

Mitotoksičnost inducirana lijekovima

Petrić, Zvonimir; Žuntar, Irena

Source / Izvornik: **Farmaceutski glasnik, 2018, 74, 513 - 530**

Journal article, Published version

Rad u časopisu, Objavljena verzija rada (izdavačev PDF)

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:163:728966>

Rights / Prava: [In copyright](#) / [Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-10-20**



Repository / Repozitorij:

[Repository of Faculty of Pharmacy and Biochemistry University of Zagreb](#)



Mitotoksičnost inducirana lijekovima

ZVONIMIR PETRIĆ, IRENA ŽUNTAR

Sveučilište u Zagrebu, Farmaceutsko-biokemijski fakultet,
Samostalan kolegij Toksikologija

UVOD

Svim medicinskim stručnjacima koji pridonose zdravlju pacijenata, pa tako i farmaceutima, od velike je važnosti potpuna učinkovitost primijenjenog lijeka, a da pritom ne pokazuje nikakvu štetnost, odnosno nuspojave.

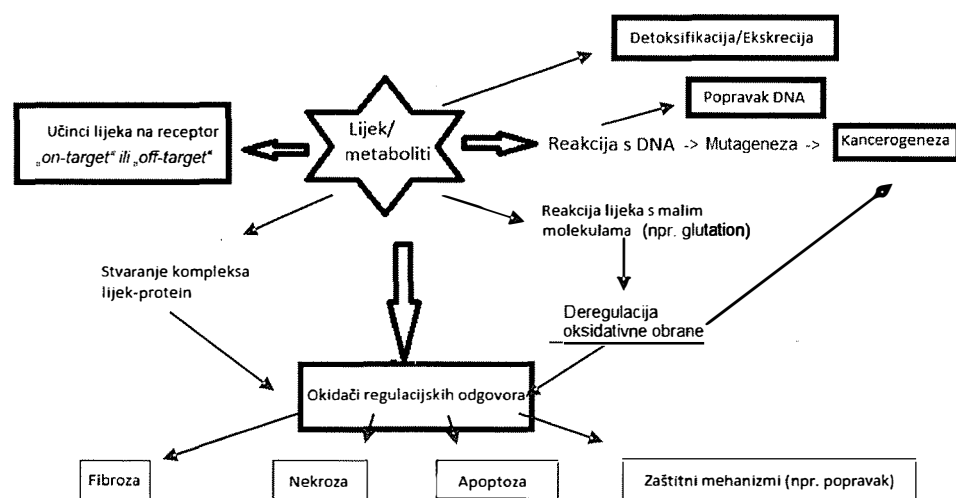
Kao što je poznato, lijekom smatramo tvar ili kombinaciju tvari sa svojstvima liječenja ili sprječavanja bolesti kod ljudi, ili svaku tvar ili kombinaciju tvari koja se može upotrijebiti ili primijeniti na ljudima u svrhu obnavljanja, ispravljanja ili prilagodbe fizioloških funkcija i to: farmakološkim, imunološkim ili metaboličkim djelovanjem, ili za postavljanje medicinske dijagnoze. Nadalje, svaka štetna i neželjena reakcija na taj isti lijek primijenjen u odobrenoj, pravilnoj dozi, naziva se nuspojavom (1). Da li će određeni lijek imati veću pojavnost nuspojave, odnosno iskazati škodljivost prema željenom terapeutskom učinku, ovisi o mnogim faktorima poput starosti pacijenta, genetičke podloge i pripadajuće bolesti, doze lijeka i mogućih interakcija s drugim lijekovima. Kliničko vrednovanje škodljivosti, gledano s toksikološkog aspekta nije jednodimenzionalno, stoga je vrlo korisno sumirati mehanizme toksičnosti prema sljedećim farmakotoksikološkim pretpostavkama (2):

- toksičnost lijeka na mjestu djelovanja – tzv. »on-target« učinak, koji je rezultat vezanja lijeka na receptor ali u krivoj koncentraciji, krivom tkivu i neoptimalne kinetike
- toksičnost lijeka mimo mjesta djelovanja – tzv. »off-target« učinak, koji je rezultat vezanja lijeka na krivom mjestu
- toksičnost lijeka zbog stvaranja toksičnih metabolita
- toksičnost lijeka zbog škodljivih imunoloških reakcija
- toksičnost lijeka zbog idiosinkratskog odgovora – idiosinkrazijska toksičnost

Nadalje, u osnovni koncept toksičnosti inducirane lijekovima, ulaze i toksičnost zbog predoziranja te toksičnost zbog interakcija lijek-lijek. Potonja se farmakološki klasificira prema podjeli (2):

- farmakokinetičke lijek-lijek interakcije
- farmakodinamičke lijek-lijek interakcije
- interakcije između lijekova i biljnih pripravaka

Patofiziološki, toksičnost inducirana lijekovima može biti akutna i kronična, a prema mjestu zbijanja kategorizira se na staničnu toksičnost gdje je ista okidač za upale, apoptozu ili nekrozu stanica i staničnu smrt, ili pak na organsku toksičnost, gdje je ista okidač za fibrozu. Nadalje, zbog kumulativnog oštećenja stanica ili organa postoji mogućnost kancerogeneze ili teratogenosti, što je sažeto prikazano na slici 1. (2).



Slika 1. Lijekom inducirani mehanizmi toksičnosti

Lijek i/ili njegovi metaboliti u interakciji s receptorom, imaju »on-target« ili »off-target« učinke. Nadalje, metaboliti mogu biti detoksificirani i izlučeni, ili mogu reagirati s makromolekulama poput DNA, malim molekulama poput glutationa (ili proteinima). Bez mogućnosti popravka DNA, dolazi do mutagenoze i posljedično tumora. Nemogućnost oksidativnog popravka vodi u upalu i staničnu smrt (apoptoza ili nekroza) dok patološka formacija kompleksa lijek-protein također može biti okidač za imunološke reakcije. Kronična upala dovodi do fibroze tkiva. Prikaz slikovno i tekstualno prilagođen prema Taniguchi i sur. (2).

U farmakologiji uspješno liječenje bolesti podrazumijeva molekulu lijeka s određenim kemijskim svojstvima koja će omogućiti što točnije vezanje za ciljno mjesto. Kada se to dogodi, dolazi do modulacije i posljedičnog smanjenja simptoma bolesti. Kroz sve ove godine, znanstvenici se trude optimizirati modulaciju tako da djelovanje lijeka bude što učinkovitije, ali bez obzira na to i dalje se javljaju neželjeni učinci terapije. U novije vrijeme, među ostalim problemima suvremene farmakoterapije, počeo se stavljati naglasak na razjašnjavanje neželjenih djelovanja lijekova na mitohondrij i posljedičnu toksičnost, odnosno mitotoksičnost. U većini slučajeva riječ je o tzv. »off-target« toksičnosti, koja remeti biokemijske procese u mitohondrijima raznih organa i sustava, od kojih su najvažniji jetra, bubrezi, mozak, mišići te živci (3).

