypsin and thrombin inhibition. *J Mol Biol* 2001; 313: 593- 614.
36. Johansson LC, Frison L, Logren U, Fager G, Gustafsson D, Eriksson UG. Influence of age on the pharmacokinetics and pharmacodynamics of ximelagatran, an oral direct thrombin inhibitor. *Clin Pharmacokinet* 2003; 42: 381-392.
37. Mah' e I, Leizorovicz A, Caulin C, Bergmann J-F. Aspirin for the prevention of cardiovascular events in the elderly. *Drugs & Aging* 2003; 20: 999-1010.
38. Kunapuli SP, Ding Z, Dorsam RT, Kim S, Murugappan S, Quinton TM. ADP receptors – targets for developing antithrombotic agents. *Curr Pharm Design* 2003; 9: 2303-2316.
39. Calverley DC. Antiplatelet therapy in the elderly - Aspirin, ticlopidine-clopidogrel, and GPIIb/GPIIIa antagonists. *Clinics in Geriatric Medicine* 2001;17: 31-45.
40. Andronati SA, Karaseva TL, Krysko AA. Peptidomimetics –Antagonists of the fibrinogen receptor: Molecular design, structures, properties and therapeutic applications. *Curr Med Chem* 2004; 11: 1183-1211.
41. Cox D. Oral GPIIb/IIIa antagonists: What went wrong? *Curr Pharm Design* 2004; 10: 1587-1596.
42. Mak K-H, Efron MB, Moliterno DJ. Platelet Glycoprotein IIb/IIIa receptor antagonists and their use in elderly patients. *Drugs & Aging* 2000; 16: 179-187.
43. Angeja BG, Gibson CM, Chin R, Canto JG, Barron HV. Use of reperfusion therapies in elderly patients with acute myocardial infarction. *Drugs & Aging* 2001; 18: 587-596.
44. Steinmetzer T, Sturzebecher T. Progress in the development of synthetic thrombin inhibitors as new orally active anticoagulants. *Curr Med Chem* 2004; 11: 2297-2321.
45. Gould WR, Leadley RJ. Recent advances in the discovery and development of direct coagulation Factor Xa inhibitors. *Curr Pharm. Design* 2003; 9: 2337-2347.
46. Lazarus RA, Olivero AG, Eigenbrot C, Kirchofer D. Inhibitors of tissue factor-Factor VIIa for anticoagulant therapy. *Curr Med Chem* 2004; 11: 2275-2290.
47. Sherin AM, Babine RE, Deng H, Jin L, Lin J, Magee S, Meyers HV, Pandey P, Rynkiewicz MJ, Weaver DT. Compounds and methods for treatment of thrombosis. WO20004089297 (2004).
48. Tam TF, Karimian K, Leung-Toung RCSI, Zhao Y, Wodzinska JM, Li W, Lowrie JN: Sulfonamide derivatives of 3-substituted imidazo[1,2-D]-1,2,4-thiadiazoles and 3-substituted-[1,2,4]thiadiazolo[4,5-A]benzimidazole as inhibitors of fibrin cross-linking and transglutaminases. EP1348710 (2003).
49. Ulrichs H, Vanhoorelbeke K, Van de Walle G et al. New approaches for antithrombotic antiplatelet therapies. *Curr Med Chem* 2004; 11: 2261-2273.
50. Kranjc A, Kikelj D. Dual inhibitors of the blood coagulation cascade. *Curr Med Chem* 2004; 11: 2535-2547.
51. Štefanič Anderluh P, Anderluh M, Ilaš J, Mravljak J, Sollner Dolenc M, Stegnar M, Kikelj D. Toward a novel class of antithrombotic compounds with dual function. Discovery of 1,4-benzoxazin-3(4H)-one derivatives possessing thrombin inhibitory and fibrinogen receptor antagonistic activities. *J Med Chem* 2005; 48: 3110-3113.
52. Gruber A, Hanson SR. Potential new targets for antithrombotic therapy. *Curr Pharm Design* 2003; 9: 2367-2374.

# Odmerjanje zdravil pri starostnikih glede na genetski polimorfizem

## Genetic polymorphism and drug dosing in elderly patients

Vita Dolžan, Iztok Grabnar

**Povzetek:** Starostniki so zaradi fizioloških sprememb, pogostejšega obolenja za kroničnimi, degenerativnimi, rakavimi in vnetnimi boleznimi in povečane porabe zdravilnih učinkovin bolj podvrženi neželenim učinkom zdravil. Če se presnova zdravil zmanjša še zaradi genetskega polimorfizma, je pri starostnikih zaradi manjše zmogljivosti in manjše funkcionalne rezerve tveganje za zaplete pri zdravljenju večje kot pri mlajših odraslih. Predstavili smo genetski polimorfizem najpomembnejših citokromov P450, ki so udeleženi v presnovi zdravilnih učinkovin. Na primeru CYP2C9 smo prikazali pomen genetskega polimorfizma, demografskih dejavnikov in sočasnega jemanja zdravil za odmerjanje in presnovo varfarina.

**Gljučne besede:** Starostniki, genetski polimorfizem, citokromi P450, varfarin

**Abstract:** Elderly people are at increased risk of the adverse effects of drug treatment due to the physiological changes, increased morbidity and co-morbidity and polypharmacy. If drug metabolism is additionally decreased due to genetic polymorphism, the risk for adverse drug effects will be higher in an elderly patient compared to younger adults, due to decrease in maximal performance capacity and loss of homeostatic reserve. Genetic polymorphisms of major drug metabolising cytochromes P450 are presented. As an example, the influence of CYP2C9 genetic polymorphisms, demographic factors and concomitant drug treatment on warfarin maintenance dose and metabolism is presented.

**Key words:** Elderly, genetic polymorphism, cytochrome P450, warfarin

### Uvod

Starostniki v razvitem svetu predstavljajo najhitreje naraščajočo skupino prebivalstva. Pogostejše obolenje za kroničnimi, degenerativnimi, rakavimi in vnetnimi boleznimi spremlja tudi povečana poraba zdravil v tem starostnem obdobju. Po nekaterih podatkih so že pred desetletjem starostniki v povprečju jemali med dve in šest zdravil na recept in eno do tri zdravila, ki so v prosti prodaji (1). Sočasno jemanje večih zdravil pa je še v porastu, saj analize kažejo, da se je z uporabo kombinacije zdravil obolevnost in smrtnost pri starostnikih zmanjšala, kljub temu, da se je s tem znatno povečalo tveganje za klinično pomembne interakcije med zdravili (2). V ZDA so bili leta 1994 neželeni učinki zdravil glavni vzrok smrti več kot 100.000 hospitaliziranih bolnikov, kar predstavlja četrti do šesti najpogostejši vzrok smrti (3). Kateri so torej tisti dejavniki, ki vplivajo na to, ali bo starostnik bolj izpostavljen tveganju za pojav neželenih ali celo toksičnih učinkov zdravil?

### Vpliv staranja na presnovo zdravil

Starostniki so že zaradi narave fizioloških sprememb bolj podvrženi neželenim učinkom zdravil. S staranjem je povezano upadanje številnih fizioloških procesov in zmanjšanje funkcionalne rezerve. Poglavitne fiziološke spremembe, ki pri starostnikih lahko vplivajo na presnovo zdravil so: zmanjšana velikost jeter in manjši pretok krvi skozi jetra, nižja raven serumskih albuminov in zmanjšana ledvična funkcija. Starostniki imajo tudi večinoma nižjo telesno maso, manjši delež vode in večji delež maščevja.

Poleg samih fizioloških sprememb pa med posamezniki obstajajo velike razlike v hitrosti in učinkovitosti presnove zdravil tudi zaradi kroničnih in akutnih bolezni. Ker starostniki ponavadi jemljejo več zdravil, jih dodatno ogrožajo še interakcije med zdravili. Do teh lahko pride že v fazi absorpcije zdravila, klinično najpomembnejše pa so tiste interakcije, ko eno zdravilo vpliva na presnovo drugega. Do indukcije ali inhibicije encimskih sistemov za presnovo zdravil lahko pride tudi

zaradi prehrane. Na učinkovitost encimskih sistemov za presnovo zdravil, na transport zdravil in na aktivnost receptorjev pa pomembno vplivajo zlasti genetski dejavniki (4).

### Presnova zdravil

Večina telesu tujih snovi (ksenobiotikov), med katere sodijo tudi zdravila, se po vstopu v telo presnovi in s tem pretvori v bolj vodotopno obliko, ki se lahko izloči iz telesa. Z biotransformacijo zdravilo postane farmakološko manj učinkovito in se njegova toksičnost zmanjša, v nekaterih primerih pa se farmakološko neaktivna oblika zdravila z biotransformacijo aktivira v biološko bolj aktivno obliko.

Presnova zdravil v telesu poteka s pomočjo specifičnih encimskih sistemov pretežno v dveh stopnjah. Prvo stopnjo (faza I) predstavljajo reakcije oksidacije, redukcije ali hidrolize, pri katerih se v molekulo uvede ali izpostavi že obstoječa hidroksilna, amino, karboksilna ali tiolna skupina. Tako aktivirana molekula v naslednji stopnji (faza II) vstopi v reakcije konjugacije z glutationom, glukuronidom, sulfati ali organskimi kislinami. Po konjugaciji se vodotopnost molekule izredno poveča, kar olajša njeno ekskrecijo.

Večino encimov, ki presnavljajo zdravila kodirajo polimorfni geni. Genetski polimorfizem pomeni, da sta v populaciji prisotna najmanj dva alela nekega gena, pri čemer je frekvenca manj pogostega alela vsaj 1%. Genetski polimorfizem je najpogosteje posledica spremembe enega nukleotida (SNP – Single Nucleotide Polymorphism), pa tudi insercij ali delecij nukleotidov. Polimorfni aleli pa so lahko tudi posledica delecije ali duplikacije celotnega gena. Te spremembe lahko privedejo do nastanka neaktivnega encima, encima z zmanjšano

aktivnostjo ali spremenjeno substratno specifičnostjo, zaradi duplikacije gena pa nastane več kopij encima in je presnova zdravila hitrejša.

### Klinični pomen genetskega polimorfizma v presnovi zdravil

Genetski polimorfizem encimskih sistemov vključenih v metabolizem zdravil je najpogostejši vzrok za interindividualne razlike v hitrosti in učinkovitosti presnove velikega števila zdravil. Genetski polimorfizem v presnovi zdravil lahko postane klinično pomemben, kadar ima zdravilo majhno terapevtsko širino in se presnavlja pretežno preko polimorfnega encima, frekvenca polimorfnih alelov pa je v populaciji visoka, recimo 10%. Zaradi genetsko pogojenih interindividualnih razlik v učinkovitosti in hitrosti presnove zdravil v populaciji obstaja skupina posameznikov s povečanim tveganjem za neželjene ali toksične učinke zdravljenja z določenim zdravilom. Po drugi strani pa obstaja skupina posameznikov, pri kateri bo zdravljenje z običajnimi odmerki tega zdravila neučinkovito.

### Citokromi P450 in presnova zdravil

Najbolj pogosto uporabljana zdravila presnavlja zlasti šest izoenzimov, CYP1A2, CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6, CYP2E1 in CYP3A4, ki jih večinoma kodirajo polimorfni geni (5). Poglavitni citokromi P450, ki so vključeni v presnovo zdravilnih učinkovin so prikazani v Tabeli 1.

Tabela 1. Poglavitni citokromi P450 vključeni v metabolizem zdravil.

Encim	Frekvenca polimorfizma	Interakcije	Vpliv starosti na aktivnost	Tipični substrati
CYP1A2	redok	indukcija	zmanjšana	kofein teofilin paracetamol
CYP2C9	14-28% heterozigotov 0,2-1% homozigotov	inhibicija indukcija	zmanjšana?	varfarin glizipid fenitoin losartan
2C19	3-6% homozigotov (belci)		zmanjšana	omeprazol diazepam
CYP2D6	5-10% homozigotov (belci)	inhibicija	ne vpliva	antiaritmiki antidepresivi antipsihotiki kodein
CYP3A4	redok	inhibicija indukcija	zmanjšana v nekaterih študijah, ne pri amiodaronu	nifedipin eritromicin ciklosporin terfenadin



Večina citokromov P450, pomembnih za presnovo zdravil se izraža v jetrih, nekateri pa so prisotni tudi v ekstrahepatičnih tkivih. Tako je CYP3A4 pomemben za presnovo zdravil v tankem črevesu (predsistemski metabolizem), CYP2D6 pa za presnovo zdravil in endogenih substratov v možganih (6). Kar 60-70% zdravilnih učinkovin se presnovi preko treh encimov: CYP3A4, CYP2C9 in CYP2D6.

