

# Utjecaj pušenja na koncentracije olanzapina u pacijenata sa shizofrenijom

---

Kadija, Mate

Master's thesis / Diplomski rad

2018

*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:163:796899>

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

*Download date / Datum preuzimanja:* **2024-11-25**



*Repository / Repozitorij:*

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



**Mate Kadija**

**Utjecaj pušenja na koncentracije olanzapina u  
bolesnika sa shizofrenijom**

**DIPLOMSKI RAD**

Predan Sveučilištu u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskom fakultetu

Zagreb, 2018.

Ovaj diplomski rad prijavljen je na kolegiju Farmakologija Farmaceutsko-biokemijskog Sveučilišta u Zagrebu i izrađen na Zavodu za farmakologiju i u Laboratoriju za multidisciplinarnu primjenu kromatografije na Kliničkom zavodu za laboratorijsku dijagnostiku KBC-a Zagreb pod stručnim vodstvom doc. dr. sc. Mile Lovrić i izv. prof. dr. sc. Lidije Bach-Rojecky.

*Zahvaljujem se mentorima, doc. dr. sc. Mili Lovrić i izv. prof. dr. sc. Lidiji Bach-Rojecky, na pruženoj prilici za izradu diplomskog rada, uloženom trudu, strpljenju i pomoći prilikom pisanja.*

*Hvala svim ispitanicima bez kojih ovo istraživanje ne bi bilo moguće provesti.*

*Također se zahvaljujem obitelji i prijateljima koji su mi bili podrška tijekom studiranja.*

## SADRŽAJ

1. UVOD.....	1
1.1.1. Shizofrenija.....	1
1.1.1. Povijest o shizofreniji.....	1
1.1.2. Epidemiologija.....	1
1.1.3. Etiologija.....	1
1.1.4. Serotoninergična teorija shizofrenije.....	3
1.1.5. Dopaminergična teorija shizofrenije.....	3
1.1.6. Glutamatna teorija shizofrenije.....	5
1.1.7. Simptomi i dijagnoza.....	6
1.1.8. Liječenje i adherencija.....	8
1.2. Antipsihotici.....	10
1.2.1. Antipsihotici prve generacije.....	10
1.2.2. Antipsihotici druge i treće generacije.....	12
1.2.3. Olanzapin.....	13
1.2.4. Depo oblik olanzapin pamoata.....	15
1.2.5. Ovisnost o pušenju.....	16
1.2.6. CYP1A2.....	17
2. OBRAZLOŽENJE TEME.....	18
3. MATERIJALI I METODE.....	19
3.1. Materijali.....	19
3.1.1. Uzorci.....	19
3.1.2. Oprema.....	19
3.1.3. Kemikalije.....	20
3.1.4. Laboratorijski pribor.....	20
3.2. Metode.....	21
3.2.1. Obrada uzoraka.....	21
3.2.2. Ekstrakcija uzoraka.....	21
3.2.3. Kromatografski uvjeti.....	22
3.2.4. Priprema mobilne faze.....	23
3.2.5. Priprema kalibratora i izrada kalibracijske krivulje.....	24
3.2.6. Priprema uzoraka za unutarnju kontrolu kvalitete.....	24
3.3. Statističke metode.....	25

4. REZULTATI.....	26
4.1. Klinički i demografski podaci bolesnika uključenih u studiju .....	26
4.2. Koncentracija olanzapina prema spolu .....	27
4.3. Koncentracija olanzapina prema načinu primjene terapije.....	29
4.4. Koncentracija olanzapina prema pušenju .....	31
4.5. Koncentracija olanzapina prema broju cigareta dnevno .....	33
5. RASPRAVA.....	35
5.1. Koncentracija olanzapina prema spolu .....	35
5.2. Koncentracija olanzapina prema načinu primjene terapije.....	36
5.3. Koncentracija olanzapina prema pušenju .....	37
5.4. Koncentracija olanzapina prema broju cigareta dnevno .....	38
6. ZAKLJUČCI .....	40
7. LITERATURA.....	41
8. SAŽETAK/ SUMMARY .....	45
9. PRILOZI.....	47
9.1. Popis kratica.....	47
10. TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA/ BASIC DOCUMENTATION CARD	

## **1.1 SHIZOFRENIJA**

### **1.1.1. POVIJEST O SHIZOFRENIJI**

Naziv „shizofrenija“ potječe od grčkih riječi „schizein“-cijepam i „phren“-duša ili razum, što u prijevodu znači rascjep duše ili razuma. To je kronična mentalna bolest karakterizirana gubitkom dodira sa stvarnošću, halucinacijama, deluzijama, slabim izražavanjem emocija praćena socijalnim i radnim disfunkcijama. 1911. godine švicarski psihijatar Eugen Bleuler je prvi upotrijebio naziv shizofrenija za bolest koja je do tada bila poznata kao dementia praecox (preuranjena demencija). Taj termin je 1951. uveo francuski psihijatar Morel zapazivši poremećaj koji nastupa u adolescenciji i rezultira intelektualnim propadanjem, dok Hecker 1871. opisuje sindrom intelektualnog propadanja u mladih osoba s fazama promjenjivog raspoloženja i naziva ga hebephrenia. Ubrzo nakon, Kahlbaum opisuje katatoniju, a 1896. Kraepelin uočava različite kliničke slike iste bolesti; katatona, hebefrena i paranoidna dementia praecox (Jablensky, 2010).

### **1.1.2. EPIDEMIOLOGIJA**

Prevalencija shizofrenije u svijetu iznosi oko 1% i smatra se neovisnom o spolu, odnosno učestalost između muškaraca i žena je podjednaka. U usporedbi s općom populacijom, veći broj slučajeva prisutan je u nižim društveno-ekonomskim slojevima i povezuje se sa prirodom bolesti koja često dovodi do radne nesposobnosti i posljedične nezaposlenosti i siromaštva. Nadalje, prevalencija bolesnika sa shizofrenijom veća je među samcima i uzrokom toga se smatra prisutnost bolesti i problemi sa ponašanjem te društvena stigma takvih pojedinaca. Bolest se najčešće javlja u mlađoj životnoj dobi; kod muškaraca nešto ranije, u dobi od 18 godina, a u žena u dobi od 25 godina. Rijetki su, ali mogući i prijavljeni, slučajevi nastupa bolesti u djetinjstvu (Howes i sur., 2017).