Cilj ovog preglednog rada je sumirati dostupne podatke o mitotoksičnosti, navesti predložene mehanizme te učinke odabranih lijekova na mitohondrij i neželjene reakcije koje se javljaju pri njihovom korištenju.

MATERIJALI I METODE

Za pisanje ovog preglednog rada korištena je literatura iz znanstvenih i preglednih radova, knjiga te članaka o toksičnosti lijekova s utjecajem na mitohondrij, pronađenih u literaturnoj bazi PubMed. Ključne riječi korištene za pretragu na engleskom jeziku bile su: mitotoksičnost inducirana lijekovima, mitohondrijska toksičnost i nuspojave lijekova povezane s mitohondrijem.

REZULTATI I RASPRAVA

Mitohondriji i pretpostavljeni mehanizmi mitotoksičnosti s posljedicama za jetru

Preko stotinu lijekova iz suvremene farmakopeje može inducirati mitohondrijsku toksičnost raznih organa koji obiluju mitohondrijima, poput srčanog i skeletnog mišića, bubrega, mozga i jetre. Najčešća manifestacija takve toksičnosti općenito je poznata kao hepatotoksičnost. U najtežim slučajevima, može doći i do transplantacije jetre da bi se izbjegao letalan ishod. Hepatotoksičnost lijeka je također i često glavni uzrok prekida liječenja i/ili povlačenje lijeka iz kliničkog ispitivanja i/ili iz terapije, uzrokujući goleme financijske gubitke (3).

Bez obzira na organ, takvo mitohondrijsko oštećenje tj. mitotoksičnost, je skupni generički izraz koji uključuje promjene u različitim metaboličkim putevima i patološko oštećenje jedne ili više mitohondrijskih komponenata koje je povezano s uzimanjem lijeka. Patobiokemijski mehanizmi, sumirani na slikama

1. i 2., uključuju oksidacijski stres, manjak stanične energije, akumulaciju lipidnih komponenti, njihovu peroksidaciju, stvaranje slobodnih radikala te posljedično, smrt stanice (4). Dobro je znati da postoje dodaci prehrani, koji prema nekim studijama imaju antioksidativne i protektivne učinke za mitohondrij, poput koenzima Q10, vitamina E, kurkumina, ekstrakta ginka, melatonina, omega-3 masnih kiselina, alfa-lipoične kiseline i dr. Njihova klinička važnost u ispravljanju narušenih procesa u mitohondriju je još uvijek predmet prijepora (5).

Mitohondriji su stanični organeli s dvostrukom membranom koja okružuje matriks mitohondrija, pripadajuće enzime te mitohondrijsku DNA (engl. *Mitochondrial DNA* – mt-DNA). Unutrašnja membrana čini slabo permeabilnu barijeru za određene molekule (6). Zbog te činjenice, u mitohondriju postoje membranski transporteri koji upravljaju cjelokupnim procesom transporta različitih molekula poput adenzin-difosfata (ADP), adenzin-trifosfata (ATP), masnih kiselina, glutationa (GSH), piruvične kiseline, ali i s farmakotoksikološkog aspekta interesantnih lijekova, odnosno ksenobiotika (4). U okolnostima mitotoksičnosti, membrana mitohondrija može izgubiti svoj funkcionalni i strukturni integritet, naročito zbog deregulacije otvaranja mitohondrijske permeabilizacijsko-tranzijske pore (engl. *Mitochondrial permeability transition pore* – MPTP). MPTP uključuje najmanje četiri proteina; periferni benzodiazepinski receptor (engl. *Peripheral benzodiazepine receptor* – PBR), anionski kanal ovisan o voltima (engl. *Voltage-dependent anion-selective channel* – VDAC), translokazu za adenin-nukleotide (engl. *Adenine nucleotide translocase* – ANT) i ciklofilin-D (engl. *cyclophilin D* – CyP-D) (7).

CyP-D, više modulator pore, nego njezina komponenta *per se*, ima mogućnost vezati imunosupresivne lijekove poput ciklosporina A, što sprječava otvaranje same MPTP. Druge molekule poput kalcija, masnih kiselina, žučnih soli te toksični ksenobiotici mogu djelovati suprotno i otvoriti MPTP. Otvaranje MPTP-a u takvim okolnostima dovodi do već spomenutog narušavanja integriteta mitohondrija, njegove stabilnosti i posljedično gubitka funkcionalnosti. Točan broj mitohondrija koji ulaze u induciranu apoptozu ili nekrozu ovisi o broju onih koji imaju otvorene MPTP (8, 9, 10). Otvaranje MPTP-a može, nadalje, narušiti i sintezu ATP-a, kojem se posljedično smanjuje razina (11). U većini stanica sisavaca mitohondriji proizvode energiju (ATP) potrebnu za energetske homeostazu stanice, što je naročito prisutno tijekom perioda gladovanja (12). Sinteza ATP-a moguća je zbog oksidacijske razgradnje endogenih supstrata kao što su piruvat (iz glikolize), aminokiseline i masne kiseline (beta oksidacijom). Da bi se masne kiseline metabolizirale, moraju proći mitohondrijske membrane. Masne kiseline kratkih lanaca ulaze slobodno, dok one

dugih lanaca zahtijevaju kofaktore – koenzim A i L-karnitin. U cjelokupnom procesu sudjeluje mnoštvo enzima, a dio produkata čine i ketonska tijela, prvenstveno acetoacetat i beta hidroksibutirat. Ona se otpuštaju u krvotok i oksidiraju u ekstrahepatičkim tkivima poput bubrega, mišića i mozga. Zbog toga što potonji proces ima osnovnu ulogu u homeostazi energije, deficijencija u oksidaciji masnih kiselina može dovesti do multisistemskog organskog zatajenja i smrti pacijenta. Biokemijski gledano, deficijencija u oksidaciji masnih kiselina kod nekih genetskih poremećaja povezana je sa smanjenom koncentracijom ketonskih tijela u plazmi, a mitotoksičnost inducirana lijekovima pridonosi hiperketonemiji (4).

Nadalje, u procesima oksidativne razgradnje piruvata i masnih kiselina, dolazi do stvaranja nikotinamid-adenin-dinukleotida (NADH) i flavin-adenin-dinukleotida (FADH₂) koji će poslužiti kao donori elektrona i protona u mitohondrijskom dišnom lancu. Elektroni se prenose preko multiproteinskih kompleksa na krajnji kompleks IV, odnosno citokrom C oksidazu, koja reducira kisik uz prisustvo protona u molekulu vode. Krajnji cilj tih reakcija je geneza ATP-a. Neki lijekovi (slika 2.) mogu spriječiti nastanak ATP-a, a da nisu direktni inhibitori enzima oksidativne fosforilacije (4).

