Značenje reakcija biotransformacija u pojavi idiosinkratskih reakcija lijekova

Antolić, Andrea

Professional thesis / Završni specijalistički

2016

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Pharmacy and Biochemistry / Sveučilište u Zagrebu, Farmaceutsko-biokemijski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:163:929421

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-03-29**

Repository / Repozitorij:

Repository of Faculty of Pharmacy and Biochemistry University of Zagreb

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU

FARMACEUTSKO-BIOKEMIJSKI FAKULTET

Andrea Antolić

ZNAČENJE REAKCIJA BIOTRANSFORMACIJA U POJAVI IDIOSINKRATSKIH REAKCIJA LIJEKOVA

Specijalistički rad

Zagreb, 2016.

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU

FARMACEUTSKO-BIOKEMIJSKI FAKULTET

Andrea Antolić

ZNAČENJE REAKCIJA BIOTRANSFORMACIJA U POJAVI IDIOSINKRATSKIH REAKCIJA LIJEKOVA

Specijalistički rad

Zagreb, 2016.

PSS STUDIJ: Razvoj lijekova

Mentor rada: doc. dr. sc. Mirza Bojić, mr.pharm.

Specijalistički rad obranjen je dana 15. prosinca 2016., na Zavodu za farmaceutsku kemiju Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, pred povjerenstvom u sastavu:

1. izv. prof. dr. sc. Milena Jadrijević-Mladar Takač
2. doc. dr. sc. Mirza Bojić
3. dr. sc. Marijana Erceg, znanstv. sur.

Rad ima 91 list.

PREDGOVOR

Ovaj specijalistički rad prijavljen je na Zavodu za farmaceutsku kemiju Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta, a provodi se u sklopu projekta Hrvatske zaklade za znanost - *Metabolizam i interakcije biološki aktivnih spojeva i QSAR*, voditelja: doc. dr. sc. Mirze Bojića (HRZZ-UIP-2014-09-5704).

Idiosinkratske reakcije predstavljaju atraktivno područje istraživanja posebice imajući u vidu činjenicu da se navedene reakcije najčešće pojavljuju kada lijek dospije na tržište. U tom trenutku nastoji se naći racionalno objašnjenje uočene neželjene reakcije. Ovaj specijalistički rad doprinjet će razumijevanju dosadašnjih spoznaja o idiosinkratskim reakcijama te strategijama i pristupima farmaceutskih tvrtki, nositelja odobrenja za stavljanje lijeka u promet u riješavanju istih.

Ovaj specijalistički rad izrađen je pod stručnim vodstvom doc. dr. sc. Mirze Bojića.

Veliko hvala doc. dr. sc. Mirzi Bojiću na pomoći, vodstvu, strpljenju, idejama, kritikama i stručnim savjetima pri izradi ovog specijalističkog rada.

Posebna zahvala roditeljima, sestrama i bratu na povjerenju i strpljenju te na podršci i vjeri u mene.

Hvala svim dragim ljudima, posebice mojim prijateljima i kolegama na potpori i optimizmu, na tehničkoj i stručnoj pomoći.

SAŽETAK

Osnovna podjela nuspojava na lijekove je na nuspojave tipa A koje nastaju kao posljedica pretjeranog farmakološkog učinka lijeka, te na nuspojave tipa B, odnosno idiosinkratske reakcije. Idiosinkratske reakcije su nepredvidive, odgođene u nastanku, niske učestalosti, ali velike smrtnosti. Čine 10% ukupnih nuspojava na lijekove i predstavljaju veliki problem s obzirom da su posljedice takvih reakcija često opasne po život, a sam mehanizam nastanka nije u potpunosti razjašnjen. Ispitivanja toksičnosti tijekom razvoja novih lijekova pokazala su se neučinkovita u predviđanju lijeka kandidata i njegove povezanosti s pojavom idiosinkratskih reakcija, što ponekad dovodi do povlačenja lijekova s tržišta ili stavljanja oznake upozorenja. Dosadašnja istraživanja pokazuju kako je biotransformacija lijekova u reaktivne metabolite često uzrokom nastanka idiosinkratskih reakcija, stoga postoji potreba za boljim razumijevanjem osnovnih mehanizama koji dovode do stvaranja reaktivnih metabolita. Idiosinkratske reakcije mogu zahvatiti bilo koji organ, no najčešće se manifestiraju na koži, jetri te koštanoj srži, a većina nastaje posredovanjem imunološkog sustava. Pregledom literature iz PubMed citatne baze primjenom ključnih riječi naziv lijeka i idiosinkratske reakcije, prikazani su karakteristični lijekovi i njihova biotransformacija u reaktivne metabolite prema mjestu nastanka idiosinkratske reakcije. Kako je malen broj prikladnih modela za ispitivanje mehanizama nastanka idiosinkratskih reakcija, prilikom razvoja novih lijekova potrebno je razviti strategije za predviđanje takvih reakcija. Moguće strategije su izbjegavanje funkcionalnih skupina koje su podložne biotransformaciji u reaktivne metabolite, praćenje kovalentnog vezanja potencijalnog lijeka za makromolekule ili glutation te pronalazak novih animalnih modela koji bi omogućili bolje razumijevanje mehanizma.

SUMMARY

Adverse drug reactions (ADR) are conventionally classified into two types – type A reactions that are result of enhanced pharmacological effect, and type B reactions or idiosyncratic drug reactions. Idiosyncratic drug reactions are unpredictable, delayed in onset, low frequency but high mortality. Representing 10% of total ADRs, they remain a big problem considering that the consequences of such reactions are often life-threatening, and the mechanisms are not fully understood. Toxicity testing has been ineffective in the prediction of drug candidates that could be associated with a relatively high incidence of idiosyncratic drug reactions, which sometimes leads to the withdrawal of some drugs from the market or "black box" warnings for others. Previous studies have shown that the biotransformation of drugs to reactive metabolites are often cause of idiosyncratic drug reaction, therefore there is a need for better understanding of the basic mechanisms involved in the formation of reactive metabolites. Idiosyncratic drug reactions can affect any organ, but skin, liver, and bone marrow are the most common targets and most idiosyncratic drug reactions appear to be immune mediated. A literature search of PubMed citation database using the keywords drug and idiosyncratic drug reactions was used in this review. The paucity of animal models makes mechanistic studies very difficult to proceed, so there is a need to develop some screening methods for the idiosyncratic drug reactions. Possible strategies are avoiding functional groups that are susceptible to biotransformation to reactive metabolites, screening of covalent binding to proteins or formation of gluthatione conjugates, and finding new animal models which would allow better understanding of the mechanism.

SADRŽAJ

POPIS UPOTRIJEBLJENIH KRATICA

1. UVOD I PREGLED PODRUČJA ISTRAŽIVANJA

1.1. NUSPOJAVE 2

1.2. IDIOSINKRATSKE REAKCIJE 5

1.2.1. Značajke idiosinkratskih reakcija 5

1.2.2. Kliničke manifestacije idiosinkratskih reakcija 6

1.2.3. Rizični faktori 7

1.3. MEHANIZAM NASTANKA IDIOSINKRATSKIH REAKCIJA 8

1.3.1. Imunološki sustav i modeli 8

1.3.2. Model oštećenja 9

1.3.3. Hipoteze o mehanizmu nastanka idiosinkratskih reakcija 11

1.3.3.1. Hapten hipoteza 11

1.3.3.2. Hipoteza oštećenja 12

1.3.3.3. Hipoteza o famakološkim interakcijama 13

1.4. ANIMALNI MODELI ZA ISTRAŽIVANJE IDIOSINKRATSKIH REAKCIJA 15

1.5. REAKTIVNI METABOLITI I IDIOSINKRATSKE REAKCIJE 16

1.5.1. Elektrofili 16

1.5.1.1. Acilatori 17

1.5.1.2. Kinoni i srodne strukture 21

1.5.1.3. Epoksidi i aren oksidi 21

1.5.1.4. Elektrofili koji sadrže dušik ili sumpor 22

1.5.2. Slobodni radikali 25

2. CILJ ISTRAŽIVANJA 27

3. MATERIJALI I METODE 29

4. RASPRAVA

4.1. BIOTRANSFORMACIJA LIJEKOVA I IDIOSINKRATSKE REAKCIJE 31

4.1.1. Idiosinkratske reakcije na koži 31

4.1.1.1. Idiosinkratske reakcije koje uzrokuju eozinofiliju i sistemske simptome (DRESS) 32

KARBAMAZEPIN 32

FENITOIN 34
4.1.1.2. Stevens-Johnsonov sindrom i toksična epidermalna nekroliza 36
NEVIRAPIN 38
4.1.2. Hematološke idiosinkratske reakcije 40
4.1.2.1. Agranulocitoza 40
KLOZAPIN I OLANZAPIN 40
TIKLOPIDIN 42
4.1.2.2. Trombocitopenija 45
HEPARIN 47
EPTIFIBATID I TIROFIBAN 47
ABCIKSIMAB 48
NAPROKSEN 49
4.1.2.3. Aplastična anemija 51
KLORAMFENIKOL 51
FELBAMAT 52
4.1.3. Autoimune idiosinkratske reakcije 54
4.1.3.1. Idiosinkratski lupusu sličan sindrom 54
PROKAINAMID 55
HIDRALAZIN 56
4.1.4. Idiosinkratska hepatotoksičnost 57
4.1.4.1. Idiosinkratska hepatička nekroza (hepatitis) 57
VALPROIČNA KISELINA 58
IZONIAZID 61
TROGLITAZON 62
4.1.4.2. Idiosinkratska kolestaza 66
FLUKLOKSACILIN 66
KSIMELAGATRAN 67
PARACETAMOL 70
4.2. SMANJENJE RIZIKA NASTANKA IDIOSINKRATSKIH REAKCIJA 72
4.2.1. Minimiziranje nastanka reaktivnih metabolita 72
4.2.2. Razvijanje biomarkera za predviđanje rizika od idiosinkratskih reakcija 73
4.2.3. Individualizacija terapije 74

5. ZAKLJUČAK **76**

6. LITERATURA **78**

7. ŽIVOTOPIS **87**

8. TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA **89**

POPIS UPOTRIJEBLJENIH KRATICA

ALP alkalna fosfataza

ALT alanin aminotrasferaza

ANA antinuklearna protutijela, engl. *antinuclear antibodies*

APC antigen prezentirajuće stanice, engl. *antigen presenting cells*

AST aspartat aminotrasferaza

ATP adenozin trifosfat

CES karboksilesteraza

CoA koenzim A

CYP citokrom P450

DAMP molekularni obrasci povezani s oštećenjem stanice, engl. *damage-associated molecular pattern*

DRESS reakcije na lijekove koje uzrokuju eozinofiliju i sistemske simptome, engl. *drug reaction with eosinophilia and systemic symptoms*

FMO flavin-monooksigenaze

GSH reducirani oblik glutationa

GSSG oksidirani oblik glutationa, dimer

GST glutation-S-transferaza

HLA humani leukocitni antigen

INS engl. *infectious-nonself model*

MAO monoaminooksidaze

MHC II glavni histokompatibilni kompleks II, engl. major histocompatibility complex II

MPO mijeloperoksidaza

NADPH nikotinamid adenin dinukleotid fosfat

NAT1 N-acetil transferaza 1

BN štakori od engl. *Brown Norway rats*

PAMP molekularni obrasci povezani s patogenom, engl. *pathogen-associated molecular pattern*

PF4 trombocitni faktor 4, engl. *platelet factor 4*

POLG polimeraza gama

PPARγ receptor za aktivator proliferacije peroksisoma gama

PRR receptori za prepoznavanje patogena, engl. pathogen recognition receptors

SNS engl. *self-nonself*

SULT sulfotransferaza

t1/2 vrijeme polueliminacije

UGT uridindifosfat glukuronoziltransferaza

1. UVOD I PREGLED PODRUČJA ISTRAŽIVANJA

1.1. Nuspojave

Nuspojava (engl. *adverse drug reaction*) je svaka štetna neželjena reakcija na lijek koji se koristi u uobičajenoj dozi za profilaktičke, dijagnostičke ili terapijske svrhe ili za modifikaciju fiziološke funkcije, uz uvjet da postoji uzročno-posljedična veza ili ona ne može biti isključena [1]. Kliničke manifestacije nuspojava različitog su intenziteta i kreću se od neugodnih stanja poput suhoće u ustima do ozbiljnih reakcija poput srčanog zastoja. Posebno značenje imaju ozbiljne nuspojave koje zadovoljavaju jedan od sljedećih kriterija:

- radi se o medicinski značajnom stanju koje se može smatrati ozbiljnim
- nuspojava je uzrokovala hospitalizaciju ili produljenje hospitalizacije
- došlo je do razvoja anomalije kod novorođenčeta zbog majčine konzumacije lijeka tijekom trudnoće
- nuspojava je izazvala invalidnost ili trajnu nesposobnost
- nuspojava ugrožava život bolesnika, odnosno korisnika lijeka
- nuspojava je uzrokovala smrt osobe.

Ozbiljne nuspojave predstavljaju značajan problem u zdravstvenom sustavu. U Hrvatskoj je u 2015. godini registrirano 2.640 ozbiljnih nuspojava od ukupno 9.294 prijavljenih nuspojava [2]. S druge strane, u Sjedinjenim Američkim Državama, ozbiljne nuspojave su četvrti vodeći uzrok smrti, a najčešće se prijavljuju za oralne antidijabetike, antikoagulanse, antikonvulzive i nesteroidne protuupalne lijekove (NSAID).

Konvencionalno nuspojave na lijekove klasificiramo u šest kategorija: A (engl. *augmented*, o dozi ovisne nuspojave), B (engl. *bizzare*, idiosinkratske reakcije), C (engl. *chronic*, povezane s vremenom primjene lijeka), D (engl. *delayed,* odgođene), E (engl. *end of treatment effects*, nastaju nakon primjene lijeka) te F (engl. *failure of therapy*, terapijski neuspjeh) (Tablica 1) [3,4].

Posljednjih godina značajno se unaprijedio sustav praćenja i spontanog prijavljivanja nuspojava od strane zdravstvenih djelatnika i korisnika lijekova. Jedan od primjera je i projekt „Farmakogenomika i farmakoterapija – sprječavanje nuspojava u individualizaciji terapije“ Kliničkog bolničkog centra Zagreb u sklopu kojeg su provedene različite farmakogenetičke analize. Rezultati analiza koriste se za individualizaciju terapije pojedinačnog pacijenta/ korisnika lijeka te se na taj način značajno smanjuje nastanak nuspojava tipa A, koje su posljedica pretjeranog farmakološkog učinka lijeka. Iz prijavljivanja nuspojava i sličnih projekata su proizašla mnoga saznanja o mehanizmu nastanka većine nuspojava, no o mehanizmu nastanka nuspojava tipa B, odnosno idiosinkratskim reakcijama, se vrlo malo zna.

Tablica 1. Klasifikacija nuspojava

Vrsta nuspojave	Značajke	Primjer	Liječenje
A – ovisne o dozi	• česte • predvidive • posljedica pretjeranog farmakološkog učinka • niske smrtnosti	• toksični učinci digoksina • serotoninski sindrom tijekom liječenja SSRI	• smanjenje doze ili prestanak primjene
B – idiosinkratske	• rijetke • nepredvidive • nisu uzrokovane farmakološkim djelovanjem lijeka • visoke smrtnosti	• preosjetljivost na penicilin • maligna hipertermija	• prestanak primjene lijeka i njegovo izbjegavanje u budućnosti
C – kronične	• rijetke • ovisne o vremenu i dozi • rezultat kumulativne doze lijeka	• kortikosteroidi	• prestanak primjene lijeka ili postepeno smanjivanje doze
D – odgođene	• javljaju se nakon prestanka primjene lijeka	• kancerogenost • teratogenost	
E - reakcije ustezanja	• javljaju se brzo nakon prestanka primjene lijeka	• ishemija miokarda nakon prestanka primjene β-blokatora • reakcije ustezanja na opijate	• ponovna primjena lijeka i postepeno smanjivanje doze
F – neuspjeh terapije	• česte • ovisne o dozi • često rezultat interakcija lijekova	• neodgovarajuća doza oralnih kontraceptiva u kombinaciji s inhibitorima jetrenih enzima	• povećanje doze lijeka

1.2. Idiosinkratske reakcije

Pojam idiosinkratske reakcije odnosi se na nuspojave koje se ne javljaju u većine pacijenata kada se lijekovi primjenjuju u odobrenim dozama, a mehanizam nastanka takvih reakcija ne uključuje poznata farmakološka svojstva lijekova [5]. Iako rijetke, s učestalošću od 1/1.000 ili 1/100.000, u Hrvatskoj je u 2015. godini registrirano 2.640 slučajeva nuspojava tipa B, što iznosi 28,4% svih prijavljenih nuspojava. Idiosinkratske reakcije predstavljaju veliki klinički problem jer su uglavnom vrlo ozbiljne pa čak i po život opasne. Teško ih je predvidjeti što uglavnom proizlazi iz ograničenih saznanja o mehanizmima uključenim u nastanak takvih reakcija.

1.2.1. Značajke idiosinkratskih reakcija

Idiosinkratske reakcije su nepredvidive nuspojave, odgođene u nastanku, niske učestalosti, ali velike smrtnosti. Nazivaju se još i nuspojavama neovisnim o dozi, što nije u potpunosti točno jer svaki učinak lijeka ovisi o dozi, no povezanost između primjenjene doze lijeka i razvitka nuspojave je vrlo kompleksna. Često je sama doza lijeka potrebna za izazivanje takvih nuspojava manja od doze lijeka potrebne za izazivanje farmakološkog učinka. Mogu zahvatiti bilo koji organ, no većina reakcija se odvija na koži, u jetri te koštanoj srži. Idiosinkratske reakcije koje se manifestiraju kao nuspojave na koži javljaju se tjedan ili mjesec dana od prve primjene lijeka, dok su one koje izazivaju agranulocitozu ili hepatičku nekrozu odgođene i do šest mjeseci nakon prve primjene ili čak i više od godinu dana. S druge strane, nakon ponovne primjene istog lijeka, reakcija se uglavnom događa gotovo trenutno (unutar nekoliko minuta ili dana). Kliničke značajke idiosinkratskih reakcija te istraživanja na razvijenim animalnim modelima ukazuju da je imunološki sustav uključen u većinu idiosinkratskih reakcija. Ako je pretpostavka točna, idiosinkratske reakcije bi se mogle

nazvati nuspojave posredovane imunološkim sustavom koje se dalje mogu klasificirati kao IgE-posredovane, citototoksične, posredovane imunološkim kompleksom i slično (Tablica 2) [6,7].

Tablica 2. Nuspojave posredovane imunološkim sustavom

Vrsta	Značajke	Primjer
IgE-posredovane	• anafilaktičke reakcije: hipotenzija	• pencilinom uzrokovana anafilaksija
Posredovane imunološkim kompleksom	• alergijske reakcije: vrućica, osipi na koži	• serumska bolest
T-stanicama posredovane	• alergijske reakcije na koži	• abakavirom inducirana hipersenzitivnost
Fas/Fas ligandom posredovane	• toksična epidermalna nekroliza	• Stevens–Johnsonov sindrom
Nepoznati uzrok	• artritis, lezije na koži	• autoimuni sindrom uzrokovan lijekovima

1.2.2. Kliničke manifestacije idiosinkratskih reakcija

Idiosinkratske reakcije mogu zahvatiti sve organske sustave, ali koža, jetra i koštana srž su najčešće zahvaćene. Primjer su hidralazinom induciran lupus, prokainamidom induciran sindrom hipersenzitivnosti, klozapinom inducirana agranulocitoza, nevirapinom induciran osip na koži, penicilaminom inducirani autoimuni sindrom i mnogi drugi. Iako se kliničke manifestacije idiosinkratskih reakcija značajno razlikuju, zajednička karakteristika im je odgođeni nastanak, posebice nakon prve primjene lijeka. To je jedna od glavnih značajki reakcija posredovanih imunološkim sustavom – potrebno je nekoliko dana, tjedana ili čak mjeseci da imunološke stanice proliferiraju u dovoljnoj količini te diferenciraju u patogene klonove. Glavna karakteristika stečene imunosti je stvaranje T ili B limfocita prilikom prvog izlaganja što dovodi do bržeg odgovora imunološkog sustava nakon ponovne antigene

stimulacije. Istraživanja idiosinkratskih reakcija pokazuju da one brzo nastupaju prilikom ponovnog uzimanja lijekova povezanih s idiosinkratskim reakcijama što podupire pretpostavku da je mehanizam nastanka povezan s imunološkim sustavom [8,9].

1.2.3. Rizični faktori

Kao rezultat epidemioloških studija pretpostavljeni rizični faktori za nastanak idiosinkratskih reakcija su spol, starost, stadij bolesti i genetske predispozicije. Starija populacija ima veći rizik od razvitka idiosinkratskih reakcija posebice zbog polipragmazije i veće vjerojatnosti od nastanka lijek – lijek interakcija. Također, uslijed promjene fizioloških funkcija sa starenjem, povećava se osjetljivost na brojne lijekove, što je posebice vidljivo kod idiosinkratskih oštećenja jetre. Osim godina, ženski spol također ima veći rizik za razvitak idiosinkratskih reakcija. Primjerice halotanom uzrokovan hepatitis ili klozapinom uzrokovana agranulocitoza češće su u žena, nego u muškaraca. Istraživanja povezanosti genetskog polimorfizma i metabolizma lijekova kao uzročnika idiosinkrazija nisu pokazala korelaciju, ali je nađeno da su pojedini fenotipovi humanog leukocitnog antigena (HLA) povezani s povećanom vjerojatnošću nastanka idiosinkratskih reakcija. Primjer za to je jaka povezanost između HLA-B*1502 i karbamazepinom uzrokovanog Stevens–Johnsonovog sindroma ili između HLA-B*5701 i abakavirom inducirane reakcije hipersenzitivnosti. Još jedan važan rizični faktor je stadij bolesti pacijenta. U prilog tome govore studije povezanosti infektivnih bolesti poput HIV infekcije ili bolesti jetre s povećanim rizikom za nastanak idiosinkrazija. Također je postavljeno općenito pravilo da lijekovi koji se primjenjuju u dozi od 50 mg dnevno ili više te koji prolaze kroz intenzivan hepatički metabolizam (više od 50%) imaju veći rizik za razvitak idiosinkratskih reakcija [10-12].

1.3. Mehanizam nastanka idiosinkratskih reakcija

O mehanizmu nastanka idiosinkratskih reakcija i dalje se vrlo malo zna. Razvijeno je nekoliko radnih hipoteza koje pokušavaju objasniti mehanizme uključene u nastanak idiosinkratskih reakcija. Kao što je ranije spomenuto, u osnovi većine idiosinkratskih reakcija nalazi se imunološki sustav, stoga je za bolje razumijevanje pretpostavljenih mehanizama potrebno razumijevanje imunološkog sustava.

1.3.1. Imunološki sustav i modeli

Imunološki sustav predstavlja dinamičan i dobro reguliran sustav koji čuva organizam od raznih patogena i njihovog potencijalno štetnog učinka. Kroz godine proučavanja imunološkog sustava razvijeni su brojni modeli koji opisuju njegovu specifičnost. 1959. godine Burnet je predložio prvi imunološki model koji čini temelj moderne imunologije. Model je nazvan SNS engl. *self-nonself*, a zasniva se na činjenici da je imunološki odgovor posredovan receptorima na površini limfocita koji specifično prepoznaju strane tvari. SNS model se zasniva na principu da prepoznavanje stranog (engl. *non-self*) određuje vrstu imunološkog odgovora [13].

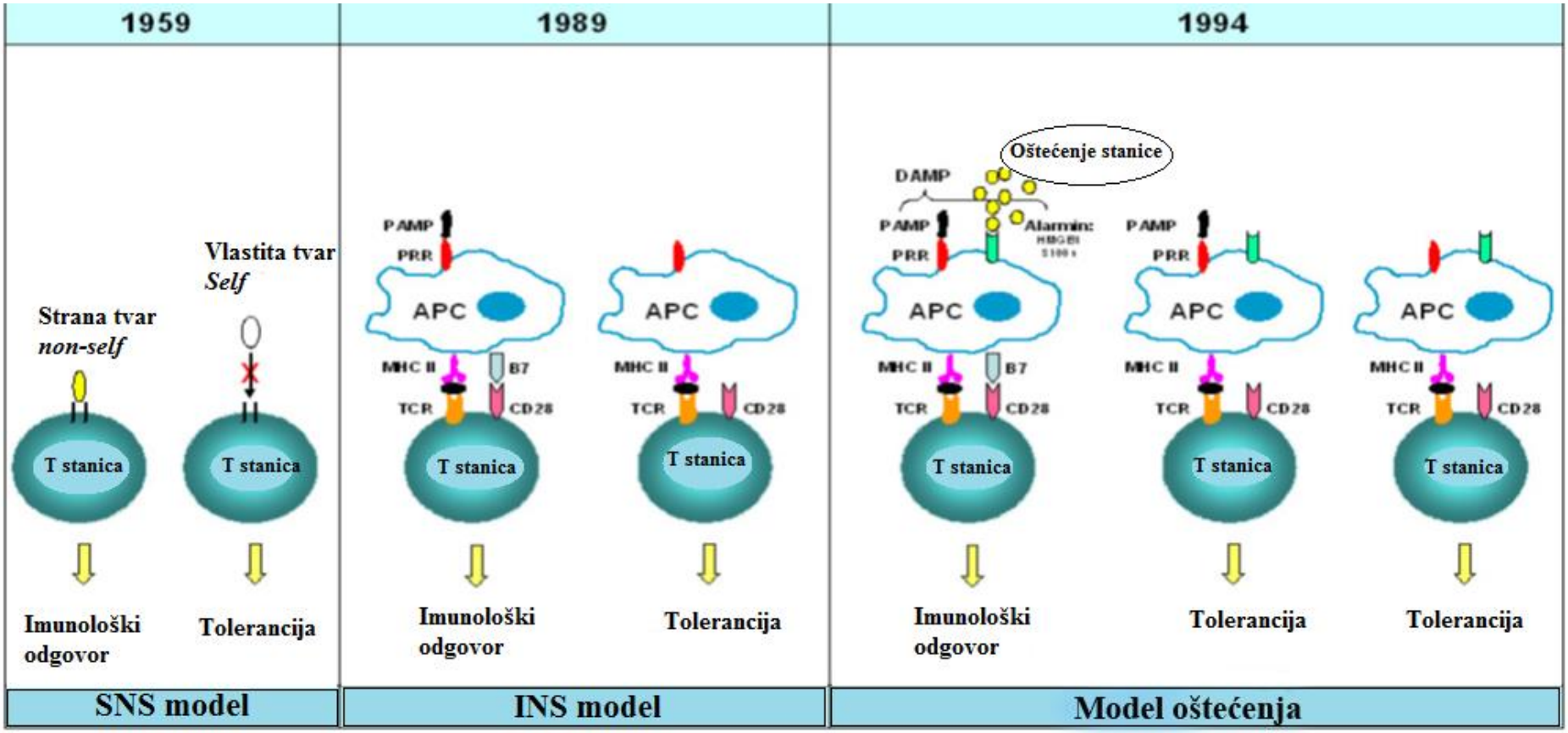
Daljna istraživanja imunološkog sustava rezultirala su saznanjem da odgovor pomočničkih T stanica ovisi o sekundarnom aktivacijskom signalu koji dolazi od antigen prezentirajućih stanica (APC, engl. *antigen presenting cells*). Iz navedenog proizlazi modificirani SNS model – Janewayov SNS engl. *infectious-nonself* model. Za aktivaciju T stanica potrebna su dva signala – signal 1 koji se sastoji od prezentiranja antigena od strane molekula glavnog histokompatibilnog kompleksa II (MHC II, engl. *major histocompatibility complex II*) na antigen prezentirajućim stanicama do receptora na T stanicama, te signal 2 koji se sastoji od kostimulatorne interakcije između B7 molekula na APC i CD28 na T stanicama. Ključni korak predloženog INS modela je prepoznavanje određenih molekularnih obrazaca na samom

patogenu (PAMP, engl. *pathogen-associated molecular pattern*) koje prepoznaju receptori (PRR, engl. *pathogen recognition receptors*) smješteni na antigen prezentirajućim stanicama [14-17].