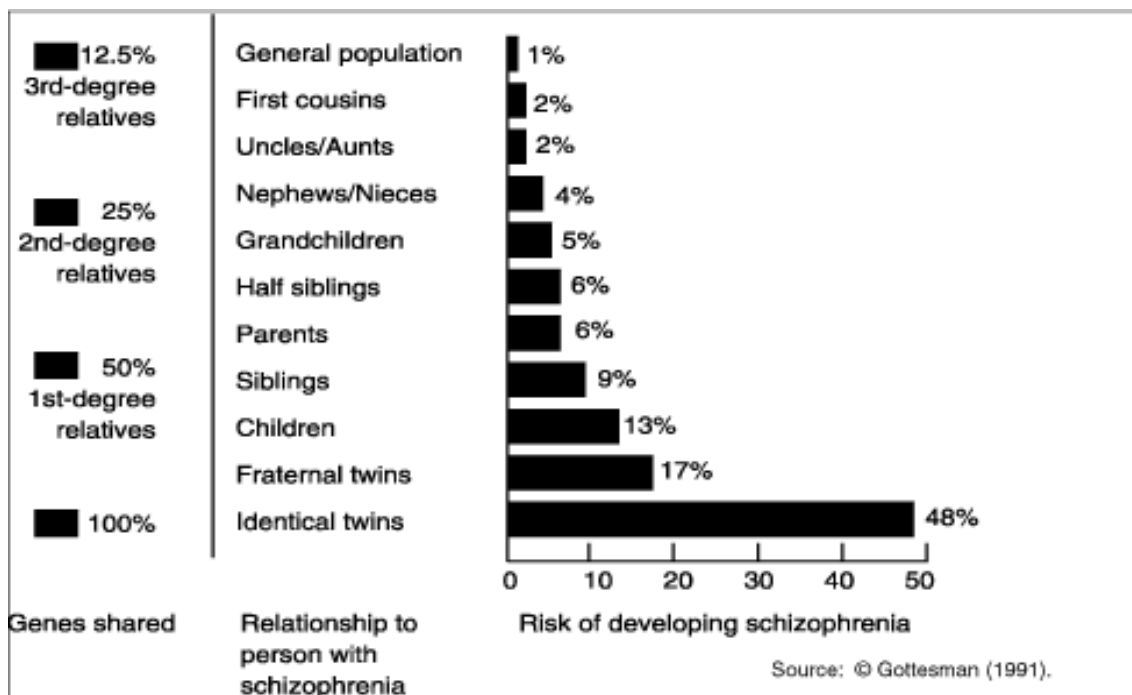
### **1.1.3. ETIOLOGIJA**

Specifičan uzrok bolesti nije poznat, već su u nastanak uključeni brojni genetski i okolišni čimbenici. Shizofrenija ima biološku osnovu koja je dokazana na temelju promjena građe mozga kao što su proširenja moždanih komora i smanjenje hipokampusu te promjeni aktivnosti neurotransmitera poput dopamina i serotonina. Smatra se da je shizofrenija

neurorazvojna bolest i da su funkcionalne i strukturne promjene u mozgu u nekih bolesnika prisutne već *in utero* ili da nastaju tijekom razvoja, djetinjstva i adolescencije, ili oboje. Opasnost od razvoja bolesti povećavaju majčino izgladnjivanje, izloženost gripi tijekom 2. tromjesečja trudnoće, porođajna težina <2500 g, Rh nepodudarnost u drugoj trudnoći te hipoksija (www.msđ-priručnici.com).

Na utjecaj genetike u nastanak bolesti ukazuju obiteljske studije te one provedene na blizancima i posvojenoj djeci gdje je utvrđeno kako je shizofrenija genski poremećaj sa visokom nasljednošću. Rizik obolijevanja od shizofrenije prikazuje Slika 1.

Genetska podloga ne uključuje jedan, već se radi o mutacijama na više gena, što u kombinaciji sa drugim okolišnim čimbenicima rezultira šarolikom kliničkom slikom bolesti, njenim tijekom i pojavnnošću (Katzung i sur., ured., 2011).



Slika 1. Rizik obolijevanja od shizofrenije (www.schizophrenia.com)

#### **1.1.4. SEROTONINERGIČNA TEORIJA SHIZOFRENIJE**

Serotonin ili 5-hidroksitriptamin (5-HT) je monoaminski neurotransmitter dobiven iz aminokiseline triptofana i prisutan je najviše u gastrointestinalnom i središnjem živčanom sustavu te u trombocitima. Znanstvenici su krenuli u potragu za endogenim halucinogenima u krvi, urinu i mozgu bolesnika sa shizofrenijom nakon otkrića da su indolski spojevi LSD (dietilamid lizergične kiseline) i meskalin svoj halucinogeni efekt ostvarili upravo kao agonisti serotonina. Rezultat toga je bila identifikacija mnogo podtipova serotoninskih (5-HT) receptora i otkriće da halucinogeni efekt tih tvari nastaje stimulacijom 5-HT<sub>2A</sub> receptora, a sami endogeni halucinogeni nisu pronađeni. Blokiranje 5-HT<sub>2A</sub> receptora ima važnu ulogu u mehanizmu djelovanju atipičnih antipsihotika poput olanzapina, klopazina i kvetiapina. Dolaskom na mjesto djelovanja, ti lijekovi djeluju kao inverzni agonisti na 5-HT<sub>2A</sub> receptore, blokiraju im konstitutivnu aktivnost i utječu na modulaciju otpuštanja dopamina u korteksu, limbičnoj regiji i strijatumu u mozgu. Stimulacija istih receptora utječe na glutamatne neurone tako da ih depolarizira, ali stabilizira NMDA receptore na postsinaptičkim membranama. Dodatan način modulacije kortikalne i limbične dopaminergične aktivnosti povezan je sa stimulacijom drugog podtipa serotoninskih receptora, a radi se o 5-HT<sub>2C</sub> (Katzung i sur., ured., 2011).

#### **1.1.5. DOPAMINERGIČNA TEORIJA SHIZOFRENIJE**

Poremećaj neurotransmitera u podlozi shizofrenije prvo se krenuo objašnjavati preko dopamina i njegove neravnoteže u određenim područjima mozga koja je povezana sa simptomima bolesti. Danas je poznato da ta teorija ne objašnjava u potpunosti sve aspekte shizofrenije, ali je od iznimne važnosti za razumijevanje djelovanja antipsihotika na dopaminske receptore i postizanja terapijskog učinka te tumačenja pozitivnih, negativnih i kognitivnih simptoma bolesti (Muller, 2009).

Shizofrenija je specifična vrsta psihoze koju karakteriziraju simptomi kao što su deluzije ili pogrešna vjerovanja, halucinacije (često vidne i slušne, rjeđe taktilne i olfaktorne) i često dezorganizirano mišljenje bez oštećenja svijesti. Pet skupina dokaza podupire činjenicu da je nastanak psihoze povezan sa pojačanom aktivnošću limbičnog dopaminergičnog sustava:

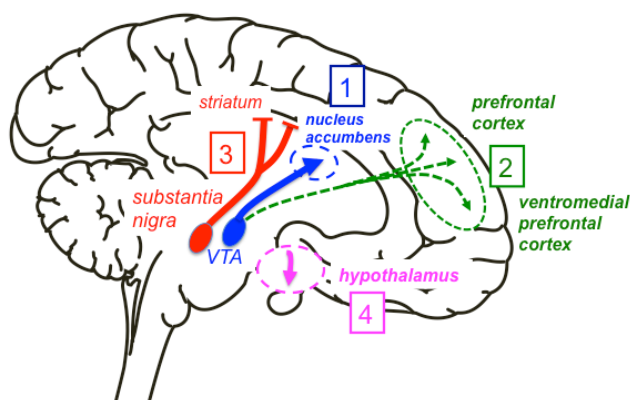
- jakom blokadom postsinaptičkih D<sub>2</sub> receptora u mezolimbičnom i striofrontalnom sustavu u CNS-u veliki broj antipsihotika postiže svoje djelovanje



- pojačavanje dopaminergične aktivnosti lijekovima kao što su levodopa, amfetamin, bromokriptin i apomorfin pogoršava psihozu ili u nekih bolesnika izazove *de novo* psihozu
- postmortalnom analizom je potvrđena povećana gustoća dopaminergičnih receptora u mozgu pacijenata oboljelih od shizofrenije koji nisu bili liječeni antipsihoticima
- na temelju post mortem analize mozga u određenog broja oboljelih uočena je povišena razina dopamina i gustoća D2 receptora u području nukleus akumbensa, nukleus kaudatusa i putamena
- suvremenim slikovnim studijama uočeno je povećano izlučivanje dopamina u strijatumu nakon stimulacije amfetaminom, povećano bazalno zauzeće D2 receptora dopaminom i ostali znakovi pojačane produkcije i oslobađanja dopamina u području strijatuma

Zbog djelotvornosti nekih atipičnih antipsihotika koji su učinkoviti u liječenju shizofrenije, a slabo djeluju na D2 receptore, interes istraživanja se usmjerava prema serotoninским i glutamatnim receptorima. Zajednička karakteristika atipičnih (druga generacija) antipsihotika je slabo antagonističko djelovanje na dopaminske D2 receptore, a puno potentnija blokada serotoninских 5-HT<sub>2A</sub> receptora što rezultira manjim rizikom od ekstrapiramidalnih nuspojava (Muller, 2009).