### CYP3A

Največji delež zdravil se presnovi preko CYP3A4, ki predstavlja 40-60% celokupnih citokromov P450 v jetrih. Med posamezniki obstajajo tudi 20-kratne razlike v nivoju izražanja CYP3A4.

Dosedaj je bilo opisano že 20 alelov CYP3A4, vendar je njihova frekvenca zelo nizka in samo z genetskim polimorfizmom niso mogli pojasniti razlik v presnovi zdravil med posamezniki. Polimorfizem je pogostejši pri izoencimu CYP3A5, ki ima podobno substratno specifičnost kot CYP3A4, je pa zaradi genetskega polimorfizma izražen le pri 20% belcev (7).

Čeprav so ugotovili, da genetski polimorfizem CYP3A4 vpliva na povečano tveganje za levkemijo po zdravljenju z epipodofilotoksini, pa na presnovo zdravil preko izoencimov CYP3A bolj pomembno kot genetski polimorfizmi vplivata inhibicija in indukcija z zdravilnimi učinkovinami in drugimi ksenobiotiki, pa tudi z nekaterimi hranili. Znano je, da sok grenivke inhibira CYP3A4, zato upočasnjuje presnovo sočasno vzetih zdravil in poveča tveganje za neželjene učinke. Interakcije med inhibitorji in substrati CYP3A4 predstavljajo klinično najbolj pomembne in nevarne interakcije med zdravili. Opisani so bili primeri kardiotsičnosti cisaprida in terfenadina ob sočasnem jemanju inhibitorjev CYP3A4 (npr. eritromicina, omeprazola ali ketokonazola) in toksičnost teofilina ob sočasnem jemanju eritromicina. Klinično je pomembna tudi indukcija CYP3A4 z fenobarbitalom, fenitoinom in rifampicinom. Zaradi indukcije se ob jemanju rifampicina zmanjša zanesljivost peroralne kontracepcije. Močan induktor CYP3A4 je tudi šentjanževka.

### CYP2D6

Čeprav CYP2D6 predstavlja le 2% celokupne količine citokromov P450 v jetrih, pa je udeležen pri presnovi kar 30% pogosto uporabljenih zdravil. Do danes je opisanih več kot 80 alelov gena CYP2D6. Nekateri polimorfizmi ne spremenijo ali pa le delno zmanjšajo encimsko aktivnost izoencima (CYP2D6\*2, \*9, \*10, \*17), več kot 20 alelov CYP2D6 pa kodira neaktiven protein (5).

Nosilci dveh funkcionalnih alelov so hitri metabolizatorji (Extensive Metabolisers - EM) z normalno encimsko aktivnostjo in jih je med belci 75%-85% (8). Nosilci enega funkcionalnega alela so srednje hitri metabolizatorji (Intermediate Metabolisers - IM), teh je med belci 10%-15% (9). Osebe, ki so nosilci dveh nefunkcionalnih alelov, nimajo aktivnega encima in v primerjavi s hitrimi metabolizatorji 10-200 krat počasneje hidrosilirajo substrate, ki se presnavljajo preko tega izoencimskega sistema. Fenotipsko so torej slabi metabolizatorji (Poor Metabolisers - PM). Takih je med belci 5%-10%, pri Slovencih pa 7% (8,10). Slabi metabolizatorji dosegajo zaradi manjše kapacitete za presnovo pri istih odmerkih zdravila višje plazemske koncentracije kot hitri metabolizatorji in so zato bolj podvrženi neželjenim učinkom nekaterih zdravil, zlasti antipsihotikov (11). Nosilci duplikacij gena

CYP2D6 pa imajo več kot tri, lahko pa tudi kar trinajst kopij aktivnega izoencima CYP2D6, zato je njihova kapaciteta za presnovo povečana (12). Uvrščamo jih med ultrahitre metabolizatorje, ki za dosego primerne terapevtske plazemske koncentracije zdravila potrebujejo tudi do trikrat večji odmerek zdravila kot hitri metabolizatorji (13).

Čeprav je število alelov CYP2D6 zelo veliko, pa ponavadi od tri do pet najpogostejših alelov predstavlja več kot 95% vseh alelov CYP2D6 v neki populaciji. Populacijske študije povezanosti med genotipom in fenotipom so pokazale, da pri beli rasi z določljivo sedmih najpogostejših alelov (CYP2D6\*2, \*3, \*4, \*5, \*6, \*9 in \*10) na podlagi genotipa lahko s skoraj 100% zanesljivostjo predvidimo fenotip (14).

Genetski polimorfizem CYP2D6 je klinično pomemben dejavnik tveganja za neželjene učinke antipsihotikov, antidepressivov in antiaritmikov (15). K temu prispeva dejstvo, da se mnogo zdravil iz te skupine presnavlja izključno preko CYP2D6 in da imajo hkrati tudi ozko terapevtsko širino in se pogosto uporabljajo. Antagonisti beta-adrenergičnih receptorjev imajo večjo terapevtsko širino, zato genetski polimorfizem CYP2D6 ne prispeva bistveno k povečanemu tveganju za neželjene učinke teh zdravil. Zaradi genetskega polimorfizma CYP2D6 so slabi metabolizatorji izpostavljeni večjemu tveganju za pojav ekstrapiramidne simptomatike ob jemanju nevroleptikov. Pri dolgotrajnem zdravljenju z antipsihotiki je tveganje za tardivne diskinezije pri starostnikih 5-6-krat večje kot pri mlajših odraslih, zato je pri njih vpliv genetskega polimorfizma na presnovo zdravila še toliko bolj pomemben (16). Zaradi pospešene presnove so pri ultrahitrih metabolizatorjih običajni odmerki nevroleptikov neučinkoviti (13).

Čeprav je genetski polimorfizem CYP2D6 klinično pomembnejši, pa so opisani tudi primeri inhibicije CYP2D6. Tako lahko na primer cimetidin sprevrže genotipsko hitre metabolizatorje v fenotipsko slabe metabolizatorje in poveča tveganje za pojav ekstrapiramidnih stranskih učinkov pri sočasnem zdravljenju z nevroleptiki.

### CYP2C9

CYP2C9 predstavlja 15% celokupnih jetrnih citokromov P450 in je pomemben za presnovo več kot sto zdravil, zlasti mnogih nesteroidnih antirevmatikov, peroralnih hipoglikemikov, nekaterih antagonistov angiotenzina II, antagonistov vitamina K in drugih pogosto uporabljenih zdravil. Poleg CYP2D6 je polimorfizem CYP2C9 eden klinično najbolj pomembnih zaradi ozke terapevtske širine nekaterih substratov (17).

Polimorfizem CYP2C9 je večinoma posledica zamenjave posameznih nukleotidov v kodirajočem ali regulatornem področju gena (5). Izmed več kot 50 polimorfni alelov sta pogosta le dva: CYP2C9\*2 in CYP2C9\*3 (18). Pri alelu CYP2C9\*2 zaradi substitucije 416C>T v eksonu 3 nastane encim, ki ima na mestu 144 cistein namesto arginina (19). Alel CYP2C9\*3 pa zaradi substitucije 1061A>C v eksonu 7 nosi zapis za encim, ki ima na mestu 359 izoleucin namesto leucina (18). Rezultati študij v pogojih »in vitro« kažejo, da ima encim CYP2C9.2 približno 12% in CYP2C9.3 le še približno 5% metabolne aktivnosti normalnega encima (19, 20).

Populacijske študije so pokazale, da je pri beli rasi pogostnost alela CYP2C9\*1 (normalni alel) okrog 82%, alela CYP2C9\*2 3-10% in alela

CYP2C9\*3 1-7%. Tako je med belci 66% homozigotov za normalni alel CYP2C9\*1, približno 33% oseb je heterozigotov za enega od polimorfnihih alelov, manj kot 2,5% oseb pa ima polimorfna oba alela (18). Podobno razporeditev polimorfnihih alelov CYP2C9 smo ugotovili tudi pri slovenski populaciji (21).

Poleg genetskega polimorfizma na interindividualno variabilnost v presnovi preko CYP2C9 vplivata tudi inhibicija ali indukcija CYP2C9. Opisani so bili primeri toksičnosti fenitoina ob sočasnem jemanju ketokonazola zaradi inhibicije CYP2C9. Zaradi indukcije CYP2C9 je bilo potrebno bolnikom, ki so prejeli varfarin ob začetku zdravljenja s fenobarbitalom zvišati odmerek varfarina, ob ukinitvi barbituratov pa ustrezno znižati odmerek varfarina (17).

## Vpliv polimorfizma CYP2C9 na presnovo in odmere varfarina pri bolnikih na vzdrževalnem zdravljenju

Varfarin deluje kot antagonist vitamina K in je eno najpogostejše uporabljenih antikoagulacijskih zdravil. Za varfarin je značilna izjemno velika razlika v dnevni odmerku, s katerim dosežejo zadosten antikoagulacijski učinek, saj se dnevni odmerek zdravila med posameznimi bolniki razlikuje celo za več 10-krat. Zaradi tolikšne interindividualne variabilnosti v višini dnevnega odmerka in zaradi ozke terapevtske širine varfarina, je v toku zdravljenja z varfarinom potrebno pogosto spremljanje bolnika in merjenje protrombinskega časa v krvi, predvsem v obdobju uvajanja zdravila, ko bolniku individualno prilagajajo odmerek varfarina. Stalne, sicer redkeje kontrole protrombinskega časa pa so potrebne tudi pri bolnikih na dolgotrajnem vzdrževalnem zdravljenju. S tem se želijo izogniti komplikacijam zaradi nezadostne antikoagulacije, po drugi strani pa preprečiti neželene krvavitve zaradi prekomerne antikoagulacije.

Varfarin je racemat, zmes enakih količin S- in R-varfarina. Presnavljajo ga različni encimi, ki se izražajo v jetrih. S-varfarin se presnavlja skoraj izključno preko CYP2C9, R-varfarin pa se presnavlja preko CYP1A2, CYP2C19 in CYP3A4 (22). Številne raziskave so pokazale, da je genetski polimorfizem CYP2C9, ki presnavlja S-varfarin, eden od dejavnikov, ki pomembno prispevajo k veliki interindividualni variabilnosti v višini dnevnega odmerka. Redkeje pa so študije, ki so poskušale odgovoriti na vprašanje ali so genetske variante CYP2C9 povezane s spremenjeno metabolno aktivnostjo encima v pogojih »in vivo« (23, 24).

S sodelavci smo na veliki skupini slovenskih bolnikov na dolgotrajnem antikoagulacijskem zdravljenju, večinoma starostnikov (71,9 (9,0) let), proučevali vpliv genetskega polimorfizma CYP2C9, demografskih dejavnikov in sočasnega zdravljenja na dnevni odmerek in na presnovo varfarina (25). Rezultati naše študije so povzeti v tabeli 2.

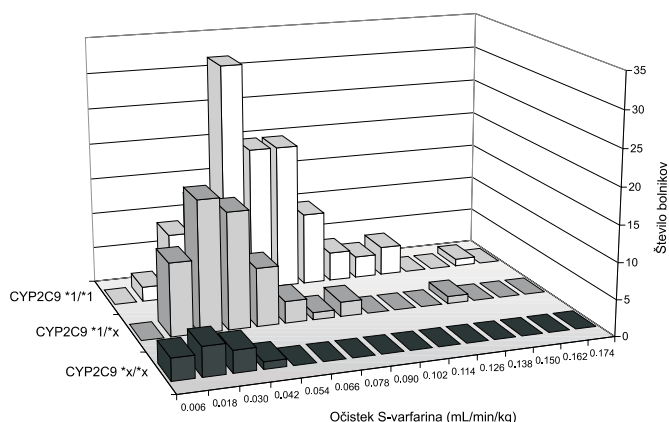
Ugotovili smo, da povprečni dnevni odmerek varfarina, ki je potreben za željeni učinek (INR v območju med 2,0 in 3,5), statistično značilno pada s številom polimorfnihih alelov. Nosilci dveh normalnih alelov so za enak učinek potrebovali v povprečju (s.d.) 4,88 (2,78) mg varfarina na dan, nosilci enega polimorfnega alela 2,71 (1,54) mg, nosilci dveh polimorfnihih alelov pa le 1,64 (1,03) mg varfarina dnevno (Tabela 2). Z merjenjem plazemskih koncentracij obeh enantiomer varfarina in njihovih monohidroksiliranih metabolitov (26) pa smo pokazali, da so kljub velikim razlikam v potrebnih dnevnihih odmerkih plazemske koncentracije S-varfarina, ki je aktivnejša izomera varfarina, podobne. Vzrok za razlike v potrebnem dnevnihih odmerku varfarina torej lahko pripišemo različni učinkovitosti presnovi S-varfarina. Celokupni plazemski očistek S-varfarina izražen na kilogram telesne teže brez maščob (LBW) je tako največji pri nosilcihih dveh normalnih alelov 0,065 (0,025) mL/min/kg, pri nosilcihih enega polimorfnega alela je 0,041 (0,021) mL/min/kg, pri nosilcihih dveh polimorfnihih alelov pa 0,020 (0,011) mL/min/kg (Slika 1). Zmanjšana učinkovitost presnove S-varfarina pri

Tabela 2: Farmakokinetika varfarina glede na genotip CYP2C9.