Iako se opisani modeli razlikuju u aktivatoru imunološkog odgovora, oba se zasnivaju na prepoznavanju stranog (engl. *non-self*) i aktivaciji imunološkog sustava. Više od 50 godina ovi koncepti dominirali su imunologijom. No postavlja se pitanje da li je nužno da imunološki sustav odgovara na sve što je strano, odnosno kako imunološki sustav prepoznaje razliku između promijenjenih vlastitih stanica za vrijeme primjerice trudnoće ili starenja, ako oba modela pretpostavljaju da imunološki sustav „nauči“ razliku između stranog i vlastitog vrlo rano u životu. Ovakva pitanja dovela su do daljnih istraživanja i novih modela (Slika 1).

1.3.2. Model oštećenja

1994. godine razvijen je model oštećenja (eng. *danger*) koji pretpostavlja da oštećenje stanice određuje hoće li doći do aktivacije imunološkog sustava, a ne strana tvar. Oštećenja stanice uslijed oksidacijskog stresa ili nekroze rezultiraju otpuštanjem signala opasnosti (engl. *danger)*, odnosno molekularnih obrazaca povezanih s oštećenjem stanice (DAMP, engl. *damage-associated molecular pattern*) koji aktiviraju antigen prezentirajuće stanice i dovode do povećane ekspresije kostimulatornih molekula (signal 3). Ovaj model objašnjava zašto izlaganje organizma velikom broju stranih tvari ne uzrokuje uvijek imunološki odgovor, već samo onda kada one dovode do oštećenja u stanici. Također model nudi objašnjenje kako endogene molekule mogu dovesti do imunoloških reakcija [18,19].



Slika 1. Razvoj imunoloških modela, preuzeto i prilagođeno prema Uetrecht, 2010 [24]

1.3.3. Hipoteze o mehanizmu nastanka idiosinkratskih reakcija

Trenutno su poznate tri radne hipoteze koje pokušavaju objasniti interakcije između lijeka i/ili reaktivnog metabolita i imunološkog sustava koje dovode do patogenih imunoloških reakcija: hapten hipoteza, hipoteza oštećenja i hipoteza o farmakološkim interakcijama (Slika 2). Slično modelima koji objašnjavaju nastanak imunoloških reakcija, ove hipoteze predlažu različite uzroke koji predstavljaju okidače za idiosinkratske reakcije, no sve tri su usmjerene na imunološke mehanizme. Navedene hipoteze se međusobno ne isključuju te prilikom objašnjavanja specifične idiosinkratske reakcije možemo upotrijebiti jednu ili više hipoteza [20].

1.3.3.1. Hapten hipoteza

1935. godine Landsteiner i Jacobs su predložili osnovni postulat u imunologiji prema kojem male molekule, molekularne mase manje od 1.000 Daltona, ne mogu izazvati imunološki odgovor ako nisu vezane za makromolekulu, poput proteina. Ova saznanja dovela su do postavljanja hapten hipoteze – male molekule su neimunogene, no ako se ireverzibilno vežu za protein, takav modificirani protein može izazvati imunološki odgovor. Pojam hapten označava kompleks makromolekule i male molekule koji dovodi do imunološkog odgovora. Navedena hipoteza vrlo dobro objašnjava alergijske reakcije uzrokovane penicilinom i drugim β-laktamskim antibioticima. β-laktamski prsten je reaktivan i dovodi do vezanja penicilina za proteine. Većina alergijskih reakcija uzrokovana penicilinom posredovana je IgE protutijelima na penicilinom modificirani protein. Još jedan primjer je halotanom induciran hepatitis prilikom čega dolazi do kovalentnog vezanja reaktivnog metabolita, 2-kloro-1,1,1-trifluoroetil radikala, na proteine što inducira proizvodnju protutijela na kompleks proteina i reaktivnog metabolita [21,22].

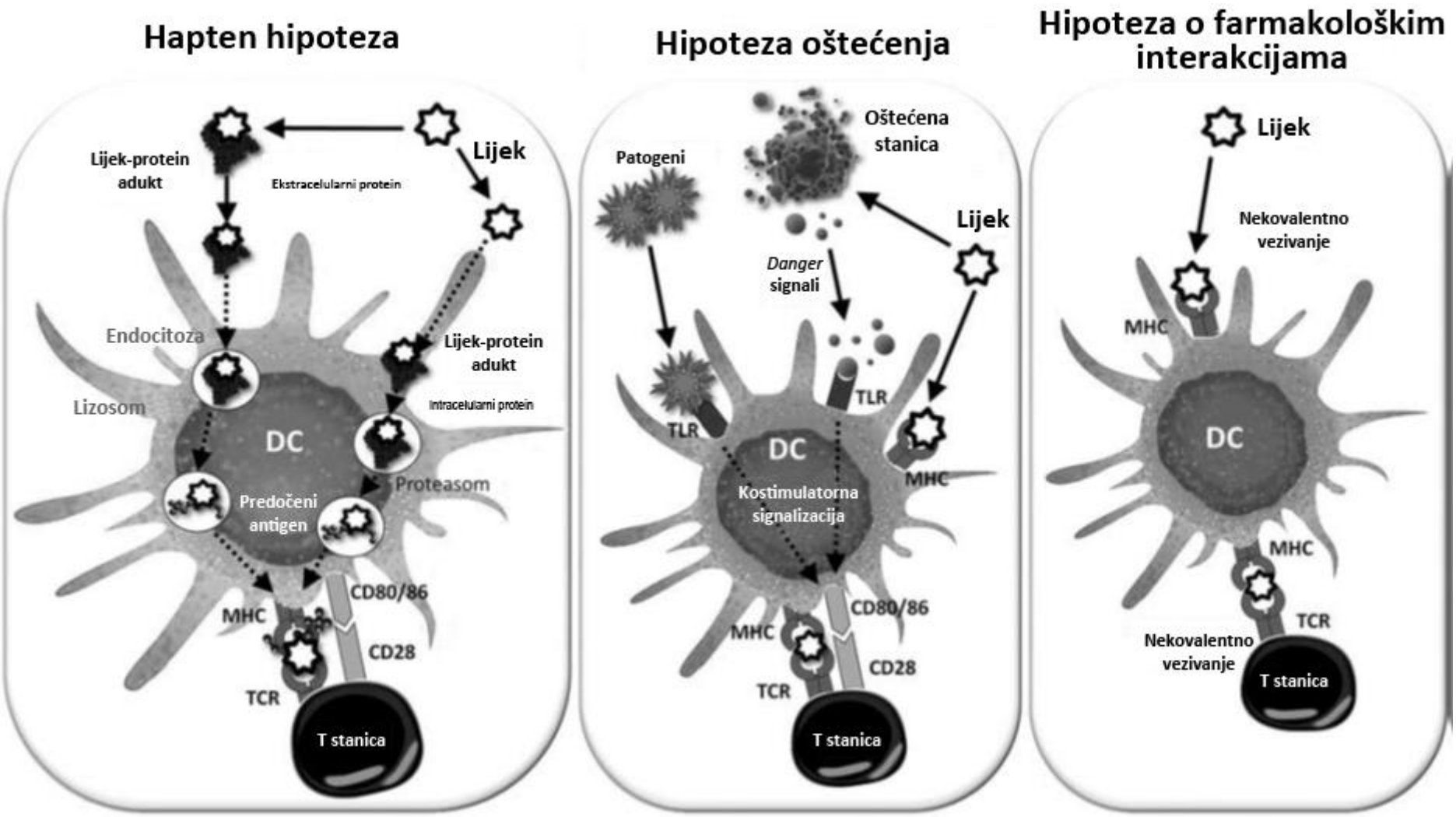
1.3.3.2. Hipoteza oštećenja

Prema imunološkom modelu oštećenja možemo zaključiti da samo vezanje lijeka i/ili reaktivnog metabolita za protein neće biti dostatno za izazivanje imunološkog odgovora. Iz ranije spomenutog slijedi da bi takav kompleks lijeka i proteina mogao izazvati imunološki odgovor ako bi u stanici izazvao oštećenja i/ili oksidacijski stres. Također hipoteza oštećenja pretpostavlja da i druge molekule koje djeluju kao signali opasnosti vezanjem na određene receptore na stanicama prirođenog imunološkog sustava poput makrofaga, mogu izazvati imunološku reakciju. Ova hipoteza dobro objašnjava zašto mnogi lijekovi, koji stvaraju reaktivne metabolite i kovalentno se vežu za proteine, nisu povezani sa značajnijom incidencijom idiosinkratskih reakcija. Lijek ili reaktivni metabolit dovode do oštećenja stanice prilikom čega dolazi do stvaranja signala opasnosti koji aktivira antigen prezentirajuće stanice i dovodi do kostimulatorne signalizacije. Istraživanja su pokazala da hidrofobne biološke molekule djeluju kao signali opasnosti. Naime hidrofobni dijelovi bioloških molekula u vodenom biološkom mediju spontano agregiraju, a ako su izložene hidrofobnom okruženju, izazivaju oštećenje stanice.

Iz svega nevedenog proizlazi pitanje mora li signal opasnosti doći isključivo od lijeka, odnosno reaktivnog metabolita, ili i druge ozljede tkiva poput infekcija, kirurškog zahvata ili drugih upalnih procesa mogu djelovati kao rizični faktor za nastanak idiosinkratskih reakcija? Odgovor na navedeno pitanje možemo dobiti identifikacijom potencijalnih signala opasnosti koji se otpuštaju iz oštećenih stanica/ tkiva te istraživanjem korelacije između signala opasnosti i indukcije idiosinkratskih reakcija [23-25].

1.3.3.3. Hipoteza o famakološkim interakcijama

U svojim istraživanjima Pichler (2002.) je zaključio da klonovi T limfocita, od pacijenata koji u anamnezi imaju idiosinkratsku reakciju na sulfametoksazol ili lidokain, proliferiraju u odsutnosti metabolizma lijeka. Pretpostavio je da se nereaktivni lijekovi reverzibilno vežu za MHC II kompleks na T limfocitima, poput superantigena, te da takva interakcija može stimulirati imunološki sustav što dovodi do idiosinkratske reakcije. Ova saznanja nazivamo hipotezom o farmakološkim interakcijama. Rezultati istraživanja su pomalo iznenađujući, jer sulfametoksazol je aromatski amin te prema tome svaki lijek koji sadrži aromatski amin u strukturi te se primjenjuje u dozi većoj od 100 mg/dan, je povezan s relativno visokom incidencijom idiosinkratskih reakcija neovisno o terapijskoj skupini ili ostatku strukture lijeka. Vjerojatno je navedeno rezultat biotransformacije aromatskih amina u reaktivne metabolite [26].



Slika 2. Shematski prikazi pretpostavljenih mehanizama nastanka idiosinkratskih reakcija, preuzeto i prilagođeno prema Shenton i sur., 2005 [29]

1.4. Animalni modeli za istraživanje idiosinkratskih reakcija

S obzirom na nepredvidivu prirodu idiosinkratskih reakcija, gotovo je nemoguće provoditi prospektivne studije na ljudima s ciljem istraživanja mehanizma nastanka idiosinkratskih reakcija. Nadalje, s obzirom na pretpostavku da je imunološki sustav uključen u gotovo sve idiosinkratske reakcije, bilo bi naivno vjerovati da je moguće oponašati kompleksnost i specifičnost imunološkog sustava u *in vitro* uvjetima. Kako u većini biomedicinskih istraživanja, tako i u istraživanju idiosinkratskih reakcija, animalni modeli predstavljaju vrlo vrijedan izvor. Nažalost malo je dobrih animalnih modela koji mogu pomoći u testiranju hipoteza o mehanizmu idiosinkratskih reakcije. Razlog tomu je nemogućnost provođenja eksperimenta na pojedinim vrstama zbog vrlo male incidencije idiosinkratskih reakcija, ali i zbog činjenice da se pojedine reakcije ne događaju u životinja ili se ne mogu ekstrapolirati na ljudski rod. Trenutno najbolji animalni modeli su BN štakori (engl. *brown Norway rats*) za ispitivanje autoimunosti uzrokovane penicilinom te nevirapinom uzrokovanog kožnog osipa jer su klinički simptomi dobiveni na štakorima najsličniji onima u ljudi [28,29].

1.5. Reaktivni metaboliti i idiosinkratske reakcije

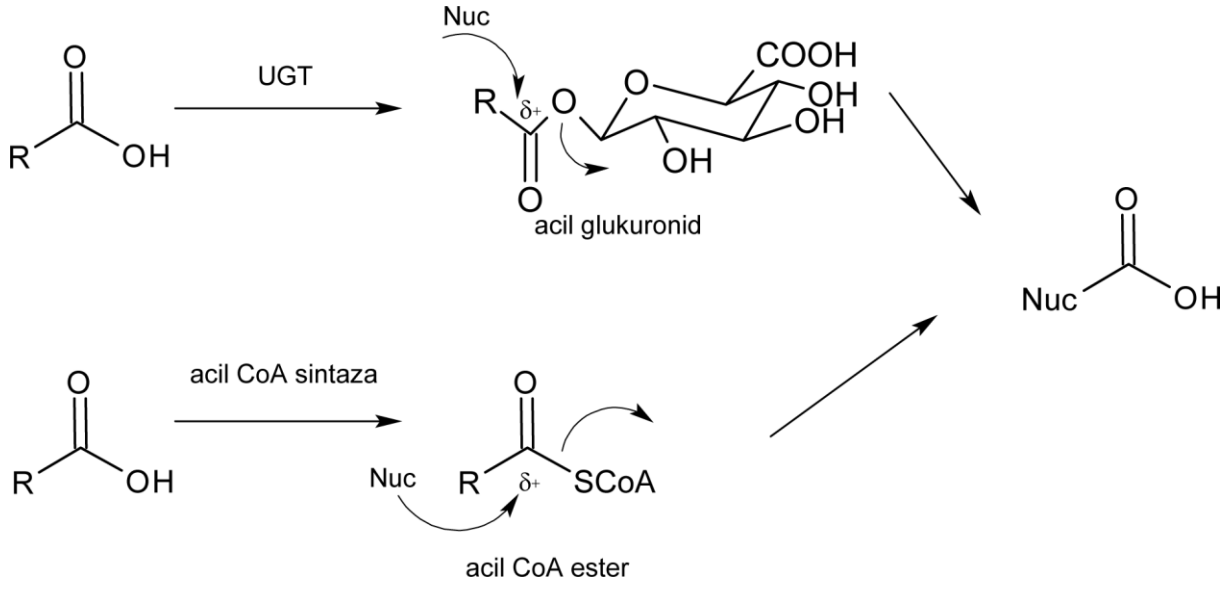
Za organizam je neophodno da ima enzime koji prevode lipofilne molekule u oblik koji omogućava lakše izlučivanje kao i za prevođenje toksičnih molekula u manje toksične. No taj proces nije savršen i gotovo svaki enzim može dovesti do biotransformacije molekule u kemijski reaktivne spojeve koji mogu biti toksični. Reaktivni metaboliti mogu stupiti u interakcije s DNA, proteinima i drugim biološkim molekulama te uzrokovati mutacije, karcinogenezu, kongenitalne deformacije i druge vrste toksičnosti. Stoga je nužno poznavanje metaboličkih puteva koji dovode do stvaranja reaktivnih metabolita, kao i mogućnost predviđanja kada će određeni metabolit biti kemijski reaktivan. Većina nuspojava na lijekove, posebice one idiosinkratske, povezane su s reaktivnim metabolitima. Reaktivni metaboliti se mogu podijeliti na elektrofile i radikale. Metaboličke reakcije koje dovode do nastanka reaktivnih metabolita uključuju oksidacije katalizirane citokrom P450 (CYP) enzimima, peroksidazama, monoaminooksidazama (MAO), zatim redukcije – CYP, reduktaze te konjugacije – glukuronil transferaze, sulfotransferaze, glutation transferaze, acil Co-A sintaze [30].

1.5.1. Elektrofili

Elektrofili su elektron-akceptori, odnosno molekule koje mogu primiti elektronski par od nukleofila, odnosno elektron-donora. Ovisno o strukturnim karakteristika molekule iz koje nastaju reakcijama biotransformacije, mogu se podijeliti na acilatore, aktivirane dvostruke veze (kinoni, kinonimini i kinon metidi) te elektrofile koji sadrže dušik ili sumpor. Biotransformacija pojedine funkcionalne skupine može stvoriti više vrsta elektrofila.

1.5.1.1. Acilatori

Acilatori su elektrofili koji nastaju vezanjem bioloških nukleofila za *sp2* hibridizirani atom ugljika koji je uglavnom dvostrukom vezom povezan s kisikom. Primjer funkcionalnih skupina koje mogu stvoriti acil elektrofile su karboksilne kiseline, acetileni, halogenirani ugljikovodici te tiazolidindioni. Karboksilne kiseline djeluju kao acilatori putem glukuronidacije ili stvaranjem acil CoA estera (Slika 3).



Slika 3. Nastanak acilirajućeg metabolita konjugacijom karboksilne kiseline

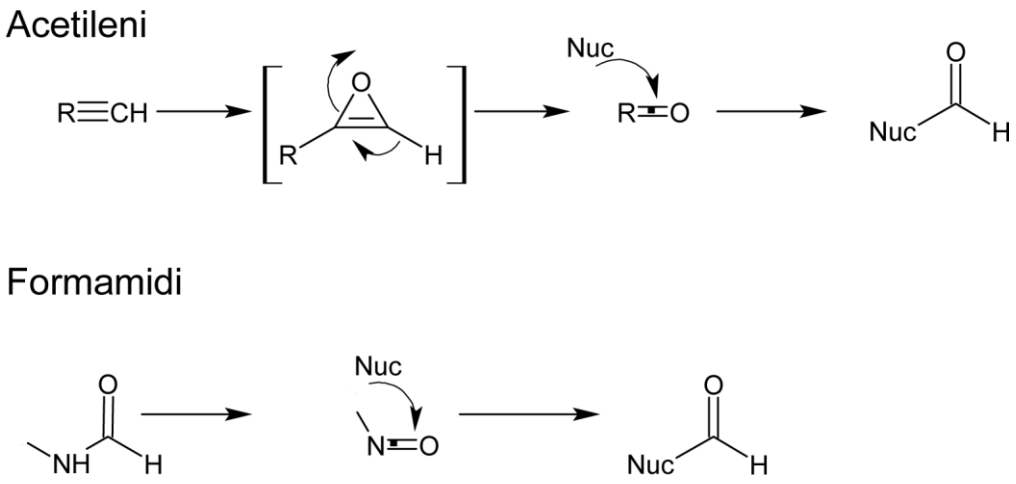
Acil glukuronidi su jedni od najistraživanijih reaktivnih metabolita s obzirom na činjenicu da većina lijekova koji se nalaze na tržištu sadrži karboksilnu kiselinu u strukturi koja se metabolizira glukuronidacijom. Od 1974. godine do 1993. godine s tržišta je povučeno 29 lijekova zbog sigurnosnih razloga, 12 od tih lijekova metaboliziralo se u acil glukuronide (Tablica 3). Točan mehanizam toksičnosti nije poznat.

Tablica 3. Lijekovi povučeni s tržišta zbog sigurnosnih razloga

Lijek	Toksičnost	Potvrđena idiosinkrazija
Alklofenak	• kožni osipi	• da
Benozaprofen	• hepatotoksičnost	• upitno
Fenklofinak	• kožni osipi	• nekoliko izvještaja
Grepafloksacin	• produljenje QT intervala	• ne
Ibufenak	• meningitis, pulmonarna toksičnost	• nekoliko izvještaja
Indoprofen	• aplastična anemija	• nekoliko izvještaja
Pirprofen	• hepatotoksičnost	• ne
Suprofen	• renalna toksičnost	• nekoliko izvještaja
Trovafloksacin	• hepatotoksičnost	• nekoliko izvještaja
Temafloksacin	• anafilaksija	• da
Tikrinafen	• hepatotoksičnost	• da
Zomepirak	• pulmonarna toksičnost	• da

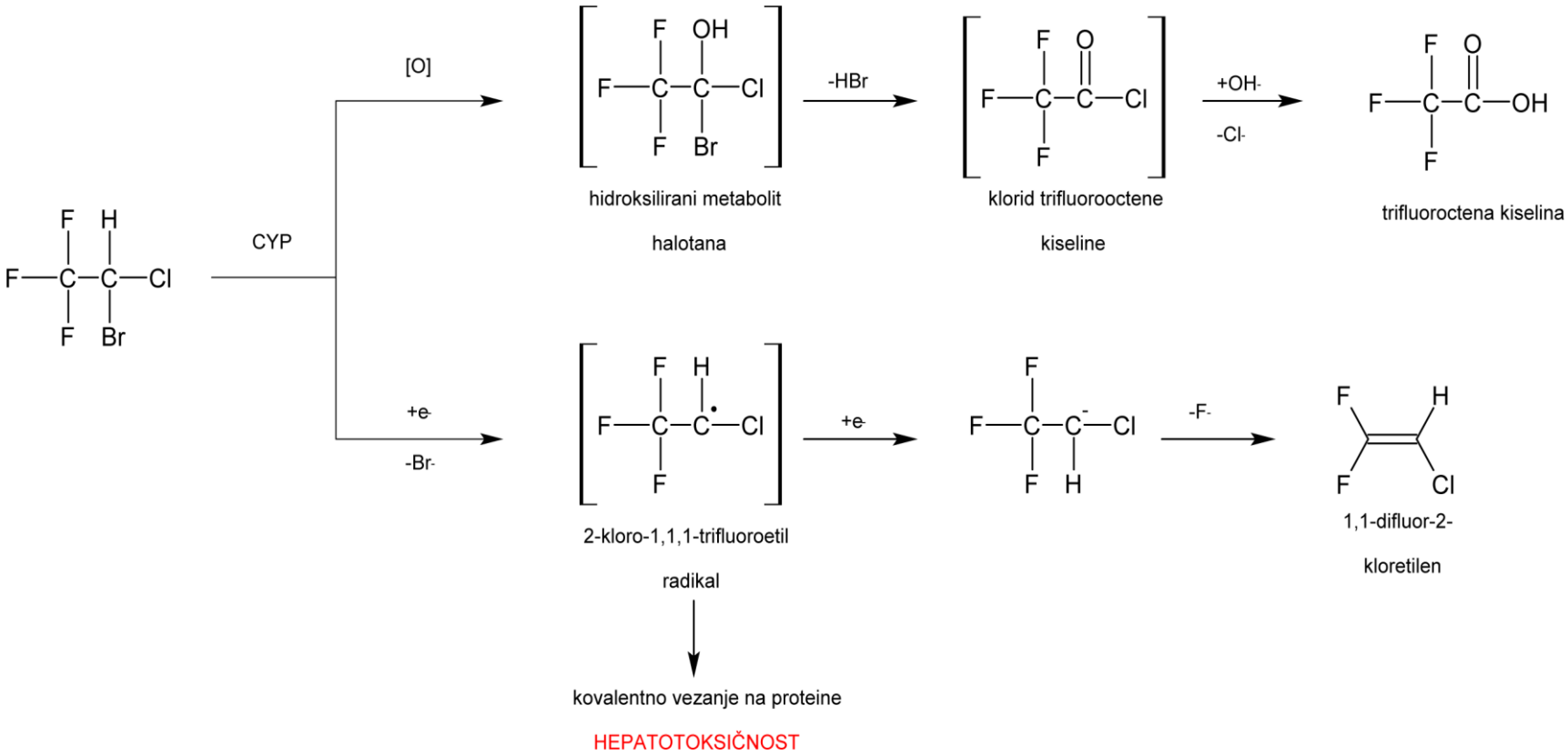
Nadalje, acil glukuronidi podliježu intramolekularnom preslagivanju pri čemu dolazi do stvaranja aldehida koji se mogu vezati za proteine.

Oksidacijom acetilena CYP enzimima dolazi do stvaranja ketena koji također djeluju kao acilirajući agens. S druge strane oksidacijom formamida dolazi do stvaranja izocijanata koji djeluju kao acilatori (Slika 4). Vrlo su rijetki lijekovi koji imaju navedene funkcionalne skupine u strukturi [31].