### Four Dopamine Pathways & Schizophrenia



- 1) Mesolimbic (SCZ - increase in DA causes positive symptoms)
- 2) Mesocortical (SCZ - DA hypoactivity: negative & cognitive & affective symptoms)
- 3) Nigrostriatal (Drugs - EPS & TD drug side effects)
- 4) Tuberohypophyseal (Drugs - hyperprolactinemia side effects)

Slika 2. Uloga dopamina u shizofreniji (www.sciencedirect.com)

### **1.1.6. GLUTAMATNA TEORIJA SHIZOFRENIJE**

Glutamat je najvažniji ekscitacijski neurotransmiter u mozgu i djeluje na neurone aktivacijom ionotropnih (AMPA, KA, NMDA) i metabotropnih receptora, dok su GABA (gama aminomaslačna kiselina) i glicin glavni inhibitorni neurotransmiteri koji se otpuštaju iz lokalnih interneurona. Interneuroni koji otpuštaju GABA prisutni su u cijelom središnjem živčanom sustavu, dok su interneuroni koji otpuštaju glicin prisutni samo u kralježničnoj moždini i moždanom deblu. Zanimljivo je da neki interneuroni u leđnoj moždini mogu otpuštati i GABA i glicin (Katzung i sur., ured., 2011).

Fenilciklidin i ketamin vežu se na N-metil-D-aspartat receptore i djeluju kao nekompetitivni inhibitori i induciraju nastanak spektra pozitivnih, negativnih i kognitivnih simptoma sličnih onima u shizofreniji. Upravo zbog toga, došlo je do teorije kako hipofunkcija NMDA receptora, koji se nalaze na GABAergicnim interneuronima, dovodi do nedovoljnog ili smanjenog inhibicijskog utjecaja na funkciju neurona i pridonosi simptomima shizofrenije (Miyamoto i sur., 2012).

Snižena GABAergična aktivnost može rezultirati dezinhibicijom (uklonjena inhibicija) nizvodne glutamatergične aktivnosti, što nadalje može uzrokovati hiperstimulaciju kortikalnih neurona putem drugih, ne-NMDA receptora (Katzung i sur., ured., 2011).

### 1.1.7. SIMPTOMI I DIJAGNOZA

Termin psihoza odnosi se na brojne mentalne poremećaje kao što su deluzije ili pogrješna vjerojavanja, različite oblike halucinacija (slušne i vidne, rjeđe se javljaju taktilne i olfaktorne) i često dezorganizirano mišljenje bez oštećenja svijesti. Shizofrenija je specifična vrsta psihoze koju opisuje uglavnom očuvana svijest, ali značajan poremećaj mišljenja. Radi se o teškoj psihičkoj bolesti kroničnog tijeka uslijed kojeg osoba ima iskrivljenu sliku stvarnosti i ne može razlikovati stvarne od nestvarnih doživljaja. Važno je napomenuti da psihoza nije prisutna cijelo vrijeme u svih pacijenata oboljelih od shizofrenije (Kane i sur., 2010). Simptomi bolesti se dijele u tri skupine: pozitivni, negativni i kognitivni. Pridjev pozitivan za simptome proizlazi iz činjenice da se radi o nečemu što nije prisutno u općoj populaciji i tu spadaju deluzije, halucinacije, sumanute ideje i iracionalno razmišljanje. Halucinacije su najčešće slušne kada pacijent čuje glasove koji međusobno razgovaraju ili mu nešto govore, vizualne kada vidi nešto što ne postoji u stvarnosti, dok su olfaktorne i taktilne puno rjeđe. Deluzije su pogrešna vjerovanja kada pacijent misli kako ga netko slijedi, muči ili uhodi; u deluzijama odnosa pacijent vjeruje kako se događaji u okolini odnose na njega, primjerice odlomak iz knjige ili novina, tekst pjesme, dok u idejama kontrole vjeruje kako mu netko drugi čita misli, upravlja njegovim osjećajima i ponašanjem. Pozitivni simptomi su obvezno prisutni prije postavljanja dijagnoze, mogu biti različitog intenziteta i uspješno se rješavaju antipsihoticima (Kane i sur., 2010).

Negativni simptomi ukazuju na izostanak nečeg što je normalno prisutno u čovjeka i tu spadaju anhedonija, povlačenje iz socijalnog života, emocionalna ravnodušnost, osiromašen govor i gubitak motivacije. Anhedonija se odnosi na smanjenu sposobnost iskazivanja ugođe i mali interes za prethodne aktivnosti, dok kod emocionalne ravnodušnosti bolesnik ne pokazuje nikakve emocije u situacijama koje bi drugu osobu razveselile ili rastužile. Negativni simptomi se najčešće počinju javljati postupno, ostanu neprepoznati, zamjenjuju se sa depresijom ili crtama ličnosti. Kognitivni simptomi su u vidu poremećaja pamćenja, pozornosti, rješavanja zadataka i učenja. Simptomi shizofrenije često značajno umanjuju sposobnost obavljanja poslova i funkcioniranja u svakodnevnom životu, društvene odnose i brigu o samome sebi. Posljedično dolazi do nezaposlenosti, siromaštva, izdvojenosti i smanjene kvalitete života oboljelog. Sve to može biti popraćeno promjenama raspoloženja kao što su depresija, anksioznost, agresija i suicidalnost (Solmi i sur., 2017).

Procjenjeno je da oko 5% pacijenata sa shizofrenijom izvrši samoubojstvo, a rizični čimbenici uključuju muški spol, dijagnozu u mlađoj životnoj dobi i viši stupanj obrazovanja (Hor i Taylor, 2010).

Do danas ne postoje specifični laboratorijski dijagnostički testovi za shizofreniju, već to rade psihijatri kroz ciljan i strukturiran razgovor sa bolesnikom i njegovom obitelji. U Dijagnostičkom i statističkom priručniku za mentalne bolesti (*engl.*, Diagnostic and Statistical Manual od Mental Disorders, Fifth Edition, DSM 5) nalaze se kriteriji za postavljanje dijagnoze bolesti na temelju broja, pojavnosti i trajanja simptoma u bolesnika. Potrebna su barem dva trajno prisutna simptoma aktivne faze bolesti (halucinacije, deluzije, nerazumljivi govor) od kojih svaki traje barem mjesec dana, te negativni simptomi. Prilikom procjene važno je kroz anamnezu i pregled isključiti tjelesne bolesti ili konzumaciju droga koje mogu uzrokovati pojavu psihoze (Harvey i sur, 2016).

### 1.1.8. LIJEČENJE I ADHERENCIJA

Temelj liječenja shizofrenije predstavlja psihofarmakološki pristup i uporaba lijekova antipsihotika. Bolesnici postižu brži i potpuniji terapijski odgovor ako je vrijeme od početka pojave simptoma i početka liječenja kraće. Dodatne mjere liječenja bolesnika su socioterapija i psihoterapija koje su važan čimbenik u podnošenju samog liječenja antipsihoticima i povećavaju adherenciju pacijenta te su podrška u postizanju željenih terapijskih ciljeva lijekovima. Psihoterapija je područje u razvoju koje se može izvoditi kao individualni, grupni i kognitivno-bihevioralni pristup i fokus je na pacijentu. Uključivanje članova obitelji u proces liječenja i edukacija istih o terapiji, željenim učincima i mogućim nuspojavama rezultirala je time da se postiglo bolje socijalno funkcioniranje pacijenta i smanjena učestalost rehospitalizacija (Solmi i sur., 2017).