	Vsi bolniki	CYP2C9 genotip			p-vrednost
		*1/*1	*1/*x	*x/*x	
Število bolnikov (moški/ženske)	94/94	63/55	26/33	5/6	0,38 <sup>§</sup>
Dnevni odmerek varfarina (mg/dan)	4,01 (2,64)	4,88 (2,78)	2,71 (1,54)	1,64 (1,03)	< 0,001 <sup>a</sup>
Plazemska koncentracija varfarina					
R,S-varfarin (mg/L)	1,44 (0,61)	1,57 (0,62)	1,26 (0,57)	1,04 (0,24)	< 0,001 <sup>b</sup>
R-varfarin (mg/L)	0,94 (0,44)	1,08 (0,43)	0,76 (0,36)	0,44 (0,11)	< 0,001 <sup>a</sup>
S-varfarin (mg/L)	0,50 (0,23)	0,49 (0,22)	0,50 (0,25)	0,60 (0,21)	0,22
Plazemski očistek varfarina <sup>#</sup>					
R,S-varfarin (ml/min/kg)	0,037 (0,015)	0,039 (0,014)	0,031 (0,015)	0,021 (0,010)	< 0,001 <sup>a</sup>
R-varfarin (ml/min/kg)	0,028 (0,012)	0,029 (0,011)	0,026 (0,012)	0,025 (0,009)	0,18
S-varfarin (ml/min/kg)	0,055 (0,027)	0,065 (0,025)	0,041 (0,021)	0,020 (0,011)	< 0,001 <sup>a</sup>

Aritmetične sredine (standardne deviacije); <sup>#</sup>Plazemski očistek je podan na kilogram telesne teže brez maščob (Jamesova formula); p-vrednost podaja značilnost razlike med skupinami (test ANOVA); <sup>§</sup>Pearsonov  $\chi^2$  test za kategorične spremenljivke; <sup>a</sup>vse tri skupine se med seboj značilno razlikujejo; <sup>b</sup>genotip CYP2C9\*1/\*1 se značilno razlikuje od genotipov CYP2C9\*1/\*x in \*x/\*x (test najmanjše pomembne razlike, p<0,05)

nosilcih polimorfni alelov se je torej kompenzirala z nižjimi odmerki varfarina, posledično pa so bile zato nižje tudi plazemske koncentracije R-varfarina (25).



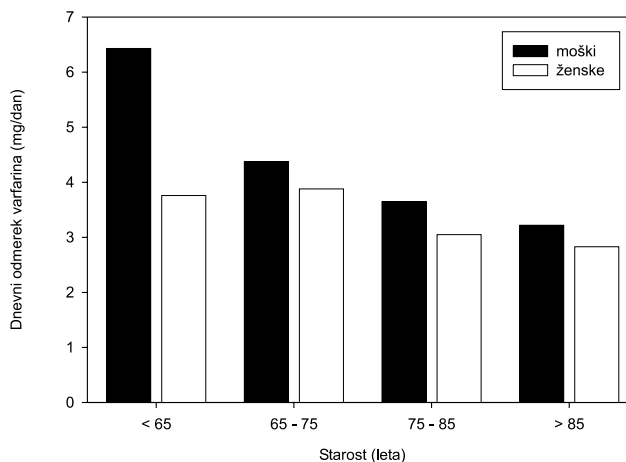
Slika 1: Vpliv polimorfizma CYP2C9 na očistek S-varfarina.

Z multivariatno statistično analizo smo ovrednotili vplive genetskih (polimorfizem CYP2C9) in demografskih (starost, LBW, trajanje terapije z varfarinom, koncentracija plazemskih albuminov) dejavnikov ter sočasnega jemanja učinkovin, ki vstopajo v interakcije z varfarinom (zdravila, vnos zelenjave bogate z vitaminom K in soka grenivke). Ugotovili smo, da kar štirje izmed proučenih dejavnikov značilno vplivajo na potrebni dnevni odmerek varfarina ( $p < 0.05$ ). Najpomembnejši je genetski polimorfizem CYP2C9 s katerim lahko pojasnimo kar 27% variabilnosti v potrebnem dnevnem odmerku varfarina. Z upoštevanjem starosti bolnika, LBW in sočasne terapije z učinkovinami, ki inducirajo presnovo varfarina (karbamazepin in primidon) pa lahko dodatno razložimo še 10% variabilnosti. Pri starejših bolnikih se potrebni dnevni odmerek varfarina zmanjša za 1,7% na leto, poveča pa se pri bolnikih na sočasni terapiji z induktorji presnove (78,1%) in tistih z večjo LBW (0,9%/kg). Na osnovi teh rezultatov smo razvili matematični model, ki nam omogoča določanje potrebnega dnevnega odmerka varfarina v vzdrževalni fazi zdravljenja (25):

$$\text{Odmerek [mg/dan]} = \exp(2,161 - 0,507 \cdot (*1/*x) - 1,018 \cdot (*x/*x) - 0,0173 \cdot \text{STAROST[let]} + 0,577 \cdot \text{IND} + 0,00884 \cdot \text{LBW[kg]})$$

V enačbi v primeru prisotnosti enega (\*1/\*x) ali dveh (\*x/\*x) polimorfni alelov in v primeru sočasne terapije z induktorji presnove varfarina (IND) pripišemo dihotomnim spremenljivkam vrednost 1, sicer 0.

Na enak način smo analizirali tudi vplive na očistek R- in S-varfarina. Izkazalo se je, da imata na očistek varfarina pomemben vpliv tudi sočasna terapija z inhibitorji presnove varfarina (amiodaron, fenofibrat, fluvastatin, gemfibrozil in losartan) in koncentracija plazemskih albuminov (25). Zanimivo je, da se s starostjo bolnikov plazemski očistek R-varfarina zmanjšuje, na plazemski očistek 3 do 5 krat bolj učinkovite S-izomere pa starost nima vpliva. Iz tega lahko sklepamo, da se s staranjem povečuje farmakodinamična učinkovitost varfarina (Slika 2).



Slika 2: Vpliv starosti na povprečni dnevni vzdrževalni odmerek varfarina.

Starostne spremembe v farmakokinetiki varfarina neposredno klinično verjetno niso pomembne, gotovo pa zaradi zvečane občutljivosti na varfarin postane relativno pomembnejši vpliv genetskega polimorfizma CYP2C9.

Pomen genotipizacije CYP2C9 pred začetkom zdravljenja z varfarinom za znižanje tveganja krvavitev ostaja predmet prospektivnih raziskav na bolnikih v uvalnem obdobju zdravljenja. Hitri postopki izolacije in analize DNA, sodobne tehnologije z DNA mikromrežami (AmpliChip CYP450 Test®) in vedno nižji stroški genotipizacije, možnosti individualiziranih farmakoterapevtskih ciljev in Bayesovega adaptivnega vodenja (27) in ne nazadnje rezultati nekaterih farmakoekonomskih raziskav (28) pa tudi pri več kot pol stoletja poznani učinkovini, kot je varfarin (29) veliko obetajo.

## Zahvala

Sodelavcem Darji Herman in Katji Breskvar z Inštituta za biokemijo Medicinske fakultete, Igorju Locatelliju, Vojku Kmetcu in Alešu Mrharju s Fakultete za farmacijo, Poloni Peternel in Mojci Stegnar s Klinike za žilne bolezni, Klinični Center Ljubljana se zahvaljujeva za trud vložen v raziskavo vpliva polimorfizma CYP2C9, demografskih dejavnikov in sočasnega zdravljenja na vzdrževalni odmerek in presnovo varfarina.

## Literatura

- Fulton M, Riley AE. Polypharmacy in the elderly. A literature review. J Am Acad Nurse Pract 2005; 17: 123-132.
- Turnheim K. Drug therapy in the elderly. Exp Gerontol 2004; 39: 1731-1738.
- Lazarou J, Pomeranz BH, Corey PN. Incidence of adverse drug reactions in hospitalized patients: a meta-analysis of prospective studies. JAMA 1998; 279:1200-1205.
- Nebert DW. Polymorphisms in drug-metabolizing enzymes: What is their clinical relevance and why do they exist? Am J Hum Genet 1997; 60:265-271.

5. [www.imm.ki.se/CYPalles/CYP2D6.htm](http://www.imm.ki.se/CYPalles/CYP2D6.htm) (april 2005).
6. Siegle I, Fritz P, Eckhardt K, Zanger UM, Eichelbaum M. Cellular localization and regional distribution of CYP2D6 mRNA and protein expression in human brain. *Pharmacogenetics* 2001; 11: 237-245.
7. Kuehl P, Zhang J, Lin Y et al. Sequence diversity in CYP3A promoters and characterization of the genetic basis of polymorphic CYP3A5 expression. *Nat Genet* 2001; 27: 383-391.
8. Bertilsson L. Geographical/interracial differences in polymorphic drug oxidation: current state of knowledge of cytochromes P450 (CYP) 2D6 and 2C19. *Clin Pharmacokinet* 1995; 29: 192-209.
9. Raimundo S, Fischer J, Eichelbaum M, Griese E-U, Schwab M, Zanger UM. Elucidation of the genetic basis of the common 'intermediate metaboliser' phenotype for the drug oxidation by CYP2D6. *Pharmacogenetics* 2000; 10: 1-5.
10. Dolžan V, Rudolf Z, Breskvar K. Human CYP2D6 gene polymorphism in Slovenian cancer patients and healthy controls. *Carcinogenesis* 1995; 16: 2675-2678.
11. Kirchheiner J, Nickchen K, Bauer M et al. Pharmacogenetics of antidepressants and antipsychotics: the contribution of allelic variations to the phenotype of drug response. *Mol Psychiatry* 2004; 9: 442-473.
12. Lundquist E, Johansson I, Ingelman-Sundberg M. Genetic mechanisms for duplication and multiduplication of the human CYP2D6 gene and methods for detection of duplicated CYP2D6 genes. *Gene* 1999; 226: 327-338.
13. Bertilsson L, Dahk M-L, Sjobkvist F et al. Molecular basis for rational megaprescribing in ultrarapid hydroxylators of debrisoquine. *Lancet* 1993; 341: 363.
14. Sachse C, Brockmoller J, Bauer S, Roots I. Cytochrome P450 2D6 variants in a Caucasian population: allele frequencies and phenotypic consequences. *Am J Hum Genet* 1999; 60: 284-295.
15. Nemeroff CB, DeVane CL, Pollock BG. Newer antidepressants and the cytochrome P450 system. *Am J Psychiatry* 1996; 153: 311-20.
16. Jeste DV. Tardive dyskinesia in older patients. *J Clin Psychiatry*. 2000;61 Suppl 4:27-32.
17. Kirshheiner J, Brockmoller J. Clinical consequences of cytochrome P450 2C9 polymorphisms. *Clin Pharmacol Ther* 2005; 77: 1-16.
18. Lee CR, Goldstein JA, Pieper JA. Cytochrome P450 2C9 polymorphism: a comprehensive review of in-vitro and human data. *Pharmacogenetics* 2002; 12: 251-263.
19. Rettie AE, Wienkers LC, Gonzalez FJ, Trager WF, Korzekwa KR. Impaired (S)-warfarin metabolism catalysed by the R144C allelic variant CYP2C9. *Pharmacogenetics* 1994; 4: 39-42.
20. Haining RL, Hunter AP, Veronese ME, Trager WF, Rettie AE. Allelic variants of human cytochrome P450 2C9: baculovirus-mediated expression, purification, structural characterization, substrate stereoselectivity, and prochiral selectivity of wild-type and I359L mutant forms. *Arch Biochem Biophys* 1996; 333: 447-458.
21. Herman D, Dolžan V, Breskvar K. Genetic polymorphism of cytochromes P450 2C9 and 2C19 in Slovenian population. *Zdrav vest*. 2003; 72: 347-351.
22. Daly AK, King BP. Pharmacogenetics of oral anticoagulants. *Pharmacogenetics* 2003; 13(5): 247-252.
23. Scordo MG, Pengo V, Spina E, Dahl ML, Gusella M, Padrini R. Influence of cytochrome P450 CYP2C9 and 2C19 genetic polymorphisms on warfarin maintenance dose and metabolic clearance. *Clin Pharmacol Ther* 2002; 72: 702-710.
24. Kamali F, Khan TI, King BP et al. Contribution of age, body size, and CYP2C9 genotype to anticoagulant response to warfarin. *Clin Pharmacol Ther* 2004; 75: 204-212.
25. Herman D, Locatelli I, Grabnar I et al. Influence of CYP2C9 polymorphisms, demographic factors and concomitant drug therapy on warfarin metabolism and maintenance dose. *Pharmacogenomics J* 2005; in press.
26. Locatelli I, Kmetec V, Mrhar A, Grabnar I. Determination of warfarin enantiomers and hydroxylated metabolites in human blood plasma by liquid chromatography with achiral and chiral separation. *J Chromatogr B* 2005; 818:191-198.
27. Jelliffe RW, Schumitzky A, Bayard D et al. Model-based, goal-oriented, individualised drug therapy. *Clin Pharmacogenetics* 1998; 34: 57-77.
28. You JHS, Chan FWH, Wong RSM, Cheng G. The potential clinical and economic outcomes of pharmacogenetics-oriented management of warfarin therapy – a decision analysis. *Thromb Haemost* 2004; 92: 590-597.
29. Gustafsson D, Bylund R, Antonsson T et al. A new oral anticoagulant: the 50-year challenge. *Nature Rev. Drug Discovery* 2004; 3: 649-659.