Slika 4. Oksidacija acetilena i formamida

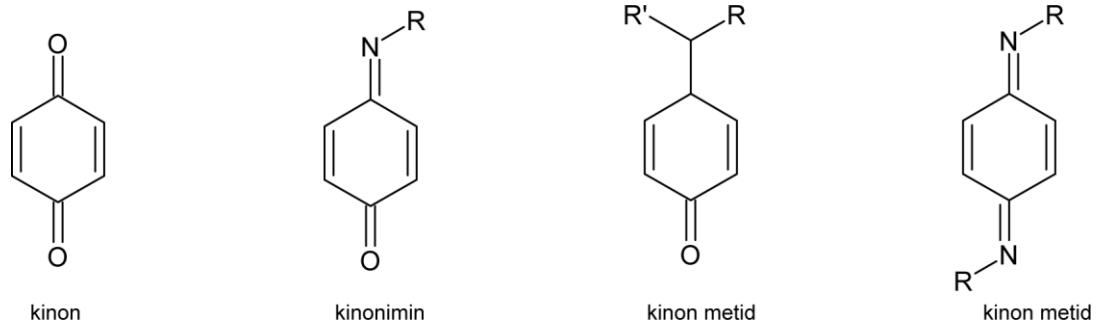
Primjena općih anestetika halotana, enflurana, metoksiflurana i drugih povezana je s rijetkom pojavom hepatitisa i nefrotoksičnih reakcija. Navedeni anestetici su halogenirani ugljikovodici koji se uglavnom metaboliziraju enzimom CYP2E1. Otpuštanjem iona fluora te povišenjem aktivnosti enzima CYP2E1 dolazi do nefrotoksičnih reakcija. Reakcije biotransformacije halotana prikazane su na slici 5 [32].



Slika 5. Biotransformacija i toksični učinci halotana, preuzeto i prilagođeno prema Rendić i Medić-Šarić, 2013 [32]

1.5.1.2. Kinoni i srodne strukture

Među najvažnije vrste elektrofila koji su povezani s toksičnim učincima lijekova spadaju strukture kinonskog tipa – kinoni, kinonimini i kinonmetidi (Slika 6). Mogu nastati oksidacijom iz aromatskih struktura u kojima su hidroksilne skupine u *orto* ili u *para* položaju. Kinonimini nastaju kada je jedna hidroksilna skupina zamijenjena amino, a kinonmetidi kada je zamijenjena metilenskom skupinom. Čak i ako ishodna aromatska molekula nema takav položaj hidroksilnih skupina, oksidacija aromatskog prstena je česta reakcija biotransformacije koja rezultira uvođenjem hidroksilne skupine u *para* položaj postojećoj hidroksilnoj, amino ili metilenskoj skupini [33].



Slika 6. Strukture reaktivnih oblika kinonskog tipa

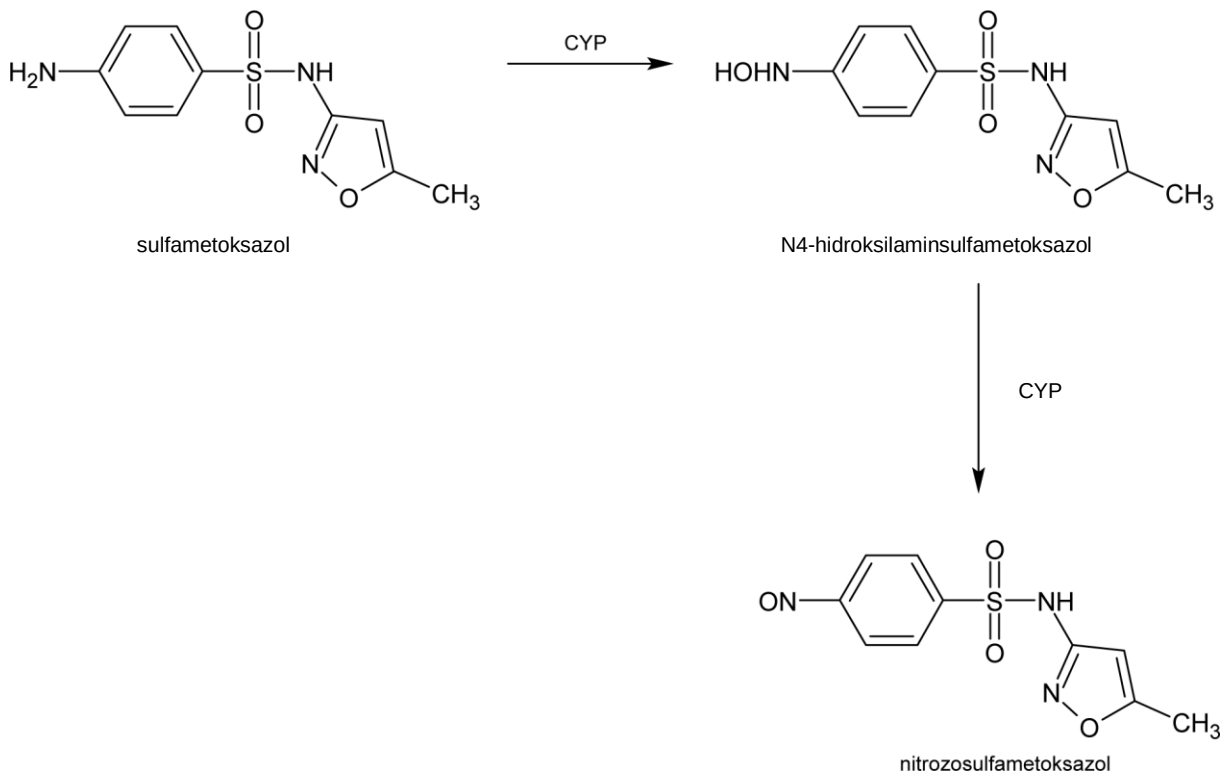
1.5.1.3. Epoksidi i aren oksidi

Strukture epoksida ne nalazimo često u lijekovima, ali poznata je njihova hepatotoksičnost. Primjer za to je toksičnost mikotoksina poput aflatoksina čijim metabolizmom dolazi do stvaranja epoksida koji izaziva hepatotoksičnost. S druge strane, aren oksidi su česti metaboliti oksidacije aromatskog prstena koji je vrlo zastupljen u lijekovima. Karbamazepin je antikonvulziv koji može uzrokovati po život opasne reakcije preosjetljivosti. Biotransformacija karbamazepina je vrlo kompleksna, no istraživanja su pokazala da je za njegovu toksičnost odgovorno stvaranje metabolita - aren oksida, epoksida te kinonimina.

Kao dodatna terapija u liječenju epilepsije često se koristi lamotrigin koji pokazuje rijetku, vrlo opasnu reakciju na koži – Stevens-Johnsonov sindrom. Istraživanja na štakorima pokazuju da je u pozadini navedene idiosinkratske reakcije stvaranje aren oksida te se pretpostavlja da je isti razlog pojave reakcije i na ljudima [34].

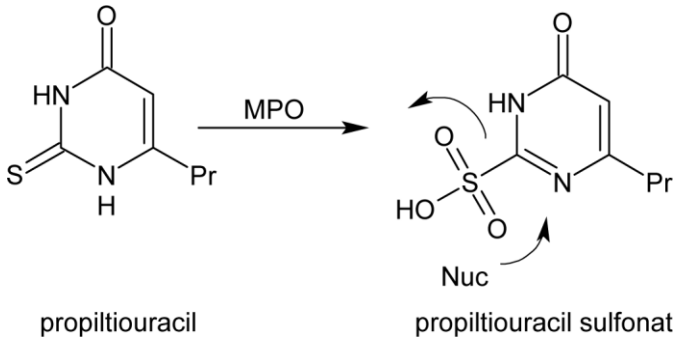
1.5.1.4. Elektrofili koji sadrže dušik ili sumpor

Funkcionalne skupine koje mogu generirati ovakve vrste elektrofila uključuju aromatske spojeve s nitro skupinom, aromatske amine i hidroksilamine, tiouree te tiazolidindione. Nitroaromatski spojevi se uglavnom reduciraju djelovanjem citokrom P450 enzima te nastaju amini. Nitro skupina je odgovorna za nastanak toksičnosti. Primjer takvih lijekova su kloramfenikol koji je povezan s aplastičnom anemijom te dantrolen koji je povezan s idiosinkratskom hepatotoksičnosti. Aromatski amini se najčešće oksidiraju do hidroksilamina i nitrozo derivata djelovanjem citokrom P450 enzima te mijeloperoksidazom do *N*- kloro derivata, također reaktivnih metabolita. Jedan od najbolje istraživanih lijekova iz ove skupine spojeva je sulfametoksazol. Sulfametoksazol je povezan s brojnim idiosinkratskim reakcijama koje izazivaju vrućice, osipe i slično, a javljaju se u 2-3% populacije. Nastali hidroksilamin i nitrozo derivat stupaju u rekaciju s biološkim nukleofilima (sulfhidrilnim skupinama) i aktiviraju limfocite i započinju imunološki odgovor (Slika 7) [35].



Slika 7. Biotransformacija sulfametoksazola do nitrozo spoja

Lijekovi koji u strukturi sadrže tiouree često pokazuju pulmonarnu toksičnost te hepatotoksičnost, a u nastanak reaktivnih metabolita uključeni su citokrom P450 enzimi te flavin-monooksigenaze (FMO). Tireostatik tiouracil povezan je s pojavom idiosinkratske agranulocitoze. U aktiviranim neutrofilima djelovanjem mijeloperoksidaze dolazi do oksidacije sumpora preko reaktivnih metabolita do sulfonata koji je također kemijski vrlo reaktivan te se veže za za sulfhidrilne skupine makromolekula. Uzrokuje desenzitizaciju T-stanica i posljedičnu agranulocitozu (Slika 8) [36].



Slika 8. Oksidacija sumpora propiltiouracila u sulfonat

1.5.2. Slobodni radikali

Slobodni radikali su spojevi kojim imaju jedan ili više nesparenih elektrona. Kemijski su vrlo reaktivni spojevi, posebice ako se u strukturi nalaze atomi drugog reda periodnog sustava poput dušika, kisika ili ugljika. Slobodni radikali ne mogu stvarati kovalentne veze s nukleofilima ili spojevima koji posjeduju dva elektrona. Mogu stupati u reakcije s drugim radikalima, zatim oduzimanjem vodikova atoma neutralnoj molekuli mogu generirati novi radikal ili mogu oduzeti elektron i generirati radikalni kation. Točan mehanizam kako slobodni radikali uzrokuju idiosinkratske reakcije nije u potpunosti razjašnjen. Najčešće reakcije s biološkim sustavima uključuju: 1) stvaranje kovalentnih adukata s biološkim molekulama što dovodi do stvaranja novog radikala, 2) reakcija s drugom specijom koja ima nesparen elektronski par, poput molekularnog kisika prilikom čega nastaju reaktivni kisikovi spojevi koji uzrokuju oksidativan stres. Pojedini metaboliti, najčešće hidroksilamini te metaboliti kinonskog tipa, mogu podlijeći oksido-redukcijskom ciklusu i generirati reaktivne kisikove spojeve, posebice superoksidni anion [37].

2. CILJ ISTRAŽIVANJA

Nuspojave lijekova predstavljaju veliki zdravstveni problem. Nedavne studije u Velikoj Britaniji pokazuju da više od 6% hospitalizacija pacijenta potječu od nuspojava na lijekove. Slične podatke nalazimo u Sjedinjenim Američkim Državama gdje su nuspojave na lijekove četvrti glavni uzročnik smrtnosti. U Hrvatskoj je u 2015. godini prijavljeno preko 9.000 nuspojava na lijekove, a 28,4% čine ozbiljne nuspojave. Nuspojave na lijekove povećavaju cijenu i trajanje razvoja lijekova, kao i samu nesigurnost u razvoju lijekova. Prije desetak godina glavni razlog otpadanja lijeka kandidata tijekom razvoja bila je nezadovoljavajuća farmakokinetika ili metabolizam, a danas su to smanjena učinkovitost i povećana toksičnost. Od 1975. do 2000. godine više od 10% lijekova odobrenih od strane FDA dobilo je upozorenje „*black box*“ ili je povučeno s tržišta zbog neočekivanih nuspojava. I dok su mehanizmi nastanka nuspojava tipa A, odnosno nuspojava ovisnih o dozi, poput gastrointestinalnog krvarenja uslijed primjene nesteroidnih protuupalnih lijekova, dobro poznati, velika nepoznanica ostaju nuspojave tipa B, odnosno idiosinkratske reakcije upravo zbog svoje nepredvidivosti te visoke smrtnosti. Nerazumijevanje mehanizma nastanka većine idiosinkratskih reakcija onemogućava predviđanje mogućih idiosinkratskih reakcija lijeka kandidata, kao i predviđanje rizičnih faktora za razvoj istih. Dodatni problem su i ograničeni animalni modeli na kojima bi se mogle provoditi studije mehanizma upravo zbog njihove nepredividivosti, kao i zbog uključivanja imunološkog sustava u većinu idiosinkratskih reakcija.

Cilj ovog specijalističkog rada je dati prikaz pretpostavljenih mehanizama nastanka idiosinkratskih reakcija i utjecaja biotransformacije lijekova, odnosno stvaranja reaktivnih metabolita na nastanak istih te opis strategija za procjenu potencijala lijekova kandidata da izazovu idiosinkratske reakcije.

3. MATERIJALI I METODE

Za literaturni pregled korištena je PUBMED citatna baza (*http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed*). Ključne riječi prema kojima je provedeno pretraživanje bile su naziv lijeka + idiosinkratska reakcija, s posebnim naglaskom na radove u posljednjih pet godina. U pregled su uključeni sljedeći lijekovi: abciksimab, eptifibatid, felbamat, fenitoin, flukloksacilin, halotan, heparin, hidralazin, izoniazid, karbamazepin/ okskarbazepin, kloramfenikol, ksimelagatran, naproksen, nevirapin, olanzapin/ klozapin, paracetamol, prokainamid, sulfametoksazol, tiklopidin/ klopidogrel, tirofiban, troglitazon/ pioglitazon/ roziglitazon i valproična kiselina.

4. RASPRAVA

4.1. Biotransformacija lijekova i idiosinkratske reakcije

Većina idiosinkratskih reakcija nastaje uslijed biotransformacije lijeka u reaktivne metabolite koji imaju potencijal vezanja za makromolekule te izazivaju direktna oštećanja unutar stanice ili aktiviraju imunološki sustav. Kako je jetra organ u kojem se odvija biotransformacija većine lijekova, tako do većine idiosinkratskih reakcija dolazi u jetri. Osim hepatotoksičnosti, česte su reakcije na koži u obliku osipa, crvenila i svrbeža te toksične reakcije na krvotvornim organima što dovodi do agranulocitoze, različitih oblika anemija i slično. Osim metabolita, navedene reakcije mogu izazvati i izvorne molekule. Slijedi prikaz idiosinkratskih reakcija prema mjestu manifestacije toksičnosti te prikaz reakcija biotransformacija lijekova koje dovode do istih.

4.1.1. Idiosinkratske reakcije na koži

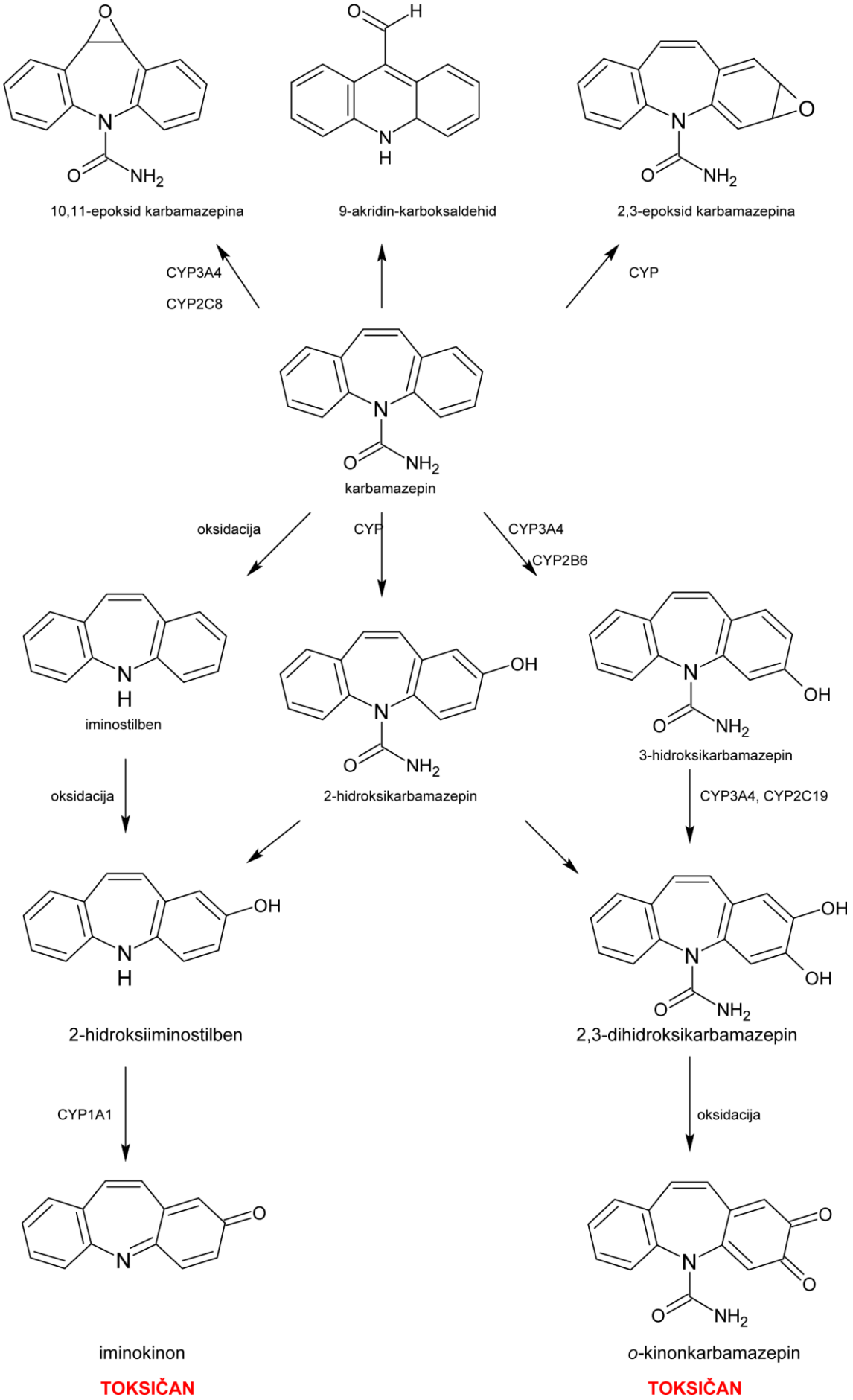
Kožne reakcije preosjetljivosti su najčešći tip idiosinkratskih reakcija te variraju od blagih urtikarija, crvenila i osipa do po život opasnih stanja poput Stevens-Johnsonovog sindroma ili toksične epidermalne nekrolize. Za razliku od hepatotoksičnosti, vrlo su brzo vidljive. Razlikuju se po histopatološkim obilježjima, a zajednička značajka im je odgođen nastanak. Uglavnom se javljaju 6 sati do 10 dana nakon prve primjene lijeka, dok se nakon ponovne primjene lijeka javljaju unutar dva sata što potvrđuju hipotezu o posredovanju imunološkog sustava u nastanku idiosinkratskih reakcija na koži [38].

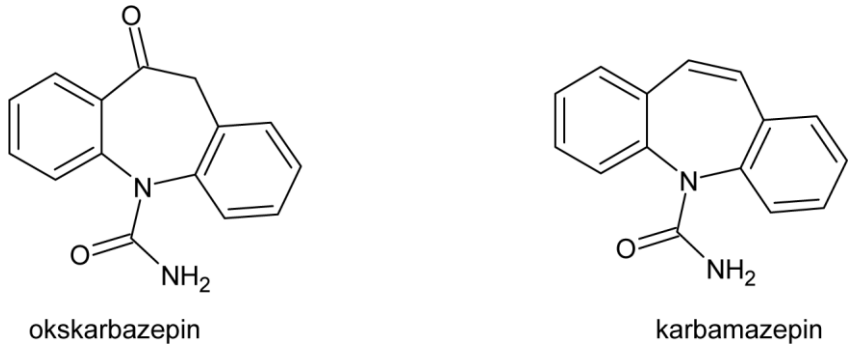
4.1.1.1. Idiosinkratske reakcije koje uzrokuju eozinofiliju i sistemske simptome (DRESS)

Idiosinkratske reakcije koje uzrokuju eozinofiliju i sistemske simptome (DRESS, engl. *drug reaction with eosinophilia and systemic symptoms*) su potencijalno opasna akutna nuspojava koja je karakterizirana vrućicom, lezijama na koži, eozinofilijom, atipičnom limfocitozom, artralgijom, limfoadenopatijom te uključuje brojne organe. Smrtnost doseže i do 10% pacijenata, uglavnom zbog zatajenja jetre. Prvi puta je opisana kod pacijenata koji su primjenjivali antikonvulzive poput fenitoina i karbamazepina.

KARBAMAZEPIN

Karbamazepin je antikonvulziv, derivat karboksamida. Biotransformacija karbamazepina igra važnu ulogu u patogenezi reakcija preosjetljivosti te posljedičnoj hepatotoksičnosti. Metabolizam je vrlo kompleksan te dolazi do nastanka nekoliko reaktivnih metabolita koji su stabilni, citotoksični te imaju sposobnost vezanja na proteine i izazivanja imunološke reakcije. Značajna reakcija biotransformacije karbamazepina je stvaranje epoksida na azepinskom prstenu na položaju C10-C11 pri čemu nastaje farmakološki aktivan 10,11-epoksid karbamazepina. Uzastopnom hidroksilacijom aromatskog prstena nastaju 2-hidroksikarbamazepin i 3-hidroksikarbamazepin koji daljnjom oksidacijom prelaze u katehole, odnosno 2,3-dihidroksikarbamazepin. Nastali kateholi mogu se dalje oksidirati u toksične kinone (*o*-kinonkarbamazepin). Oksidacijom 2-hidroksikarbamazepina nastaje 2-hidroksiiminostilben koji se može oksidirati u reaktivni iminokinon. Stvaranje reaktivnih metabolita katalizirano je uglavnom CYP3A4 enzimom. S druge strane, okskarbazepin je keto analog karbamazepina koji ne prolazi kroz intenzivan oksidacijski metabolizam te ne izaziva idiosinkratske reakcije (Slika 9) [39].

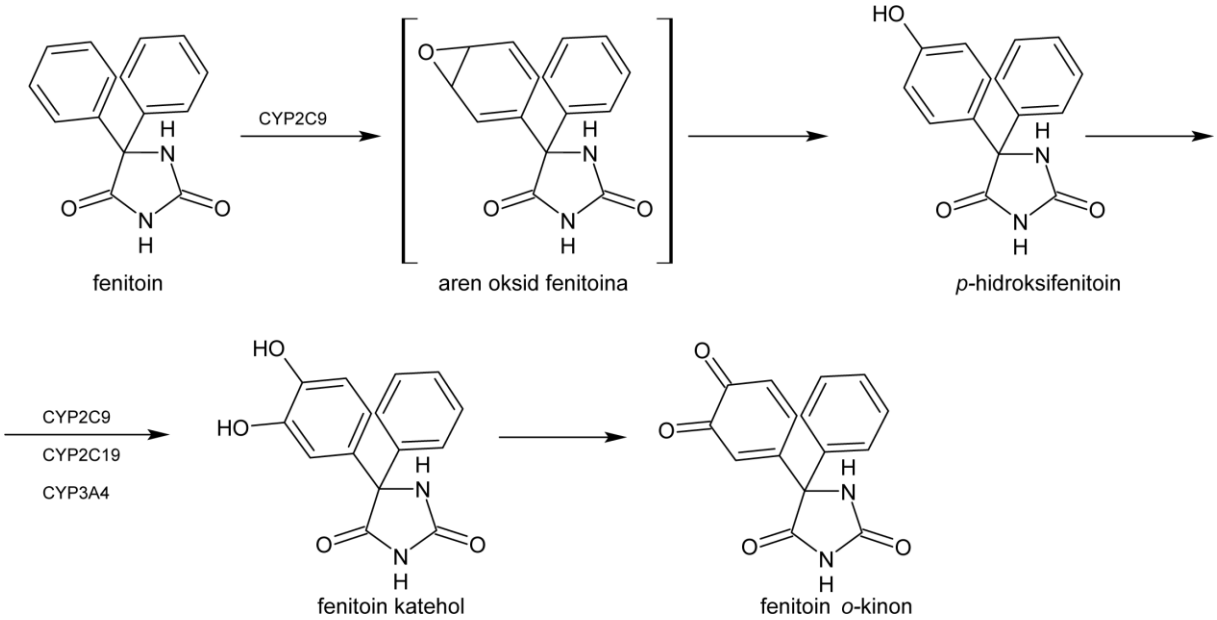

10,11-epoksid karbamazepina
9-akridin-karboksaldehid
2,3-epoksid karbamazepina
CYP3A4
CYP2C8
CYP
karbamazepin
oksidacija
CYP
CYP3A4
CYP2B6
iminostilben
2-hidroksikarbamazepin
3-hidroksikarbamazepin
oksidacija
CYP3A4, CYP2C19
2-hidroksiiminostilben
2,3-dihidroksikarbamazepin
CYP1A1
oksidacija
iminokinon
TOKSIČAN
o-kinonkarbamazepin
TOKSIČAN



Slika 9. Biotransformacija i reaktivni metaboliti karbamazepina (gore), strukturne razlike okskarbazepina i karbamazepina (dolje), preuzeto i prilagođeno prema Leeder, 1998 [39]

FENITOIN

Fenitoin je aromatski antikonvulziv i njegova je primjena povezana s pojavom DRESS-a i posljedičnom hepatotoksičnosti koja se javlja u 0,01% pacijenata. Kao i kod karbamazepina, kemijski reaktivni metaboliti nastaju biotransformacijom fenitoina djelovanjem CYP enzima. Značajna reakcija biotransformacije fenitoina uključuje *para* hidroksilaciju vjerojatno preko arenoksida i nastanak *p*-hidroksi fenitoina. Reakcija je katalizirana enzimom CYP2C9. Reaktivni aren oksid djeluje kao hapten, veže se za endogene makromolekule i uzrokuje imunološki odgovor. Nastali *p*-hidroksifenitoin daljnjom oksidacijom prelazi u katehol, odnosno toksični *o*-kinon koji se također veže za makromolekule i izaziva imunološki odgovor (Slika 10). Polimorfizam enzima CYP2C9 utječe na doziranje fenitoina, ali i na pojavnost idiosinkratskih reakcija [39].