Nakon postavljanja dijagnoze, izbor najprikladnijeg antipsihotika se određuje na temelju sigurnosnog profila lijeka i pokazanog učinka u kontroli simptoma bolesti. Kod pacijenata sa prvom epizodom bolesti preporučeno je početi s nižim dozama antipsihotika, a terapijski učinak lijeka ne nastupa odmah, već je potrebno pričekati određeni period za procjenu. Klozapin je lijek izbora tek u slučaju kada se u više terapijskih pokušaja različitim antipsihoticima, od kojih je barem jedan atipičan, ne postigne odgovarajuće liječenje. Nakon prve epizode bolesti preporuka za terapiju održavanja je godina dana, nakon druge epizode pet godina, a bolesnici sa ponavljanim psihotičnim epizodama bi trebali biti na doživotnoj terapiji održavanja (Kane i sur., 2010).

Neadherencija se opisuje kao stupanj pridržavanja propisanoj terapiji ispod kojeg je željeni terapijski učinak malo vjerojatan i predstavlja veliki terapijski problem koji može imati posljedice na bolesnika, društvo i zdravstveni sustav. Primjena velikog broja drugih lijekova uz antipsihotike stvara mogućnost za farmakokinetičke i farmakodinamičke interakcije uslijed kojih može doći do smanjenog ili pojačanog djelovanja nekih lijekova, povećanog rizika od nuspojava i utjecaja na adherenciju pacijenta. Često zajedno sa antipsihoticima mogu biti kombinirani stabilizatori raspoloženja, antikonvulzivi, antikolinergici, antidepresivi ili benzodiazepini i koriste se kontrolu ponašanja (agresivnost), za liječenje nuspojava antipsihotika te za depresiju i anksioznost (Harvey i sur., 2016).

Postotak adherentnih bolesnika sa psihijatrijskim poremećajem je niži od onog kod tjelesnih bolesti i zato je potrebno ustanoviti uzrok tomu i mogućnosti intervencije kako bi se bolesnika potaklo na redovito uzimanje antipsihotika koji su temelj liječenja shizofrenije. Također,

neadherencija se povezuje sa povećanim rizikom od hospitalizacije i samoubojstva u odnosu na adherentne bolesnike (Kane i sur., 2010).

Problem sa adherencijom psihijatrijskih bolesnika je dobro poznat, međutim napredak po pitanju rješavanja istog je ograničen. Dobar odnos s liječnikom i potpora društva i obitelji mogu potaknuti i pozitivno djelovati na suradnju pacijenta, dok na drugu stranu nerazumijevanje tijekom bolesti, negativan stav prema lijekovima, problemi s prethodnom terapijom, zlouporaba droga i društvena stigmatizacija takvih bolesnika negativno utječu na suradnju bolesnika i predstavljaju velik problem u terapiji (Harvey i sur., 2016).

## 1.2. ANTIPSIHOTICI

Antipsihotici se s obzirom na mehanizam djelovanja i profil nuspojava dijele na antipsihotike prve generacije (FGA), antipsihotike druge generacije (SGA) i antipsihotike treće generacije (TGA).

### 1.2.1. ANTIPSIHOTICI PRVE GENERACIJE

Neki od primjera tipičnih antipsihotika su klorpromazin, flufenazin, haloperidol i tioridazon, a prvi otkriveni antipsihotik je klorpromazin i on pripada u skupinu tipičnih antipsihotika (FGA) koje karakterizira jako vezanje i dugodjelujući antagonistički učinak na dopaminske D2 receptore. Upravo blokada tih receptora je odgovorna za terapijski učinak na pozitivne simptome bolesti, ali i razvoj neuroloških nuspojava poput parkinsonizma, akatizije, distonije, tardivna diskinezije (Miyamoto i sur., 2012).

Potentnost blokade D2 receptora korelira sa pojavom neuroloških nuspojava i to ih razlikuje od antipsihotika druge generacije koji su manje potentni u blokadi D2 receptora, ali antagonistički djeluju na serotoninske 5-HT<sub>2A</sub> receptore. Pojačana aktivnost mezolimbicnog puta smatra se najviše povezanom sa ponašanjem i psihozom te blokada D2 receptora u tom dijelu mozga rezultira terapijskim djelovanjem antipsihotika na pozitivne simptome (Katzung i sur., ured., 2011).

Redukcija pozitivnih simptoma zajednička je svim lijekovima u liječenju shizofrenije. Uloga dopamina u nigrostrijatalnom putu vezana je za koordinaciju i voljne pokrete te je blokada D2 receptora u tom dijelu odgovorna za razvoj ekstrapiramidalnih nuspojava. Tuberoinfundibularni put je područje gdje izlučeni dopamin inhibira sekreciju prolaktina iz prednjeg režnja hipofize i blokadom dopaminergičnih receptora dolazi do nastanka nuspojave hiperprolaktinemije. Svi FGA povezani su razvojem hiperprolaktinemije koja može biti asimptomatska, a može uzrokovati ginekomastiju, galaktoreju, amenoreju, seksualne nuspojave, čak i osteoporozi.

Pojava ekstrapiramidalnih nuspojava predstavlja terapijski problem i može negativno utjecati na pacijentovu suradljivost u daljnjem uzimanju terapije, dovodi do onesposobljenosti i stigmatizacije bolesnika i zahtjeva dodatno liječenje. Nuspojave se dijele na akutne, koje nastupaju ubrzo nakon uvođenja ili povećanja doze lijeka i tu spadaju akutna distonija, parkinsonizam i akatizija, i one kasne koje se javljaju uglavnom nakon duljeg liječenja u obliku tardivne diskinezije (Kane i sur., 2010).

U akutnoj distoniji dolazi do nevoljnog spazma skupine mišića dovodeći do iskrivljenja normalnog položaja vrata ili zakretanja očnih jabučica prema gore. To je jako neugodno iskustvo za pacijenta koje nastupa unutar prvih nekoliko dana primjene antipsihotika i može se sprječiti ili zbrinuti uzimanjem biperidena, lijeka sa antikolinergičnim djelovanjem.

Akatizija je česta nuspojava u prva tri mjeseca liječenja FGA i SGA kada pacijent osjeća nemir, posebice u nogama, stalnu potrebu za kretanjem, ne može mirno sjediti uz često ponavljajuće pokrete stalnog križanja nogu. U liječenju ove nuspojave nisu učinkoviti antikolinergici, već benzodiazepini, beta blokatori ili smanjenje doze antipsihotika.

Simptomi parkinsonizma javljaju se nekoliko dana do nekoliko mjeseci od početka liječenja i obuhvaćaju rigidnost mišića, tremor, usporenost ili nedostatak pokreta. Nuspojava se smatra reverzibilnom i različite je duljine trajanja u pacijenata, dok je za ublažavanje simptoma učinkovito uvođenje antikolinergika ili smanjenje doze antipsihotika (Solmi i sur., 2017).

Tardivna diskinezija (TD) je pojava nevoljnih i stereotipnih pokreta mišića lica poput neuobičajene facijalne ekspresije, protruzije jezika ili pokreta usta nalik žvakanju. Javlja se nakon mjeseci ili godina izloženosti antipsihotiku, a liječenje antikolinergikom se ne preporučuje jer može pogoršati TD, već bi trebalo zamijeniti antipsihotik nekim iz druge generacije.

Kao posljedice blokade širokog broja receptora u organizmu, poput alfa adrenoreceptora, muskarinskih i H1 histaminskih, dolazi do nastanka antikolinergičkih nuspojave, sedacije i hipotenzije. Sedacija je posljedica visokog afiniteta za H1 histaminske receptore, česta je i ovisna o dozi i u početku može biti korisna, ali dugotrajno narušava socijalno funkcioniranje pacijenta i smanjuje adherenciju (Solmi i sur., 2017).

Ostale moguće nuspojave se seksualna disfunkcija, maligni neuroleptički sindrom (potencijalno smrtno), produljenje QT intervala (Kane i sur., 2010).