# Interakcije med zdravili za starostnike - teoretičen in praktičen vidik

## Drug Interactions in Elderly - Theoretical and Practical View

Mihaela Tršinar, Tomaž Vovk

**POVZETEK:** S staranjem se pogostost obolenosti ljudi bistveno povečuje, zato starostniki jemljejo nesorazmerno več zdravil kot ostala populacija. Politerapija, farmakokinetske in farmakodinamske spremembe so verjetno med glavnimi vzroki za pogost pojav klinično pomembnih interakcij med zdravili pri starostnikih. Farmakokinetske interakcije med zdravili pri starostnikih potekajo na vse nivojih, vendar večina klinično pomembnih farmakokinetskih interakcij nastane na nivoju metabolizma in eliminacije zdravil, saj sta oba procesa pri starostnikih pomembno upočasnjena. Poleg farmakokinetskih interakcij so pri starostnikih pomembne tudi farmakodinamske interakcije med zdravili, ki nastanejo takrat, ko imajo sočasno uporabljena zdravila sinergistično oz. antagonistično farmakološko delovanje. Najpogostejše in najnevarnejše poročane interakcije med zdravili pri starostnikih zajemajo kombinacije varfarina z nesteroidnimi protivnetnimi učinkovinami, sulfonamidi, makrolidnimi antibiotiki, kinoloni ali fenitoinom, kombinacije zaviralcev angiotenzinske konvertaze z nadomestki kalija ali spironolaktonom, kombinacije digoksina z amiodaronom ali verapamilom ter kombinacije teofilina in kinolonov. Farmacevtska intervencija predstavlja pomemben doprinos k izboljšanju terapije starostnikov. Za rešitev problemov povezanih s terapijo je ključnega pomena sodelovanje med zdravnikom in farmacevtom.

**Ključne besede:** starostniki, politerapija, interakcije, farmacevtska intervencija

**ABSTRACT:** The incidence of diseases increases with age, consequently the consumption of drugs is significantly higher in elderly than in other populations. Polytherapy, pharmacokinetic and pharmacodynamic alternations in elderly are probably one of the major factors that place the elderly population at higher risk of developing clinically significant drug-drug interactions. Pharmacokinetic drug interactions can occur at all pharmacokinetic levels, however the most of them appear at the drug metabolism and excretion level because of the impairments of both levels in elderly. On the other hand, pharmacodynamic drug interactions occur when two or more used drugs have synergistic or antagonistic pharmacological activities. The most frequent and dangerous reported drug-drug interactions in elderly include combinations of warfarin and nonsteroidal anti-inflammatory drugs, sulfonamides, macrolide antibiotics, quinolone antibiotics or phenytoin; combinations of angiotensin converting enzyme inhibitors and potassium supplements or spironolactone; combinations of digoxin and amiodarone or verapamil and combinations of theophylline and quinolone antibiotics. Pharmaceutical intervention plays an important role in improvement of pharmacotherapy in elderly. The cooperation between pharmacist and physicians is one of the main key for improvement of pharmacotherapy in elderly.

**Key words:** elderly, polytherapy, interactions, pharmaceutical intervention

### 1 Uvod

Starostniki jemljejo nesorazmerno več zdravil na recept in brez recepta kot ostala populacija, ker se s staranjem povečuje pogostnost kroničnih bolezni in hkratna obolenost več organov. Poraba zdravil pri starostnikih predstavlja v ZDA, Veliki Britaniji in Nemčiji približno tretjino porabe vseh zdravil (1,2). Večina raziskav porabe zdravil pri starostnikih, ki se zdravijo ambulantno nakazujejo uporabo od dveh do šest zdravil na recept in od enega do treh zdravil brez recepta (3). V Sloveniji je bilo leta 2003 izdanih povprečno 19,4 receptov na prebivalca starejšega od 65 let, na prebivalca pod 65 let pa 5,5 (2). Vzroki za tako intenzivni trend naraščanja porabe zdravil so med

drugim odkritja številnih novih skupin zdravil npr. za zdravljenje sladkorne bolezni druga generacija sulfonilsečnin, bigvanidi, zaviralci glukozidaze alfa in tiazolidindioni ter uvajanja kliničnih smernic na podlagi z dokazi podprte medicine npr. zdravljenje srčnega popuščanja z zaviralcem angiotenzinske konvertaze, diuretikom Henljeve zanke, zaviralcem adrenergičnih receptorjev beta, spironolaktonom in digoksinom. Čeprav raba več zdravil pri zdravljenju določenih bolezni dokazano zmanjša obolenost in smrtnost, pa se povečuje pogostnost pojavljanja neželenih učinkov zdravil. Neželeni učinki zdravil so povprečno 2 do 3-krat pogostejši pri starejšem prebivalstvu kot pri mlajšem (2). Tako je po rezultatih raziskav v tujini 56% pogostnost

pojavljanja neželenih učinkov pri starostnikih v obdobju od 70 do 103 let, in v 4,6 do 22% so vzroki neželenih učinkov interakcije med zdravili (1). Na podlagi kombinatorne analize obstaja 50% teoretična verjetnost, da se pojavi interakcija med zdravili pri jemanju petih zdravil hkrati in ta verjetnost naraste na 100%, če se jemlje sedem zdravil hkrati. Tudi realni podatki potrjujejo te teoretične verjetnosti. Avtorji te raziskave navajajo, da so interakcije v 20% klinično zelo pomembne (3).

V Nemčiji povzročijo neželeni učinki zdravil približno 400 milijonov evrov bolnišničnih stroškov in na interakcije med zdravili odpade približno 80 milijonov evrov. Tudi pri odpustih iz bolnišnic prejmejo bolniki v 60% kombinacije zdravil, ki vsebujejo potencialne interakcije, ki so v 12,2% ocenjene kot resne (1). Ta dejstva nakazujejo kliničen in ekonomski pomen interakcij med zdravili za varno uporabo zdravil.

Interakcije med zdravili imajo za posledico povečan ali zmanjšan učinek zdravila. Interakcije, ki imajo za posledico zmanjšan učinek zdravila so večkrat spregledane in se obravnavajo kot poslabšanje bolezni pri starostniku ali kot slaba compliance pri jemanju zdravil. Kronične bolezni, fiziološke spremembe povezane s starostjo in spremenjena farmakokinetika in farmakodinamika zdravil imajo za posledico povečano nevarnost za nastanek klinično nevarnih interakcij med zdravili pri starostnikih (3).

## 2 Farmakokinetike in farmakodinamske spremembe pri starostnikih in njihova vloga pri nastanku interakcij med zdravili

### 2.1 Farmakokinetike spremembe

#### 2.1.1 Absorpcija

V literaturi lahko zasledimo različne podatke o spremembah pri starostnikih, ki lahko vplivajo na absorpcijo zdravil (3-6). Najpogosteje poročajo o zvišanju želodčnega pH kot posledica atrofičnih sprememb želodčne sluznice z znižano sekretorno kapaciteto kisline, znižanem gastrointestinalnem pretoku krvi ter znižani gastrointestinalni motiliteti (3,4). Kljub temu pa pri zdravih starostnikih navadno za veliko večino zdravil ne opazimo sprememb v absorpciji. Znižana funkcija gastrointestinalnega trakta (GIT) pa lahko bistveno vpliva na nastanek interakcij.

Študija, ki je primerjala biološko uporabnost benzodiazepina triazolama pri sočasni uporabi ranitidina je pokazala 10% povečanje površine pod plazemsko krivuljo (PPK) triazolama pri odraslih mlajših od 60 let, medtem ko je bil porast pri starejših od 60 let za 31%. Dvig želodčnega pH zaradi uporabe ranitidina, naj bi bil odgovoren za porast serumske koncentracije triazolama, ki je kislo labilna učinkovina. Ta mehanizem je še dodatno potenciran pri starostnikih in naj bi bil odgovoren za zmedenost in pogoste padce starostnikov, ki jih povzročijo povečane koncentracije benzodiazepina (3). Spremenjen želodčni pH lahko tudi vpliva na sproščanje učinkovin iz zdravilnih pripravkov z nadzorovanim sproščanjem npr. pripravki, ki naj bi se sprostil v nizkem želodčnem pH oz. pripravki z gastrozistentno oblogo (7).

Znižana motiliteta GIT starostnikov navadno nima kliničnega pomena in absorpcija zdravil ostane nespremenjena. Učinkovine kot so antiholinergiki in opiodi znižajo motiliteto GIT in zato lahko upočasnijo absorpcijo sočasno uporabljenih zdravil ali celo zmanjšajo obseg njihove absorpcije. Po drugi strani pa lahko učinkovine kot so metoklopramid in laksativi pospešijo motiliteto GIT in s tem navadno pospešijo hitrost absorpcije. Tak primer je sočasna uporaba metoklopramida in ciklosporina, slednjemu se značilno poveča biološka uporaba in plazemska koncentracija. Metoklopramid pa lahko tudi značilno zniža absorpcijo učinkovin, kot je to v primeru souporabe z digoksinom (3).

Ker se v GIT vrši tudi predsistemski metabolizem, je potrebna previdnost pri terapiji starostnikov z zdravili, ki so podvržena temu procesu. Znan je primer levodope, ki ima pri starostnikih, zaradi znižanega metabolizma v steni želodca 3 krat povečano biološko uporabnost.

#### 2.1.2 Distribucija

Na spremenjeno distribucijo učinkovin pri starostnikih vplivajo predvsem naslednji faktorji: povečana količina telesnih maščob, znižana količina mišičnega tkiva, zmanjšana količina vode v telesu ter spremenjene koncentracije serumskih albuminov in  $\alpha 1$  kislega glikoproteina (4-8).

Pri starostnikih se količina maščob poveča za 14 do 35% (5). Posledica tega je, da se lipofilnim učinkovinom poveča volumen distribucije. Takšne učinkovine so: diazepam, amiodaron, verapamil, tiopental... (6,7). Količina vode v telesu se pri ljudeh do 80 leta zmanjša za 10-15%, kar pomeni, da se volumen distribucije vodotopnih učinkovin zmanjša ter ob enakem odmerku plazemske koncentracije povečajo. Vodotopne učinkovine katerih volumen distribucije se poveča pri starostnikih so: gentamicin, digoksin, teofilin, cimetidin... (6). Dodatna previdnost velja pri teh pacientih še posebej ob uporabi diuretikov, ki lahko še dodatno zmanjšajo ekstracelularne tekočine in posledično vodijo do povečanih neželenih učinkov sočasno uporabljenih učinkovin (7).