Slika 10. Biotransformacija fenitoina i nastanak reaktivnih metabolita, preuzeto i prilagođeno prema Leeder, 1998 [39]

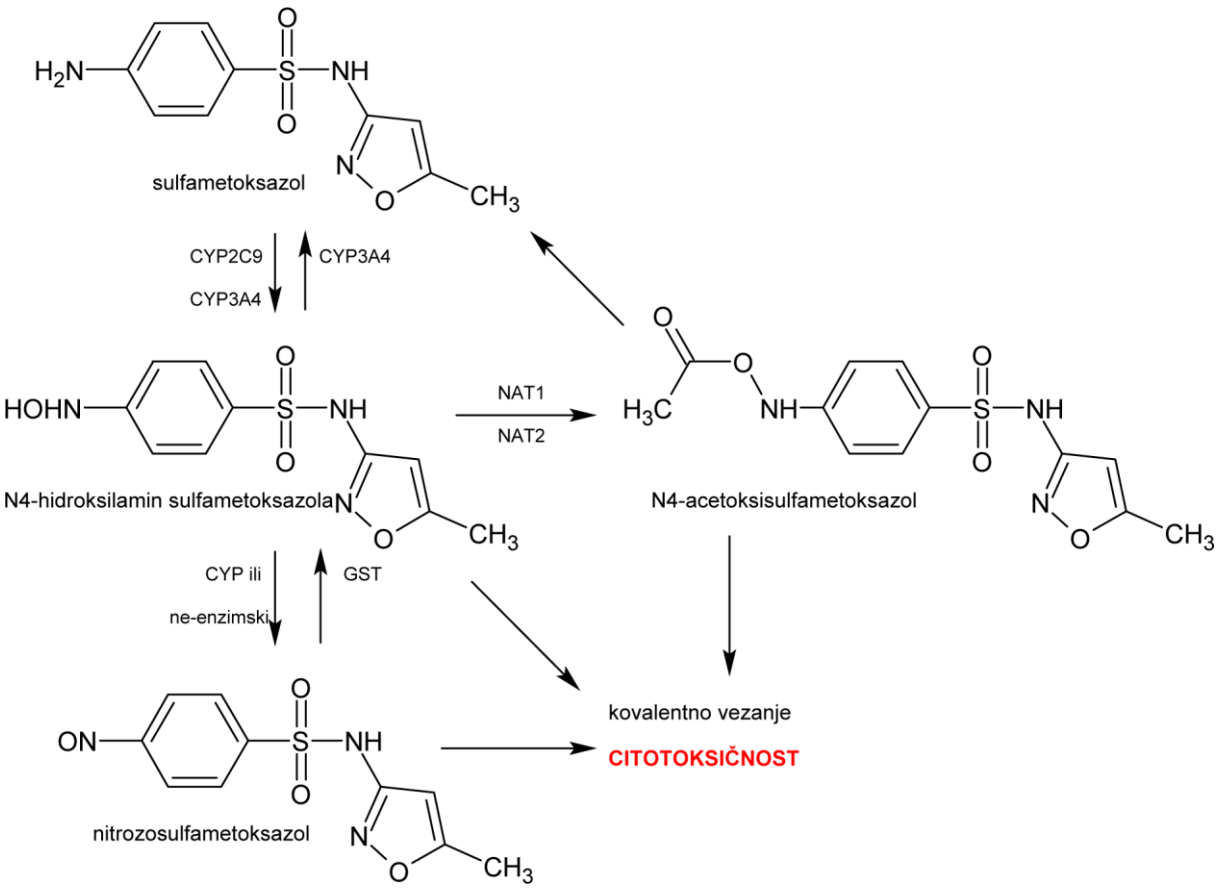
4.1.1.2. Stevens-Johnsonov sindrom i toksična epidermalna nekroliza

Toksična epidermalna nekroliza najteži je oblik idiosinkratskih reakcija na koži sa stopom mortaliteta oko 30%, dok je Stevens-Johnsonov sindrom nešto blaži oblik sa stopom mortaliteta oko 10%. Klasični simptomi su visoka tjelesna temperatura i malaksalost popraćeni bolnim osipom i crvenilom na koži. Crvenilo zahvaća mukozne membrane genitalnog područja, područja oko ustiju, a zatim se širi te može zahvatiti i oči izazivajući sljepoću. Nadalje reakcija zahvaća gastrointestinalni te respiratorni sustav u trećine pacijenata te uzrokuje povišenje jetrenih enzima što dovodi do nekroze jetre. Reakcija se javlja unutar 14 dana od prve primjene lijeka, no prilikom ponovnog izlaganja lijeku to vrijeme se skraćuje. Posredovane su imunološkim sustavom te se češće javljaju u osoba koje boluju od autoimunih ili renalnih bolesti te HIV infekcija. Do sada je zabilježeno preko 100 lijekova koji izazivaju toksičnu epidermalnu nekrolizu i Stevens–Johnsonov sindrom, a među njima su i antikonvulzivi poput lamotrigina, nesteroidni protuupalni lijekovi te sulfonamidi [40].

SULFAMETOKSAZOL

Sulfametoksazol je sulfonamidni antibiotik. Njegova primjena može biti popraćena neželjenim učincima poput reakcija preosjetljivosti, a u 0,01% pacijenata dolazi do razvitka po život opasne toksične epidermalne nekrolize. Toksični učinci sulfametoksazola posljedica su oksidacije hidroksilamina sulfametoksazola u nitrozo-derivat te acetilacije metabolita u nestabilan acetoksi-derivat sulfametoksazola. Reakcija N4-hidroksilacije sulfametoksazola, kojom nastaje hidroksilamin, katalizirana je uglavnom enzimom CYP2C9, dok reakciju acetilacije uglavnom katalizira N-acetil transferaza 1 (NAT1). Značajnu ulogu za pojavu neželjenih reakcija ima genetski polimorfizam enzima CYP2C9 te učinak inhibitora, odnosno induktora aktivnosti ovog enzima. Nastali nestabilan acetoksi-derivat sulfametoksazola može

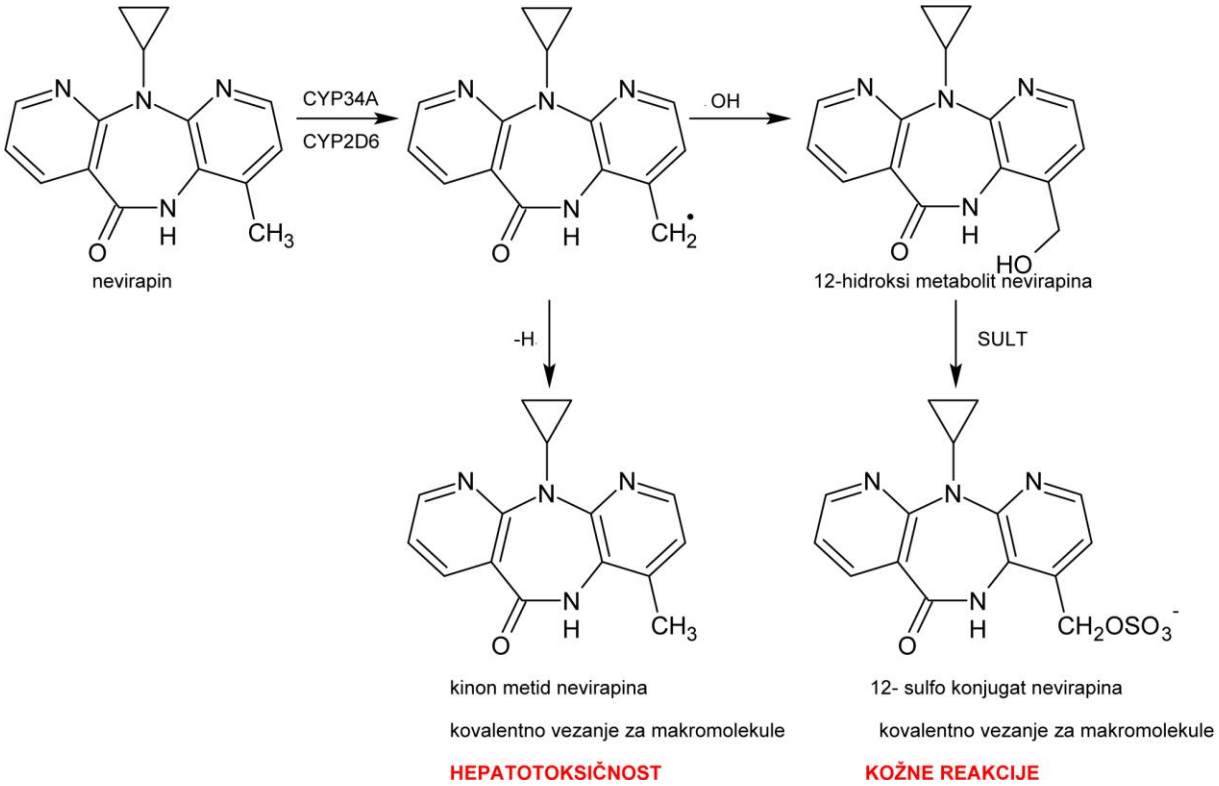
se deacilirati u reaktivni nitrenium-ion i iskazati toksične učinke ili se može deacetilirati u hidroksilamin ili direktno u sulfametoksazol (Slika 11). Stanice se od toksičnih učinaka reaktivnih metabolita brane reakcijom s glutationom i deacetilacijom reaktivnog acetoksi-metabolita. Kako se nitrozo-derivat učinkovito reducira s glutationom, smatra se da je hidroksilamin sulfametoksazola glavni uzročnik toksičnosti koji se kovalentno veže na stanične proteine s posljedičnom pojavom idiosinkratskih reakcija. Zapažena je povezanost citotoksičnih reakcija i kapaciteta acetilacije pacijenata jer je češća pojava neželjenih učinaka zapažena kod sporih acetilatora. Smanjeni kapacitet acetilacije omogućava da se veći dio lijeka uključi u reakcije oksidacije kojima mogu nastati elektrofilni, potencijalno toksični metaboliti [41,42].



Slika 11. Biotransformacija sulfametoksazola i toksični metaboliti, preuzeto i prilagođeno prema Rendić i Medić-Šarić, 2013 [32]

NEVIRAPIN

Nevirapin je nenukleozidni inhibitor reverzne transkriptaze i koristi se kod HIV infekcija. Njegova upotreba je ograničena zbog relativno visoke pojavnosti kožnih reakcija koje mogu biti i po život opasne (toksična epidermalna nekroliza i Stevens–Johnsonov sindrom) te posljedične hepatotoksičnosti. Razvijen je animalni model koji vrlo dobro opisuje nastanak kožnih reakcija povezanih s primjenom nevirapina te potvrđuje uključenost imunološkog sustava. Kako u životinja (ženski BN štakor), tako i u ljudi zapaženo je da se reakcija javlja unutar prvih šest tjedana primjene te da je češća u žena. Također uočeno je da osobe koje imaju smanjeni broj CD4+ T stanica rijeđe razvijaju kožne reakcije od onih s normalnim brojem CD4+ T stanica. Istraživanja su pokazala da toksične reakcije ne nastaju od izvornog lijeka, već od reaktivnih metabolita. Oksidacijom nevirapina djelovanjem citokrom P450 enzima (uglavnom CYP3A4) dolazi do gubitka vodikovog atoma i stvaranja reaktivnog kinon metida u jetri. Kinon metid metabolit se kovalentno veže za makromolekule u stanicama hepatocita, inaktivira citokrom P450 enzime te izaziva hepatotoksičnost. S druge strane dolazi do nastanka 12-hidroksi metabolita nevirapina koji prelazi u epidermis te djelovanjem sulfotransferaza nastaje 12-sulfo konjugat nevirapina koji se kovalentno veže za makromolekule epidermisa i izaziva kožne reakcije (Slika 12) [43,44].



Slika 12. Metabolizam nevirapina i nastanak reaktivnih metabolita, preuzeto i prilagođeno prema Chen i sur., 2008 [43]

4.1.2. Hematološke idiosinkratske reakcije

Neki lijekovi mogu dovesti do smanjenog preživljavanja ili apoptoze stanica koštane srži što dovodi do selektivne ili globalne supresije hematopoeze. Najčešće dolazi do kovalentnog vezanja reaktivnog metabolita za makromolekule koštane srži uzrokujući imunološki odgovor i posljedičnu apoptozu hematopoetskih stanica. Navedeno se manifestira kao agranulocitoza, trombocitopenija ili u najtežem slučaju, aplastična anemija. Takve reakcije mogu izazvati i citotoksični lijekovi koji se koriste u liječenju tumora [45].

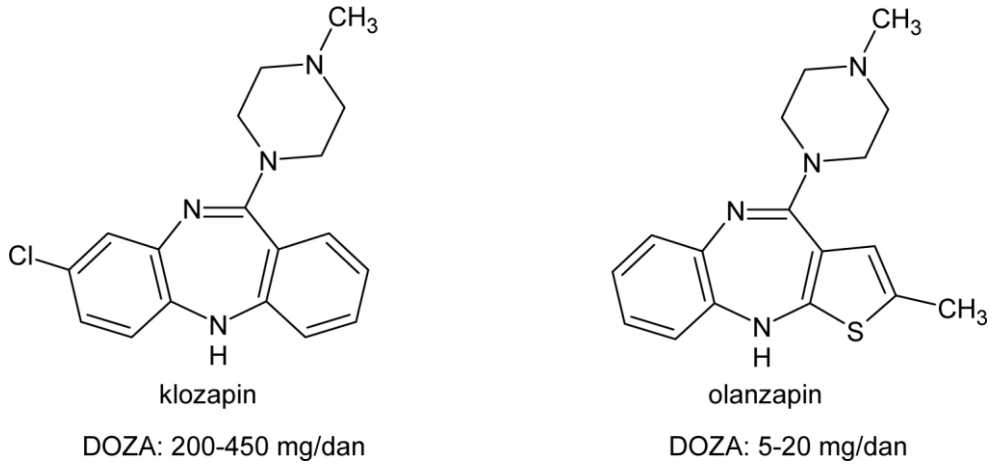
4.1.2.1. Agranulocitoza

Agranulocitoza predstavlja značajno smanjenje granulocita u perifernoj krvi, dok ukupna količina neutrofila pada ispod $0{,}5x10^9$/L. Javlja se jedan do tri mjeseca nakon prve primjene lijeka i na početku je uglavnom asimptomatska. U uznapredovaloj fazi manifestira se naglim padom količine neutrofila, bolnim grlom, povišenom tjelesnom temperaturom sa čestim razvitkom upale pluća koja može dovesti i do sepse. Agranulocitoza nastaje kao rezultat periferne destrukcije neutrofila ili destrukcije prekursora neutrofila u stanicama koštane srži. Često je rezultat primjene kemoterapeutika koji se koriste za liječnje raka jer suprimiraju hematopoezu i smanjuju razinu neutrofila. No to su predividive i o dozi ovisne reakcije. Idiosinkratska agranulocitoza može nastati zbog interferencije lijeka sa staničnim funkcijama poput mitoze ili sinteze proteina, odnosno kao rezultat imunološke reakcije prilikom čega dolazi do stvaranja protutijela na lijek koja stupaju u interakciju s neutrofilima [46].

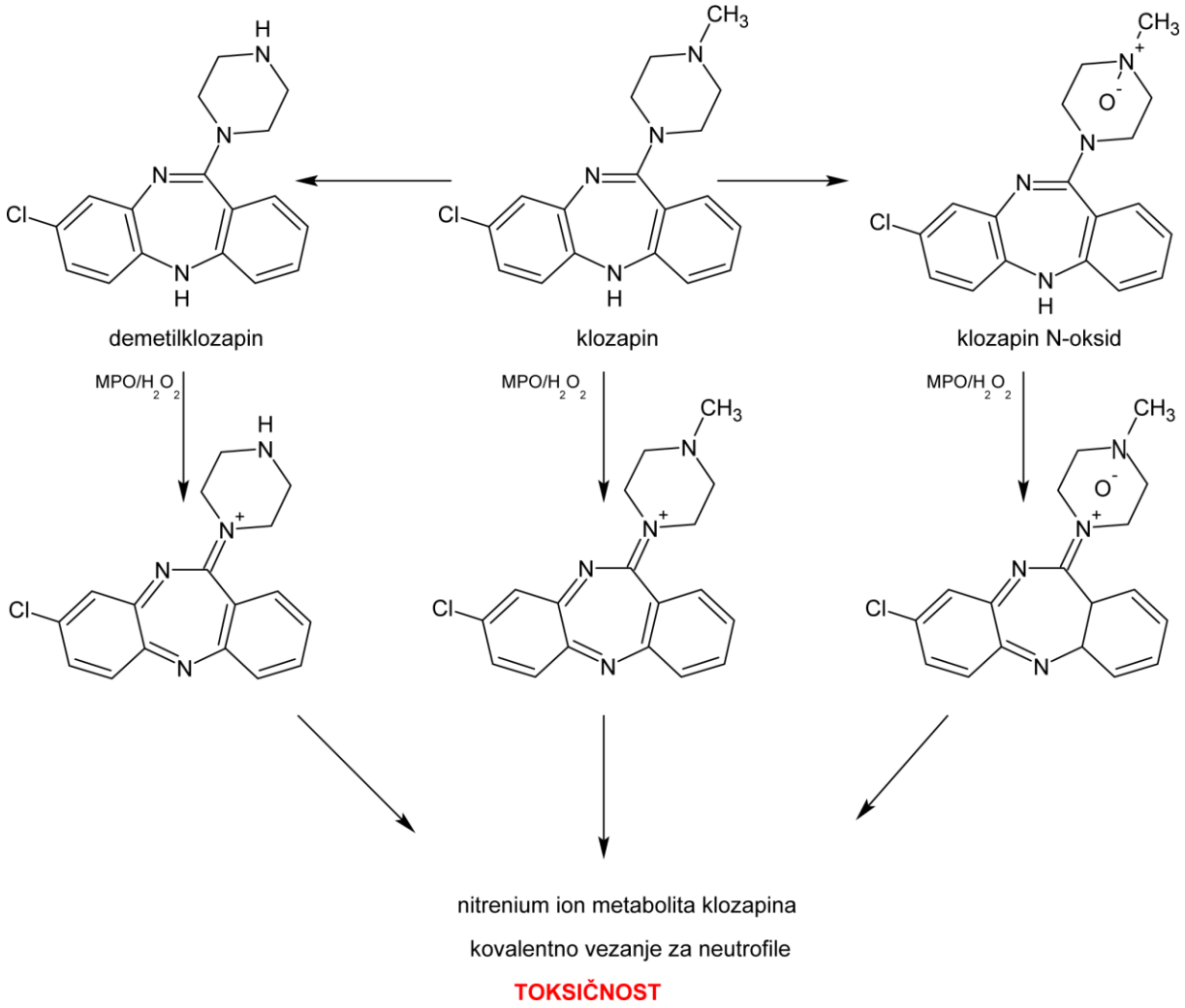
KLOZAPIN I OLANZAPIN

Klozapin je antipsihotik koji se koristi za liječenje refraktornih oblika shizofrenije. Kod 2-3% pacijenata uzrokuje idiosinkratsku agranulocitozu karakteriziranu razinama neutrofila manjim od $0{,}5x10^9$/L te povećava rizik od fatalnih infekcija sa stopom smrtnosti do 10%.

Javlja se i neutrofilija koja je povezana s imunološkim odgovorom i povećanim razinama upalnih citokina. Toksični učinci klozapina nastaju stvaranjem reaktivnih kisikovih spojeva djelovanjem NADPH oksidaze i mijeloperoksidaze u neutrofilima. Klozapin se oksidira do reaktivnog nitrenium iona koji je stabilan te reagira sa sulfihidrilnim skupinama glutationa. Takav konjugat smanjuje raspoložive količine ATP-a u neutrofilima te dovodi do njihove apoptoze. Pretpostavlja se da se nitrenium metabolit klozapina veže i za prekursore nukleofila te inducira stvaranje protutijela i njihov imunološki odgovor (Slika 14). Klozapin i olanzapin imaju vrlo sličnu strukturu te također metabolizmom olanzapina dolazi do nastanka reaktivnog nitrenium iona, no njegova primjena nije povezana s učestalom agranulocitozom ili drugim idiosinkratskim reakcijama. Smatra se da je razlika u toksičnim učincima klozapina i olanzapina rezultat primjene manje doze olanzapina, u odnosu na klozapin (Slika 13) [47].



Slika 13. Strukturne razlike i doziranje klozapina i olanzapina, preuzeto i prilagođeno prema Winnie i sur., 2014 [47]

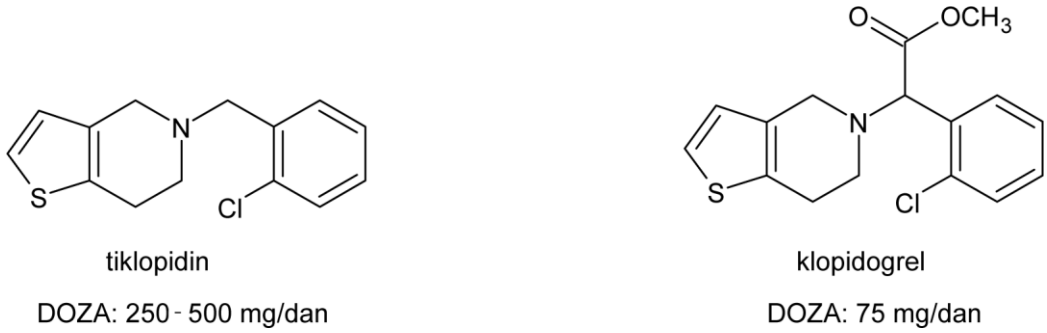


Slika 14. Metabolizam klozapina i toksični učinci, preuzeto i prilagođeno prema Winnie i sur., 2014 [47]

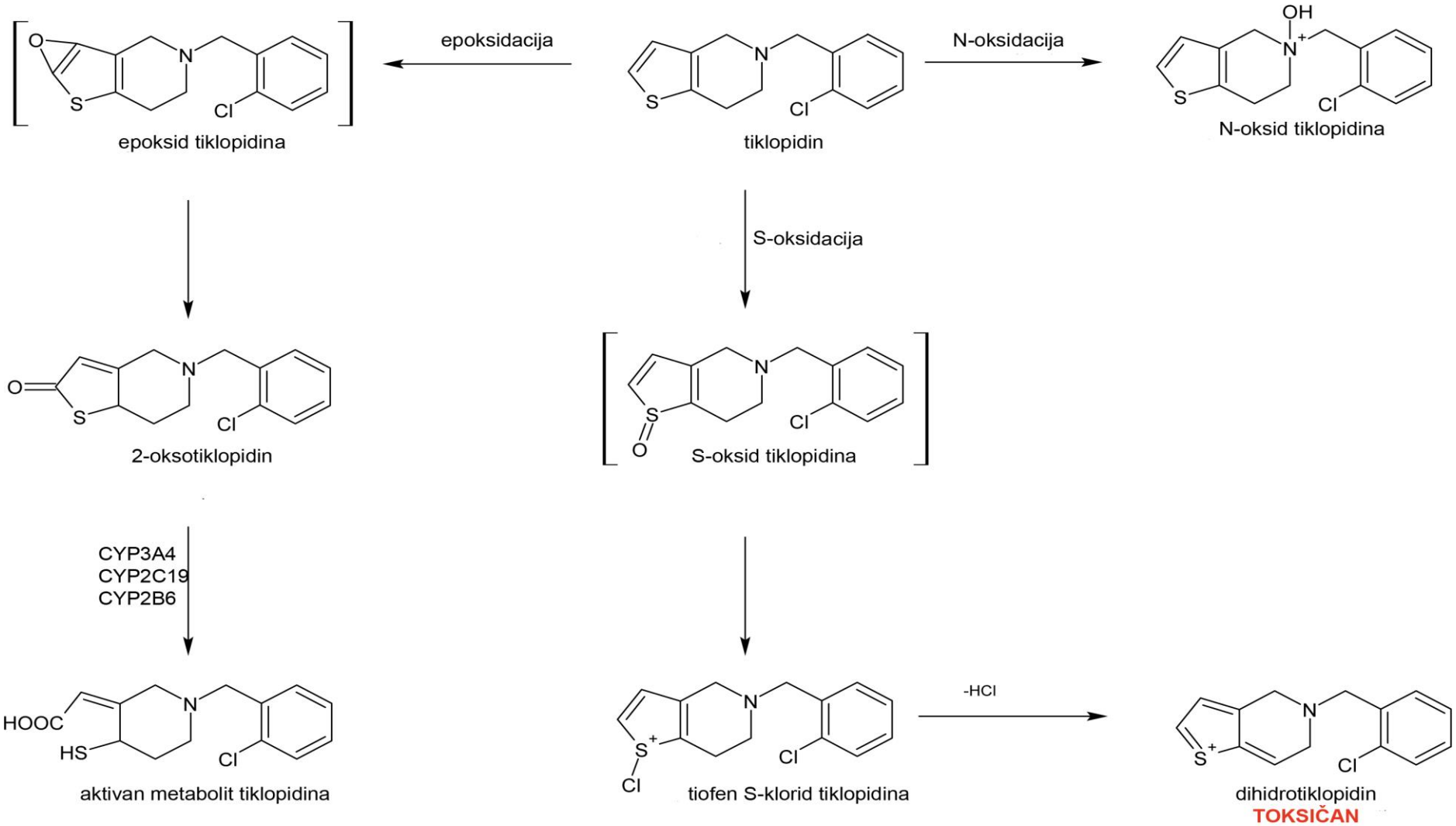
TIKLOPIDIN

U potrazi za nesteroidnim protuupalnim lijekom nekiselih svojstava došlo je do sinteze tiklopidina za kojeg se kasnije uočilo da pokazuje značajan antiagregacijski učinak ireverziblinim vezanjem za $P2Y_{12}$ receptore za ADP na trombocitima te inhibicijom signalizacije i pojačane agregacije trombocita. Njegova upotreba je povezana s pojavom agranulocitoze u 1-2% slučajeva te posljedičnom aplastičnom anemijom. Točan mehanizam nastanka agranulocitoze nije u potpunosti razjašnjen, no povezuje se s prisutnosti tiofena u strukturi te nastankom reaktivnog intermedijera, *S*-oksida. Tiklopidin dolazi u formi prolijeka

koji se aktivira djelovanjem citokrom P450 enzima prilikom prvog prolaska kroz jetru, posebice enzimima CYP3A4, CYP2C19 i CYP2B6. Smatra se da je za nastanak agranulocitoze odgovoran metabolizam tiklopidina u aktiviranim neutrofilima djelovanjem mijeloperoksidaze prilikom čega dolazi do nastanka reaktivnog intermedijera tiofen-*S*-klorida te gubitkom klorovodične kiseline nastaje dehidro-tiklopidin koji stupa u interakciju s nukleofilima, a može dalje prijeći u 2-klorotiklopidin (Slika 16). Nastajanje reaktivnih metabolita može se dogoditi u samoj koštanoj srži u prekursorima neutrofila koji imaju izraženu mijeloperoksidaznu aktivnost te u zrelim neutrofilima što dovodi do imunološkog odgovora. Po strukturi vrlo sličan tienopiridinski antiagregacijski lijek klopidogrel, za razliku od tiklopidina ne pokazuje nastanak idiosinkratske agranulocitoze što se pripisuje upotrebi manjih doza (Slika 15) [48].