Drug	Daily dose (mg)	EPS	TD	Hyper-prolactinemia	Weight gain	Glucose intolerance
<i>First-generation antipsychotics</i>						
Chlorpromazine	50–450	++	++	+	++	++
Haloperidol	3–6	+++	++	++	+	+
Perphenazine	6–48	+++	++	+	++	++
<i>Second-generation antipsychotics</i>						
Clozapine	150–600	±	±	±	+++	+++
Risperidone	2–6	± ~ +	+	++	+	+
Olanzapine	10–20	± ~ +	+	±	+++	+++
Quetiapine	150–750	±	+	±	+	++
Ziprasidone	80–200	± ~ +	+	±	±	±
Amisulpride	50–800	± ~ +	+	++	+	+
Aripiprazole	6–30	± ~ +	+	±	±	±
Perospirone	12–48	± ~ +	NA	±	±	±
Blonanserin	8–24	± ~ +	NA	±	±	+

EPS: Extrapyramidal signs; NA: Information not available; TD: Tardive dyskinesia.

Slika 3. Nuspojave antipsihotika (www.medscape.com)



## 1.2.2. ANTIPSIHOTICI DRUGE I TREĆE GENERACIJE

Antipsihotici druge generacije (SGA) ili atipični antipsihotici djeluju na pozitivne i negativne simptome bolesti mehanizmom blokade D2 i 5-HT2A receptora. Prvi otkriveni lijek iz te skupine je klozapin (1959.), a tu spadaju još olanzapin, risperidon, kvetiapin, sertindol, ziprasidon i drugi. Nazivaju se još i dopamin-serotoninski antagonisti jer im je afinitet blokade za 5-HT2A receptore puno veći u odnosu na D2 receptore i to predstavlja bitnu razliku u odnosu na tipične antipsihotike. Također, manja blokada D2 receptora (oko 60%) i kraće vrijeme disocijacije za posljedicu imaju manji rizik od pojave ekstrapiramidalnih nuspojava i hiperprolaktinemije u odnosu na tipične. Serotoninski 5-HT2A receptori moduliraju otpuštanje dopamina u korteksu, limbičnoj regiji i strijatumu, a SGA djeluju na njih kao inverzni agonisti blokirajući im aktivnost te tako indirektno djeluju na dopaminergični sustav (Katzung i sur., ured., 2011).

U fiziološkim uvjetima, serotonin smanjuje otpuštanje dopamina iz neurona u strijatumu. Vežanjem serotonina na 5-HT2A receptore na piramidalnim glutamatnim neuronima dolazi do otpuštanja GABA-e koja se dalje veže na dopaminske neurone koji izlaze iz substantije nigre do strijatuma i na taj način inhibira otpuštanje dopamina. Kada lijek antagonistički djeluje na serotoninske receptore, doći će do povećanog otpuštanja dopamina u sinapsu i smanjuje se blokada D2 receptora lijekom, a ekstrapiramidalne nuspojave nastaju upravo zbog blokade dopaminskih receptora u nigrostrijatalnom putu. Ovim mehanizmom u podlozi objašnjava se manji rizik od navedenih nuspojava u dopaminsko-serotoninskih antipsihotika (Miyamoto i sur., 2012).

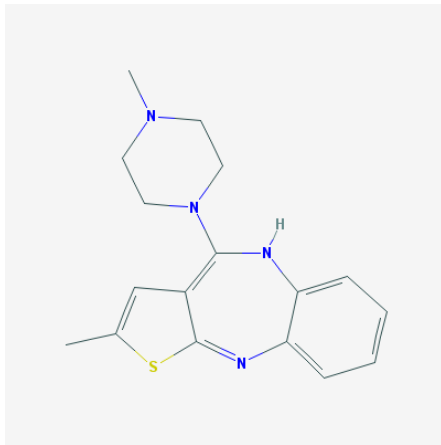
Smanjeni rizik od pojave neuroloških nuspojava u pacijenata predstavlja značajnu korist za pacijente, međutim atipični antipsihotici izazivaju metaboličke nuspojave u vidu povećanja tjelesne težine, dislipidemije i inzulinske rezistencije. Dva lijeka koja predstavljaju najveći rizik za metaboličke disfunkcije su klozapin i olanzapin. Nastali disbalans u metabolizmu glukoze i lipida u pacijenata stvara podlogu za nastanak komorbiditeta poput dijabetesa tipa 2, pretilosti i metaboličkog sindroma te sve to nadalje utječe na zdravlje kardiovaskularnog sustava (Katzung i sur., ured., 2011).

Jedini odobreni antipsihotik iz treće generacije je aripiprazol kojeg karakterizira funkcionalna selektivnost za dopaminske D2 receptore. Kada je visoka ekstracelularna koncentracija dopamina, aripiprazol djeluje kao parcijalni agonist, natječe se s dopaminom za vezna mjesta i uzrokuje parcijalno antagonistički efekt i dolazi do kliničke učinkovitosti. U obrnutoj situaciji,

kada je niska ekstracelularna koncentracija dopamina, lijek može zauzeti dodatne receptore i dovesti do parcijalne aktivacije (Harvey i sur., 2016).

### 1.2.3. OLANZAPIN

Olanzapin je antipsihotik druge generacije, a po kemijskoj strukturi je tienobenzodiazepinski derivat i sličan je klozapinu. Odobren je 1996. godine za liječenje akutnih simptoma shizofrenije i u kontinuiranoj terapiji održavanja kod bolesnika koji su pokazali početni odgovor na liječenje (Green, 1999).



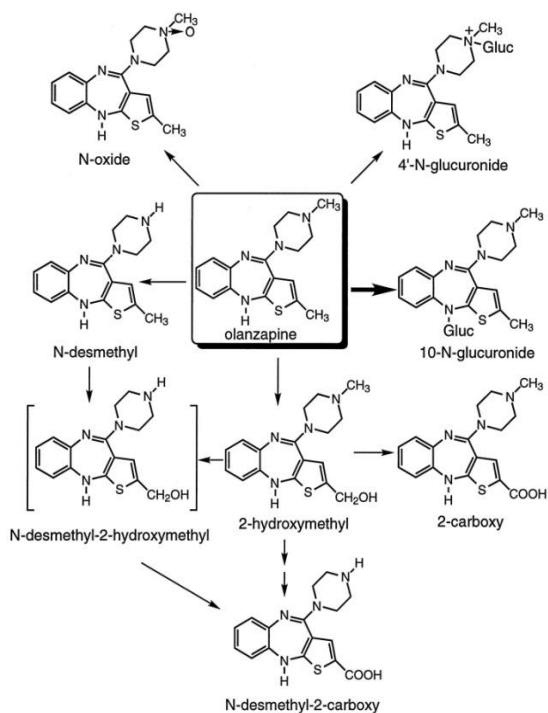
Slika 4. Struktura olanzapina ([www.pubchem.com](http://www.pubchem.com))

Također se koristi za liječenje umjerenih do teških epizoda manije i za prevenciju relapsa u bolesnika s bipolarnim poremećajem čije su manične epizode reagirale na liječenje olanzapinom. U kombinaciji s fluoksetinom (Symbyax®) indiciran je za liječenje depresivnih epizoda u bipolarnog poremećaja tipa 1 i za slučajeve rezistentne depresije ([www.drugs.com](http://www.drugs.com)) Kao lijek iz skupine atipičnih antipsihotika karakterizira ga manja potentnost blokade D2 receptora i antagonističko djelovanje na serotoninergične 5-HT<sub>2A</sub> receptore u odnosu na tipične antipsihotike (Solmi i sur., 2017).