Učinkovine, ki se močno vežejo na plazemske proteine, imajo lahko pri starostnikih spremenjen volumen distribucije. Serumska koncentracija albuminov je lahko pri starostnikih nespremenjena, lahko pa se zmanjša tudi za 10 do 20%. Posledično povečane koncentracije prostih bazičnih učinkovin lahko povečajo njihovo farmakološko delovanje. Koncentracija  $\alpha 1$  kislega glikoproteina na katerega se vežejo bazične učinkovine se lahko s starostjo poveča (4). Poleg fizioloških sprememb v vezavi na proteine lahko poteka pri starostnikih tudi tekmovanje učinkovin za vezavo na proteine. Porast plazemske koncentracije proste učinkovine bodisi zaradi fizioloških sprememb ali zaradi tekmovanja učinkovin za vezavo na proteine pa se le redko pojavi, saj se navadno z zvečanjem koncentracije proste učinkovine poveča tudi njen očistek.

#### 2.1.3 Metabolizem

Jetra so glavni organ v katerih poteka metabolizem učinkovin. Pri starostnikih lahko opazimo spremembe jeter tako v njihovi strukturi kot tudi v njihovi funkciji. Masa jeter se zmanjša za približno 25 do 35%, prav tako se zmanjša tudi pretok krvi za približno 40%, nastanek žolča ter sinteza proteinov, lipidov in glukoze (7). Kljub temu pa večina rutinskih jetrnih testov ne pokaže značilnih sprememb. Spremembe v metaboličnem očistku učinkovin pri starostnikih so odvisne predvsem od obsega s katerim se eliminirajo učinkovine v jetrih. Učinkovine z

veliko ekstrakcijo v jetrih se bodo pri starostnikih počasneje metabolizirale, medtem ko pa bo metabolizem učinkovin z nizko ekstrakcijo v jetrih nespremenjen. Metabolizem starostnikov s citokromi in ostalimi encimski sistemi v fazi 1 (oksidacija in redukcija) je lahko nespremenjen ali pa delno upočasnjen. Različne literaturne podatke razlagajo z veliko interindividualno razliko opaženo v aktivnosti metabolizma pri zdravih starostnikih. Druga faza metabolizma (konjugacija) se pri starostnikih ne spremeni (4,7,9).

Večina najpomembnejših interakcij med učinkovinami poteka na nivoju metabolizma in sicer predvsem s citokromi (CYP), s katerimi se metabolizira velika večina učinkovin. Med CYP sta najpomembnejša CYP 3A4, s katerim se metabolizira 50% vseh učinkovin ter CYP 2D6, s katerim se metabolizira 25% učinkovin. Za starostnike je posebej pomemben CYP 3A4, saj se njegova aktivnost pri starostnikih zmanjšuje za 8% na desetletje (3). Interakcije na nivoju metabolizma potekajo preko dveh mehanizmov to sta encimska indukcija, ki vodi v povečan metabolizem učinkovin ter posledično padca plazemskih koncentracij ter encimska inhibicija, ki zaradi zmanjšanja metabolizma učinkovin vodi do porasta njihovih plazemskih koncentracij. Encimska indukcija ima za posledico stimulacijo biosinteze encima in postane učinkovita po 5 do 10 dneh, njen učinek pa lahko traja kar nekaj dni po prenehanju jemanja induktorja. Med najbolj poznanimi induktorji CYP so barbiturati, antikonvulziva kot sta karbamazepin in fenitoin, zdravila za zdravljenje tuberkuloze, glukokortikoid deksametazon in tudi aktivne sestavine v pripravkih šentjanževke (9). Inhibicija metabolizma s CYP lahko nastane med dvema učinkovinama, ki sta substrata za CYP ali med učinkovinami pri katerih je posamezna inhibitor encima. Nastanek inhibicije CYP je navadno odvisen od razpolovne dobe učinkovine, ki je inhibitor CYP. Učinkovine s kratko razpolovno dobo povzročijo hiter nastanek inhibicije, ki se lahko pojavi že po enem ali dveh dneh. Številne učinkovine so inhibitorji CYP, zato navajamo le nekatere najpomembnejše skupine učinkovin: antimikotiki, kalcijevi antagonist, makrolidni antibiotiki, statini, fibrati, imunosupresivi, zaviralci proteaz, antikoagulant, antidepressivi z inhibičnim delovanjem na prevzem serotonina ter zaviralci protonske črpalke (3,9,10).

### 2.1.4. Eliminacija

S staranjem se ledvična funkcija navadno zmanjša, zato se eliminacija učinkovin preko ledvic upočasnjuje. Po 40 letu starosti se zmanjša število glomerulov, upočasnjuje se renalni pretok krvi in glomerulna filtracija. S staranjem iz 20 na 90 let se glomerulna filtracija zmanjša za 25 do 50% (7). Zmanjšana glomerulna filtracija se kompenzira s produkcijo vazodilatatornih prostaglandinov. Inhibicija sinteze vazodilatatornih prostaglandinov z nesteroidnimi protivnetnimi učinkovinami (NSAR) lahko poleg obstoječe znižane funkcije ledvic vodi do znižane eliminacije sočasno uporabljenih zdravil ter povečane verjetnosti nastanka nefrotoksičnosti (3,4). Poleg interakcij med zdravili, ki so posledica prizadete ledvične funkcije, potekajo interakcije v ledvicah tudi zaradi tekmovanja za aktivno tubularno sekrecijo. Primeri so sočasna uporaba probenicida z aspirinom, metotreksatom ali penicilini (3).

## 2.2 Farmakodinamske spremembe

Farmakokinetske spremembe pri starostnikih vodijo do spremenjenih koncentracij učinkovin v organizmu. Jakost farmakološkega efekta pa

ni odvisna le od koncentracije učinkovine na mestu delovanja, ampak tudi od števila receptorjev in njihove afinitete do učinkovin, mehanizmov, ki so odgovorni za prevajanje signala ter od homeostatskih mehanizmov. Farmakodinamske spremembe pri starostnikih lahko nastanejo bodisi na nivoju receptorjev, mehanizmov odgovornih za prevajanje signala ali na nivoju homeostatskih mehanizmov (7). Pri starostnikih lahko opazimo znižano funkcijo  $\beta$ -adrenergičnih receptorjev v srcu, kar se kaže z znižanim kronotropnim in ionotropnim delovanjem  $\beta$ -adrenergičnih učinkovin (4). Znižana funkcija  $\beta$ -adrenergičnih receptorjev pa ni posledica zmanjšane števila receptorjev, temveč sprememb mehanizmov odgovornih za prevajanje signala. Za starostnike je značilno tudi znižano število dopaminskih nevronov in znižano število dopaminskih  $D_2$  receptorjev v centralnem živčnem sistemu, kar vodi do nastanka ekstrapiramidalnih simptomov. Prav tako je v centralnem živčnem sistemu zmanjšano število holinergičnih receptorjev, ki so vpleteni v kognitivne procese (7). Starostniki so tudi bolj občutljivi na terapijo z benzodiazepini, kar se lahko kaže s povečano sedacijo, nastankom zmedenosti, ataksije in morbidnosti. Kot možen vzrok za povečano občutljivost starostnikov na terapijo z benzodiazepini navajajo tudi spremembe v številu in sestavi podenot GABA benzodiazepinskih receptorjev (7). Ena izmed najbolj tipičnih sprememb v homeostatskih mehanizmih pri starostnikih je povečana občutljivost na posturalno hipotenzijo. Ta je posledica znižane občutljivosti baroreceptorjev. Posturalna hipotenzija je pri starostnikih še dodatno potencirana ob jemanju nitroglicerina, fenotiazinov, diuretikov, dihidropiridinskih kalcijevih antagonistov ter perifernih  $\alpha$ -blokatorjev (4). Plazemske koncentracije renina ter koncentracije aldosterona v krvi in urinu se s staranjem zmanjšujejo, kar je verjetno posledica zmanjšane simpatične inervacije jukstaglomerularnih celic. Zmanjšanje renina in aldosterona pri starostnikih lahko zato hitreje vodi v hiperkaliemije, še posebej pri terapiji oz. politerapiji z NSAR, ACE zaviralci,  $\beta$  blokatorji in kalij varčnimi diuretiki (4). Pri politerapiji starostnikov je potrebno upoštevati tudi farmakodinamske spremembe, saj le te lahko potencirajo nastanek interakcij med zdravili. Farmakodinamske interakcije se pojavijo takrat, ko ena učinkovina spremeni klinično delovanje druge in sicer ko imata dve ali več učinkovin aditivno ali sinergistično farmakološko delovanje oz. imata antagonistično farmakološko delovanje. Te interakcije so pri starostnikih lahko še pogostejše kot farmakokinetske. Direktne farmakodinamske interakcije nastanejo takrat ko učinkovini tekmujeta za isti receptor, ko ena učinkovina spremeni afiniteto receptorja za drugo učinkovino oz. takrat ko dve učinkovini delujeta na različnih mestih z enakim farmakološkim delovanjem kot je npr. pri kombinaciji diuretikov. Nekateri izmed klinično pomembnih primerov direktnih interakcij med zdravili, ki so relevantni za starostnike so souporaba verapamila in  $\beta$  adrenergičnih antagonistov, varfarina in klofibrata, kortikosteroidov ali tetraciklinov ter opiatnih analgetikov in naloksone. Med indirektno farmakodinamske interakcije pa prištevamo tiste, kjer učinek učinkovine, ki povzroča interakcijo, spremeni terapevtski ali toksičen učinek druge učinkovine. Mehanizmi teh interakcij navadno vključujejo spremembe odziva na mestu delovanja (npr. toksično delovanje digoksina zaradi souporabe s kalij varčnimi diuretiki) ali posredovanje učinka preko različnih bioloških sistemov (npr. povečana incidenca krvavitev zaradi sočasne uporabe NSAR in oralnih antikoagulantov). Nekateri primeri indirektnih farmakodinamskih interakcij, ki so klinično pomembni pri starostnikih so souporaba kar-

diotoničnih glikozidov in učinkovin ki vplivajo na koncentracijo kalija, ACE inhibitorjev in vazodilatatorjev, antikoagulantov in učinkovin ki povzročajo gastrointestinalne razjede, inhibitorjev privzema serotonina in zdravil ki vsebujejo izvlečke iz šentjanževke ter aminoglikozidov in diuretikov henljeve zanke (3).

### 3 Najpogostejše nevarne interakcije med zdravili pri starostnikih

Ker se je izkazalo, da je neustrezna uporaba zdravil pri starostnikih pomemben dejavnik tveganja za nastanek bolezni povezanih z zdravili, so bili izdelani številni kriteriji za določitev ustreznosti farmakoter-

apije pri starostnikih. Nekateri izmed njih opredeljujejo samo zdravilo, odmerek in kombinacijo zdravil, ki se ne priporočajo in se lahko določijo že na podlagi pregleda porabe zdravil, drugi pa opredeljujejo tudi indikacije v povezavi s kliničnimi dejavniki in zato zahtevajo medicinske podatke. Najbolj razširjena je uporaba kriterijev, ki so jih razvili Beers s sodelavci (11,12). Ti kriteriji so bili izdelani z namenom odkrivanja potencialno neprimernih zdravil, predpisanih starostnikom in služijo kot sredstvo v epidemioloških raziskavah za ovrednotenje kvalitete predpisovanja zdravil, ne morejo pa nadomestiti preudarnega kliničnega odločanja zdravnika ali farmacevta.

V ZDA so zdravniki in farmacevti identificirali deset najpogostejših nevarnih interakcij med zdravili, ki so jih zaznali v dolgotrajni praksi v negovalnih centrih za starostnike (3). Pregled teh interakcij je podan v preglednici 1.