Slika 15. Strukturne razlike i doziranje tiklopidina i klopidogrela



Slika 15. Metabolizam i toksični učinci tiklopidina, preuzeto i prilagođeno prema Liu i Uetrecht, 2000 [48]

4.1.2.2. Trombocitopenija

Trombocitopenija označava smanjen broj trombocita u perifernoj krvi. U ranim fazama očituje se povišenom tjelesnom temperaturom, mučninom i povraćanjem, dok smanjenje količine trombocita na manje od 10.000 po µL uzrokuje pojačano stvaranje modrica na tijelu, krvarenja ponajprije u gastrointestinalnom sustavu te kao najteži oblik, po život opasnih intrakranijalnih i pulmonarnih krvarenja. Dva su osnovna mehanizma nastanka idiosinkratske trombocitopenije – smanjenje produkcije trombocita (toksičnost na razini koštane srži) te povećana destrukcija trombocita posredovana imunološkim sustavom. Više od 50 lijekova uzrokuje idiosinkratsku trombocitopeniju, poput različitih skupina antibiotika, nesteroidnih protuupalnih lijekova, antiagregacijskih lijekova, sedativa i antikonvulziva, a u pozadini svih reakcija je pojačana aktivacija imunološkog sustava i stvaranje protutijela (Tablica 4). Već unutar tjedan dana od prve primjene lijeka dolazi do javljanja prvih simptoma trombocitopenije, posebice kod primjene heparina, dok kod antiagregacijskih lijekova poput tirofibana, eptifibatida i abciksimaba zbog *i.v.* primjene, reakcija nastaje unutar nekoliko sati od prve primjene. Nakon prestanka primjene navedenih lijekova simptomi se povlače već unutar jednog do dva dana, a razina trombocita vraća se u referentne vrijednosti unutar tjedan dana [49].

Tablica 4. Mehanizam nastanka idiosinkratske trombocitopenije i primjer lijekova [50]

Naziv	Mehanizam	Primjer
Hapten-ovisna protutijela	• lijek se kovalentno veže na membranske proteine (hapten) i inducira o lijeku ovisan imunološki odgovor	• penicilinski antibiotici • defalosporinski antibiotici
O lijeku ovisna protutijela	• lijek inducira nastanak protutijela koja se vežu za membranske proteine	• kinin • nesteroidini protuupalni lijekovi • antikonvulzivi
Trombocitopenija inducirana *fibanima*	• lijek stupa u interakciju s membranskim glikoproteinima IIb/IIIa i inducira konformacijsku promjenu koju prepoznaju protutijela	• eptifibatid • tirofiban
Specifična protutijela na lijek	• protutijelo je specifično za mišju komponentu kimernog Fab fragmenta koji se veže za GPIIb/IIIa	• abciksimab
Indukcija protutijela	• lijek inducira nastanak protutijela koji reagiraju s trombocitima u odsustvu lijeka	• soli zlata • *L*- Dopa
Imunološki kompleks	• lijek se veže za PF4 (engl. *platelet factor 4*) i stvara kompleks na koji se specifično proizvode protutijela	• heparin

HEPARIN

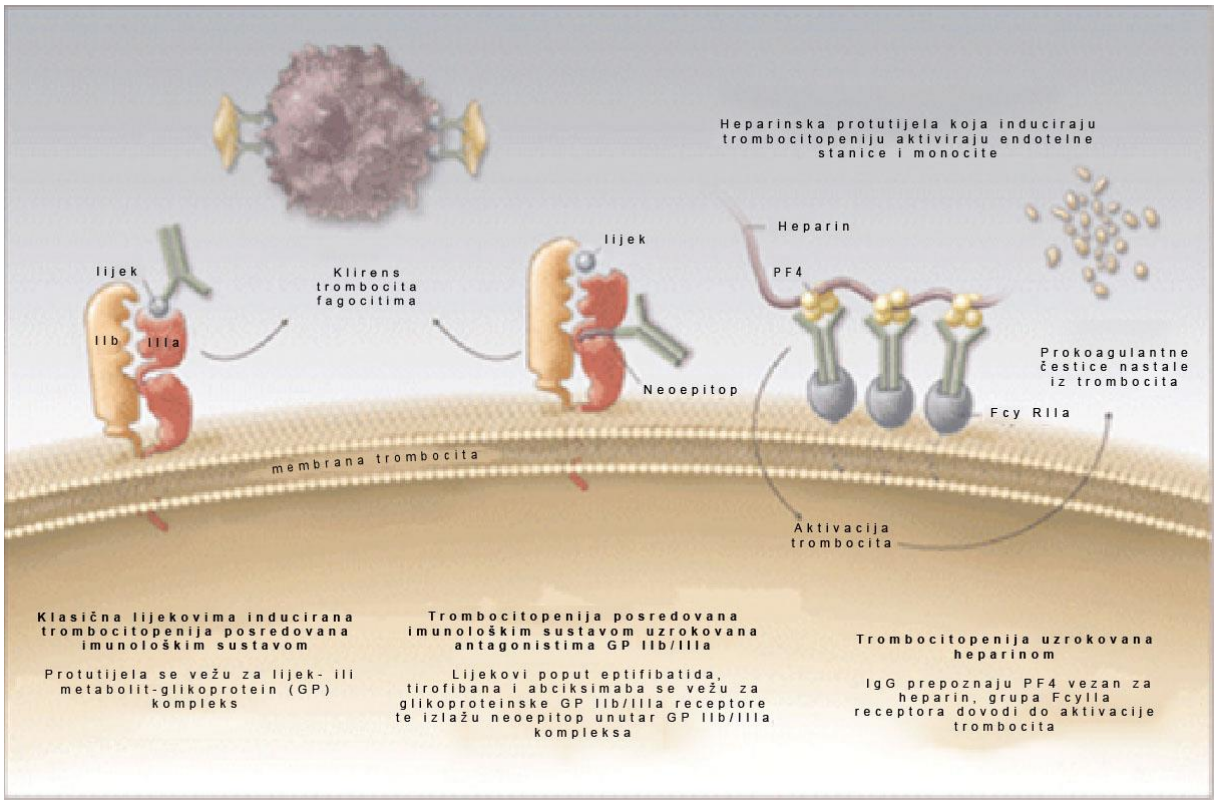
Heparin je fiziološki antikoagulans, sulfatirani glikozaminoglikan molekulske mase od 12 do 15 kDa čija se proizvodnja odvija u mastocitima. Antikoagulacijski učinak postiže se vezivanjem heparina za antitrombin što dovodi do njegove aktivacije. Aktivirani antirombin dalje inhibira aktivirani faktor X i trombin te zaustavlja koagulacijsku kaskadu na razini plazmatskih koagulacijskih faktora. Njegova upotreba vrlo je česta prilikom pripreme pacijenata za, ali i nakon velikih operacijskih zahvata kao prevencija tromboembolijskih bolesti. Više od 5% pacijenata razvija idiosinkratsku trombocitopeniju unutar sedam dana od prve primjene heparina. Reakcija je posredovana stvaranjem heparinom induciranih protutijela specifičnih za kompleks heparina i PF4. Takav kompleks heparina, PF4 i specifičnih protutijela stupa u interakciju s Fc receptorima na površini trombocita što izaziva aktivaciju i posljedičnu fragmentaciju trombocita. Danas se češće primjenjuju heparini niske molekularne mase, kratki lanci heparina velične do 8 kDa dobiveni depolimerizacijom ili frakcioniranjem heparina koji imaju predvidivo djelovanje te se značajno smanjuje učestalost idiosinkratske trombocitopenije [51].

EPTIFIBATID I TIROFIBAN

'*Fibani*' su antiagregacijski lijekovi koji inhibiraju vezanje fibrinogena za glikoprotein GP IIb/IIIa na površini trombocita vežući se za mjesto prepoznavanja arginin-glicin-asparaginska kiselina (RGD). U 2% pacijenata uzrokuju nastanak težeg oblika idiosinkratske trombocitopenije unutar nekoliko sati od prve primjene lijeka. Do destrukcije trombocita dolazi zbog stvaranja antitijela koja prepoznaju kompleks GP IIb/IIIa i *fibana*. Smatra se da protutijela nastaju zbog konformacijske promjene GP IIb/IIIa uslijed vezanja eptifibatida, odnosno tirofibana na mjesto prepoznavanja [52].

ABCIKSIMAB

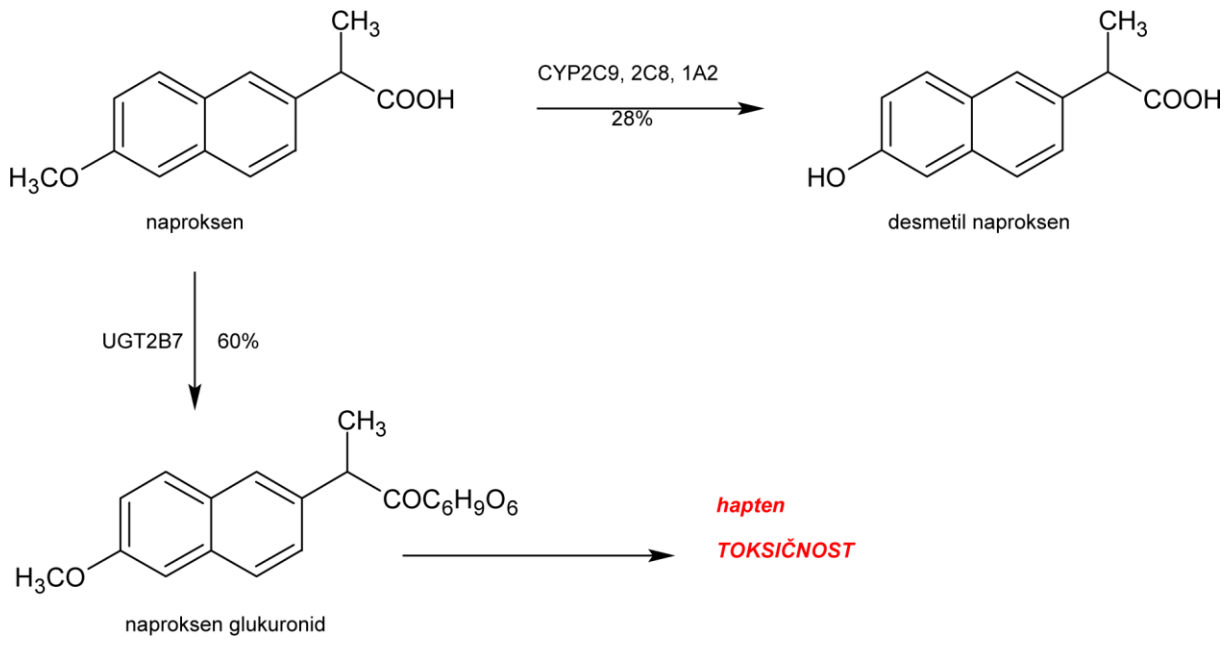
Abciksimab, prvo humanizirano mišje monoklonsko antitijelo odobreno za ljudsku primjenu, predstavlja kimerni Fab fragment specifičan za epitop na GP IIIa komponenti GP IIb/IIIa kompleksa na RGD mjestu prepoznavanja. Poput *fibana* inhibira vezivanje fibrinogena na aktivirani GP IIb/IIIa kompleks i tako inhibira agregaciju trombocita. 1-2% pacijenta nakon prve primjene lijeka, te do 10% pacijenta nakon ponovne primjene lijeka razvija vrlo tešku trombocitopeniju unutar 6 do 12 sati od primjene lijeka. Smatra se da trombocitopenija prilikom prve primjene lijeka nastaje zbog stvaranja protutijela na mišju komponentu kimerne molekule abciksimaba. Razine trombocita polagano padaju unutar 8 dana od prve primjene, nakon čega dolazi do značajnog smanjenja razine trombocita i ranije navednih komplikacija. Nakon ponovne primjene lijeka trombocitopenija se javlja zbog visokog titra protutijela koji nastaju nakon prve primjene, a samo djelovanje abciksimaba na trombocite održava se unutar 7 do 14 dana nakon prve primjene. Mehanizmi nastanka idiosinkratske trombocitopenije uzrokovane antiagregacijskim lijekovima prikazani su na slici 17 [53].



Slika 17. Mehanizam nastanka idiosinkratske trombocitopenije primjenom antiagregacijskih lijekova, preuzeto i prilagođeno prema Shah i sur., 2009 [54]

NAPROKSEN

Naproksen je nesteroidni protuupalni lijek, derivat propionske kiseline koji se često upotrebljava kao analgetik i antipiretik. Do sada je zabilježeno više slučajeva prolazne trombocitopenije koja nastaje unutar tjedan dana od prve primjene lijeka, a prolazi unutar mjesec dana od prestanka primjene. Istraživanja su pokazala da su za razvitak idiosinkratske trombocitopenije zaslužna protutijela (IgG) koja se stvaraju kao odgovor na metabolit – naproksen glukuronid (Slika 18). Naime spontanom intramolekularnom pregradnjom naproksen glukuronid djeluje kao reaktivni metabolit koji se veže za amino skupine proteina te djeluje kao *hapten*. Nastanak haptena uzrokuje produkciju protutijela koja stupaju u interakciju s trombocitima i povećavaju njihovu destrukciju [55].



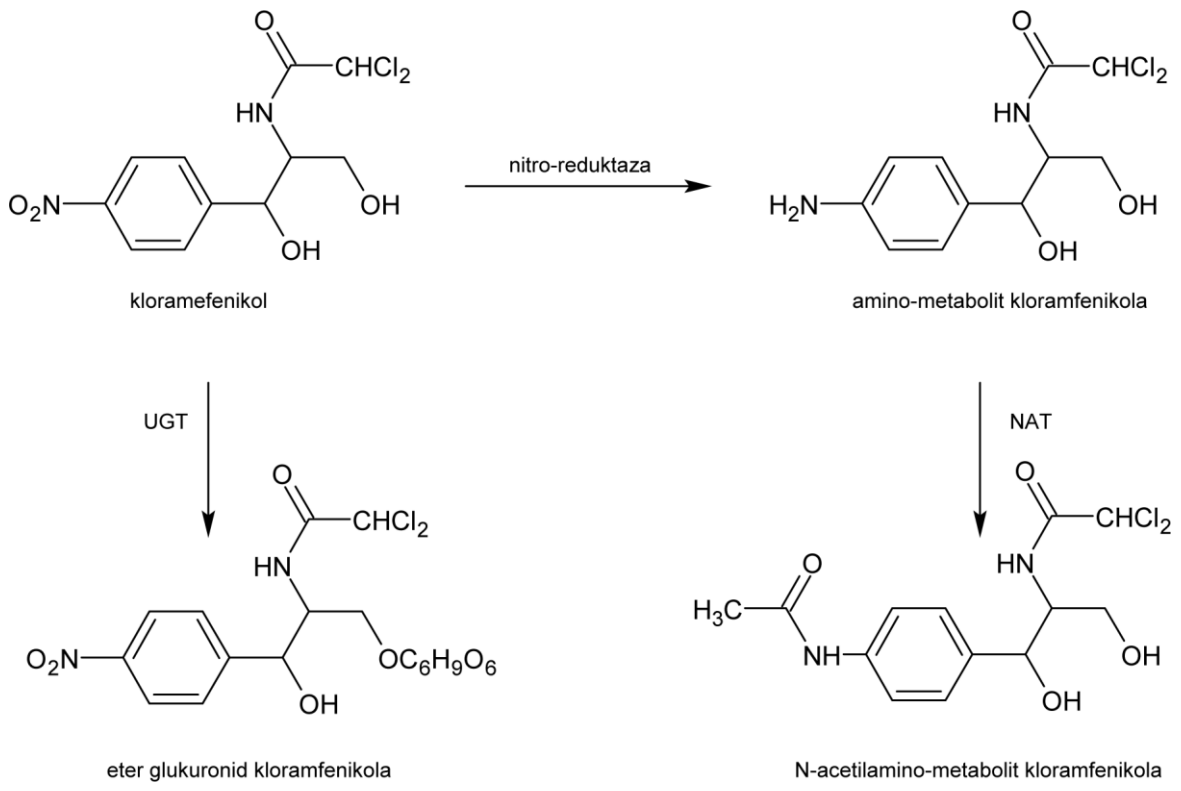
Slika 18. Metabolizam naproksena i toksični učinci, preuzeto i prilagođeno prema Bougie i Aster, 2001 [55]

4.1.2.3. Aplastična anemija

Aplastična anemija je karakterizirana gubitkom prekursora krvnih stanica što dovodi do hipoplazije koštane srže te posljedične anemije, trombocitopenije i leukopenije. Zbog manjka eritrocita prisutna je opća slabost organizma i umor, manjak trombocita dovodi do krvarenja, dok leukopenija smanjuje otpornost organizma te se javljaju razne upale, a u težim slučajevima i sepsa. Uglavnom je idiopatska, a istraživanja pokazuju da reaktivni metaboliti pojedinih lijekova stvaraju imunogene adukte sa stanicama koštane srži te dolazi do imunološkog odgovora. Idiosinkratska aplastična anemija nastaje unutar mjesec dana od prve primjene nekih antikonvulziva, nesteroidnih protuupalnih lijekova, penicilina i drugih.

KLORAMFENIKOL

Kloramfenikol je antibiotik koji se koristi u liječenju infekcija *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae* i *Neisseria meningitidis* te za liječenje infekcija oka. Vezujući se za 70S podjedinicu ribosoma, inhibira sintezu mitohondrijskih i ribosomskih proteina u bakterijama. Za toksične učinke kloramfenikola zaslužna je nitro skupina koja metabolizmom nitro-reduktazama prelazi nizom uzastopnih reakcija u reaktivni amino-metabolit kloramfenikola (Slika 19). Redukcija je moguća samo u uvjetima smanjenog parcijalnog tlaka kisika. Reakcija glukuronidacije na položaju C3 reakcija je detoksikacije kloramfenikola. Idiosinkratska aplastična anemija uslijed primjene kloramfenikola javlja se više od mjesec dana od zadnje primjene lijeka te zbog visoke učestalosti iste danas se uglavnom primjenjuje samo lokalno, iako i nakon takve primjene može doći do razvitka aplastične anemije [56].

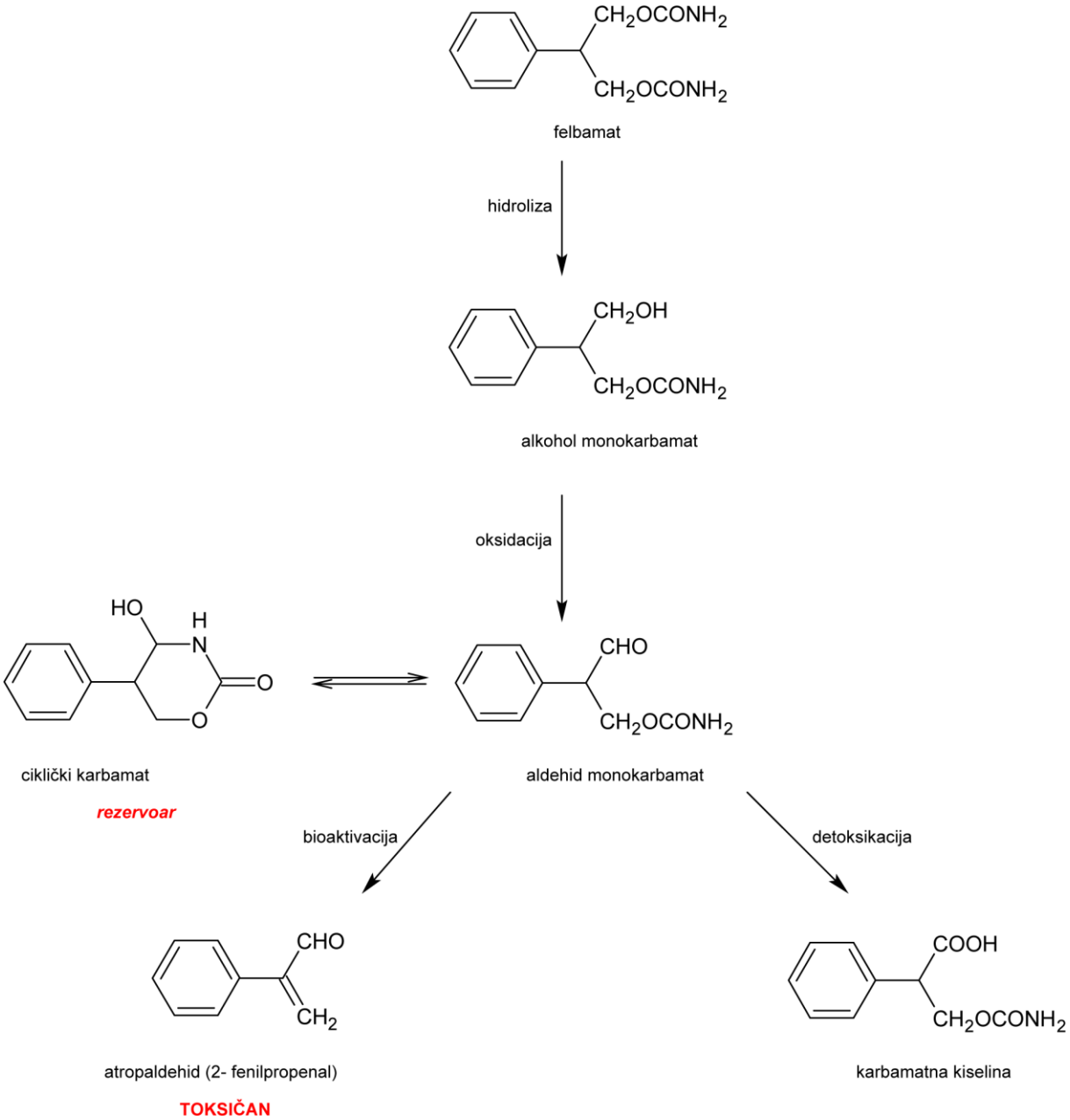


Slika 19. Biotransformacija kloramfenikola i toksični učinci

FELBAMAT

Felbamat je antikonvulziv koji se koristi kao monoterapija ili u kombinaciji s drugim antikonvulzivima za liječenje epilepsije u djece i odraslih. Nedugo nakon njegove pojave na tržištu zabilježeno je nekoliko slučajeva aplastične anemije te hepatotoksičnosti. Češće se pojavljuje u žena te u djece mlađe od 12 godina s istodobnom primjenom aromatskih antikonvulziva poput fenobarbitala ili karbamazepina. U pozadini idiosinkratske toksičnosti je metabolizam felbamata i nastanak reaktivnih intermedijera. Bioaktivacijom felbamata dolazi do nastanka reaktivnog nestabilnog intermedijera, 3-karbamoil-2-fenilpropionaldehida (aldehid monokarbamat). Metabolit aldehid monokarbamat prolazi kroz reverziblinu ciklizaciju i stvara se stabilna ciklička struktura koja služi kao rezervoar za prijenos felbamata u udaljena tkiva dalje od mjesta nastanka, jetre. Tako primjerice u stanicama koštane srži dolazi do eliminacije i nastaje 2-fenilpropenal (atropaldehid) koji je toksičan za stanice i

dovodi do nastanka aplastične anemije. Također atropaldehid smanjuje reakcije detoksikacije u hepatocitima, vežući se za aldehid dehidrogenazu i glutation transferazu te na taj način djeluje hepatotoksično (Slika 20) [57].