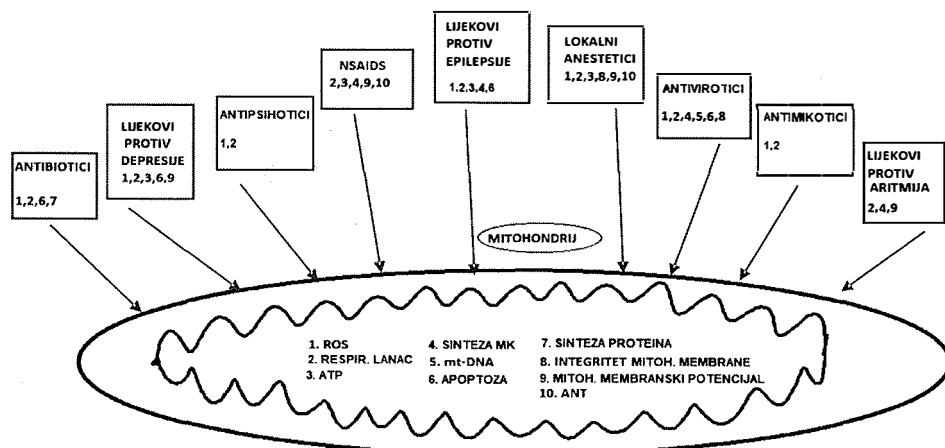
Mitohondrijski dišni lanac u reakcijama može agregirati i reaktivne spojeve kisika (engl. *Reactive oxygen species* – ROS). Naime, frakcija elektrona može pobjeći s multiproteinskih kompleksa i direktno reagirati s kisikom te stvoriti superoksidni anionski radikal. Detoksifikacija radikala u zdravom stanju omogućena je zbog djelovanja mitohondrijskog enzima – mangan superoksid dismutaze, gdje nastaje vodikov peroksid koji uz glutation peroksidazu i glutation prelazi u molekulu vode (13), a lijekovi koji remete razinu glutaciona, dovode do oštećenja organela. Ta situacija je prisutna pri kroničnoj intoksikaciji etanolom, a ROS može također oštetiti i mt-DNA, što rezultira kontinuiranim ciklusom stvaranja slobodnih radikala (14).

Teorija da lijekovi remete funkciju mitohondrija stara je nekoliko desetljeća, a danas je opet vrlo aktualna zbog novih toksikoloških spoznaja. U kasnim sedamdesetima, sumnjalo se na mitotoksičnost pri davanju valproične kiseline, gdje se razvio sindrom nalik na Reyeov (8). Osamdesetih, zabilježene su nuspojave poput miopatije i laktičke acidoze bez, tada, razjašnjenog uzroka nastanka. Nadalje, devedesetih godina masovna nuspojava antiretrovirotika (zidovudina, zalcitabina i didanozina) bila je steatoza. Neki lijekovi (amiodaron, buprenorfin i tamoksifen) tada su dobili najstrože upozorenje pri upotrebi (engl. *Black-box warning*) s obzirom na mogućnost indukcije hepatotoksičnosti (7).

Ozbiljnija hepatotoksična komplikacija je i citolitički hepatitis. Citolitički hepatitis podrazumijeva širok spektar jetrenog oštećenja, ali različitih težina. Blaga manifestacija komplikacije je porast jetrenih enzima alanin-aminotransferaze (ALT) i aspartat-aminotransferaze (AST) (15). Ako je početno oštećenje većeg razmjera, može doći i do nekroze ili apoptoze hepatocita. Nekroza uključuje izlaz različitih proteina u plazmu (transaminaze) dok je apoptoza blaže kliničke naravi i u većem obimu inducira proupalne citokine i stvaranje ROS koji posljedično potiču razvitak nekroze (4). Najteža komplikacija citolitičkog hepatitisa za posljedicu ima transplantaciju jetre zbog razvoja fulminantnog hepatitisa (15). Citolitički hepatitis također može uzrokovati već ranije spomenuto otvaranje MPTP koje je posredovano lijekom. Primjer takvog lijeka je disulfiram. Učinak na MPTP imaju još i paracetamol, amiodaron, diklofenak, acetilsalicilatna kiselina i valproična kiselina. N-acetil-p-benzokinonimin (NAPQI), metabolit paracetamola, kovalentno se veže za samu MPTP ako manjka glutation za njegovu detoksifikaciju (4).

Kako je već ranije spomenuto, neki lijekovi mogu inducirati nekrozu dereguliranjem oksidativne fosforilacije, remeteći sintezu ATP-a. Manjak ATP-a u mitohondriju, zadržava kalcij i aktivira proteaze, endonukleaze i ostale enzime koji imaju ulogu u destrukciji stanične organizacije mitohondrija. Primjer lijekova koji utječu na fosforilaciju su amiodaron, buprenorfin, diklofenak, ibuprofen, acetilsalicilatna kiselina, tamoksifen i nilutamid. Neki od njih imaju i dvojni učinak na dišni lanac (amiodaron, buprenorfin, tamoksifen) (4).

Amiodaron, acetilsalicilatna kiselina, antiretroviroci, tetraciklinski antibiotici, tianeptin i valproična kiselina mogu inducirati i mikrovezikularnu



Slika 2. Lijekovima inducirani mehanizmi mitotoksičnosti

steatozu. Bez obzira na etiologiju, ona uvijek nastaje zbog poremećaja u beta oksidaciji masnih kiselina. To je potencijalno ozbiljna jetrena lezija te je povezana s jetrenim zatajenjem, encefalopatijom i hipoglikemijom. Klinička slika također pokazuje i značajan porast transaminaza u plazmi. Nadalje, utjecaj na steatozu, može imati i niska razina mt-DNA (zbog generiranja ROS) uz deregulaciju mitohondrijskog dišnog lanca. Niske vrijednosti mt-DNA su također povezane i s laktičkom acidozom (metformin, propofol, roziglitazon) koja se javlja zbog inhibicije Krebsovog ciklusa u mitohondriju. Steatoza, ako se uzimanje toksičnog lijeka nastavi, vodi u steatohepatitis. To je zabilježeno pri terapiji s antiretroviroticima, amiodaronom, glukokortikoidima, nifedipinom, tamoksifenom, metotreksatom, irinotekanom, 5-fluorouracilom i interferonom-alfa. Posljedica neprekidanja terapije može biti fatalna (4).

Patobiokemijskim mehanizmima s ciljnim mitohondrijskim mjestima toksičnosti, poredanim rednim brojevima od 1 do 10, određene skupine lijekova (u kvadratima) prema literaturnim podacima pokazuju indukciju mitotoksičnosti. Predloženi mehanizmi mogu uključivati redom (1–10), stvaranje slobodnih kisikovih radikala (ROS), interferiranje s mitohondrijskim dišnim lancem, interferiranje sa stvaranjem ATP-a, interferiranje u metaboličkim putevima sinteze masnih kiselina, interferiranje s mitohondrijskom DNA (mt-DNA), poticanje apoptoze mitohondrija, inhibicija sinteze proteina mitohondrija, deregulacija integriteta mitohondrija i mitohondrijske membrane, interferiranje s membranskim potencijalom mitohondrija te interferiranje s translokazom za adenin-nukleotide (ANT). Prilagođeno prema Will Y, Dykens J. A. (3).