Olanzapin se nakon peroralne primjene dobro apsorbira u organizmu i hrana ne utječe na apsorpciju, a vršna koncentracija u plazmi se postiže unutar 5 do 8 sati. Vežanje za proteine plazme iznosi 93% i uglavnom se veže na albumine i alfa<sub>1</sub> kiseli glikoprotein. Biotransformacija se odvija u jetri i glavni metabolitčki putevi olanzapina su N-glukuronidacija putem UGT1A4 i N-demetilacija putem CYP1A2, a u manjoj mjeri se odvijaju N-oksidacija preko FMO3 i 2-hidroksilacija preko CYP2D6 (Kassahun i sur., 1997). Kao produkt konjugacije olanzapina nastaje 10-N-glukuronid, glavni cirkulirajući metabolit, koji ne prolazi krvno moždanu barijeru, što znači da ne može djelovati na receptore u mozgu

kako bi postigao terapijski učinak. N-desmetil i 2-hidroksi metaboliti olanzapina pokazuju značajno manje farmakološko djelovanje od olanzapina u ispitivanju na životinjama. Kao posljedica svega navedenog terapijsko djelovanje lijeka pretežno potječe od samog olanzapina. Prosječno poluvrijeme izlučivanja olanzapina u zdravih ispitanika nakon peroralne primjene varira ovisno o dobi i spolu te je duže  $T_{1/2}$  zabilježeno kod starijih bolesnika (>65 godina) i žena. Razlike u izlučivanju su pronađene i kod populacije pušača u odnosu na nepušače. Prosječno  $T_{1/2}$  u ispitanika nepušača (muškarci i žene) bilo je duže nego u pušača (38.6 vs. 30.4 sata), a klirens je također bio manji (18.6 vs. 27.7 L/h). Klirens lijeka i poluvrijeme izlučivanja su parametri pomoću kojih se prati brzina izlučivanja lijeka iz organizma; niži klirens i dulje  $T_{1/2}$  znače sporije izlučivanje lijeka, odnosno dulje zadržavanje u organizmu (www.halmed.hr).

Olanzapin se na tržištu nalazi u više formulacija kako bi se omogućilo učinkovitije liječenje neadherentnih bolesnika. Oralni oblici lijeka su obložene tablete i oralno raspadljive tablete, a važno je napomenuti kako se oralno raspadljive tablete ne apsorbiraju preko mukoze u usnoj šupljini već se trebaju progutati. Apsorpcija oralno raspadljive tablete je jednaka onoj u običnih tableta, a prednost je u tome što se trenutno raspadaju u ustima, bez potrebe za žvakanjem i uzimanjem vode pa zahtjevaju manju suradljivost bolesnika (Raben i sur., 2018). Parenteralni oblik lijeka je sol olanzapin pamoata i primjenjuje se kao intramuskularna injekcija za terapiju održavanja shizofrenije u bolesnika kod kojih je prethodno postignuta učinkovitost liječena peroralnim olanzapinom (Solmi i sur., 2017).



Slika 5. Metabolizam olanzapina (Kassahun i sur., 1997)

#### 1.2.4. DEPO OBLIK OLANZAPIN PAMOATA

Otkrićem antipsihotika sredinom 20. stoljeća napravljen je veliki iskorak u liječenju, ali ubrzo je došlo do problema sa suradljivošću bolesnika. Osim traženja novih antipsihotika bilo je potrebno pronaći nove pristupe liječenju, odnosno nove formulacije lijekova osim u obliku tableta. Depo pripravak za duboku intramuskularnu primjenu osigurava postepeno otpuštanje lijeka i terapijsku koncentraciju lijeka u plazmi bolesnika kroz duži vremenski period nakon primjene. Na taj način zamijenjena je svakodnevna potreba za uzimanjem tableta i povećana adherencija pacijenata. Flufenazin enantat je prvi depo oblik za intramuskularnu primjenu koji 1966. dolazi na tržište (Raben i sur., 2018).

Zypadhera je formulacija za intramuskularnu primjenu koja je spoj olanzapina i pamoične kiseline. Prašak olanzapin pamoata monohidrata suspendira se u vodenom otapalu neposredno prije upotrebe i primjenjuje se kao duboka intramuskularna injekcija u regiju glutuesa od strane adekvatno educiranog zdravstvenog osoblja ([www.halmed.hr](http://www.halmed.hr)).

Preduvjet za liječenje dugodjelujućim oblikom olanzapina u terapiji održavanja je učinkoviti terapijski odgovor prilikom peroralnog liječenja olanzapinom. Na tržištu postoji više različitih jačina doziranja depo preparata olanzapina; 150, 210 i 300 mg i primjenjuju se svaka 2 tjedna, a 300 i 405 mg svaka 4 tjedna i ekvivalentne su dnevnoj dozi peroralnog olanzapina od 10, 15 ili 20 mg. Primjerice, injekcija 300mg svaka 4 tjedna jednaka je peroralnoj dozi olanzapina od 10 mg dnevno.

Tablica 1. Shema preporučenog doziranja oralnog olanzapina i Zypadhere ([www.halmed.hr](http://www.halmed.hr))

<b>Ciljna doza oralnog olanzapina</b>	<b>Preporučena početna doza ZYPADHERE</b>	<b>Doza održavanja nakon dva mjeseca liječenja ZYPADHEROM</b>
10 mg/dan	210 mg/2 tjedna ili 405 mg/4 tjedna	150 mg/2 tjedna ili 300 mg/4 tjedna
15 mg/dan	300 mg/2 tjedna	210 mg/2 tjedna ili 405 mg/4 tjedna
20 mg/dan	300 mg/2 tjedna	300 mg/2 tjedna

Parenteralni oblik olanzapina uzrokuje nuspojave poput lokalne reakcije na mjestu primjene, najčešće u obliku boli, ali i do pojave potencijalno fatalnog postinjekcijskog sindroma (PIS) koji je karakteriziran znakovima i simptomima predoziranja olanzapinom. Prema kliničkim podacima, prevalencija PIS je 0,07% i rizik za nastanak je prisutan nakon svake primjene, odnosno ne mora se javiti prilikom prve aplikacije. Iz tog razloga, potrebno je da pacijent ostane barem tri sata nakon primjene u bolnici kako bi se uočila eventualna pojava simptoma i osiguralo liječenje (Detke i sur., 2010).

### 1.2.5. OVISNOST O PUŠENJU

Duhanski dim sadrži preko 4 000 različitih kemijskih sastojaka, a najpoznatiji od njih je nikotin i on stvara ovisnost. Stope pušača u psihijatrijskih bolesnika su puno veće, a broj prestanka pušenja manji u odnosu na opću populaciju i to sve utječe na povećanje mortaliteta takvih bolesnika. Više od 60% bolesnika sa shizofrenijom su ovisnici o pušenju i razlogom toga se smatra utjecaj na oslobađanje dopamina u mozgu. Osim negativnog utjecaja na zdravlje kardiovaskularnog sustava i prisutnost više od pedeset dokazano karcinogenih spojeva u duhanskom dimu, pušenje ima utjecaj na metabolizam i eliminaciju određenih lijekova u organizmu tako što povećava aktivnost jetrenih enzima citokroma P450 (CYP) 1A1 i 1A2. U metabolizam lijekova kao što su olanzapin i klopazapin uključen je CYP1A2 i posljedica indukcije enzima pušenjem je smanjenje koncentracije tih lijekova u plazmi bolesnika te posljedično negativan utjecaj na terapijsku učinkovitost primjenjene doze lijeka i kontrolu bolesti (Šagud i sur., 2009).

Policiklički aromatski ugljikovodici (*engl.* Polycyclic aromatic hydrocarbons, PAHs) su skupina karcinogenih spojeva koji nastaju nepotpunim izgaranjem duhana, uzrokuju indukciju CYP1A2 i posljedično nastajanje farmakokinetičkih interakcija s lijekovima koji se metaboliziraju putem istog enzima (Kroon, 2007).