Slika 20. Metabolizam felbamata i toksični učinci, preuzeto i prilagođeno prema Pirmohamed i Leeder, 2007 [57]

4.1.3. Autoimune idiosinkratske reakcije

Mnogi lijekovi mogu izazvati autoimune reakcije od čega se kao najčešći oblik javlja lupusu sličan sindrom. Prvi slučaj zabilježen je još 1945. godine na primjeru sulfadiazina. Najčešća obilježja autoimunih idiosinkratskih reakcija uključuju artralgije, artritis, bolove u mišićima, hepatosfenomegaliju, kožne osipe i nagli gubitak na tjelesnoj težini. Također, u krvi uvijek se mogu pronaći protutijela u serumu, posebice antinuklearna protutijela (ANA, engl. *antinuclear antibodies*), antihistonska protutijela i druga. Iako se točan mehanizam nastanka autoimunih idiosinkratskih reakcija još uvijek ne zna, postoji nekoliko hipoteza koje pokušavaju objasniti patogenezu, a međusobno se ne isključuju:

1) Lijek ili reaktivni metabolit se kovalentno veže za endogene proteine te na taj način postaje stran (engl. *non-self*) i antigen. Kao rezultat toga dolazi do aktivacije imunološkog sustava što dovodi do sindroma sličnog autoimunosti;

2) Za normalnu funkciju T-stanica vrlo je bitno da se DNA metilacija provodi na pravilan način. Istraživanja pokazuju kako nepravilna DNA metilacija zrelih T-stanica može dovesti do autoreaktivnosti u samim stanicama i dovesti do autoimunih poremećaja;

3) Iz apoptotičkih ili nekrotičnih stanica dolazi do otpuštanja vlastitih antigena koji imaju potencijal induciranja imunološkog sustava jer normalno nisu prisutni i nisu ranije prepoznati od strane T-stanica. Uglavnom takve reakcije uzrokuju reaktivni metaboliti lijekova [58].

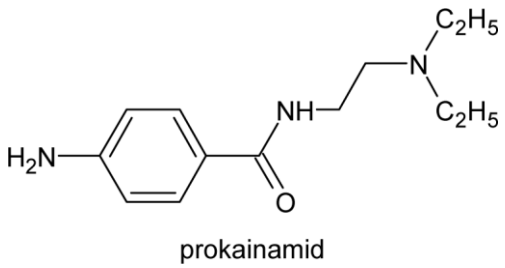
4.1.3.1. Idiosinkratski lupusu sličan sindrom

Lupusu sličan sindrom nije isto što i sistemski *lupus erythematosus*, no zajednička karakteristika im je muskuloskeletalne tegobe, povišena tjelesna temperatura, nagli gubitak tjelesne težine, respiratorni problemi u više od polovice pacijenata, a nešto rijeđe renalne, vaskularne ili neurološke posljedice. U serumu su pozitivna antinuklarna i antihistonska

protutijela. Uglavnom se povezuje s lijekovima koji stupaju u interakciju s DNA metilacijom, kao i s lijekovima koji se metaboliziraju mijeloperoksidazom u leukocitima. Sindrom se češće javlja u žena. Simptomi se povlače četiri do šest tjedna nakon prestanka uzimanja spornog lijeka, dok se i godinu dana nakon prestanka primjene u serumu mogu naći antinuklearna protutijela. Biološki lijekovi, poput interferona-α i infliksimaba, često izazivaju lupusu sličan sindrom [59,60].

PROKAINAMID

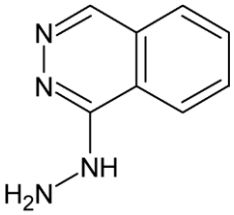
Prokainamid je antiaritmik čija je dugotrajna upotreba povezana s razvitkom lupusu sličnog sindroma. U 20 do 30% pacijenata koji koriste prokainamid kod kroničnih stanja, javljaju se antinuklearna protutijela u serumu te često prolazi asimptomatski. Manji broj slučajeva razvija jaku artralgiju, kožne lezije te osjećaju pleuropulmonarne poteškoće. Prokainamid je kompetitivni inhibitor DNA metiltrasferaze, stoga se pretpostavlja je to glavni uzrok nastanka idiosinkrazije [61].



Slika 21. Struktura prokainamida

HIDRALAZIN

Hidralazin je periferni vazodilatator koji se upotrebljava za liječenje hipertenzije, često u kombinaciji s β-blokatorima ili diureticima. Njegova primjena danas je ograničena, kao i doziranje koje ne smije prelaziti više od 200 mg dnevno zbog toga što je njegova primjena povezana s brojnim slučajevima lupusu sličnog sindroma. Kada se primjenjuje u dozama većim od 200 mg učestalost pojavljivanja idiosinkratske reakcije je i do 7%, dok se smanjenjem doze javlja u svega 3% slučajeva. Također, češća je u žena (11%), nego u muškaraca. Prvi simptomi javljaju se unutar tri do devet mjeseci od prve primjene lijeka: visoka tjelesna temperatura, artralgija, kožni osipi te značajan gubitak tjelesne težine. Istraživanja pokazuju kako hidralazin inhibira ekspresiju DNA metiltransferaze tako što smanjuje unutarstaničnu signalizaciju putem kinaza. T-stanice prepoznaju hipometiliranu DNA kao stranu te se javlja autoimuni odgovor [62,63].



hidralazin

Slika 22. Struktura hidralazina

4.1.4. Idiosinkratska hepatotoksičnost

Brojni lijekovi i drugi ksenobiotici mogu uzrokovati neki oblik hepatotoksičnosti. Jetra predstavlja organ koji je najčešće zahvaćen nuspojavama lijekova. Razlog tome je centralna uloga jetre u biotransformaciji ksenobiotika te njihovoj ekskreciji, zatim povezanost portalnim krvotokom, što ju izlaže utjecaju velikog broja stranih tvari te zbog svoje anatomske i fiziološke strukture. Epidemiološke studije pokazuju kako je hepatotoksičnost uzrokovana lijekovima uzrok više od 50% slučajeva akutnog hepatitisa, pri čemu 39% slučajeva otpada na predoziranje paracetamolom, dok je u 13% slučajeva ona idiosinkratske naravi. Do danas je za više od 1.000 lijekova prijavljena nuspojava nekog oblika hepatotoksičnosti što je u nekim slučajevima uzrokovalo povlačenje lijeka s tržišta ili pak stavljanje oznake engl. „*black box*“. Iz svega navedenog možemo zaključiti kako lijekovima uzrokovana hepatotoksičnost predstavlja veliki izazov za farmaceutsku industriju i razvoj novih lijekova, jer je upravo ova nuspojava zaslužna za neuspjeh brojnih lijekova kandidata. Kliničke manifestacije lijekovima uzrokovane hepatotoksičnosti mogu biti različite od onih blažih nespecifičnih poremećaja jetrenih enzima do po život opasnih nekroza. Dva najčešća tipa hepatotoksičnosti su hepatička nekroza (hepatitis) te kolestaza [64-66].

4.1.4.1. Idiosinkratska hepatička nekroza (hepatitis)

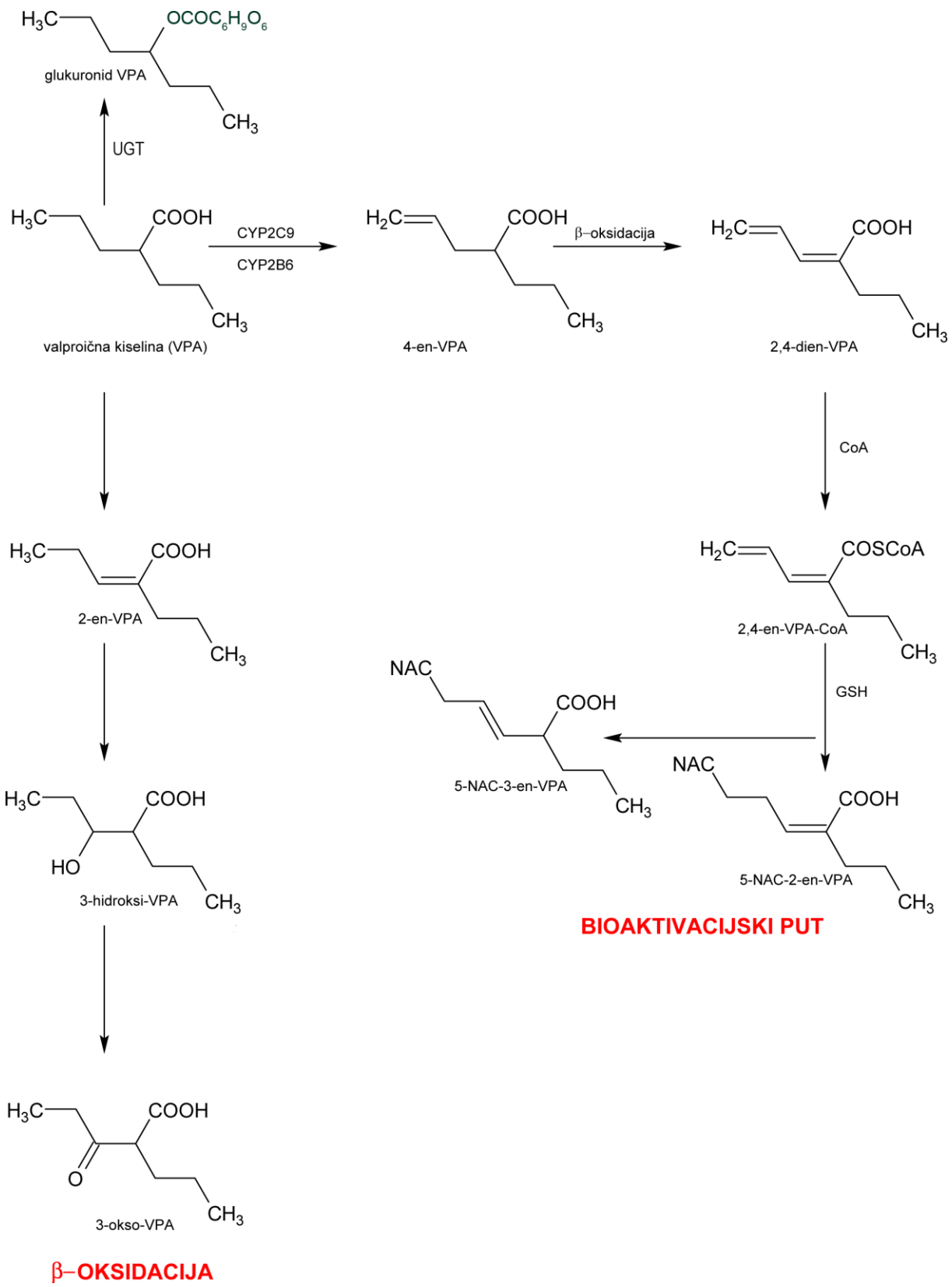
Hepatička nekroza predstavlja najčešći oblik lijekovima inducirane hepatocelularne smrti s udjelom više od 90%. Uglavnom se javlja 1-3 mjeseca nakon prve primjene lijeka, dok se u nekim slučajevima nastanak simptoma može biti odgođen i više od godinu dana, s iznimkom antibiotika telitromicina i trovafloksacina kod kojih reakcija nastaje unutar nekoliko dana. Karakterizirana je inicijalno povišenim ALT (alanin aminotrasferaza) vrijednostima što kasnije dovodi do apoptotičke ili nekrotičke hepatocelularne smrti. Kod većine lijekova takve

povišene vrijednosti ALT-a vezane su uz primjenu lijeka te se nakon prestanka primjene lijeka razina enzima snižava na referentne vrijednosti kao što je slučaj sa sulfonamidima, diklofenakom i drugima. Masivna hepatocelularna oštećenja mogu dovesti do po život opasnih stanja poput hepatičke fibroze ili ciroze i čine više od 1% svih slučajeva idiosinkratske hepatotoksičnosti. Većina lijekova koji uzrokuju idiosinkratsku hepatotoksičnost stvaraju reaktivne metabolite koji izazivaju imunološke reakcije i stvaranje protutijela najčešće na enzim koji sudjeluje u njihovom nastanku. U prilog tome govore i patohistološki nalazi koji pokazuju da su najveća oštećenja u centrilobularnoj regiji jetre koja sadrži najviše koncentracije citokrom P450 enzima [67,68].

VALPROIČNA KISELINA

Valproična kiselina je široko upotrebljavani antikonvulziv koji se koristi za liječenje generaliziranih toničko-kloničkih, miokloničkih, atoničkih i parcijalnih napadaja te kao dodatna terapija kod bipolarnog poremećaja. U više od 40% pacijenata dovodi do povišenja razine ALT-a, bilirubina te AST-a (aspartat aminotrasferaza) što u više od 0,01% slučajeva dovodi do hepatičke disfunkcije. Prvi simptomi se javljaju unutar šest tjedna od prve primjene lijeka, a uključuju mučninu, povraćanje, abdominalnu bol, povećanje učestalosti konvulzija te u težim slučajevima leteragiju i komu. Fatalne idiosinkratske hepatotoksičnosti češće su u djece, posebice mlađe od dvije godine (0,2% slučajeva) te u osoba s POLG (polimeraza gama) mutacijom koja kodira za mitohondrijalnu DNA polimerazu što dovodi do mitohondrijalne disfunkcije te steatoze i hiperamonemije. Dvije su hipoteze koje pokušavaju objasniti hepatotoksičnost valproične kiseline, ni jedna ne uključuje imunološki sustav, već se pretpostavlja da je ona oblik metaboličke idiosinkrazije. Prva hipoteza se odnosi na interferenciju valproične kiseline s β-oksidacijom endogenih lipida te smanjenje mitohondrijalne funkcije. Tioester valproične kiseline i koenzim A (CoA) sudjeluju u stvaranju

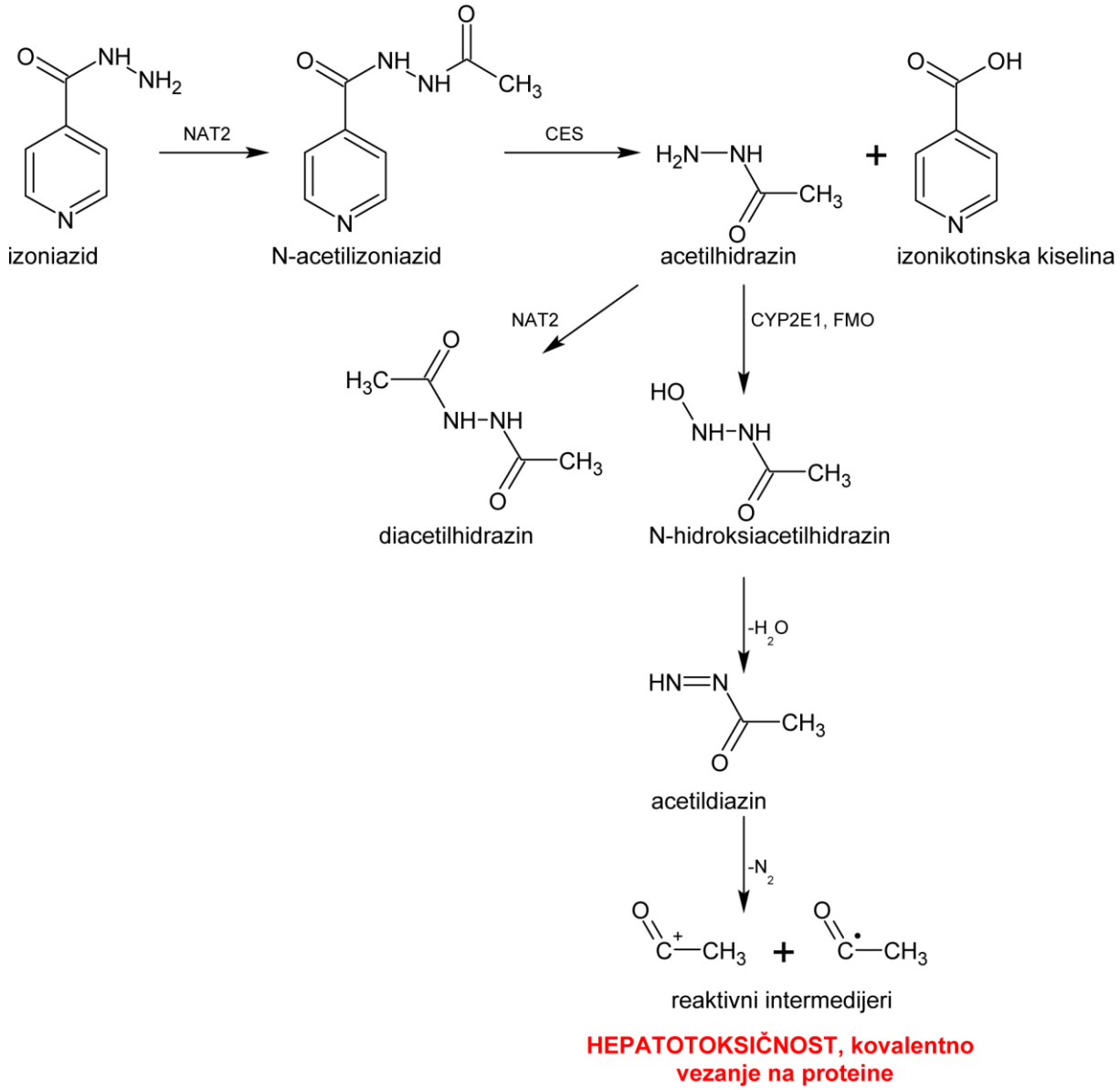
intermedijera u reakcijama biotransformacije valproične kiseline. Smanjenje količine CoA ili intermedijera valproične kiseline i CoA dovodi do inhibicije metabolizma u mitohondrijima. Valproična kiselina ulazi u reakcije β-oksidacije uz nastanak nekoliko produkata koji stupaju u kompeticiju s endogenim lipidima za enzime iz ciklusa β-oksidacije. Druga hipoteza se odnosi na hepatotoksični nezasićeni metabolit valproične kiseline koji nastaje ω-oksidacijom, 4-en-valproičnu kiselinu koja dovodi do pojave masne jetre. U nastajanju 4-en-valproične kiseline sudjeluju citokrom P450 enzimi, posebice CYP2C9 te nešto manje CYP2B6. U djece se valproična kiselina uglavnom metabolizira enzimom CYP2C9 te se smatra da je to jedan od uzroka povećane incidencije idiosinkratske hepatotoksičnosti u male djece. Tome u prilog govori i činjenica da je u odraslih osoba količina metabolita 4-en-valpročna kiselina znatno niža u odnosu na djecu. Kemijski reaktivni metaboliti koji nastaju iz 4-en-valproične kiseline, poput 2,4-dien-valproična kiselina imaju potencijal smanjenja zaliha glutationa u mitohondrijima te stvaranjem konjugata s CoA dovode do inhibicije enzima uključenih u β-oksidaciju (Slika 23) [69,70].



Slika 23. Biotransformacija valproične kiseline i toksični učinci, preuzeto i prilagođeno prema Pirmohamed i Leeder, 2007 [57]

IZONIAZID

Izoniazid je antibiotik koji se koristi kao prva linija obrane, odnosno za prevenciju i liječenje latentne i aktivne tuberkuloze. Nakon primjene izoniazida kod 10-20% populacije zabilježen je blaži oblik hepatotoksičnosti, a kod 1% populacije dolazi do jakog ošetćenja jetre. Izoniazid se acetilira katalitičkim učinkom enzima NAT2, stoga se toksični učinci povezuju s genetskim polimorfizmom NAT2. Kod osoba s izraženim genetskim polimorfizmom, brzih acetilatora, nađene su niže koncentracije izoniazida u krvi te je postojala veća mogućnost nastanka rezistentnih sojeva mikobakterija. S druge strane, oko 60% bijele populacije i oko 10% Japanaca pripada skupini sporih acetilatora što dovodi po većane hepatotoksičnosti. Nakon acetilacije dolazi do hidrolize u izonikotinsku kiselinu i acetilhidrazin. Acetilhidrazin se može dalje N- oksidirati katalitičkim učinkom citokrom P450 enzima ili flavinmonooksigenaza (FMO) u reaktivni N-hidroksiacetilhidrazin. Nastajanje reaktivnih intermedijera nastalih razgradnjom N-hidroksiacetilhidrazina objašnjava veći rizik hepatotoksičnosti kod brzih acetilatora jer se povećava acetilacija izoniazida. Rizik nastajanja toksičnog N-hidroksiacetilhidrazina izraženiji je kod osoba s povećanom aktivnosti enzima CYP2E1 i/ili FMO. Rifampicin i etanol povećavaju toksičnost izoniazida indukcijom aktivnosti enzima CYP2E1 koji katalizira N-hidroksilaciju N-acetilhidrazina u toksični N-hidroksiacetilhidrazin. Veći rizik toksičnosti kod sporih acetilatora povezan je sa sporom acetilacijom acetilhidrazina u diacetilhidrazin. Biotransformacija izoniazida i toksični metaboliti prikazani su na slici 24 [71,72].



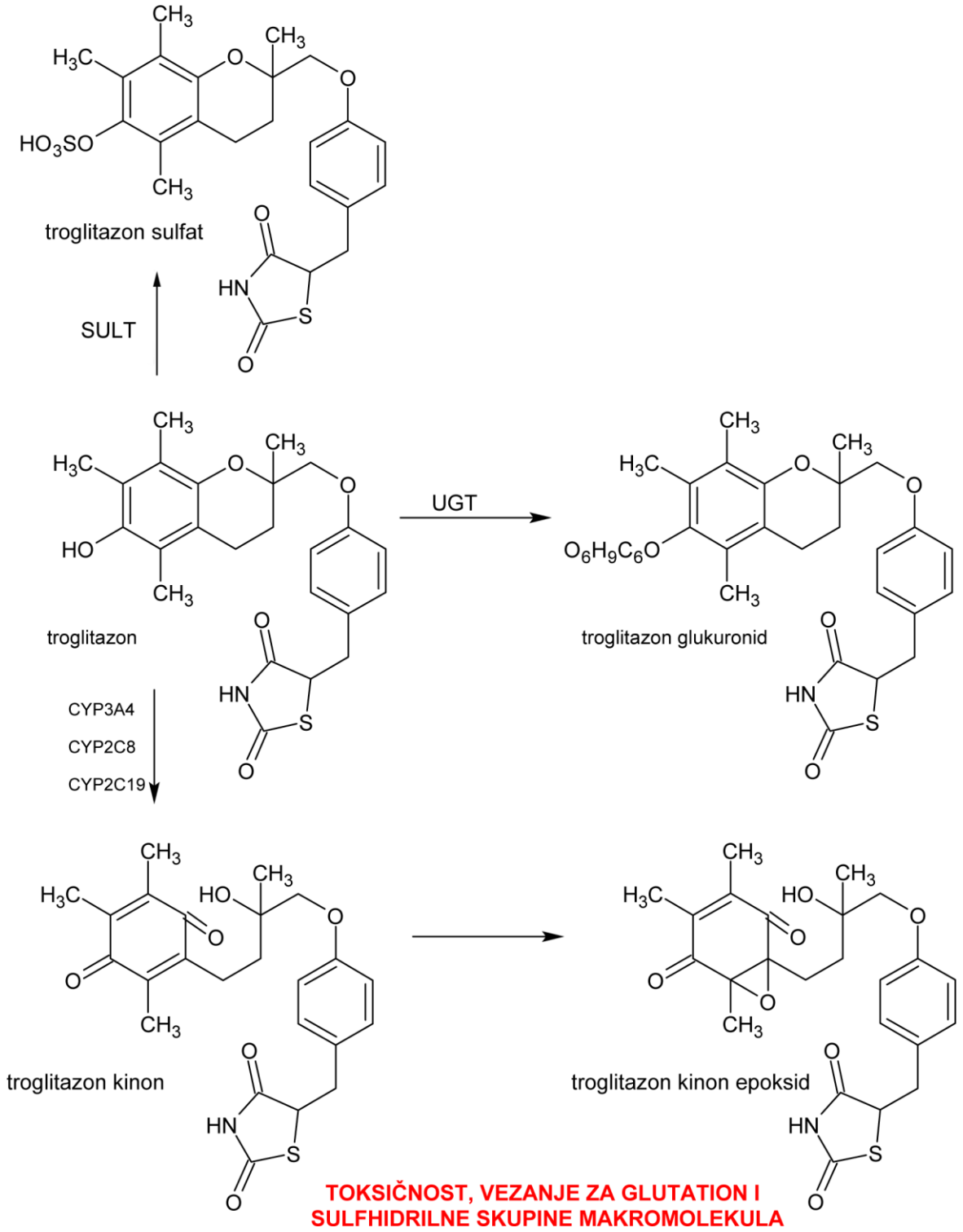
Slika 24. Biotransformacija i toksični učinci izoniazida, preuzeto i prilagođeno prema Rendić i Medić-Šarić, 2013 [32]

TROGLITAZON

Troglitazon je oralni hipoglikemik iz skupine tiazolidindiona koji djeluje kao agonist PPARγ receptora (receptor za aktivator proliferacije peroksisoma gama) te povećava unos glukoze u mišiće i adipozno tkivo i posljedično smanjuje inzulinsku rezistenciju i hepatičku glukoneogenezu u pacijenata koji boluju od dijabetesa tipa II. Molekula troglitazona posjeduje dva kiralna centra te svaki od četiriju stereoizomera pokazuje slična farmakološka