Faktori koji induciraju mitotoksičnost

Mnogobrojni faktori potiču mitohondrijsku toksičnost. Od velike je važnosti sam intrahepatički metabolizam, struktura lijeka (npr. velika lipofilnost bupivakaina, razlog je dvojne mitotoksičnosti manifestirane kao miopatija i kardiotoksičnost), kombinacije lijekova i prisutnost drugih bolesti. Interindividualne razlike postoje već u samim enzimima odgovornim za detoksifikaciju. Te razlike osobito su važne za potenciranje toksičnosti pri konzumaciji etanola ili korištenja više lijekova istodobno (4). Pri kroničnom unosu etanola pada razina glutationa te se destabilizira dišni lanac i smanjuje razina mt-DNA. Isti mehanizmi kumulativne toksičnosti, dokazani su pri istodobnom korištenju nekih lijekova, poput metotreksata, buprenorfina i paracetamola (9).

Zbog ambifilne prirode amiodaron, tamoksifen i buprenorfin preferirano se nakupljaju unutar mitohondrija zbog djelovanja membranskog potencijala mitohondrijske membrane. Genetički polimorfizmi mogu također povećati

vjerojatnost mitotoksičnosti. Genetski polimorfizmi dovode do nakupljanja lijeka, smanjenog metaboliziranja putem metaboličkih enzima citokroma P450 (CYP), povećanog oksidativnog stresa ako je smanjena detoksikacija ROS ili pridonose već postojećoj deregulaciji mitohondrija kada se uvede lijek. Na primjer, polimorfizam gena *CYP17*, odgovoran je za steatozu uzrokovanu tamoksifenom (4).

Prema nekim rezultatima, dijabetes pridonosi razvoju lijekovima induciranom akutnom zatajenju jetre. Pretilost povećava rizik za razvoj akutnog hepatitisa. U prilog tome govori i toksičnost halotana, losartana, tiklopidina, paracetamola i omeprazola koje je češće zabilježeno kod pretilih pacijenata. Zaključno, genetička predispozicija, inzulinska rezistencija i dislipidemija potencijalni su induktori mitotoksičnosti, ali ne kod svake osobe jednako bez obzira na moguću toksičnost lijeka (4). Prisutnost virusa hepatitisa C umanjuje učinak anti-HIV terapije antiretroviroticima. Vjeruje se da antiretrovirolici potiču već narušeni fiziološki status mitohondrija oksidativnim stresom (16).

Testiranje mitotoksičnosti

Zbog toga što mnogi lijekovi tj. ksenobiotici mogu inducirati mitotoksičnost, potrebne su mnogobrojne metode za evaluaciju oštećenja. Klasične metode uključuju mjerenje aktivnosti mitohondrijskih enzima kroz mjerenja koncentracije ATP-a, membranskog potencijala, proizvodnje metabolita, potrošnje kisika ili morfološke analize mitohondrija. U zadnje vrijeme nastoji se dobiti točnija interpretacija rezultata, bilo da se radi o većoj osjetljivosti metode ili većoj specifičnosti. Godine 2014. izdane su nove revizije postupaka koje se tiču testiranja mitotoksičnosti za pretkliničku fazu razvoja lijeka. Naime, čest je problem ekstrapolacija rezultata iz *in vitro* u *in vivo* (17), stoga se posljednjih godina usmjeravaju ispitivanja mitotoksičnosti u *in vivo* sustav na animalnim modelima poput *C. elegans* i *D. rerio* ili na stanične kulture (18, 19).

Mehanizmi mitotoksičnosti odabranih lijekova

Većina magistara farmacije u svojoj svakodnevnoj praksi izdaje lijekove, iz različitih grupa, koji se dovode u vezu s mitotoksičnošću (slika 2.). Primjeri koji slijede obuhvaćaju najčešće lijekove s kojima se većina susrela već na studiju, a većina je i registrirana u Hrvatskoj i EU.

Tamoksifen (selektivni modulator estrogen-receptora) je zadnjih desetljeća lijek izbora u terapiji estrogen-receptor ovisnog raka dojke. Masna jetra, nealkoholni steatohepatitis, hepatična fibroza, ciroza i hepatična nekroza zabilježene su nuspojave (20, 21). Masna jetra je opažena u više od 30 % pacijenata, a može perzistirati i nakon prekida liječenja (20). Mehanizam nastanka

mitotoksičnosti je supresija fosforilacijske učinkovitosti i djelomična inhibicija fosfatnog proteinskog nosača u mitohondriju. Tamoksifen remeti dišni lanac, a u većoj koncentraciji destabilizira mt-DNA, membranski integritet i prijenos elektrona, vežući se za vezno mjesto flavin-mononukleotida (22). U jetrenim stanicama miševa, *in vivo*, tamoksifen je također izazivao steatozu (23). Zanimljivo, metaboliti tamoksifena odgovorni za antitumorsko djelovanje, 4-hidroksitamoksifen i endoksifen ne izazivaju jetreno oštećenje (24). Iz navedenog proizlazi, da bi davanje aktivnog metabolita, umjesto prolijeka, bilo primjerenije za izbjegavanje neželjenog farmakotoksikološkog ishoda. Moglo bi se i pretpostaviti da je zbog glukuronidacije i eliminacije potrebna veća doza aktivnog metabolita koja bi mogla rezultirati novim nuspojavama.

Flutamid (nesteroidni antiandrogen) je lijek za liječenje karcinoma prostate, a povezan je s idiosinkrazijskim reakcijama jetrenog oštećenja (25). Vjeruje se da je razlog tome mitotoksičnost (26). Flutamid potiče vezanje reaktivnih elektrofilnih metabolita na proteine, smanjuje omjer reduciranog glutationa (GSH) i glutation disulfida (GSSG). Kod štakora, flutamid remeti mitohondrijski dišni lanac i smanjuje razinu ATP-a (27). Iz navedenog proizlazi da je oksidativni stres inducirani flutamidom mogući uzrok oštećenih mitohondrijskih proteina i mt-DNA koji kaskadno pridonosi jetrenom oštećenju.

Cisplatin (analog platine) je lijek za liječenje karcinoma glave, vrata, mjehura, jajnika i testisa. Cisplatin ima značajan broj dokumentiranih neurotoksičnih i nefrotoksičnih reakcija (28, 29). Periferna neuropatija javlja se kod 30 % pacijenata, a smatra se da je posljedica mitotoksičnosti. *In vitro* i *in vivo* studije pokazale su da se tretiranjem ganglijskih neurona cisplatinom, mitohondriji vakuoliziraju što se, vjeruje se, klinički manifestira kao neuropatija (30). Slijedeći analog platine – **oksaliplatin**, u neuronima štakora kovalentno se veže za komplekse dišnog lanca i smanjuje proizvodnju ATP-a. Davanje acetyl-L-karnitina pri oksaliplatinom induciranoj neuropatiji, djelomično je reguliralo mitohondrij (31). Nefrotoksičnost cisplatina javlja se kod 25 do 30 % liječenih, a pretpostavlja se da je također povezana s mitotoksičnošću. Klinički se nefrotoksičnost ispoljava smanjenjem glomerularne filtracije, hipokalijemijom i hipomagnezijemijom. Također, analizom mišjeg bubrega nađeno je renalno tubularno oštećenje koje korelira s gubitkom ukupne mase mitohondrija (32).