**Preglednica 1: Deset najpogostejših nevarnih interakcij med zdravili pri starostnikih (3).**

Zdravilni učinkovini	Posledica in mehanizem interakcij	Klinični ukrepi
Varfarin - NSAR	↑nevarnost krvavitev v GIT, ↓antiagregacijska aktivnost trombocitov	Kontrolirati znake krvavitve, kontrola INR vrednosti
Varfarin - sulfonamidi	↑učinek varfarina, mehanizem ni znan, predvidevajo zmanjšanje nastanka K vitamina zaradi okvare črevesne flore (bolj izraženo pri slabo prehranjenih starostnikih), sulfametoksazol naj bi zaviral metabolizem varfarina in izpodrinil varfarin s plazemskih proteinov.	Zmanjšati odmerke varfarina za 50% med in en teden po zdravljenju in kontrolirati INR vrednost
Varfarin - makrolidni antibiotiki	↑nevarnost krvavitev zaradi ↑učinka varfarina, makrolidi zmanjšajo metabolizem varfarina	Kontrolirati INR vrednost in prilagoditi odmerke varfarina
Varfarin - kinoloni	↑nevarnost krvavitev zaradi ↑učinka varfarina, mehanizem ni poznan, verjetno zaradi zmanjšanja nastanka K vitamina in spremenjenega metabolizma varfarina	Kontrolirati INR vrednost in prilagoditi odmerke varfarina
Varfarin - fenitoin	↑učinek varfarina in/ali ↑učinek fenitoina, mehanizem ni poznan, možna je genetska predispozicija za spremenjen metabolizem obeh zdravil	Kontrolirati INR vrednost in serumsko koncentracijo fenitoina
ACE zaviralci - nadomestki kalija	Pojavi se lahko hiperkalijemija, ker ACE zaviralci zavirajo nastanek aldosterona	Kontrolirati serumske vrednosti kalija
ACE zaviralci - spironolakton	Pojavi se lahko hiperkalijemija, ker obe zdravili povečata serumsko koncentracijo kalija	Kontrolirati serumske vrednosti kalija
Digoksin - amiodaron	Amiodaron zmanjša očistek digoksina, nastane zastrupitev z digoksinom	Odmerek digoksina se zmanjša za 50% in meri se serumska koncentracija digoksina
Digoksin - verapamil	Farmakodinamski sinergističen učinek na upočasnjevo prevodnost in srčno kontrakcijo, ki vodi v bradikardijo in zastoj srca	Uporabiti drugo zdravilo namesto verapamila
Teofilin - kinoloni	Nekateri kinoloni zmanjšajo metabolizem teofilina, kar vodi v zastrupitev s teofilinom	Izbrati kinolon, ki ne vpliva na metabolizem: gatafloksacina, levofloksacina, moksifloksacina in trovafloksacina



### 3.1 Interakcije z varfarinom

Varfarin se v najnovejših smernicah za antitrombotično terapijo priporoča za zdravljenje, pljučne embolije, atrijske fibrilacije, pri umetnih srčnih zaklopkah in boleznih zaklopk. Največ bolnikov z atrijskimi fibrilacijami je med starostniki nad 70 let in uporaba varfarina dokazano zmanjša incidenco srčne kapi za 68% (13).

Varfarin je učinkovina z ozko terapevtsko širino in hemoragične komplikacije so pogostejše pri starostnikih kot pri mlajših bolnikih, saj so pri njih pogostejše bolezni, ki veljajo kot kontraindikacije za uporabo varfarina. Poleg tega je pomembno spremenjena farmakokinetika zdravila, predvsem zmanjšana vezava na plazemske albumine, zmanjšana eliminacija in pomanjkanje vitamina K zaradi neustrezne prehrane ali motenega delovanja vitamina K na nivoju receptorjev (14).

#### 3.1.1 Varfarin in NSAR

Retrospektivna epidemiološka raziskava pri pacientih starejših od 65 let je pokazala 13 krat večjo nevarnost za razvoj hemoragičnega peptičnega ulkusa ob jemanju oralnih antikoagulantov in NSAR v primerjavi s populacijo, ki teh zdravil ni jemala. Farmakološki učinki, ki pripomorejo k razvoju interakcije so draženje v GIT, podaljšan protrombinski čas, inhibicija adhezije in agregacije trombocitov. Nekateri NSAR vplivajo tudi na farmakokinetiko varfarina. Priporoča se uporaba NSAR skupaj z antikoagulanti samo takrat, kadar korist odtehta tveganje. Potrebno je kontrolirati INR vrednost in skrbno spremljati bolnike glede na pojav neželenih učinkov, kot so neobičajne krvavitve, bolečine, podplutbe, glavobol, vrtoglavica, slabost, krvavitve iz nožnice, nosu, dlesni, rdeč ali rjav urin, rdeče ali črno blato (15).

#### 3.1.2 Varfarin in sulfonamidi

Mehanizem interakcije je verjetno inhibicija izoenzima CYP450 2C9, ki metabolizira bolj aktivno S(-) enantiomero varfarina. Obstaja velika variabilnost med pacienti glede metabolizma varfarina, zato je potrebno skrbno spremljati bolnika in prilagajati odmerek varfarina (15,16).

#### 3.1.3 Varfarin in makrolidni antibiotiki

Nekateri makrolidni antibiotiki – eritromicin, klaritromicin zavirajo metabolizem varfarina, možna je tudi povečana razgradnja faktorjev koagulacije zaradi povišane temperature ob infekciji. Azitromicin in midekamicin ne zavirata metabolizma in ne izkazuje interakcije z varfarinom (15,16).

#### 3.1.4 Varfarin in kinoloni

Mehanizem interakcije je zaviranje metabolizma varfarina in zmanjšanja nastanka vitamina K zaradi okvare črevesne flore. Poročali so o interakcijah pri skoraj vseh kinolonih: ciprofloksacinu, enoksacinu, gatifloksacinu, levofloksacinu, norfloksacinu, ofloksacinu, trovafloksacinu in nalidiksični kislini (15,16).

#### 3.1.5 Varfarin in fenitoin

Varfarin poveča razpolovni čas  $t_{1/2}$  fenitoina in serumsko koncentracijo, verjetno zaradi inhibicije encima CYP 450. Dodajanje fenitoina varfarinu pa na začetku poveča protrombinski čas, kasneje pa je antikoagulantni učinek varfarina zmanjšan. To razlagajo z začetno inhibicijo encima CYP 450, ki ji sledi izoenzimska indukcija. Potrebno je spremljati neželene učinke ob povečanju antikoagulantnega učinka varfarina, kakor tudi znake zastrupitve s fenitoinom - utrujenost, motnje vida, krči, nauzea, ataksija (15,16).

### 3.2 Interakcije z zaviralci angiotenzinske konvertaze

Zaviralci angiotenzinske konvertaze (ACE) zavirajo izločanje aldosterona, kar lahko vodi v povečanje serumske koncentracije kalija, še posebno če se kombinirajo z diuretiki, ki varčujejo s kalijem - spironolaktonom, ali če se uporabljajo nadomestki kalija. Interakcija je lahko zelo nevarna pri bolnikih z okrnjeno ledvično funkcijo, sladkornih bolnikov, starostnikov in bolnikov s hudim srčnim popuščanjem in dehidriranih bolnikov. Hiperkalijemija se je pojavila tudi če sta se zaviralca ACE in spironolakton uporabljala samostojno pri bolnikih z okrnjeno ledvično funkcijo. Bolnikom se priporoča redna kontrola kalija in izogibanje hrane bogate s kalijem ali uporaba nadomestkov soli, ki vsebujejo kalij. Pozorni morajo biti na znake hiperkalijemije kot so slabost, apatičnost, zmedenost, mišična slabost, ki se začne v spodnjih okončinah, nadaljuje v mišicah trupa in zgornjih okončinah in neredno bitje srca (17). Če se uporablja spironolakton skupaj z zaviralcem ACE, se ne priporočajo odmerki spironolaktona višji od 25 mg/dan (15). Sočasna uporaba diuretika, ki splavlja kalij ne zagotavlja preprečevanja nastanka hiperkalijemije, zato je potrebna redna kontrola kalija ob jemanju ACE zaviralca, spironolaktona in diuretika, ki splavlja kalij pri zdravljenju srčnega popuščanja (16).

### 3.3 Interakcije z digoksinom

Digoksin se še vedno pogosto predpisuje starostnikom, predvsem pri zdravljenju atrijske fibrilacije in supraventrikularne aritmije in pri zdravljenju srčnega popuščanja s sistolično disfunkcijo levega ventrikla.

Kardiotonični glikozidi imajo ozko terapevtsko širino in povzročijo pri starostnikih neželene učinke kar v 20%. To je posledica spremenjene farmakokinetike, še posebno zmanjšane volumna distribucije - Vd in ledvičnega očistka. Digoksin je vodotopna učinkovina, ki se v veliki meri veže na mišične beljakovine. S starostjo se zmanjša mišična masa tudi do polovice in zmanjšana vezava zdravila na mišične beljakovine za 10% lahko poveča koncentracijo prostega zdravila v plazmi tudi do 40%. Tudi zmanjšana fizična aktivnost zmanjša vezavo digoksina na mišične beljakovine zato je potrebna prilagoditev odmerka (13). Zelo pomembno je tudi do 65% zmanjšanje ledvičnega očistka digoksina v primerjavi z mlajšimi bolniki (13). Klinično pomembne interakcije z digoksinom se pojavijo pri zdravilih, ki upočasnijo atrioventrikularno prevajanje, kot so diltiazem, verapamil, amiodaron in zaviralci adrenergičnih receptorjev beta (18). Hipokaliemija povzročena z diuretiki povzroči povečano vezavo digoksina v srcu in posledično kardiotoksičnost, kljub nespremenjeni koncentraciji zdravila v plazmi (13).

#### 3.3.1 Digoksin in amiodaron

Mehanizem interakcij med digoksinom in amiodaronom ni popolnoma razjasnjen. Amiodaron zmanjša očistek digoksina (renalni in ekstrarenalni), izpodriva digoksin z vezavnih mest in povzroči hipotireoidizem in posledica je povečana koncentracija digoksina v plazmi tudi do 100%. Poleg tega obe zdravili povzročata bradikardijo.

Interakcija med digoksinom in amiodaronom je dobro dokumentirana in klinično pomembna. Pojavi se v nekaj dneh in brez ukrepov pride do zastrupitve z digitalisom. Znaki zastrupitve: izguba apetita, nauzea in bruhanje, motnje vida, glavobol, utrujenost, driska in bradikardija. Smrt nastopi zaradi aritmije in totalnega atrioventrikularnega bloka.

Amiodaron se počasi odstranjuje iz telesa in zato učinek interakcije traja še nekaj tednov po ukinitvi amiodarona (15,16).

### 3.3.2 Digoksin in verapamil

Mehanizem interakcije med digoksinom in verapamilom je zmanjšan je ledvičnega očistka digoksina, vlogo naj bi imel tudi P-glikoprotein in vpliv na ekstrarenalno izločanje.

Interakcija se pojavi pri večini pacientov in se razvije v dveh do sedmih dneh, maksimum doseže v 14 dneh. Povečana serumska koncentracija digoksina je od 40 do 80% in je deloma odvisna od odmerka verapamila. Obstaja velika variabilnost med pacienti, pri nekaterih se je povečala serumska koncentracija digoksina do 150%. Digoksin in verapamil imata aditiven učinek na upočasnjeno atrioventrikularno prevajanje.

Interakcijo z digitoksinom in verapamilom je lažje nadzorovati, saj serumska koncentracija digitoksina počasneje narašča. To si razlagajo z drugačnim izločanjem digitoksina, ki je neodvisno od ledvične funkcije (19). Nekateri avtorji predlagajo zamenjavo digoksina z digitoksinom, če je potrebna sočasna uporaba verapamila (15,16,18).

Podobno interakcijo bi lahko pričakovali tudi z diltiazemom, vendar so

raziskave pokazale veliko variabilnost med bolniki in pri večini bolnikov ni prišlo do klinično pomembnih interakcij. Najbolj ogroženi so se izkazali starostniki, bolniki z okrnjeno ledvično in jetrno funkcijo (20).

### 3.4 Teofilin in kinoloni

Ciprofloksacin zmanjša očistek teofilina za 20 do 30% in poveča njegovo serumsko koncentracijo tudi do 30%. Mehanizem je zaviranje presnove teofilina preko encima CYP 450 1A2. Posebna nevarnost obstaja pri bolnikih s kronično obstruktivno pljučno boleznijo, srčnim popuščanjem, cirozo in pri starostnikih, ki imajo zmanjšan očistek teofilina. Pojavijo se znaki zastrupitve s teofilinom: slabost, bruhanje, driska, glavobol, nemir, nespečnost, krči ali neredno bitje srca. Levofloksacin, sparfloksacin, moksifloksacin, gatafloksacin, trovafloksacin in lomefloksacin povzročajo le neznatne spremembe v koncentraciji teofilina in so varen nadomestek za ciprofloksacin (15). Za norfloksacin obstajajo podatki o zmernem povišanju koncentracije teofilina do 17%, v nekaterih primerih pa so poročali o preko 100% povišanju koncentracije teofilina in celo o smrtnih primerih (16).

Poleg zgoraj naštetih interakcij navajamo na osnovi drugih literaturnih podatkov (11,12) še potencialno škodljive in klinično pomembne interakcije zdravil pri starostnikih (Preglednica 2).