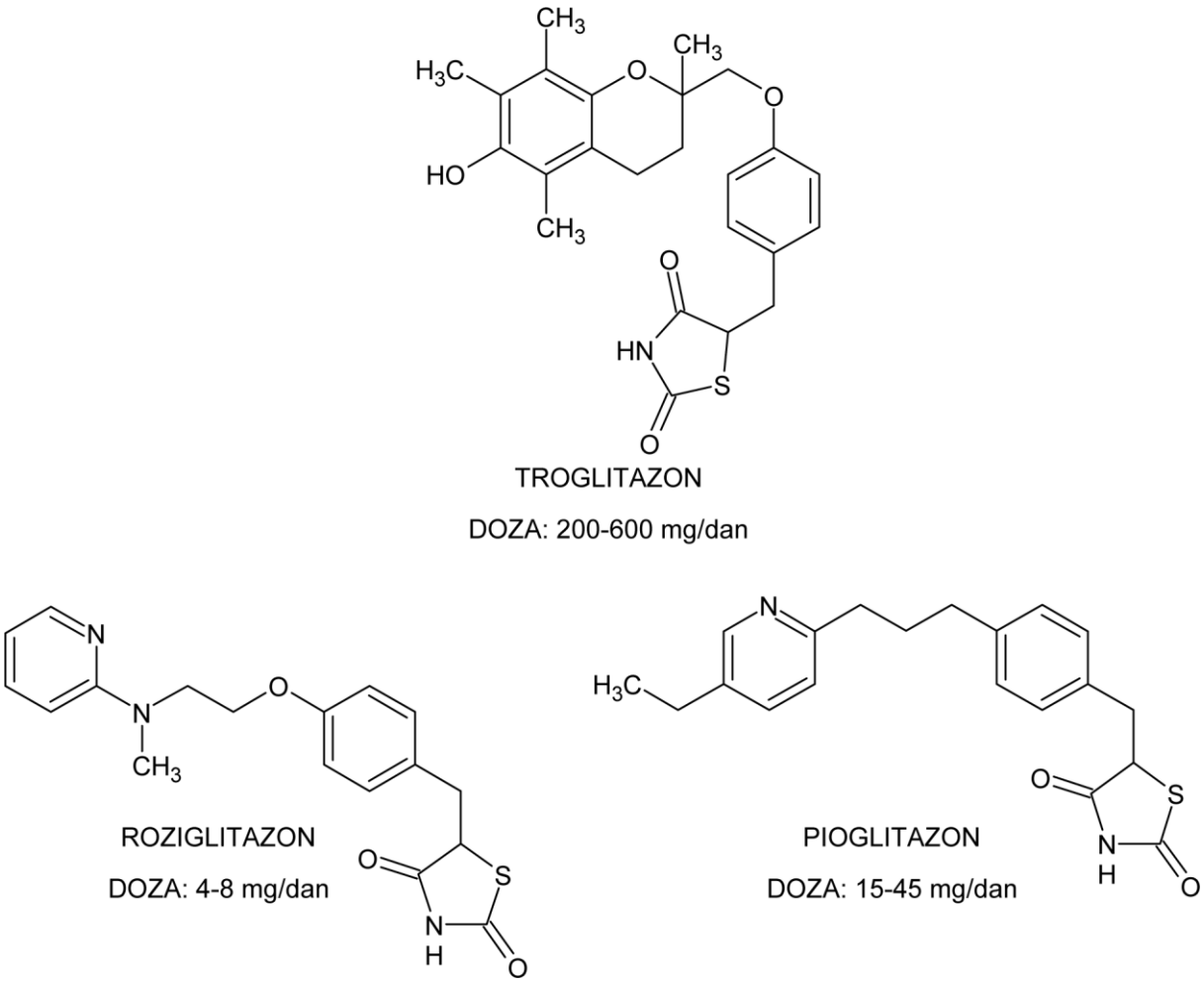
svojstva. Također, posjeduje i tokoferol skupinu u strukturi što doprinosi antioksidativnoj ulozi troglitazona. Na tržište je stigao 1997. godine, a unutar prve godine od registracije prijavljeno je više slučajeva zatjenja jetre što se u početku nije povezivalo s primjenom troglitazona. Daljna ispitivanja sigurnosti troglitazona, ali i sve veći broj prijavljenih slučajeva dovela su povlačenje troglitazona s tržišta u ožujku 2000. godine. Unutar nekoliko mjeseci od početka primjene troglitazona, u pacijenata dolazi do značajnog povišenja razina ALT-a (i do tri puta više razine), bilirubina i alkalne fosfataze (ALP), a nakon prestanka primjene lijeka, razine ALT-a i dalje su u porastu, što je u više od 2% pacijenata u tri godine primjene lijeka dovelo do fatalnih zatajenja jetre. Troglitazon posjeduje jedinstvenu kromansku strukturu vitamina E koja ima potencijal biotransformacije u reaktivne metabolite – kinon metid, fenoksi radikal intermedijer te epoksid, za koje se smatra da induciraju apoptozu u hepatičkim i nehepatičkim stanicama, no točan mehanizam nije potvrđen. Više od 70% troglitazona metabolizira se fenol sulfotransferazom u troglitazon sulfat koji ulazi u enterohepatičku cirkulaciju nakon bilijarne ekskrecije uz visoko vrijeme polueliminacije ($t_{1/2}$). Manji dio se metabolizira glukuronidacijom uz nastanak troglitazon glukuronida i to većim dijelom u intestinalnom traktu, a manjim dijelom u jetri. CYP3A4, CYP2C8 i CYP2C19 metaboliziraju nastanak kinonskih metabolita troglitazona oksidacijom kromanskog prstena vitamina E. Navedeni enzimi dovode do otvaranja prstena i nastanka najmanje tri reaktivna elekrofilna intermedijera. Kako troglitazon kinon ne stupa direktno u interakciju s glutationom, može se dalje oksidirati do *o*-kinona, odnosno otvaranjem prstena nastaju još dva reaktivna intermedijera koji se mogu vezati za DNA ili proteine. Također može doći i do stvaranja kinon epoksida koji smanjuje razine glutationa i veže se kovalentno za sulfihidrilne skupine važnih makromolekula što dovodi do oksidacijskog stresa u hepatocitima (Slika 25).

Potvrda navedene hipoteze je nastanak nekroze centrilobularne zone jetre gdje je najviša razina citokrom P450 enzima, a najniža razina glutationa [73-75].



Slika 25. Biotransformacija troglitazona i toksični učinci, preuzeto i prilagođeno prema Yokol, 2010 [75]

Nakon troglitazona, razvijena su još dva lijeka iz skupine tiazolidindiona, roziglitazon i pioglitazon čija primjena nije povezana s pojavom idiosinkratske hepatotoksičnosti. Smatra se da su razlog tome niže primjenjene doze roziglitazona i pioglitazona u odnosu na troglitazon te nedostatak kromanskog prstena u strukturi navedenih lijekova što onemogućava nastanak kinona (Slika 26).



Slika 26. Lijekovi iz skupine tiazolidindiona i primjenjene doze

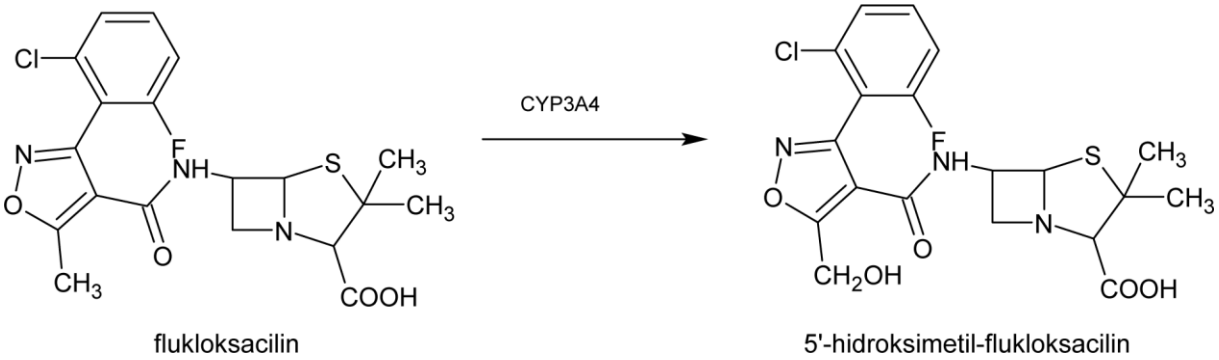
4.1.4.2. Idiosinkratska kolestaza

Za razliku od idiosinkratskog hepatitisa, kod kolestaze prije svega dolazi do povišenja razine ALP-a, uz moguću hiperbilirubinemiju te predstavlja drugi najčešći oblik lijekovima izazvane hepatotoksičnosti. Jedan od primjera je kombinacija amoksicilina i klavulanske kiseline koja dovodi do akutne kolestaze slične bilijarnoj opstrukciji. Liječenje je vrlo dugotrajno, a oštećenja su vidljiva i mjesecima nakon prestanka upotrebe lijekova. Jedan od težih slučajeva, sa smrtnošću od 10% do 50%, je stanje kada dolazi do trostrukog povećanja razina ALT-a i dvostrukog povećanja razina bilirubina što uz kolestazu vodi do hepatocelularne nekroze i posjedične žutice te u najtežim slučajevima potrebo za transplatacijom jetre. Primjer lijekova koji izazivaju obje vrste idiosinkratske hepatotoksičnosti su antiepileptici karbamazepin, fenobarbital, zatim sulfonamidi, verapamil i flutamid.

FLUKLOKSACILIN

Flukloksacilin je polusintetski antibiotik iz skupine β-laktama otporan na djelovanje penicilinaze te se primjenjuje za liječenje infekcija bakterijom *Staphilococcus aureus*. Osim ranije spomenute anafilaksije uzrokovane upotrebom penicilina, zabilježeno je više slučajeva idiosinkratske kolestaze uzrokovane primjenom flukloksacilina. Uglavnom se javlja unutar dva do tri tjedna od početka primjene lijeka (9% slučajeva), no moguće je da se javi i nakon same primjene lijeka. Karakteristični simptomi su žutica i povišeni jetreni enzimi, a upotrebom ursodeoksikolatne kiseline može se ubrzati oporavak nakon prestanka primjene lijeka, iako sama terapija traje i nekoliko mjeseci. Točan mehanizam nastanka idiosinkratske kolestaze nije u potpunosti poznat. Naime u biotransformaciji flukloksacilina sudjeluje CYP3A4 te u hepatocitima dolazi do stvaranja metabolita, uključujući i 5'-hidroksimetil-flukloksacilin za kojeg se smatra da se veže za makromolekule i izaziva imunološki odgovor u žučnim kanalima, što posljedično može dovesti i do nekroze jetre (Slika 27). Među rizičnim

faktorima izdvajaju se spol (češće u žena), životna dob te dnevna doza i duljina primjene flukloksacilina [76-78].

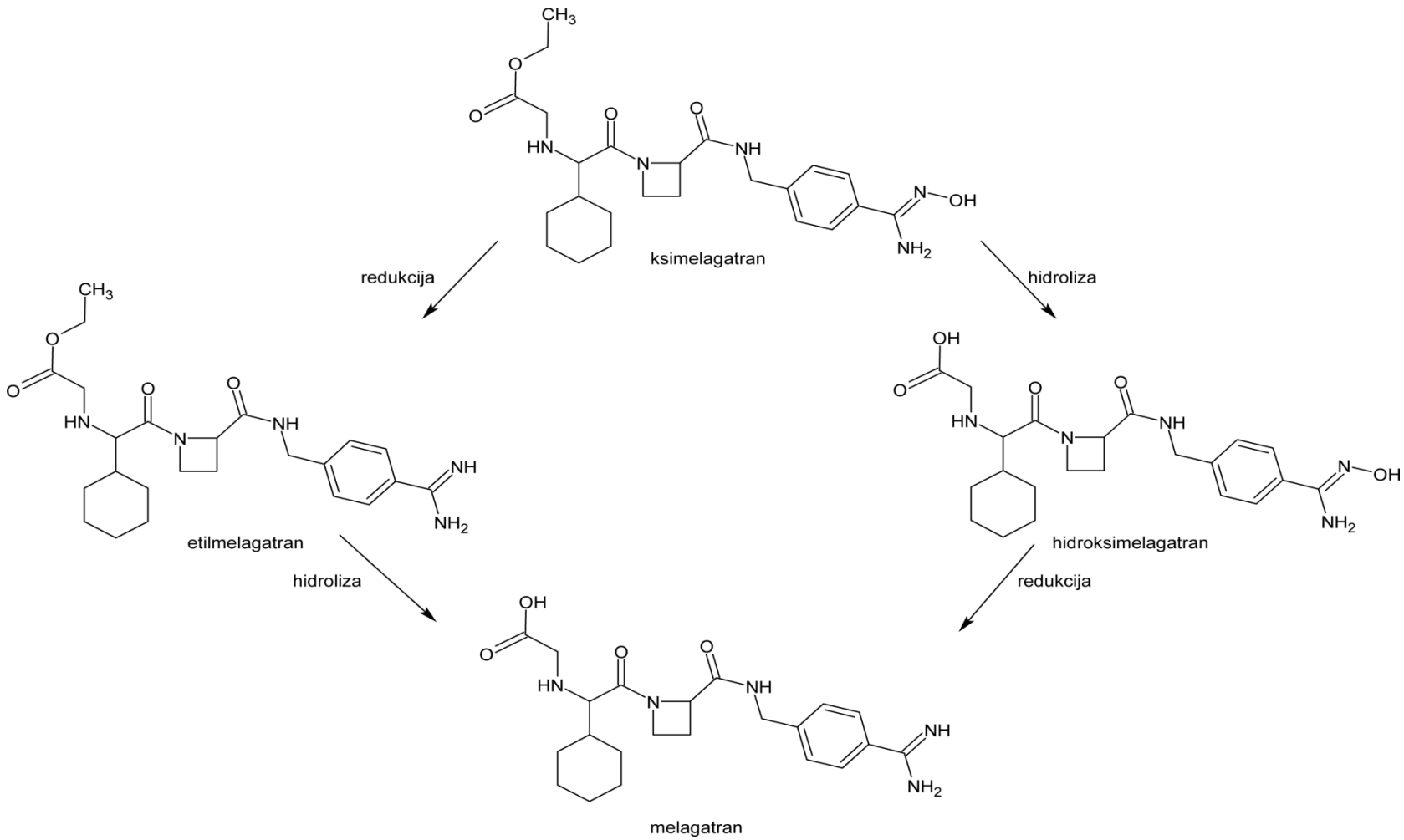


Slika 25. Biotransformacija flukloksacilina u toksični metabolit

KSIMELAGATRAN

Ksimelagatran je prvi oralni direktni inhibitor trombina koji je na tržište došao kao zamjena za antikoagulans varfarin. Tijekom kliničkih ispitivanja sigurnosti i učinkovitosti ksimelagatrana, nije zabilježeno povišenje enzima poput ALT-a, AST-a, ALP-a i bilirubina čime je potvrđena njegova sigurnost. Nakon odobrenja ksimelagatran se počeo sve više propisivati kao prevencija tromboembolijskih bolesti u pacijenata nakon težih operativnih zahvata na donjim ekstremitetima kroz 12, odnosno 35 dana, te za prevenciju srčanog i moždanog udara kod osoba s atrijskom firbrilacijom te nakon preboljene duboke venske tromboze ili plućne embolije kao dugotrajna terapija. Kod kratkotrajne primjene ksimelagatrana nisu zabilježeni slučajevi hepatotoksičnosti koja se najčešće dijagnosticira povišenjem razina ALT-a i AST-a te bilirubina. S druge strane, kod osoba koje su ksimelagatran koristile u periodu od 6, odnosno 12 mjeseci u 96% slučajeva uočeno je povišenje razine ALT-a i do tri puta veće od referentnih vrijednosti te povišenje vrijednosti bilirubina za više od 2 puta u odnosu na referentne vrijednosti. Uslijed dugotrajne primjene ksimelgatrana više od 20% pacijenta razvilo je neki oblik žutice, dok su teža oštećenja jetre, čak i sa smrtnim ishodima uočena u

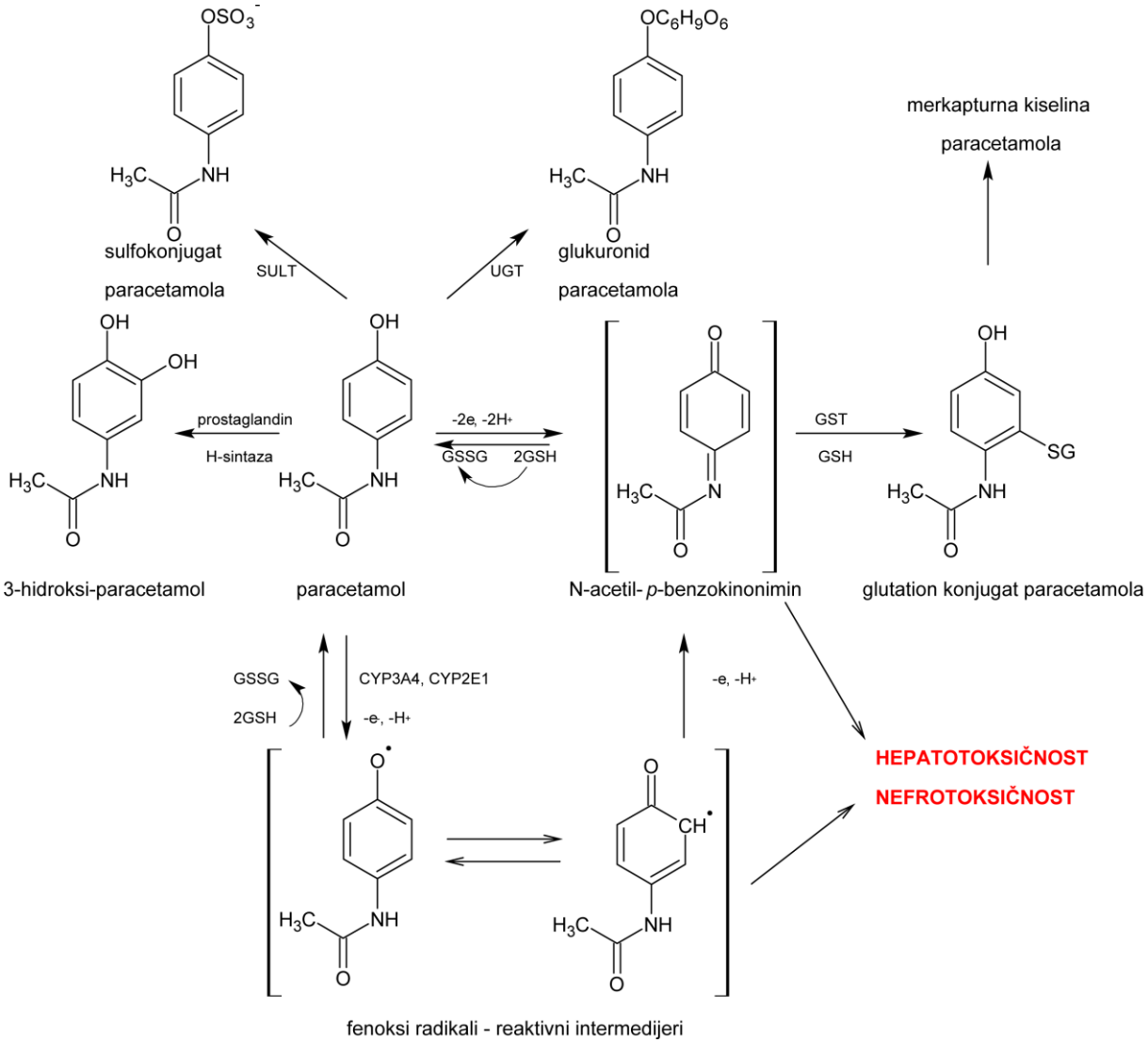
0,5% pacijenata. Nakon prestanka primjene kismelagatrana razine jetrenih transaminaza i bilirubina vraćaju se u referetne intervale unutar dva do tri mjeseca. Navedena zapažanja dovela su do povlačenja ksimelagatrana s tržišta zbog vrlo visokog rizika od razvitka hepatotoksičnosti. Točan mehanizam nije poznat. Općenito lijek može dovesti do toksičnih reakcije svojom biotransformacijom posebice citokrom P450 enzimima prilikom čega nastaju reaktivni metaboliti koji ili su direktno hepatotoksični ili se vežu za proteine u stanicama jetre te izazivaju imunološke reakcije. Biotransformacijom ksimelagatrana dolazi do njegove bioaktivacije u melagatran preko intermedijera etilmelagatrana, no u njihovom nastanku ne sudjeluje ni jedan od citokrom P450 enzima stoga je isključena mogućnost da toksični učinci ksimelagatrana potječu od reaktivnih metabolita, već od ishodne molekule, ksimelagatrana (Slika 28). Jedno od mogućih objašnjenja za nastanak idiosinkratske hepatotoksičnosti proizlazi iz farmakogenetičkih studija koje dovode u vezu povišenje vrijednosti ALT-a s alelima DRB1*07 i DQA*02 glavnog histokompatibilnog kompleksa (MHC) čime se predlaže posredovanje imunološkog sustava u nastanku idiosinkrazije [79].



Slika 28. Biotransformacija ksimelagatrana

PARACETAMOL

Paracetamol je neopioidni analgetik i antipiretik koji se može primjenjivati samostalno, ali i u kombinaciji s drugim lijekovima. U odnosu na nesteroidne protuupalne lijekove, paracetamol ne izaziva iritaciju gastrointestinalnog sustava te ne postoji rizik od razvitka Reyeva sindroma kao što je to kod primjene acetilsalicilne kiseline, što ga činim jednim od najčešće primjenjivanih analgoantipiretika. Uslijed prekoračenja preporučene maksimalne dnevne doze paracetamola od 4 g ili uslijed kombinacije većih količina paracetamola i alkohola, javlja se hepatotoksičnost, a u rijetkim slučajevima i nefrotoksičnost, koje su posljedica biotransformacije paracetamola i zasićenja mehanizama detoksikacije, odnosno genetskog polimorfizma enzima koji sudjeluju u reakcijama detoksikacije. Iako hepatotoksičnost paracetamola nije idiosinkratske naravi, bit će opisana jer čini približno polovicu svi akutnih zatajenja jetre, odnosno preko 40% prijavljenih lijekovima induciranih hepatotoksičnosti. Terapijske doze paracetamola prevode se u netoksične metabolite reakcijama glukuronidacije (50-60% doze lijeka), sulfokonjugacije (30-40% doze lijeka) i hidroksilacije. Produkti oksidacije citokrom P450 enzimima čine manje od 5% ukupnih metabolita. Inhibicija glukuronidacije doprinosi pojavi toksičnih učinaka paracetamola jer njegovom dehidrogenacijom nastaje N-acetil-*p*-benzokinonimin uglavnom djelovanjem CYP3A4 i CYP2E1. N-acetil-*p*-benzokinonimin se povezuje s centrilobularnom nekrozom jer utječe na funkciju mitohondrija. Također, paracetamol može oštetiti medule bubrega koji imaju veliku aktivnost prostaglandin H-sintaze te dolazi do oksidacije paracetamola u fenoksi-radikal koji se dalje oksidira u N-acetil-*p*-benzokinonimin (Slika 29). Ovaj metabolit se učinkovito detoksicira konjugacijom s reduciranim oblikom glutationa te kao konačni produkt nastaje merkapturna kiselina koja se izlučuje urinom [80-82].



Slika 29. Biotransformacija paracetamola i toksični učinci, preuzeto i prilagođeno prema Rendić i Medić-Šarić, 2013 [32]

4.2. Smanjenje rizika nastanka idiosinkratskih reakcija

Kao što je ranije spomenuto, idiosinkratske reakcije su nepredvidive nuspojave na lijekove koje, iako se javljaju s niskom učestalošću, često dovode do po život opasnih stanja. Osim nepredvidivosti idiosinkrazija, veliki problem predstavlja mala učestalost stoga se ne primjećuju za vrijeme kliničkih ispitivanja, već nakon dospijeća lijeka na tržište što nerijetko dovodi do stavljanja oznake upozorenja (engl. *black box)* ili do povlačenja lijekova s tržišta. Stoga se javlja potreba za razvojem strategija prilikom razvoja novih lijekova kojima bi se mogle predvidjeti idiosinkratske reakcije te povećati sigurnost lijekova koji dospijevaju na tržište.

4.2.1. Minimiziranje nastanka reaktivnih metabolita

Iz navedenih primjera lijekova koji uzrokuju idiosinkratske reakcije može se zaključiti da većina nastaje kao posljedica biotransformacije lijekova u reaktivne metabolite. Stoga je jedna od strategija prilikom razvoja novih lijekova, posebice manjih molekulskih masa, pretraživanje onih lijekova koji imaju smanjenu sposobnost stvaranja reaktivnih metabolita. To se prije svega odnosi na izbjegavanje određenih kemijskih skupina koje imaju izražen potencijal za stvaranjem elektrofilnih metabolita koji se mogu kovalentno vezati za makromolekule. Primjer takvih struktura su anilin, hidrazin, nitroaren, tiofen, terminalni alken ili alkin i druge. Na taj način utječe se na biotransformaciju lijekova, odnosno izbjegavaju se oni metabolički putevi koji dovode do nastanka reaktivnih metabolita. Također je primjećeno kako lijekovi koji se uzimaju u većim dozama češće izazivaju idiosinkratske reakcije stoga se predlaže pretraživanje i razvijanje potentnijih molekula. Navedena strategija ne može se primjeniti na velike molekule poput monoklonskih antitijela ili citokina jer se njihovi mehanizmi nastanka idiosinkratskih reakcija razlikuju od onih male molekularne mase [83].

4.2.2. Razvijanje biomarkera za predviđanje rizika od idiosinkratskih reakcija

Prema hipotezi oštećenja kompleks lijeka i proteina koji dovodi do oštećenja stanice ima potencijal da izazove imunološku reakciju. Ako je navedena hipoteza ispravna, biomarkeri koji reflektiraju oštećenja stanice mogu se koristiti za predviđanje rizika lijeka kandidata da uzrokuje idiosinkratske reakcije. Jedan od mogućih biomarkera je praćenje lijekovima uzrokovane promjene genske ekspresije. No njihova učinkovitost u predviđanju rizika za razvitak idiosinkrazija ovisi o mehanizmu nastanka i njegovoj kompleksnosti. Ovakva strategija mogla bi biti vrlo korisna kada bi se radile evaluacije *in vivo* promjene genske ekspresije lijekova za koje je poznato da uzrokuju idiosinkratske reakcije u ljudi u usporedbi s kontrolom, odnosno lijekom koji nije povezan s razvitkom idiosinkrazija [84].

4.2.3. Individualizacija terapije

Točan mehanizam nastanka većine idiosinkratskih reakcija nije u potpunosti poznat. Razvijene su tri hipoteze koje pokušavaju objasniti kako dolazi do nastanka idiosinkrazija te se one međusobno ne isključuju jer većina lijekova izaziva idiosinkrazije vrlo kompleksim mehanizmima. Smatra se da bi bolje poznavanje samog nastanka reakcija i bolje razumijevanje zašto neki lijek u većine pacijenata ne izaziva reakciju, doprinjelo smanjenju rizika od nastanka idiosinkratskih reakcija. Jedan od mogućih načina je i genotipizacija koja bi omogućila da se ovisno o genomu pojedine osobe terapija propisuje ciljano čime bi se uvelike smanjio rizik nastanka idiosinkratskih reakcija. Jedan od primjera je individualizacija terapije abakavirom u HIV pozitivnih osoba nakon genotipizacije specifičnog HLA alela (HLA-B*5701). Nadalje, jedna od metoda minimizacije rizika i boljeg poznavanja mehanizma nastanka idiosinkratskih reakcija svakako je razvitak animalnih modela. Naime kako je većina idiosinkratskih reakcija posredovana imunološkim sustavom te kako se one kako i u ljudi, a tako i u životinja javljaju s vrlo malom učestalošću i s različitim manifestacijama, teško je dobivene rezultate na animalnim modelima ekstrapolirati na ljude. Također biotransformacija lijekova se različito odvija u životinja i ljudi stoga je teško sa sigurnošću odrediti koji je reaktivan metabolita zaista odgovoran za nastanak reakcije [84].