Ciklofosfamid (derivat dušikova iperita) alkilirajući je lijek za liječenje limfoma, multiplog mijeloma, nekih vrsta leukemije, retinoblastoma i neuroblastoma. Ciklofosfamid remeti permeabilnost mitohondrijske membrane u kardiomiocitima, koja posljedično gubi integritet dovodeći do kardiotoksičnosti (33). **Ifosfamid**, također derivat dušikovog iperita, inhibira dišni lanac,

remeti Krebsov ciklus i smanjuje koncentraciju nikotinamid-adenin-dinukleotida u mitohondriju bubrega, posljedično dovodeći do nefrotoksičnosti (34).

Busulfan (iz grupe alkilirajućih sulfonata) je lijek za kroničnu mijeloičnu leukemiju. Vjeruje se da su za hepatotoksičnost odgovorni oksidacijski stres i deregulacija u stvaranja glutaciona. Dokaz za to je potvrđeni izostanak toksičnosti, kada je *in vitro* dodan inhibitor glutation transferaze uz antioksidans, koji je spriječio nastajanje neželjenog kompleksa busulfan-glutation (35).

Dokсорubicin (antraciklinski derivat) je lijek u terapiji više vrsta karcinoma, a najčešće kod karcinoma dojke. Zbog višestrukih nuspojava poput mijelosupresije (ovisne o dozi), oštećenja DNA, lipidne peroksidacije i stvaranja ROS ima ograničenu upotrebu (36). Literaturno, najčešće je spominjan zbog svoje ireverzibilne kardiotoksičnosti. Vjeruje se da postoji više mehanizama koji pridonose kardiotoksičnosti kumulativnim domino efektom. Teorija koja je najviše prihvaćena govori u prilog oksidativnom stresu koji se događa zbog redukcije tetracikličkog prstena uz stvaranje semikinonskog radikala. Nespareni elektron semikinona prenosi se na kisik i tvori superoksidni radikal koji interferira s mt-DNA, homeostazom kalcija i lipidnom peroksidacijom mitohondrija miokarda, rezultirajući kardiotoksičnošću (37, 38).

Paklitaksel (taksanski derivat) je lijek za liječenje karcinoma jajnika, dojke, uznapredovalog karcinoma pluća ne-malih stanica te Kaposijevog sarkoma povezanog s AIDS-om. Bolna periferna neuropatija je glavna limitirajuća prepreka pri terapiji, a može perzistirati mjesecima pa čak i godinama (39). U izoliranim mitohondrijima neurona ustanovljena je vakuolizacija i propadanje mitohondrija uz stvaranje ROS. Vjeruje se da bolnoj neuropatiji pridonose inhibicija dišnog lanca te pad razine ATP-a. Acetil-L-karnitin djelomično sprječava oksidativno oštećenje (40, 31).

Uz neurotoksičnost, česta je i kardiotoksičnost zbog osjetljivosti mitohondrija srčanog mišića na nedostatak ATP-a. Klinički, kardiotoksičnost se manifestira bradikardijom, a javlja se kod 30 % pacijenata (41).

Metotreksat (antagonist folne kiseline) je lijek kod leukemija i ostalih malignih bolesti kao i kod nekih upalnih bolesti, poput reumatoidnog artitisa. Gastrointestinalna toksičnost i oštećenje jetre su česte nuspojave (42). U mitohondriju jetre, metotreksat uzrokuje nastanak superoksidnog radikala, lipidnu peroksidaciju i smanjenje razine glutaciona (43). Slično se događa i u mitohondrijima enterocita, gdje dolazi do inhibicije dišnog lanca i sinteze ATP-a (44). Iz navedenog proizlazi da su gastrointestinalne nuspojave metotreksata u svojoj podlozi uzrokovane mitotoksičnošću koja se klinički manifestira gastrointestinalno.

Od ostalih antineoplastika, navedene mehanizme mitotoksičnosti dijele 6-merkaptopurin (hepatotoksičnost) (45), sve *trans*-retinoične kiseline i vitamin A (hepatotoksičnost) (46), neka monoklonska protutijela poput trastuzumaba (kardiotoksičnost) (47), inhibitor tirozin kinaze sorafenib (kardiotoksičnost i hipertenzija) (48) te inhibitor proteosoma bortezomib (periferna neuropatija) (49).

Nukleozidni inhibitori reverzne transkriptaze

(engl. *Nucleoside Reverse Transcriptase Inhibitors – NRTI*)

Kao jedna od osnovnih komponenta anti-HIV terapije koja pokazuje određenu dozu efikasnosti, NRTI se povezuju s toksičnim učincima na mitohondrije mnogobrojnih tkiva iz kojih proizlaze i njihove opće nuspojave. Točan mehanizam pretpostavlja negativne učinke na mitohondrijsku DNA polimerazu i smanjenje mt-DNA uz posredni učinak na dišni lanac. Nadalje, NRTI uzrokuju i ireverzibilne mutacije mt-DNA. Kod pacijenata liječenih s NRTI dokazan je pad antioksidativne komponente – reduciranog glutationa (GSH) čime dolazi do porasta ROS (50).

Antipsihotici i antidepresivi

In vitro studije toksičnosti tih skupina lijekova, imaju mnogo veće doze od onih koje su realne u *in vivo* studijama. No, smatra se da je nakupljanje tih lijekova u tkivima puno većeg razmjera nego koncentracija u plazmi, stoga se mitotoksičnost povezuje s već postojećom predispozicijom za istu. Predloženi mehanizmi uključuju direktnu inhibiciju dišnog lanca, porast oksidativnog stresa i deregulaciju mitohondrijske membrane. U prilog tome govori eksperiment gdje je na miševima tretiranim haloperidolom, dokazan toksičan učinak na mitohondrije mozga i deplecija glutationa. Predloženi mehanizam toksičnosti uključuje stvaranje superoksida generiranog autooksidacijom dopamina (50).

Inhibiciju mitohondrijskog dišnog lanca pokazali su antipsihotici poput klorpromazina, flufenazina i risperidona, ali njihov učinak na inhibiciju je bio slabije izražen u usporedbi s haloperidolom. Nadalje, pokazana je korelacija rizika razvoja ekstrapiramidalnih nuspojava s mitotoksičnošću haloperidola, risperidona i klozapina (50).

Kod antidepresiva, poznat je slučaj povlačenja nefazodona s američkog tržišta 2004. zbog hepatotoksičnosti. Studije na jetri štakora pokazale su inhibiciju dišnog lanca mitohondrija. U istoj studiji, buspiron i trazodon pokazali su *in vitro* smanjenje ATP-a u HepG2 stanicama. Trazodon je pokazao sličnu razinu inhibicije dišnog lanca kao nefazodon. U drugoj studiji na izoliranim

mitochondrijima, antidepresivi klomipramin, desipramin i norfluoksetin inhibirali su za 50 % proteinske komplekse mitohondrijskog dišnog lanca, u usporedbi s kontrolom. Kod amitriptalina zabilježena je peroksidacija lipida mitohondrija i deplecija ATP-a. Također, postoje indicije mitotoksičnosti sertralina (inhibitor ponovne pohrane serotonina) i fenotiazinskih antipsihotika, zbog za sada nerazjašnjenih okolnosti iznenadne hepatotoksičnosti pri njihovoj upotrebi (50).