**Preglednica 2: Druge nevarne interakcije med zdravili pri starostnikih (11, 12).**

Zdravilni učinkovini	Posledica in mehanizem interakcij	Klinični ukrepi
Zaviralci receptorjev beta - zdravila za zdravljenje astme	Poslabšanje astme, KOPB zaradi delovanja na beta2 receptorje in nastalega bronhospazma	Uporaba selektivnih zaviralcev beta pri blagi do zmerni obstruktivni pljučni boleznii
Zaviralci kalcijevih kanalčkov (verapamil, diltiazem) - zaviralci receptorjev beta	Bradikardija, zastoj srca	Uvajanje zdravljenja v bolnišnici, skrbna kontrola srčne frekvence in elektrokardiograma, prilagoditev odmerkov
NSAR - diuretiki	Zastoj tekočine, poslabšanje hipertenzije, razvoj srčnega popuščanja	Preprečevanje dehidracije, spremljanje ledvične funkcije in krvnega tlaka
Benzodiazepini anksiolitiki - benzodiazepini hipnotiki	Zmanjšane kognitivne sposobnosti, prekomerna sedacija, nevarnost padcev in zlomov	Uporaba nebenzodiazepinskih kratko delujočih hipnotikov

### 3.5 Zaviralci adrenergičnih receptorjev beta - zdravila za zdravljenje astme

Zaviralci adrenergičnih receptorjev beta se uporabljajo pri zdravljenju angine pektoris, miokardnem infarktu, hipertenziji, srčnem popuščanju, aritmijah in tireotoksikozah. Kljub jasnim dokazom o zmanjšanju smrtnosti in obolevnosti, pa se večkrat ne uporabijo zaradi neželenih učinkov. Tako se zaviralci adrenergičnih receptorjev beta ne priporočajo pri bolnikih z obstruktivnimi pljučnimi boleznimi, kot sta astma in kronična obstruktivna pljučna bolezen (KOPB), zaradi potencialnega nastanka bronhospazma. Novejše raziskave so dokazale, da se selektivni zaviralci adrenergičnih receptorjev beta1 (atenolol, bisoprolol, metoprolol) lahko uporabljajo pri bolnikih z blago do zmerno obstrukcijo dihalnih poti, ker so zaviralci adrenergičnih

receptorjev beta dokazano koristni pri bolnikih s srčnim popuščanjem, aritmijah in hipertenziji (21).

Kronična uporaba zaviralcev adrenergičnih receptorjev beta v oftalmoloških pripravkih za zdravljenje glaukoma pa se odsvetuje, ker lahko sprožijo bronhospazem pri astmatikih in bolnikih s KOPB. Poročali so o resnih poslabšanih pljučne funkcije tudi po enkratnem odmerjanju neselektivnih zaviralcev adrenergičnih receptorjev beta v obliki kapljic za oko. To si razlagajo tudi z odsotnostjo učinka prvega prehoda pri zaviralcih adrenergičnih receptorjev beta, ki se intenzivno presnavljajo v jetrih in zato že minimalne koncentracije v obliki kapljic za oko lahko povzročijo interakcije. V nekaterih raziskavah se je beta 1 selektiven zaviralec betaksolol izkazal za varnejšega od neselektivnega timolola (22).

### 3.6 Zaviralci kalcijevih kanalčkov (verapamil, diltiazem) - zaviralci adrenergičnih receptorjev beta

Sočasna uporaba verapamila in diltiazema z zaviralci adrenergičnih receptorjev beta ima dodaten učinek na zmanjšanje srčne frekvence, prevodnosti v atrioventrikularnem vozlu in kontraktilnosti (18,23). Čeprav so v nekaterih primerih te kombinacije koristne npr. pri zdravljenju angine pektoris, pa zahtevajo izredno kontrolo zaradi možnih resnih kardiovaskularnih zapletov kot so zastojno srčno popuščanje, hipotenzija, pojav angine pektoris, ventrikularna asistolija, sinusni zastoj in zastoj srca. Opozarjajo tudi na nevarnost uporabe zaviralcev adrenergičnih receptorjev beta tudi v oftalmoloških pripravkih, saj lahko povzročijo resne interakcije tudi ob nedoločljivih plazemskih koncentracijah. Verapamil in diltiazem tudi zmanjšata očistek zaviralcev adrenergičnih receptorjev beta, ki se intenzivno presnavljajo npr. propranolol, metoprolol, ker zavirajo njihov metabolizem preko CYP 3A4 izoencima. (16,18). Obstajajo tudi razlike med posameznimi zaviralci adrenergičnih receptorjev beta glede resnosti interakcij predvsem z diltiazemom. Tako se z atenololom in diltiazemom niso pojavile klinično značilne interakcije, resne interakcije so se izkazale med diltiazemom in propranololom in metoprololom (20).

Ob sočasni uporabi teh zdravil je potrebno skrbna kontrola hemodinamskih znakov, zato se zdravljenje uvaja v bolnišnici, bolniki pa naj redno spremljajo neželene znake, kot so utrujenost, glavobol, omedlevice, potenje rok, porast telesne teže, kratka sapa, bolečine v prsih, povečana ali zmanjšana srčna frekvenca ali neredno bitje srca (15).

### 3.7 Diuretiki in NSAR

Sočasna uporaba NSAR in diuretikov dodatno vpliva na ledvično funkcijo, predvsem zaradi zavrte sinteze prostaglandinov, ki pomagajo ohraniti glomerulno filtracijo pri dehidriranih stanjih. To je še posebno nevarno pri bolnikih z omejenim vnosom soli. Zmanjšan je hipotenzivni učinek diuretikov, natriuretichen in diuretichen učinek, posledica je zastoj natrija in vode in povečana nevarnost razvoja srčnega popuščanja. Nevarnost nastanka srčnega popuščanja je povečana na 23,3 primerov na 1000 oseb letno ob jemanju te kombinacije. Če se jemlje samo diuretik je incidenca nastanka srčnega popuščanja 9,3 primerov na 1000 oseb letno pri bolnikih starejših od 55 let. Poleg tega se lahko razvije hiperkalijemija pri jemanju diuretikov, ki varčujejo s kalijem (11,15,16).

### 3.8 Benzodiazepini anksiolitiki-benzodiazepini hipnotiki

Pretirana sedacija in zmanjšane kognitivne sposobnosti po jemanju benzodiazepinov povečajo nevarnost za padce in zlome kolka in nekateri avtorji navajajo, da je 10% zlomov kolkov pri starostnikih posledica jemanja benzodiazepinov (24). Benzodiazepini imajo povečan učinek pri starostnikih zaradi povečane občutljivosti receptorjev na zdravilo in posledica so pogosteje izraženi neželeni učinki zdravila (1). Zato se morajo uporabljati nižji odmerki, ki naj ne presegajo 3 mg lorazepama, 60 mg oksazepama, 2 mg alprazolama, 5 mg zolpidema dnevno (12). Priporoča se jemanje kratko in srednje dolgo delujočih anksiolitikov (oksezepam, lorazepam). Pri uporabi uspeval dajemo prednost kratkodelujočemu zolpidemu, ki je po delovanju soroden benzodiazepinom. Tako preprečimo pretirano utru-

jenost naslednji dan in kumulacijo zdravila. Kot neprimerna se navaja uporaba dolgodelujočega diazepama, klordiazepoksida ali flurazepama (11,12).

## 4 Farmacevtska intervencija

Farmakoterapija spada med najpomembnejše intervencije, ki izboljšajo zdravstveno stanje starostnikov. Ker so nekatera zdravila manj primerna za uporabo pri tej populaciji oziroma se pojavijo klinično pomembne interakcije med zdravili, so potrebni sistemski pristopi pri izvajanju farmacevtskega ukrepanja ob izdaji zdravil. Obstajajo številni modeli farmacevtskega ukrepanja, med katerim so najpogosteje izvajani računalniško vodeni programi, ki opozarjajo na nepravilnosti v terapiji (neprimerno zdravilo, odmerek, interakcije med zdravili) ali organizirani programi farmacevtske skrbi.

V ZDA so že leta 1996 izvedli raziskavo, ki je imela namen ovrednotiti farmacevtsko ukrepanje na osnovi računalniškega programa DUR (drug utilization review). Program je bil zasnovan na treh kriterijih o primernosti uporabe zdravil pri starostnikih nad 65 let in sicer je upošteval:

- zdravilo, ki je manj primerno za uporabo pri starostnikih npr. dolgodelujoči benzodiazepinski hipnotik flurazepam, antidiabetik klorpropamid, dolgodelujoči benzodiazepinski anksiolitiki klordiazepoksid, klorazepat, diazepam, kvazepam), antiholinergični anidepresivi- amitriptilin, doksepin...;
- maksimalni dnevni odmerek npr. pri benzodiazepinskih anksiolitiki;
- zdravilo, ki je kontraindicirano pri določenih boleznih npr. NSAR in ulkusna bolezen, zaviralci adrenergičnih receptorjev beta in obstruktivna pljučna bolezen.

Ob izdaji zdravila je program opozoril farmacevta na neprimernost v terapiji, farmacevt je po telefonu poklical zdravnika in predlagal terapevtsko zamenjavo ali druga priporočila. Zdravnik in bolnik sta prejela pisno obrazložitev po pošti, če je bila spremenjena originalna preskripcija. Izidi raziskave so bili spremenjena terapija (upoštevanje nasveta farmacevta) izražena v odstotkih glede na število vseh intervencij. Zdravniki so upoštevali predlagane spremembe v povprečju v 24% in sicer pri dolgodelujočih benzodiazepinih v 40%, in v 2% pri neprimernosti uporabe zaviralcev adrenergičnih receptorjev beta pri obstruktivnih pljučnih boleznih. Spremljali so tudi predpisovanje zdravil v naslednjih šestih mesecih in 90% pacientov ni prejelo prvotno predpisanega in zamenjanega zdravila. Podatki iz te raziskave dokazujejo pomembnost vzpodbujanja komunikacij med zdravnikom in farmacevtom, saj na tak način lahko izboljšamo terapijo pri številnih pacientih. Bodočnost takih računalniških programov so že takrat napovedovali ne samo v iskanju neustrezne terapije ampak še posebno v odkrivanju interakcij med zdravili. Za popolno ovrednotenje teh intervencij so potrebne raziskave, ki bodo merile kot končne izide splošni zdravstveni status, funkcionalni status in kvaliteto življenja, kakor tudi farmakoekonomske analize stroškovne učinkovitosti (25).

Tudi v Kanadi se zavedajo, da farmacevti predstavljajo velik neizkoriščen potencial pri optimiziranju uporabe zdravil. Številne raziskave so dokazale, da klinični farmacevti v bolnišnici vplivajo na zmanjšanje stroškov zdravljenja in izboljšajo predpisovanje zdravil pri starostnikih. Izvedli so tudi naključno kontrolirano raziskavo o vplivu farma-

cevtske intervencije na predpisovanje zdravil starostnikom med družinskimi zdravniki v Ontariu. Farmacevti so se dodatno izobrazili v odkrivanju, preprečevanju in reševanju problemov povezanih s terapijo pri starostnikih. Farmacevt se je pogovoril z bolnikom in pregledal terapijo v zdravnikovi pisarni in napisal zdravniku predlog za rešitev problemov povezanih z zdravili. V raziskavo so bili vključeni pacienti starejši od 65 let, ki so jemali pet zdravil ali več. Kasneje sta se zdravnik in farmacevt o teh predlogih pogovorila. Zdravnik si je označil, katere predloge bo upošteval in katere ne. Srečanja so potekala še tri in pet mesecev po začetku raziskave. Farmacevt je nadzoroval terapijo pacienta po telefonu. Rezultati raziskave so pokazali, da so zdravniki upoštevali ali so nameravali upoštevati predloge farmacevta v 72,3%. Farmacevti so v povprečju odkrili 2,5 primerov problemov povezanih s terapijo na pacienta. Intervencija ni imela statistično značilnega vpliva na zmanjšanje uporabe zdravil in na stroške zdravljenja, dokazala pa je, da je sodelovanje med dvema poklicema možno. Zdravniki so poročali, da so se v 53,2% naučili nekaj novega ob konzultaciji s farmacevtom (26).