Važno je naglasiti da nikotin ne utječe na CYP1A2, odnosno nikotinska zamjenska terapija ne mijenja aktivnost enzima. Policiklički aromatski ugljikovodici mogu inducirati reakciju konjugacije glukuronidacijom (Kroon, 2007).

Glukuronidacija pripada reakcijama faze 2 metabolizma lijekova gdje dolazi do konjugacije lijeka s glukuronskom kiselinom u jetri i posredovana je enzimom UDP glukuronil transferazom. Na taj način se molekule lijekova pretvaraju u topljivije spojeve, luče u žuč i izlučuju mokraćom putem bubrega.

### 1.2.6. CYP1A2

Citokrom P450 (skraćeno CYP) je mikrosomska superporodica izoenzima koji kataliziraju reakcije oksidacije niza spojeva. Najvažniji je enzimski sustav odgovoran za biotransformacije lijekova u fazi 1 i gotovo 90% svih oksidativnih reakcija katalizirane su CYP enzimima, a najveći dio metaboliziraju CYP3A4/5, CYP2D6, CYP2C9, CYP2C19 i CYP1A2. Najprisutniji su u jetri, koja je glavni organ u tijelu za metabolizam lijekova, i svrha metaboličkih reakcija je biotransformacija ksenobiotika u polarnije metabolite kako bi se što učinkovitije izlučili iz organizma. Lijekovi poput olanzapina, klozapina i teofilina su supstrati CYP1A2 preko kojeg se metaboliziraju u polarnije metabolite i djelovanjem drugih lijekova na aktivnost tog enzima dolazi do nastanka farmakokinetičkih interakcija (Zanger i Schwab, 2012).

Olanzapin pokazuje puno veću farmakološku aktivnost od polarnijih metabolita nastalih biotransformacijom, stoga ubrzani metabolizam olanzapina rezultira smanjenim terapijskim učinkom istoga. Karbamazepin i pušenje induciraju aktivnost CYP1A2 što uzrokuje smanjenu koncentraciju supstrata enzima u plazmi i bržu eliminaciju iz organizma i posljedično dolazi do smanjene terapijske učinkovitosti lijeka. U obratnoj situaciji, kada lijekovi poput fluvoksamina i ciprofloksacina inhibiraju aktivnost CYP1A2, dolazi do povećane koncentracije lijeka u organizmu, sporijeg izlučivanja te je rizik na nastanak nuspojava veći (Thron i sur., 2013).

Kofein se više od 99% metabolizira putem CYP1A2 i često se koristi kao marker za procjenu aktivnosti enzima. Promjene u klirensu kofeina ukazuju na prisutnu indukciju ili inhibiciju enzima, primjerice u pušača je klirens kofeina povećan oko 56% (Kroon, 2007).

Uzroci promjenjene aktivnosti enzima CYP1A2 mogu biti genetski polimorfizam, životne navike poput pušenja i lijekovi koji djeluju kao inhibitori ili induktori enzima. Indukcija enzima pušenjem nastaje zbog djelovanja spojeva kao što su policiklički aromatski ugljikovodici, a ne nikotina jer kod pacijenata na nikotinskoj zamjenskoj terapiji nije uočen utjecaj na aktivnost CYP1A2 (Martin i Lucas, 2013).

## 2. OBRAZLOŽENJE TEME

Udio psihijatrijskih bolesnika koji su ovisnici o pušenju puno je viši nego u općoj populaciji, a u bolesnika oboljelih od shizofrenije iznosi preko 60%. Zabilježen je puno manji broj mentalnih bolesnika koji su prestali pušiti, a pušenje može imati utjecaj na farmakoterapiju bolesnika koji uzimaju lijekove čiji metabolizam uključuje CYP1A2. Pušenje povećava aktivnost CYP1A2 i posljedica indukcije enzima je snižena razina lijekova supstrata poput olanzapina i klopazina, a time se mijenja i njihov terapijski učinak. Olanzapin je često korišten atipični antipsihotik u terapiji shizofrenije i djelomično se metabolizira preko CYP1A2. Različita istraživanja opisuju snižene serumske koncentracije zbog povećanja aktivnosti CYP1A2 uzrokovane konzumacijom cigareta i razlike u spolu.

S obzirom da je za liječenje bolesnika sa shizofrenijom potrebno naći odgovarajući lijek u odgovarajućoj dozi i osigurati suradljivost pacijenta, korisno je istražiti negativan utjecaj pušenja na koncentracije olanzapina kao jedan od problema prilikom liječenja i postizanja željenog terapijskog učinka.

Cilj ovog rada je odrediti koncentracije olanzapina u krvi bolesnika sa shizofrenijom koji u terapiji imaju različite pripravke olanzapina. Bolesnici su podijeljeni u skupine prema spolu, načinu primjene terapije i broju cigareta dnevno. Usporedbom i statističkom obradom serumskih koncentracija olanzapina i koncentracija ujednačenih prema dnevnoj dozi, ispitat će se utjecaj navedenih čimbenika na koncentraciju lijeka u serumu ispitanika, što u konačnici utječe na dostupnost lijeka na mjestu djelovanja.

Specifični ciljevi:

1. ispitati utjecaj spola na koncentracije olanzapina
2. ispitati utjecaj načina primjene terapije na koncentracije olanzapina
3. ispitati utjecaj pušenja na koncentracije olanzapina
4. ispitati utjecaj broja cigareta dnevno na koncentracije olanzapina

### 3. MATERIJALI I METODE

Protokol istraživanja odobren je od strane Etičkog povjerenstva Kliničkog bolničkog centra Zagreb i svi ispitanici su potpisali pisani pristanak.

#### 3.1. Materijali

##### 3.1.1. Uzorci

U istraživanje je bilo uključeno 58 ispitanika sa shizofrenijom koji u terapiji imaju antipsihotik olanzapin; 45 njih su pacijenti Klinike za psihijatriju KBC-a Zagreb, a 13 Klinike za psihijatriju Vrapče. Uzorci su dostavljeni u laboratorij kao puna krv, obrađeni su i za potrebe ispitivanja se koristio serum bolesnika.

Za kalibraciju metode korišten je liofilizirani uzorak komercijalnog ClinCal<sup>®</sup> - Calibrator FOR PSYCHOACTIVE DRUGS TDM3 (RECIPE, Njemačka) koji je baziran na humanom serumu (REF 9708, LOT 408) i sadrži olanzapin u koncentraciji 317 nmol/L.

Za unutarnju kontrolu kvalitete sustava korišteni su liofilizirani uzorci komercijalnog ClinChek<sup>®</sup>- Control FOR PSYCHOACTIVE DRUGS TDM3 (RECIPE, Njemačka) koji su bazirani na ljudskom serumu (REF 8708, LOT 546) i dolaze u dva koncentracijska oblika; razina 1 (LI, *engl.* level 1) olanzapin 67,3 (53,8-80,7) nmol/L i razina 2 (LII, *engl.* level 2) olanzapin 203 (162-243) nmol/L.

Također, za unutarnju kontrolu kvalitete su korišteni uzorci seruma bolesnika koji nisu na terapiji olanzapinom i u njih je dodana standardna otopina olanzapina. Ti „spajkani“ uzorci su u koncentracijama 10 ng/mL (32,0 nmol/L) i 100 ng/mL (320 nmol/L), a faktor konverzije prilikom preračunavanja koncentracije olanzapina iz ng/ mL u nmol/ L je 3,2.

U ispitivanju su korištene i slijepe probe (uzorci bez olanzapina).

##### 3.1.2. Oprema

Za analizu je korišten HPLC-2 Prominence SHIMAZDU sustav koji sadrži:

- 2x pumpe (LC-20AD)
- otplinjavač (DGU-20A<sub>3</sub>)
- autoinjektor (SIL-20AC<sub>HT</sub>),
- pećnicu (CTO-20AC),



- spektrofotometrijski detektor s diodnim nizom (SPD-M20A),
- kontrolnu jedinicu (CBM-20A).