Antiparkinsonici

Neadekvatna funkcija mitohondrija je prema nekim autorima u podlozi razvoja Parkinsonove bolesti. Neke studije su pokazale, paradoksalno, da i terapija Parkinsonove bolesti dovodi do mitotoksičnosti. Levodopa, lijek prvog izbora, a ujedno i prekursor dopamina, prema nekim spoznajama pridonosi mitotoksičnosti zbog inhibicije dišnog lanca, stvaranja ROS i dereguliranja metaboličkih procesa. Naime, poznato je da je dopamin jedan od bitnih neurotransmitora koji ima potencijal autooksidacije, gdje se neprestano stvaraju dopaminski kinoni i semikinoni koji narušavaju antioksidativni kapacitet glutaciona i uzrokuju oksidativni stres neuronskih mitohondrija. Također, u katekolaminskim neuronima enzimi monoaminooksidaze A i B (MAO A i MAO B) mogu oksidirati dopamin. Stoga levodopa, potencirajući višak dopamina kao njegov prekursor, sudjeluje u reakcijama kao i sam dopamin, stvarajući ROS i neuronsku toksičnost. Usputno, mitotoksičnost je razlog povlačenja tolkapona (inhibitora katekol-O-metil transferaze; COMT inhibitora) preteče entakapona, koji se davao uz levodopu. Naime, hepatičko oštećenje je bilo uzrok smrti triju osoba liječenih tom kombinacijom lijekova (50).

Antiepileptici

Valproična kiselina često je povezana s pojavom hepatotoksičnosti, a također se koristi i kod Parkinsonove bolesti za kontrolu impulzivnosti u sindromu dopaminske deregulacije (DDS). Valproična kiselina i metaboliti narušavaju oksidaciju masnih kiselina, funkciju dišnog lanca, regulaciju mt-DNA i mitohondrijski membranski potencijal te smanjuju dostupnost kisika. Usputno, dodatni rizik za hepatotoksičnost valproične kiseline može biti i prisutna mutacija gena *POLG1*. Fenobarbital, fenitoin, karbamazepin i okskarbamazepin generalno ne posjeduju indukciju mitotoksičnosti, ali mogu imati negativni učinak na dišni lanac, bilo stvaranjem ROS ili dereguliranjem stvaranja ATP-a. Zbog stvaranja ROS, kao mjera opreza se uvijek uz antiepileptike savjetuju antioksidativni preparati kao dodaci prehrani (50).

Statini

Od prvog predstavljanja 1987., statini su i danas neizbježni u terapiji hiperkolesterolemije, glavnog rizika razvoja aterosklerotskih kardiovaskularnih bolesti. Iako za većinu dobro tolerirani, statini mogu imati miopatske nuspojave. One variraju od benignih mijalgija do potencijalno fatalnih poput rabdomiolize. Razlog još nije do kraja razjašnjen, ali laktička acidoza i povišen omjer koncentracije laktat/piruvat govore u prilog mitotoksičnosti. Naime, statini kompetitivno inhibiraju enzim 3-hidroksi-3-metil-glutaril-CoA reduktazu, skraćeno HMG-CoA reduktazu, koja je limitirajući korak u sintezi kolesterola, ali i koenzima Q10 (CoQ10), ključnog faktora mitohondrijskog dišnog lanca. U prilog tome govore i četiri studije koje su pokazale da ispitanici na statinima imaju u plazmi deficit CoQ10. Nadalje, isti mehanizam indukcije rabdomiolize predložen je pri kombiniranju simvastatina s gemfibrozilom, simvastatina s ciklosporinom i simvastatina s itrakonazolom (50). Moguće je da je zbog farmakokinetike, vrijeme eliminacije statina bilo produljeno, kao i posljedično njegova bioraspoloživost, što pridonosi toksičnosti lijeka. Biokemijsku patogenezu mišićnog oštećenja treba detaljnije ispitati.

Paracetamol (acetaminofen)

Kao najpoznatiji analgoantipiretik, paracetamol u terapijskim dozama je siguran i učinkovit. U velikoj dozi (iznad 4 grama) može uzrokovati ozbiljno oštećenje jetre koje je glavni uzrok jetrenog zatajenja u zapadnim zemljama. Biokemijski, prisutnost mt-DNA i enzima glutamat dehidrogenaze u plazmi se smatra biomarkerom za mjerenje mitotoksičnosti paracetamola. Kroz CYP posredovanu oksidaciju, paracetamol se metabolizira u N-acetil-parabenzokinonimin (NAPQ1). U netoksičnim dozama, NAPQ1 se uspješno detoksificira glutationom (GSH) stvarajući kompleks NAPQ1-GSH. Nasuprot tome, u toksičnoj dozi sposobnost detoksifikacije nestaje zbog iskorištenosti zalihe glutaciona. U tom slučaju, NAPQ1 uzrokuje oksidaciju mitohondrijskih staničnih proteina i deregulaciju mitohondrijskog dišnog lanca. Također, obim kovalentnog vezanja NAPQ1 i proteina korelira s jetrenim oštećenjem. Na sreću, pravodobno primijenjen antidot, N-acetilcistein koji postaje cisteinski prekursor sinteze glutaciona, vraća ravnotežu antioksidativnog statusa i sprječava toksičnost (50).

DNP (2,4-dinitrofenol)

Povijest DNP-a datira još iz 1918. poslije Prvog svjetskog rata, gdje je korišten pri proizvodnji oružja. Smrtni ishodi zbog profesionalne izloženosti

tada, a danas zbog zloupotrebe kao sredstva za mršavljenje, pravi su primjeri mitotoksičnosti opasne po život. Farmakološki, DNP ima vrlo uzak terapijski indeks, a uzrokuje deregulaciju mitohondrijske membrane djelovanjem na protonski transporter. Time dolazi do izbacivanja protona iz unutarnje mitohondrijske membrane te izostaje protonski gradijent važan pri sintezi ATP-a. Nadalje, DNP interferira direktno s procesom oksidativne fosforilacije sprječavajući vezanje fosfatnog ostatka na ADP, čime je onemogućeno novo generiranje ATP-a. Posljedično, energija se ne može niti utrošiti, niti stvoriti ponovo, a izbacivanje protona uzrokuje nagli patološki porast temperature tijela što se klinički manifestira kao maligna hipertermija. Izlaganje DNP-u inducira glikolizu, što potiče kalorijsko izgaranje i stvaranje laktata – javlja se efekt mršavljenja pri zloupotrebi. Uz DNP, zloupotrebljava se i njegov mnogo potentniji strukturni analog DNOC (4,6-dinitro-o-krezol). Detaljniji toksični mehanizmi DNP-a (i DNOC-a) danas se ispituju radi pronalaska adekvatne terapije zbog sve češćih slučajeva hospitalizacije pri zloupotrebi (50).