V Veliki Britaniji so ugotovili, da klinično znanje farmacevtov že dolgo časa ostaja neizkoriščeno, medtem ko se je znatno povečal obseg dela splošnega zdravnika. Ugotovili so, da kar 80% starostnikov prejema neustrezno terapijo in sicer preveč zdravil, ki povzročajo številne neželene učinke ali so neustrezno zdravljene. To je posledica tudi njihovega načina predpisovanja zdravil, saj je 75% vse izdanih receptov obnovljivih in so zdravila izdana brez obiska zdravnika. Rešitev problemov povezanih s terapijo vidijo samo v tesnem sodelovanju med zdravniki družinske medicine in farmacevti v lekarnah (27).

Tudi drugod po svetu ne obstaja neka preprosta metoda, kako se izogniti interakcijam med zdravili v klinični praksi. Družinski zdravniki bi morali spremljati porabo vseh zdravil, tako na recept in brez recepta in uporabo prehranskih dopolnil in zdravil naravnega izvora pri vsakem bolniku. Zelo dobrodošla je poleg ustreznih baz podatkov o zdravilih tudi pomoč farmacevta (10). V Sloveniji smo farmacevti naredili prvi korak z vpisovanjem vseh zdravil in prehranskih dopolnil v Osebnostno kartico zdravil v okviru projekta "«Vprašaj o svojem zdravilu», ki ga je organizirala Lekarniška zbornica Slovenije v mesecu decembru preteklo leto. Kartica je lahko koristen pripomoček zdravniku, da se seznanj z vsemi zdravili in prehranskimi dopolnili, ki jih bolnik jemlje, saj se neredko pojavijo klinično pomembne interakcije tudi med zdravili in prehranskimi dopolnili in zdravili naravnega izvora. Farmacevti v lekarnah se moramo truditi k čimbolj strokovnim oblikam svetovanja o varni uporabi zdravil in vodeni skrbi za bolnika, za kar potrebujemo ustrezne informacijske, kadrovske, časovne in finančne vire.

Z razvojem informacijske tehnologije narašča dostopnost do medicinskih in farmacevtskih podatkov in računalniških programov za ugotavljanje ustreznosti terapije z zdravili glede na najnovejše klinične smernice. Vendar na prvem mestu ostaja še vedno odločitev zdravnika in njegova klinična ocena bolnika. Informacije, ki jih bomo farmacevti posredovali zdravnikom morajo biti klinično relevantne in v skladu z dokazi podprte medicine, sicer bodo zdravniki farmacevtovo ukrepanje obravnavali kot nepotrebno izgubo časa in moteče poseganje v odnos med zdravnikom in bolnikom (28).

## 5 Zaključek

Poraba zdravil pri starostnikih je nesorazmerno večja kot pri ostali populaciji predvsem zaradi večje kronične obolevnosti in hkratne

obolevnosti več organov. Posledica prisotne politerapije pri starostnikih je povečano tveganje nastanka interakcij med zdravili. Poleg politerapije pa na povečano tveganje bistveno vplivajo tudi farmakokinetske in farmakodinamske spremembe v starostnikih. Farmaceutska intervencija je ena izmed pomembnih možnosti za izboljšavo farmakoterapije pri starostnikih, vendar pa je predvsem odvisna od sodelovanja med farmacevtom in zdravnikom.

## 6 Literatura

1. Klotz U, Beil W, Gleiter C et al. Drug interactions. Mechanisms and clinical relevance. *Internist (Berl)*. 2003; 44: 1444-1449.
2. Drinovec J. Družbeni in medicinski vidiki farmakoterapije v starosti. *Zdrav vestn* 2004; 73: 757-761.
3. Delafuente JC. Understanding and preventing drug interactions in elderly patients. *Crit Rev Oncol Hematol* 2003; 48: 133-143.
4. Hammerlein A, Derendorf H, Lowenthal DT. Pharmacokinetic and pharmacodynamic changes in the elderly. Clinical implications. *Clin Pharmacokinet* 1998; 35: 49-64.
5. Noble RE. Drug therapy in the elderly. *Metabolism* 2003; 52: 27-30.
6. Mangoni AA, Jackson SH. Age-related changes in pharmacokinetics and pharmacodynamics: basic principles and practical applications. *Br J Clin Pharmacol* 2004; 57: 6-14.
7. Turnheim K. When drug therapy gets old: pharmacokinetics and pharmacodynamics in the elderly. *Exp Gerontol* 2003; 38: 843-853.
8. Tranchand B, Laporte S, Glehen O et al. Pharmacology of cytotoxic agents: a helpful tool for building dose adjustment guidelines in the elderly. *Crit Rev Oncol Hematol* 2003; 48: 199-214.
9. Herrlinger C, Klotz U. Drug metabolism and drug interactions in the elderly. *Best Pract Res Clin Gastroenterol*. 2001; 15: 897-918.
10. Bogataj M. Farmakokinetske in farmakodinamske interakcije statinov. *Farm Vest* 2003; 54: 135-143.
11. Vlahovic-Palcevski V, Bergman U. Quality of prescribing for the elderly in Croatia-computerized pharmacy data can be used to screen for potentially inappropriate prescribing. *Eur J Clin Pharmacol* 2004; 60: 217-220.
12. Beers MH. Explicit criteria for determining potentially inappropriate medication use by the elderly. An update. *Arch Intern Med* 1997; 157: 1531-1536.
13. Williams BR, Kim J. Cardiovascular drug therapy in the elderly: theoretical and practical considerations. *Drugs Aging* 2003; 20: 445-463.
14. Estler C J. *Arzneimittel in Alter*, 2. izdaja. Stuttgart: Wiss. Verl.- Ges., 1997: 92.
15. [www.drugs.com](http://www.drugs.com), april 05
16. Stokley IH. *Drug Interactions*, 5. izdaja. London: Pharmaceutical Press, 2000.
17. Kocjančič A, Mrevlje F. *Interna medicina*, EWO, d.o.o. Ljubljana, 1988: 760-768.
18. Anderson JR, Nawarskas JJ. Cardiovascular drug-drug interactions. *Cardiol Clin* 2001; 19: 215-234.
19. Reicher-Reiss H, Neufeld HN, Ebner FX. Calcium antagonists—adverse drug interactions. *Cardiovasc Drugs Ther* 1987; 1: 403-409.
20. Rosenthal T, Ezra D. Calcium antagonists. Drug interactions of clinical significance. *Drug Saf* 1995; 13: 157-187.
21. Salpeter SR, Ormiston TM, Salpeter EE. Cardioselective beta-blockers in patients with reactive airway disease: a meta-analysis. *Ann Intern Med* 2002; 137: 715-725.
22. Vander Zanden JA, Valuck RJ, Bunch CL et al. Systemic adverse effects of ophthalmic beta-blockers. *Ann Pharmacother* 2001; 35: 1633-1637.
23. Brodde OE, Kroemer HK. Drug-drug interactions of beta-adrenoceptor blockers. *Arzneimittelforschung* 2003; 53: 814-822.
24. Kernot B. Prescribing in older people. *Aust Fam Physician* 2004; 33: 871.
25. Monane M, Matthias DM, Nagle BA et al. Improving prescribing patterns for the elderly through an online drug utilization review intervention: a system linking the physician, pharmacist, and computer. *JAMA* 1998; 280: 1249-1252.
26. Sellors J, Kaczorowski J, Sellors C et al. A randomized controlled trial of a pharmacist consultation program for family physicians and their elderly patients. *CMAJ* 2003; 169: 17-22.
27. Wong I, Campion P, Coulton S et al. Pharmaceutical care for elderly patients shared between community pharmacists and general practitioners: a randomised evaluation. RESPECT (Randomised Evaluation of Shared Prescribing for Elderly people in the Community over Time) [ISRCTN16932128]. *BMC Health Serv Res* 2004; 4: 1-14.
28. Soumerai SB, Lipton HL. Pharmaceutical benefits managers and optimizing prescribing. *JAMA* 1999; 281: 1168-1169.



**Veletrgovina za oskrbo lekarn.**

**Želimo postati tudi vaš dobavitelj.**

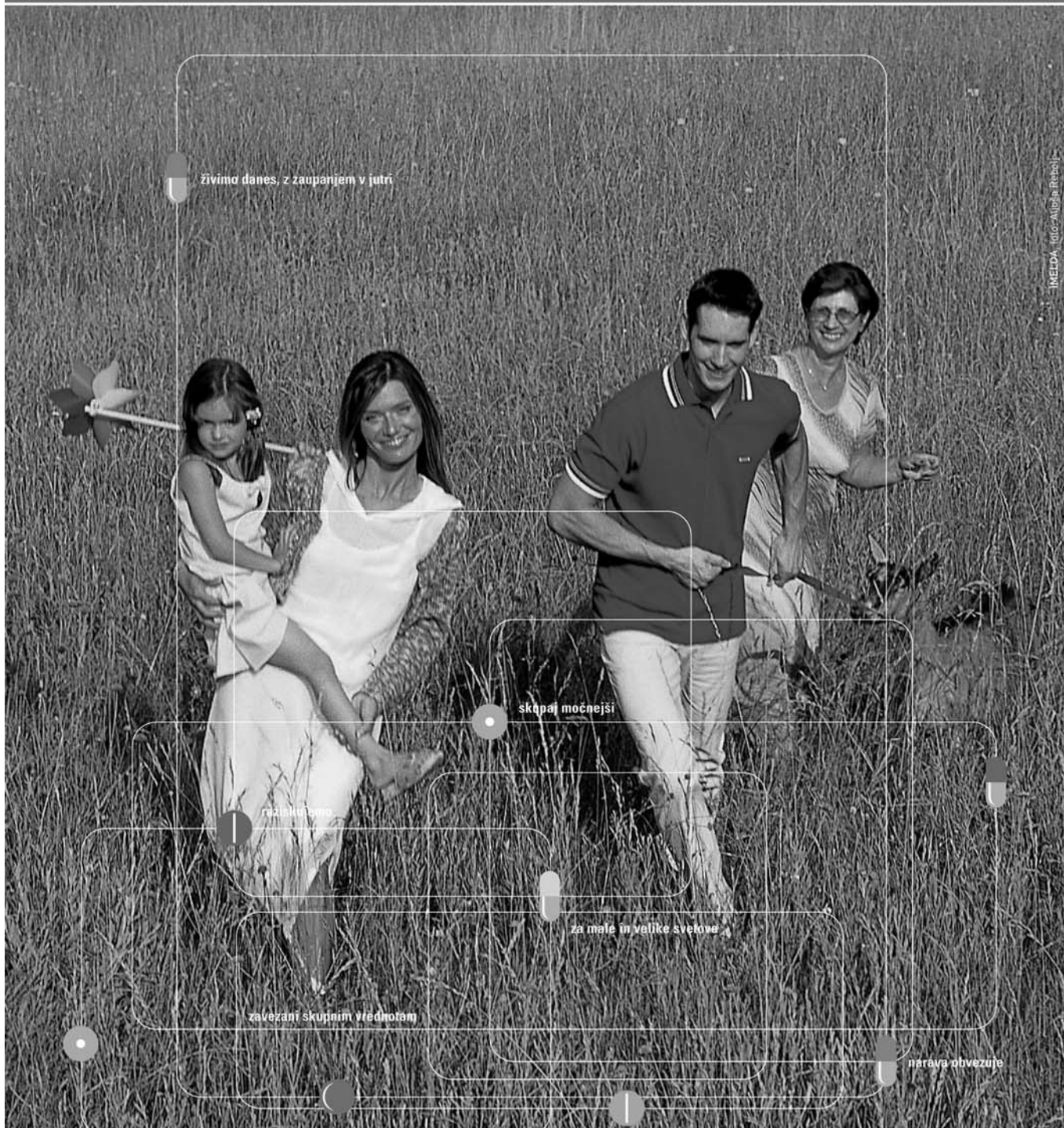
**Pokličite nas!**

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

telefaks: (01) 423 48 25

Tbilisijska 87 • Ljubljana

*v imenu zdravja*



živimo danes, z zaupanjem v jutri

skupaj močnejši

raziskujemo

za male in velike svetove

zavezani skupnim vrednotam

narava obvezuje

Vsako življenje je dragoceno. Zato svoje poslanstvo prepoznavamo v raziskovalnem delu in odkrivanju novih zdravil za boljšo kakovost življenja ljudi. Nenehno izpopolnjujemo in izboljšujemo proizvode ter ostajamo v družbi vodilnih farmacevtskih podjetij v svetu.



**MSD**

Merck Sharp & Dohme, inovativna zdravila d.o.o.  
Šmartinska cesta 140  
1000 Ljubljana, Slovenija  
T: 01/520-42-01, F: 01/520-43-49, 520-43-50  
[www.merck.com](http://www.merck.com)