5. ZAKLJUČAK

Iako lijek prilikom razvoja prolazi rigoroznu procjenu tijekom kliničkih ispitivanja u fazama I-III sve nuspojave se ne uoče. Puštanjem lijeka na tržište, na većoj populaciji se pojavljuju neželjene, idiosinkratske reakcije koje se nisu mogle predvidjeti na osnovi pretkliničkih i kliničkih ispitivanja. Zbog svoje nepredvidive prirode, idiosinkratske reakcije predstavljaju veliki problem prilikom razvoja lijekova stoga je poznavanje osnovnih mehanizama nastanka idiosinkratskih reakcija nužno za procjenu rizika novih lijekova. Idiosinkratske reakcije često su povezane s reaktivnim metabolitima pojedinih lijekova te je dokazano da su analozi koji imaju manje reaktivnih metabolita ujedno i sigurniji.

6. LITERATURA

[1] World Health Organisation [WHO]: Adverse drug reaction database. *Dostupno na: http://www.adr-database.com/What%20are%20ADRs.html*. *Pristupljeno 29. kolovoza 2016.*

[2] Agencija za lijekove i medicinske proizvode (HALMED): Izvješće Agencije za lijekove i medicinske proizvode (HALMED) o prijavama sumnji na nuspojave lijekova u Republici Hrvatskoj za 2015. godinu. Zagreb; 2016.

[3] ABCDE System (Adverse events of type A, B, C, D, E). *Dostupno na: http://www.blackwellpublishing.com/content/BPL_Images/Content_store/Sample_chapter/0632045868/cobertsample.pdf. Pristupljeno 29. kolovoza 2016.*

[4] Edwards IR, Aronson JK. Adverse drug reactions: definition, diagnosis, and management. Lancet 2000;356:1255-59.

[5] Uetrecht J. Idiosyncratic drug reactions. U: Ganten D, Ruckpaul K. ur. Encylopedic reference of genomics and proteomics in molecular medicine. Springer Berlin Heidelberg New York, 2006;856-59.

[6] Routledge P. Adverse drug reactions and interactions: Mechanisms, risk factors, detection, management and prevention. U: Talbot J, Waller P. ur. Stephens' detection of new adverse drug reactions, Fifth edtion. John Wiley & Sons Ltd, 2004;92-128.

[7] Uetrecht J. Idiosyncratic adverse drug reactions: Current Concepts Pharmacol Rev 2013;65:779-808.

[8] Uetrecht J. Immune-mediated adverse drug reactions. Chem Res Toxicol 2009;22:24-34.

[9] Pichler W.J. Drug Hypersensitivity reactions: Classification and relationship to T-cell activation. U: Pichler W.J. ur. Drug hypersensitivity. Karger,2007;168-190.

[10] Wilke RA, Lin DW, Roden DM i sur. Identifying genetic risk factors for seroius adverse drug reactions: current progress and challenges. Nat Rev Drug Discov 2007;6:904-16.

[11] Pirmohamed M. Pharmacogenetics of idiosyncratic adverse drug reactions. U: Uetrecht J. ur. Adverse drug reactions: Handbook of experimental pharmacology. Springer-Verlag Berlin Heidelberg,2010;478-90.

[12] Demoly P, Viola M, Gomes RE, Romano A. Epidemiology and causes of drug hypersensitivity. U: Pchler WJ. ur. Drug hypersensitivity. Karger,2007;168-190.

[13] Burnet FM. Immunological recognition of self. Science 1961;133:307-11.

[14] Janeway CA Jr. The priming of helper T cells. Semin Immunol 1989;1:13-20.

[15] Janeway CA Jr. The immune system evolved to descriminate infectios nonself from noninfectious self. Immunol Today 1992;13:11-6.

[16] Miyake K. Innate immune sensing of pathogens and danger signals by cell surface Toll-like receptors. Semin Immunol 2007;19:3-10.

[17] Parker CW. Allergic reactions in man. Pharmacol Rev 1982;34:85-104.

[18] Matzinger P. The Danger model in its historical context. Scand J Immunol 2001;54:4-9.

[19] Matzinger P. The Danger model: A renewed sense of self. Science 2002;296:301-5.

[20] Uetrecht J. Idiosyncratic drug reactions: Past, present, and future. Chem Res Toxicol 2008;21:84-92.

[21] Park KB, Sanderson JP, Naisbitt DJ. Drugs as haptens, antigens, and immunogens. U: Pichler WJ. ur. Drug hypersensitivity. Karger,2007;55-65.

[22] Li J, Uetrecht J. D-Penicillamine-induced autoimmunity: Relationship to macrophage activation. Chem Res Toxicol 2009;22:1526-33.

[23] Uetrecht J. New concepts in immunology relevant to idiosyncratic drug reactions: The "danger hypothesis" and innate immune system. Chem Res Toxicol 1999;12:387-95.

[24] Li J, Uetrecht J. The Danger hypothesis applied to idiosyncratic drug reactions. U: Uetrecht J. ur. Adverse drug reactions: Handbook of experimental pharmacology. Springer-Verlag Berlin Heidelberg,2010;493-507.

[25] Pirmohamed M, Naisbitt DJ, Gordon F, Park BK. The danger hypothesis—potential role in idiosyncratic drug reactions. Toxicology 2002;181:55-63.

[26] Pichler WJ. Pharmacological interaction of drugs with antigen-specific immune receptors: the p-i concept. Curr Opin Allergy Clin Immunol 2002;2:301-5.

[27] Ariza A, Mayorga C, Fernandez TD i sur. Hypersensitivity reactions to β-lactams: Relevance of hapten-protein conjugates. J Investig Allergol Clin Immunol 2015;25:12-25.

[28] Shenton JM, Chen J, Uetrecht J. Animal models of idiosyncratic drug reactions. Chem Biol Interact 2004;150:53-70.

[29] Shenton JM, Popovic M, Chen J i sur. Evidence of an immune-mediated mechanism for an idiosyncratic nevirapine-induced reaction in the female Brown Norway rat. Chem Res Toxicol 2005;18:1799-1813.

[30] Uetrecht J. Reactive metabolites. U: Uetrecht J, Trager W. ur. Drug metabolism: Chemical and enzymatic aspects. Texbook edition. Informa Healthcare USA, Inc,2007;145-67.

[31] Uetrecht J. Conjugation pathways. U: Uetrecht J, Trager W. ur. Drug metabolism: Chemical and enzymatic aspects. Texbook edition. Informa Healthcare USA, Inc,2007;130-44.

[32] Rendić S, Medić-Šarić M. Metabolizam lijekova i odabranih ksenobiotika. Medicinska naklada,2013;337-339.

[33] Uetrecht J. Screening for the potential of a drug candidate to cause idiosyncratic drug reactions. Drug Discovery Today 2003;8:832-37.

[34] Walsh JS. Metabolic activation – Role in toxicity and idiosyncratic reactions. U: Borhardt RT, Kerns EH, Hagerman MJ, Thakler DR, Stevens JL. ur. Optimizing the „Drug-like“ properties of leads in drug discovery. Springer Science + Business Media,2006;49-80.

[35] Uetrecht J. *N*-oxidation of drugs associated with idiosyncratic drug reactions. Drug Metabolism Reviews 2002;34:651-65.

[36] Waldhauser L., Uetrecht J. Oxidation of propythiouracil to reactive metabolite by activated neutrophils. Implication for agranulocytosis. Drug Metab Dispos 1991;19:354-59.

[37] Uetrecht J. The respiratory burst and drug metabolism: Implications for idiosyncratic drug reactions and antiinflammatory effects. U: Tarr M, Samson F. ur. Oxigen free radicals and tissue damage. Excerpta Medica,1993;147-54.

[38] Hausmann O, Schnyder B, Pichler WJ. Drug hypersensitivity reactions involving skin. U: Uetrecht J. ur. Adverse drug reactions: Handbook of experimental pharmacology. Springer-Verlag Berlin Heidelberg,2010;29-55.

[39] Leeder JS. Mechanisms of idiosyncratic hypersensitivity reactions to antiepileptic drugs. Epilepsia 1998;39:8-16.

[40] Zaccara G, Franciotta D, Perucca E. Idiosyncratic adverse reactions to antiepileptic drugs. Epilepsia 2007;48:1223-44.

[41] Cribb AE, Miller M, Leeder JS i sur. Reactions of the nitroso and hydroxyilamine metabolites of sulfamethoxazole with reduced glutathion. Implication for idiosyncratic toxicity. Drug Metab Dispos 1991;19:900-6.

[42] Williams DP, Park BK. Idiosyncratic toxicity: The role of toxicophores and bioactivation. Drug Discovery Today 2003;8:1044-50.

[43] Chen J, Mannargudi BM, Xu L, Uetrecht J. Demonstration of the metabolic pathway responsible for nevirapine-induced skin rash. Chem Res Toxicol 2008;21:1862-70.

[44] Sharma AM, Novalen M, Tanino T, Uetrecht J. 12-OH-Nevirapine sulfat, formed in the skin, is responsible for nevirapine induced skin rash. Chem Res Toxicol 2013;26:817-27.

[45] Aster RH. Adverse drug reactions affecting blood cells. U: Uetrecht J. ur. Adverse drug reactions: Handbook of experimental pharmacology. Springer-Verlag Berlin Heidelberg,2010;57-76.

[46] Tesfa D, Keisu M, Palmblad J. Idiosyncratic drug-induced agranulocytosis: Possible mechanisms and management. Am J Hematol 2009;84:428-34.

[47] Ng W, Kennar R, Uetrecht J. Effect of clozapine and olanzapine on neutrophil kinetics: Implication for drug-induced agranulocytosis. Chem Res Toxicol 2014;27:1104-8.

[48] Liu ZC, Uetrecht J. Metabolism of ticlopidine by activated neutrophils: Implications for ticlopidine-induced agranulocytosis. Drug Metab Dispos 2000;28:726-30.

[49] Aster RH. Drug-induced immune cytopenias. J Tox 2005;209:149-53.

[50] Kenney B, Stach G. Drug-induced thrombocytopenia. Arch Pathol Lab Med 2009;133:309-14.

[51] Chong BH. Heparin-induced thromocytopenia. J Thrombosis and Haemostasis 2003;1:1471-78.

[52] Tempelhof MW, Benzuly KH, Fintel D, Krichavsky MZ. Eptifibatide-induced thrombocytopenia. Tex Heart Inst J 2012;39:86-91.

[53] Peter K, Straub A, Kohler B i sur. Platelet activation as a potential mechanism of GP IIb/IIIa inhibitor-induced thrombocytopenia. Am J Cardio 1999;84:519-24.

[54] Shah RA, Musthaq A, Khardori N. Vancomycin-induced thrombocytopenia in a 60-year old man: a case report. J. Med Case Rep 2009;3:7290.

[55] Bougie D, Aster R. Immune throbocytopenia resulting from sensitivity to metabolites of naproxen and acetaminophen. Blood 2001;97:3846-50.

[56] Uetrecht J. Drug metabolism by leukocytes and its role in drug-induced lupus and other idiosyncratic drug reactions. J Critical Reviews in Toxicology 1990;20:213-35.

[57] Pirmohamed M, Leeder SJ. Anticonvulsant agents. U: Kaplowitz N, DeLeve LD. ur. Drug-induced liver disease, second edition. Informa Healthcare USA,2007;485-506.

[58] Knowles SR, Uetrecht J, Shear NH. Idiosyncratic drug reactions: the reactive metabolite syndromes. Lancet 2000;356:1587-91.

[59] Szyper-Kravitz M, Shoenfeld Y. Drug-induced autoimmnuity. U: Shoenfeld Y i sur. Diagnostic criteria in autoimmune diseases. Humana Press,2008;59-63.

[60] Richardson B. DNA methylation and autoimmune disease. Clin Immunol 2003;109:72-9.

[61] Yung RL, Richardson BC. Role of T cell DNA methylation in lupus syndromes. Lupus 1994;3:487-91.

[62] Deng C, Lu Q, Zhang Z i sur. Hydralazinemay induce autoimmunity by inhibiting extracellular signal-regulated kinase pathway signaling. Arthritis Rheum 2003;48:746-56.

[63] Cameron HA, Ramsay LE. The lupus syndrome induced by hydralazine: a common complication with low dose treatment. Brit Med J 1984;289:410-12.

[64] Kaplowitz N. Drug-induced liver disease. U: Kaplowitz N, DeLeve LD. ur. Drug-induced liver disease, second edition. Informa Healthcare USA,2007;485-506.

[65] Russmann S, Jetter A, Kullak-Ublick GA. Pharmacogenetics of drug-induced liver injury. Hepatology 2010;52:748-61.

[66] Park BK, Kitteringham NR, Maggs JL i sur. The role of metabolic activation in drug-induced hepatotoxicity. Annu Rev Pharmacol Toxicol 2005;45:177-202.

[67] Holt M, Ju C. Drug-induced liver injury. U: Uetrecht J. ur. Adverse drug reactions: Handbook of experimental pharmacology. Springer-Verlag Berlin Heidelberg,2010;29-55.

[68] Guengerich FP. Cytochrome P450 activation of toxins and hepatotoxicity. U: Kaplowitz N, DeLeve LD. ur. Drug-induced liver disease, second edition. Informa Healthcare USA,2007;13-32.

[69] Silva MFB, Aires CCP, Luis PBM i sur. Valproic acid metabolism and its effects on mitochondrial fatty acid oxidation: A review. J Inherit Metab Dis 2008;31:205-16.

[70] Rettie AE, Rettenmeier AW, Howald WN, Baillie TA. Cytochrome P450 catalyzed formation of delta 4-VPA, a toxic metabolite of valproic acid. Science 1987;235:890-93.

[71] Parkinson A. Biotransformation of xenobiotics. U: Klaassen CD, Watkins JB ur. Casarett & Doull's essentials of toxicology. Mc Graw-Hill Medical,2010;133-224.

[72] Yamada S, Tang M, Richardson K i sur. Genetic variation of NAT 2 and CYP2E1 and isoniazide hepatotoxicity in a diverse population. Pharmacogenomics 2009;10:1433-45.

[73] Smith MT. Mechanism of troglitazone hepatotoxicity. Chem Res Toxicol 2003;16:679-87.

[74] Bhardwaj SS, Chalasani NP. Hepatotoxicity of cardiovascular and antidiabetic medications. U: Kaplowitz N, DeLeve LD. ur. Drug-induced liver disease, second edition. Informa Healthcare USA,2007;593-630.

[75] Yokol T. Troglitazone. U: Uetrecht J. ur. Adverse drug reactions: Handbook of experimental pharmacology. Springer-Verlag Berlin Heidelberg,2010;419-36.

[76] Jenkins RE, Meng X, Elliot V i sur. Characterisation of flucloxacillin and 5-hydroxymethyl flucloxacillin haptenated HSA *in vitro* and *in vivo.* Proteomics 2009;3:720-9.

[77] Moseley RH. Antibacterial and antifungal agents. U: Kaplowitz N, DeLeve LD. ur. Drug-induced liver disease, second edition. Informa Healthcare USA,2007;527-37.

[78] Dalvie DK, Khosla N, Vincent J. Excretion and metabolism of trovafloxacin in humans. Drug Metab Disp 1997;25:423-7.

[79] Keisu M, Andresson TB. Drug-induced liver injury in humans: The case of ximelagatran. U: Uetrecht J. ur. Adverse drug reactions: Handbook of experimental pharmacology. Springer-Verlag Berlin Heidelberg,2010;407-18.

[80] Hinson JA, Roberts DW, James LP. Mechanisms of acetaminophen-induced liver necrosis. U: Uetrecht J. ur. Adverse drug reactions: Handbook of experimental pharmacology. Springer-Verlag Berlin Heidelberg,2010;369-406.

[81] Nelson SD, Bruschi SA. Mechanism of acetaminophen-induced liver disease. U: Kaplowitz N, DeLeve LD. ur. Drug-induced liver disease, second edition. Informa Healthcare USA,2007;353-88.

[82] Lee NM, Ostapowicz G. Acetaminophen: pathology and clinical presentation of hepatotoxicity. U: Kaplowitz N, DeLeve LD. ur. Drug-induced liver disease, second edition. Informa Healthcare USA,2007;389-406.

[83] Cribb A. Predicting idiosyncratic drug reactions. U: Borhardt RT, Kerns EH, Hagerman MJ, Thakler DR, Stevens JL. ur. Optimizing the „Drug-like“ properties of leads in drug discovery. Springer Science + Business Media,2006;272-99.

[84] Kumar S, Mitra K, Kassahun K, Baillie TA. Approaches for minimizing metabolic activation of new drug candidates in drug discovery. U: Uetrecht J. ur. Adverse drug reactions: Handbook of experimental pharmacology. Springer-Verlag Berlin Heidelberg,2010;512-41.

7. ŽIVOTOPIS

OSOBNI PODACI

Ime i prezime	Andrea Antolić
Datum i mjesto rođenja	01.11.1990., Zagreb
Adresa	Trg mladosti 11, Zaprešić
Telefon	01/3398-631; 099/690-3401
e-mail	aantolic1@gmail.com

OBRAZOVANJE

2015. Prirodoslovno-matematički fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Poslijediplomski doktorski studij, smjer *Biologija*

2015. Farmaceutsko-biokemijski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Poslijediplomski specijalistički studij *Razvoj lijekova*

2009.-2014. Farmaceutsko-biokemijski fakultet Sveučilišta u Zagreb, Integrirani preddiplomski i diplomski studij *Farmacije*, modul *Istraživanje i razvoj*

ZAPOSLENJE

Lipanj 2016.	operativni voditelj projekta *Salvus kutak*, Salvus d.o.o.
Prosinac 2015.-lipanj 2016.	ljekarnik, ZU Ljekarne Švaljek Zabok
Rujan 2014.-prosinac 2015.	ljekarnik pripravnik, ZU Ljekarne Švaljek Marija Bistrica
Listopad 2013.-lipanj 2014.	demonstrator, Zavod za analitiku i kontrolu lijekova, Farmaceutsko-biokemijski fakultet Sveučilišta u Zagrebu

RADOVI

Maleš Ž, Antolić A, Babić I, Jurić S, Bojić M. Quantitative analysis of phenolic acids and antiplatelet activity of *Melissa officinalis* L. Leaves extract. Natural Product Communications 2016;11.

POSTERI

1. M. Bojić, A. Antolić, H. Rimac. Polyphenol Constituents Responsible for Antiaggregatory Activity of Propolis. 24th Scientific Congress of the Austrian Pharmaceutical Society (ÖPhG). Beč, Austrija, 12.-14.9.2015.

2. Antolić A, Bojić M, Tomičić M. Određivanje antiagregacijskog učinka propolisa. 5. hrvatski kongres farmacije s međunarodnim sudjelovanjem. Rovinj, Hrvatska, 21.-24.5.2015. Hrvatsko farmaceutsko društvo, 2015: 147.

3. Bojić M, Antolić A, Maleš Ž. Geografsko profiliranje propolisa. 3. kongres farmaceuta Bosne i Hercegovine, Sarajevo, Bosna i Hercegovina, 14-17.5.2015. Pharmacia 2015, 18 (S1): 86.

4. Bojić M, Antolić A, Tomičić M, Medić-Šarić M. Učinak etanolnih ekstrakata propolisa na agregaciju trombocita. 3. kongres farmaceuta Bosne i Hercegovine, Sarajevo, Bosna i Hercegovina, 14-17.5.2015. Pharmacia 2015, 18 (S1): 115-116.

5. Maleš, Ž., Antolić, A., Suban Jakuš, V., Miličević, I., Bojić, M. HPLC analiza i antiagregacijski učinak etanolnih ekstrakata listova matičnjaka *Melissa officinalis* L. 5. hrvatski botanički simpozij. Primošten, Hrvatska, 22.-25.9.2016.

ČLANSTVA

2015. Hrvatska ljekarnička komora

2014. Hrvatsko farmaceutsko društvo

8. TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Temeljna dokumentacijska kartica

Sveučilište u Zagrebu
Farmaceutsko-biokemijski fakultet
Zavod za farmaceutsku kemiju
A. Kovačića 1, 10000 Zagreb, Hrvatska

Specijalistički rad

ZNAČENJE REAKCIJA BIOTRANSFORMACIJA U POJAVI IDIOSINKRATSKIH REAKCIJA LIJEKOVA

Andrea Antolić

SAŽETAK

Osnovna podjela nuspojava na lijekova je na nuspojave tipa A koje nastaju kao posljedica pretjeranog farmakološkog učinka lijeka, te na nuspojave tipa B, odnosno idiosinkratske reakcije. Idiosinkratske reakcije su nepredvidive, odgođene u nastanku, niske učestalosti, ali velike smrtnosti. Čine 10% ukupnih nuspojava na lijekove i predstavljaju veliki problem s obzirom da su posljedice takvih reakcija često opasne po život, a sam mehanizam nastanka nije u potpunosti razjašnjen. Ispitivanja toksičnosti tijekom razvoja novih lijekova pokazala su se neučinkovita u predviđanju lijeka kandidata i njegove povezanosti s pojavom idiosinkratskih reakcija, što često dovodi do povlačenja lijekova s tržišta ili stavljanja oznake upozorenja. Dosadašnja istraživanja pokazuju kako je biotransformacija lijekova u reaktivne metabolite ponekad uzrokom nastanka idiosinkratskih reakcija, stoga postoji potreba za boljim razumijevanjem osnovnih mehanizama koji dovode do stvaranja reaktivnih metabolita. Idiosinkratske reakcije mogu zahvatiti bilo koji organ, no najčešće se manifestiraju na koži, jetri te koštanoj srži, a većina nastaje posredovanjem imunološkog sustava. Pregledom literature iz PUBMED citatne baze primjenom ključnih riječi naziv lijeka i idiosinkratske reakcije, prikazani su karakteristični lijekovi i njihova biotransformacija u reaktivne metabolite prema mjestu nastanka idiosinkratske reakcije. Kako je malen broj prikladnih modela za ispitivanje mehanizama nastanka idiosinkratskih reakcija, prilikom razvoja novih lijekova potrebno je razviti strategije za predviđanje takvih reakcija. Moguće strategije su izbjegavanje funkcionalnih skupina koje su podložne biotransformaciji u reaktivne metabolite, praćenje kovalentnog vezanja potencijalnog lijeka za makromolekule ili glutation te pronalazak novih animalnih modela koji bi omogućili bolje razumijevanje mehanizma.

Rad je pohranjen u Središnjoj knjižnici Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.

Rad sadrži: 91 stranicu, 29 grafičkih prikaza, 4 tablice i 84 literaturnih navoda. Izvornik je na hrvatskom jeziku.

Ključne riječi: Nuspojave lijekova, idiosinkratske reakcije, reaktivni metaboliti, biotransformacija lijekova.

Mentor: **Dr. sc. Mirza Bojić**, docent Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.

Ocjenjivači: **Dr. sc. Milena Jadrijević-Mladar Takač**, izvanredna profesorica Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.
Dr. sc. Mirza Bojić, docent Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta
Dr. sc. Marijana Erceg, znanstvena suradnica, Pliva.

Rad prihvaćen: rujan 2016.

Basic documentation card

University of Zagrebu
Faculty of Pharmacy and Biochemistry
Department of medicinal chemistry
A. Kovačića 1, 10000 Zagreb, Croatia

University master thesis

THE ROLE OF DRUG BIOTRANSFORMATION IN IDIOSYNCRATIC TOXICITY

Andrea Antolić

SUMMARY

Adverse drug reactions (ADR) are conventionally classified into two types – type A reactions that are result of enhanced pharmacological effect, and type B reactions, or idiosyncratic drug reactions. Idiosyncratic drug reactions are unpredictable, delayed in onset, low frequency but high mortality. Representing 10% of total ADRs, they remain a big problem considering that the consequences of such reactions are often life-threatening, and the mechanisms are not fully understood. Toxicity testing has been ineffective in the prediction of drug candidates that could be associated with a relatively high incidence of idiosyncratic drug reactions, which sometimes leads to the withdrawal of some drugs from the market or "black box" warnings for others. Previous studies have shown at the biotransformation of drugs to reactive metabolites are often cause of idiosyncratic drug reaction, therefore there is a need for better understanding of the basic mechanisms involved in the formation of reactive metabolites. Idiosyncratic drug reactions can affect any organ, but the skin, liver, and bone marrow are the most common targets and most idiosincratic drug reactions appear to be immune mediated. A literature search of PubMed citation database using the keywords drug and idiosyncratic drug reactions was used in this review. The paucity of animal models makes mechanistic studies very difficult to proceed, so there is a need to develop some screening methods for the idiosincratic drug reactions. Possible strategies are avoiding functional groups that are susceptible to biotransformation to reactive metabolites, screening of covalent binding to proteins or formation of gluthatione conjugates, and finding new animal models which would allow better understanding of the mechanism.

The thesis is deposited in the Central Library of the University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry.

Thesis includes: 91 pages, 29 figures, 4 tables and 84 references. Original is in Croatian language.

Keywords: Adverse drug reactions, idiosyncratic drug reactions, reactive metabolites, drug biotransformation.

Mentor: **Mirza Bojić**, **Ph.D.** *Asisstant Professor,* University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry

Reviewers: **Milena Jadrijević-Mladar Takač**, **Ph.D.**, *Associate Professor* University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry

Mirza Bojić, **Ph.D.**, *Asisstant Professor*, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry

Marijana Erceg, **Ph.D.** *Reseach Associate,* Pliva

The thesis was accepted: Septmeber 2016