»Pozitivna mitotoksičnost«

Farmakološki učinak litija, lijeka za kontrolu bipolarnog poremećaja, pokazatelj je kako negativno djelovanje u jednom kontekstu može biti pozitivno evaluirano u drugom. Naime, litij uzrokuje inhibiciju protonskog prijenosa bitnog za sintezu ATP-a u mitohondriju stanica mozga, dovodeći do manjka stanične energije koji korelira s pozitivnim antimaničnim učinkom litija (50).

ZAKLJUČAK

Navedenim primjerima sumirani su pretpostavljeni i/ili dokazani mehanizmi toksičnosti lijekova povezani s mitohondrijskom disfunkcijom. Mitotoksičnost, može implicirati i sistemski učinak koji se s farmakotoksikološkog i kliničkog aspekta svakako želi izbjeći. Zaključno, sustavnije istraživanje mehanizama mitotoksičnosti inducirane lijekovima je od velike važnosti da bi se ista mogla minimalizirati, a takvim strategijama se već pri prvim koracima razvoja lijeka može eliminirati rizik ozbiljnih nuspojava. U budućnosti se i dalje očekuje velika usmjerenost na istraživanja mitotoksičnosti kao problema suvremene farmakoterapije.

Drug-induced mitotoxicity

Z. Petrić, I. Žuntar

Abstract

Purpose of this review paper is to point out induced mechanisms of mitochondrial dysfunction associated with common use of well-known therapeutics and xenobiotics. Drug-induced mitotoxicity can occur by several mechanisms. They can involve inhibition of mitochondrial respiratory chain, an induction of mitochondrial oxidative stress and generating reactive oxygen species, an impairment of oxidative phosphorylation and ATP synthesis, an impairment of mitochondrial membrane integrity and structure or a disruption in the mitochondrial genome. Nowadays, drug-induced mitotoxicity is an important challenge for many pharmacologists and toxicologists who are trying to develop strategies for minimizing adverse drug reactions aiming to give contribution to modern pharmacotherapy.

Literatura – References

1. Zakon o lijekovima, NN br. 76/13, 90/14, <https://www.zakon.hr/z/399/Zakon-o-lijekovima>, datum pristupa: 7.5.2018.
2. Taniguchi CM, Armstrong SR, Green LC, Golan DE, Tashjian AH. Drug Toxicity. U: Principles of Pharmacology: The Pathophysiologic Basis of Drug Therapy, Golan DE, Tashjian AH, Armstrong AW, urednici. Philadelphia: LWW, 2016; 63–73.
3. Will Y, Dykens JA. Mitochondrial Dysfunction Caused by Drugs and Environmental Toxicants, John Wiley & Sons, USA, 2018.
4. Begriche K, Massart J, Robin MA, Borgne-Sanchez A, Fromenty B. Drug-induced toxicity on mitochondria and lipid metabolism: mechanistic diversity and deleterious consequences for the liver. J Hepatol. 2011; 54:773–794.
5. Kumar A, Singh A. A review on mitochondrial restorative mechanism of anti-oxidants in Alzheimer's disease and other neurological conditions, Front Pharmacol. 2015; 24:6:206
6. Mitchell P. Compartmentation and communication in living systems – Ligand conduction: a general catalytic principle in chemical, osmotic and chemiosmotic reaction systems. Eur J Biochem. 1979; 95:1–20.
7. Bernardi P, Krauskopf A, Basso E, Petronilli V, Blachly-Dyson E, Di Lisa F, et al. The mitochondrial permeability transition from *in vitro* artifact to disease target. FEBS J. 2006; 27:2077–2099.
8. Labbe G, Pessayre D, Fromenty B. Drug-induced liver injury through mitochondrial dysfunction: mechanisms and detection during preclinical safety studies. Fundam Clin Pharmacol. 2008; 22:335–353.
9. Pessayre D, Mansouri A, Berson A, Fromenty B. Mitochondrial involvement in drug-induced liver injury. Handb Exp Pharmacol. 2010;196:311–365.

10. Malhi H, Gores GJ, Lemasters JJ. Apoptosis and necrosis in the liver: a tale of two deaths? *Hepatology*. 2006; 43:S31–S44.
11. Fulda S, Galluzzi L, Kroemer G. Targeting mitochondria for cancer therapy. *Nat Rev Drug Discov*. 2010; 9:447–464.
12. Maianski NA, Geissler J, Srinivasula SM, Alnemri ES, Roos D, Kuijpers TW. Functional characterization of mitochondria in neutrophils: a role restricted to apoptosis. *Cell Death Differ*. 2004; 11:143–153.
13. Wallace DC, Fan W, Procaccio V. Mitochondrial energetics and therapeutics. *Annual Rev. Pathol*. 2010; 5:297–348.
14. Fromenty B, Robin MA, Igoudjil A, Mansouri A, Pessayre D. The ins and outs of mitochondrial dysfunction in NASH. *Diabetes Metab*. 2004; 30:121–138.
15. Björnsson E. The natural history of drug-induced liver injury. *Semin Liver Dis*. 2009; 29:357–363.
16. Labarga P, Soriano V, Vispo ME, Pinilla J, Martin-Carbonero L, Castellares C, et al. Hepatotoxicity of antiretroviral drugs is reduced after successful treatment of chronic hepatitis C in HIV-infected patients. *J Infect Dis* 2007; 196:670–676.
17. Will Y, Dykens J. Mitochondrial toxicity assessment in industry—a decade of technology development and insight. *Drug Metab. Toxicol*. 2014; 10:1061–67.
18. Luz A L, Smith L L, Rooney J P, Meyer J N. Seahorse extracellular flux-based analysis of cellular respiration in *Caenorhabditis elegans*. *Curr. Protoc. Toxicol*. 2015; 66; 25.7.1–15.
19. Melentijevic I, Toth M L, Arnold M L, Guasp R J, Harinath G, Nguyen K C, Taub D, Parker J A, Neri C, Gabel C V, et al. *C. elegans* neurons jettison protein aggregates and mitochondria under neurotoxic stress. *Nature*. 2017; 542:367–371.
20. Liu CL, Huang JK, Cheng SP, Chang YC, Lee JJ, Liu TP. Fatty liver and transaminase changes with adjuvant tamoxifen therapy. *Anticancer Drugs*. 2006;17(6): 709–13.
21. Farrell GC. Drugs and steatohepatitis. *Seminars in Liver Disease*. 2002; 22(2): 185–9418.
22. Cardoso CMP, Custódio JBA, Almeida LM, Moreno AJM. Mechanisms of tamoxifen deleterious effects on the respiration rate and phosphorylation efficiency of mitochondria. *Toxicology and Applied Pharmacology*. 2001;176(3):145–52.
23. Larosche I, Lettéron P, Fromenty B, Vadrot N, Abbey-Toby A, Feldmann G, Pessayre D, Mansouri A. Tamoxifen inhibits topoisomerases, depletes mitochondrial DNA, and triggers steatosis in mouse liver. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. 2007; 321(2):526–35.
24. Lim YC, Desta Z, Flockhart DA, Skaar TC. Endoxifen (4-hydroxy-N-desmethyl-tamoxifen) has anti-estrogenic effects in breast cancer cells with potency similar to 4-hydroxy-tamoxifen. *Cancer chemotherapy and Pharmacology*. 2005; 55(5):471–8.
25. Bruni V, Peruzzi E, Dei M, Nannini S, Seravalli V, Sisti G, Fambrini M. Hepatotoxicity with low- and ultralow-dose flutamide: a surveillance study on 203 hyperandrogenic young females. *Fertility and Sterility*. 2012; 98(4):1047–52.
26. Kashimshetty R, Desai VG, Kale VM, Lee T, Moland CL, Branham WS, New LS, Chan EC, Younis H, Boelsterli UA. Underlying mitochondrial dysfunction

- triggers flutamide-induced oxidative liver injury in a mouse model of idiosyncratic drug toxicity. *Toxicology and Applied Pharmacology*. 2009; 238(2):150–9.
27. Fau D, Eugene D, Berson A, Letteron P, Fromenty B, Fisch C, Pessayre D. Toxicity of the antiandrogen flutamide in isolated rat hepatocytes. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. 1994; 269(3):954–62.
 28. Yang Y, Liu H, Liu F, Dong Z. Mitochondrial dysregulation and protection in cisplatin nephrotoxicity. *Archives of Toxicology*. 2014; 88(6):1249–56.
 29. McWhinney SR, Goldberg RM, McLeod HL. Platinum neurotoxicity pharmacogenetics. *Molecular Cancer Therapeutics*. 2009; 8(1):10–6.
 30. Podratz JL, Knight AM, Ta LE, Staff NP, Gass JM, Genelin K, Schlattau A, Lathroum L, Windebank AJ. Cisplatin induced mitochondrial DNA damage in dorsal root ganglion neurons. *Neurobiology of Disease*. 2011; 41(3):661–8.
 31. Zheng H, Xiao WH, Bennett GJ. Functional deficits in peripheral nerve mitochondria in rats with paclitaxel- and oxaliplatin-evoked painful peripheral neuropathy. *Experimental Neurology*. 2011; 232(2):154–61.
 32. Zsengellér ZK, Ellezian L, Brown D, Horváth B, Mukhopadhyay P, Kalyanaraman B, Parikh SM, Karumanchi SA, Stillman IE, Pacher P. Cisplatin nephrotoxicity involves mitochondrial injury with impaired tubular mitochondrial enzyme activity. *Journal of Histochemistry & Cytochemistry*. 2012; 60(7):521–9.
 33. Al-Nasser IA. *In vivo* prevention of cyclophosphamide-induced Ca²⁺-dependent damage of rat heart and liver mitochondria by cyclosporin A. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*. 1998; 121(3):209–14.
 34. Nissim I, Horyn O, Daikhin Y, Nissim I, Luhovyy B, Phillips PC, Yudkoff M. Ifosfamide-induced nephrotoxicity: mechanism and prevention. *Cancer Research*. 2006; 66(15):7824–31.
 35. DeLeve LD, Wang X. Role of oxidative stress and glutathione in busulfan toxicity in cultured murine hepatocytes. *Pharmacology*. 2000; 60(3):143–54.
 36. Carvalho FS, Burgeiro A, Garcia R, Moreno AJ, Carvalho RA, Oliveira PJ. Doxorubicin-induced cardiotoxicity: from bioenergetic failure and cell death to cardiomyopathy. *Medical Research Reviews*. 2014; 34(1):106–35.
 37. Doroshow JH. Effect of anthracycline antibiotics on oxygen radical formation in rat heart. *Cancer Research*. 1983; 43(2):460–72.
 38. Lebrecht D, Kokkori A, Ketelsen UP, Setzer B, Walker UA. Tissue-specific mt-DNA lesions and radical-associated mitochondrial dysfunction in human hearts exposed to doxorubicin. *Journal of Pathology*. 2005; 207(4):436–44.
 39. Fidanboyu M, Griffiths LA, Flatters SJ. Global inhibition of reactive oxygen species (ROS) inhibits paclitaxel-induced painful peripheral neuropathy. *PLoS One*. 2011; 6(9):25212.
 40. Varbiro G, Veres B, Gallyas F Jr, Sumegi B. Direct effect of Taxol on free radical formation and mitochondrial permeability transition. *Free Radical Biology & Medicine*. 2001; 31(4):548–58.
 41. Kumazawa A, Katoh H, Nonaka D, Watanabe T, Saotome M, Urushida T, Satoh H, Hayashi H. Microtubule disorganization affects the mitochondrial permeability transition pore in cardiac myocytes. *Circulation Journal*. 2014; 78(5):1206–15.

42. Cronstein BN. Low-dose methotrexate: a mainstay in the treatment of rheumatoid arthritis. *Pharmacological Reviews* 2005; 57(2):163–72.
43. Tabassum H, Parvez S, Pasha ST, Banerjee BD, Raisuddin S. Protective effect of lipoic acid against methotrexate-induced oxidative stress in liver mitochondria. *Food and Chemical Toxicology*. 2010; 48(7):1973–9.
44. Kolli V, Natarajan K, Isaac B, Selvakumar D, Abraham P. Mitochondrial dysfunction and respiratory chain defects in a rodent model of methotrexate-induced enteritis. *Hum Exp Tox*. 2013; 33(10):1051–65.
45. Tapner MJ, Jones BE, Wu WM, Farrell GC. Toxicity of low dose azathioprine and 6-mercaptopurine in rat hepatocytes. Roles of xanthine oxidase and mitochondrial injury. *Journal of Hepatology*. 2004; 40(3):454–63.
46. Ribeiro MP, Santos AE, Santos MS, Custódio JB. Effects of all-trans-retinoic acid on the permeability transition and bioenergetic functions of rat liver mitochondria in combination with endoxifen. *Life Sciences*. 2013; 93(2–3):96–107.
47. Leo MA, Arai M, Sato M, Lieber CS. Hepatotoxicity of vitamin A and ethanol in the rat. *Gastroenterology*. 1982; 82(2):194–205.
48. Will Y, Dykens JA, Nadanaciva S, Hirakawa B, Jamieson J, Marroquin LD, Hynes J, Patyna S, Jessen BA. Effect of the multitargeted tyrosine kinase inhibitors imatinib, dasatinib, sunitinib, and sorafenib on mitochondrial function in isolated rat heart mitochondria and H9c2 cells. *Toxicological Sciences*. 2008; 106(1):153–61.
49. Zheng H, Xiao WH, Bennett GJ. Mitotoxicity and bortezomib-induced chronic painful peripheral neuropathy. *Experimental Neurology*. 2012; 238(2):225–34.
50. Hargreaves IP, Al Shahrani M, Wainwright L, Heales SJR. Drug-Induced Mitochondrial Toxicity. *UK Drug Saf*. 2016; 39:661–74.

Primljeno 7. svibnja 2018.