Sustav je povezan s računalom i pisačem. Za prikupljanje i obradu podataka iz detektora korišten je EZStart 7.4 i vlastita baza UV kromatograma u rasponu od 190 do 370 nm.

### 3.1.3. Kemikalije

- olanzapin (Zypadhera<sup>®</sup> 210 mg) – depo preparat za intramuskularnu injekciju
- kloramfenikol (Sigma-C6455) – interni standard (IS)
- dimetilsulfoksid (DMSO) – otapalo
- čvrsta tvar natrij-karbonat (Aldrich Chemical Company, Inc., USA)
- čvrsta tvar amonij-acetat (Merck KgaA, Njemačka)
- octena kiselina za podešavanje pufera
- pročišćena voda (HPLC čistoće < 0,060 µS/cm)
- metanol (Merck KgaA, Njemačka)
- acetonitril (Merck KgaA, Njemačka)
- *n*-heksan (Merck KgaA, Njemačka)
- etilacetat (Merck KgaA, Njemačka)

### 3.1.4. Laboratorijski pribor

- staklene epruvete s navojem za ekstrakciju
- konusne staklene epruvete
- vialice (bočice za iniciranje)
- automatske pipete (Eppendorf)
- staklene pipete i propipeta
- vodoravna tresilica PROMAX 1020 (Helidolph)
- centrifuga ROTOFIX 32 (Hettich Zentrifugen)
- vorteks
- vodena kupelj pri 37°C (Precitherm PFV)
- analitička vaga OHAUS
- digestor i sustav za uparavanje
- odmjerne tikvice, staklene čaše
- tikvica za odsisavanje i metalna kopča
- celulozni filter papir s porama 0,45 µm (Millipore HAWP04700)

- indikatorski pH papirići
- pH-metar (Mettler Toledo MP 220)

## **3.2. Metode**

### **3.2.1. Obrada uzoraka**

Ispitanicima je uzorkovana krv iz kubitalne vene u epruvetu bez aditiva i antikoagulansa neposredno prije primjene sljedeće intramuskularne injekcije kod pacijenata na depo preparatu olanzapin pamoata, odnosno kod pacijenata na peroralnoj terapiji prije uzimanja iduće doze nakon minimalno tjedan dana redovitog uzimanja terapije. Uzorci prije i prilikom transporta u laboratorij nisu bili smrznuti, a nakon preuzimanja su centrifugirani 5 minuta pri 3500 okretaja/min na sobnoj temperaturi kako bi se dobio serum. Uzorci seruma su pohranjeni u hladnjaku na +4°C ako je analiza bila planirana unutar 24 h, a oni koji nisu analizirani unutar 24 h su pohranjeni smrzavanjem na -20°C u hladnoj komori.

### **3.2.2. Ekstrakcija uzoraka**

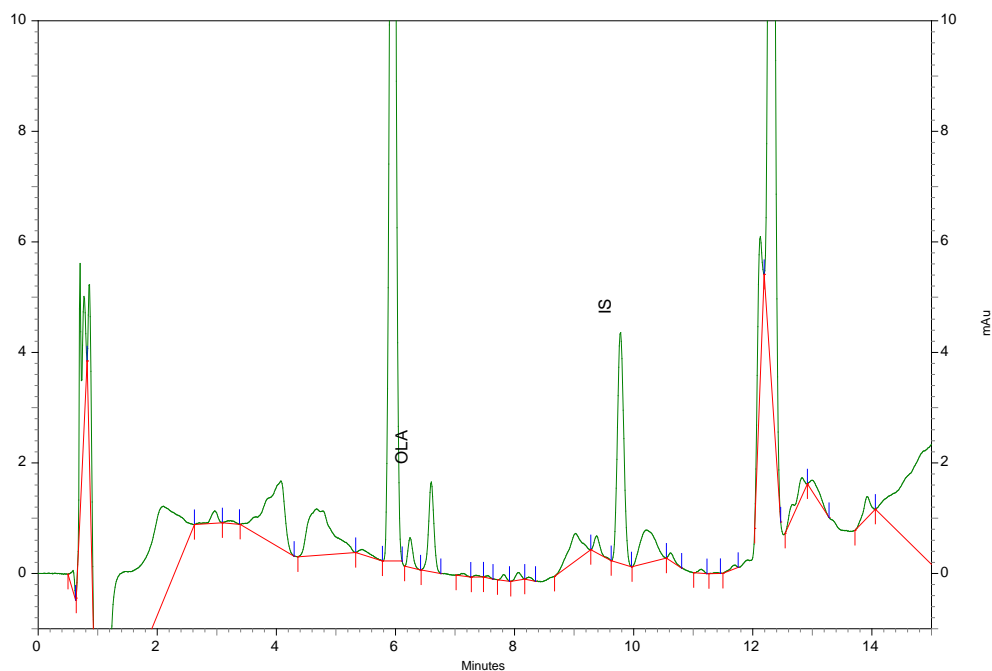
Za izdvajanje ukupnog olanzapina iz uzorka korištena je LLE (liquid-liquid extraction). 500 µL seruma/ kontrolnog uzorka/ kalibratora, 200 µL karbonatnog pufera i 50 µL radne otopine IS kloramfenikola otpipetira se u epruvete za ekstrakciju i kratko vorteksira te se dodaje 2,5 mL ekstrakcijskog otapala etilacetat : *n*-heksan = 1:1. Epruvete za ekstrakciju se postavljaju u vodoravni položaj na tresilicu i ekstrakcija se provodi kroz 15 minuta pri brzini 8 te slijedi centrifugiranje uzoraka na 3500 o/min kroz 5 min, pri sobnoj temperaturi. Gornji organski sloj, koji se sastoji od etilacetat : *n*-heksan = 1:1, sadrži olanzapin i pomoću propipete i staklene pipete prenese se 2 mL tog organskog sloja u čistu staklenu konusnu epruvetu od 10 mL i slijedi uparavanje do suha pomoću struje zraka u vodenoj kupelji (37°C). Suhi ostatak se resuspendira u 150 µL mješavine amonij-acetatni pufer : mobilna faza (metanol i acetonitril u omjeru 1:1) : karbonatni pufer = 1:1:1 uz jako vorteksiranje te se svih 150 µL otpipetira u vialice od 200 µL. Pufer za ekstrakciju (0,1M karbonatni, pH 10,9) pripremi se odvagom 2,65 g Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> i otopanjem u 200 mL pročišćene vode za HPLC te se sadržaj prebaci u odmjernu tikvicu od 250 mL i nadopuni vodom do oznake. Univerzalnim indikatorskim pH papirićem za alkalno područje provjerava se očekivana pH vrijednost pufera oko 10,9.

Matična otopina unutarnjeg standarda (IS) kloramfenikola priprema se odvagom 10 mg kloramfenikola i otopanjem u metanolu u odmjernoj tikvici od 10 mL. Dobivena koncentracija kloramfenikola 1 mg/mL, uzorak se čuva u hladnoj komori na -20°C i rok valjanosti je godinu dana.

Radne otopina IS kloramfenikola priprema se pipetiranjem 50 µL pripremljene matične otopine u odmjernu tikvicu od 10 mL i nadopuni se do oznake s pročišćenom vodom za HPLC. Tako pripremljena radna otopina (5 mg/mL) koristi se prilikom ekstrakcije, čuva se na +4°C i rok valjanosti je 6 mjeseci.

### 3.2.3. Kromatografski uvjeti

- analitička kolona InterSustain™ C18 kolona dimenzija 3µ, 4.6 x 50mm (Gl Sciences Inc., Japan) i odgovarajuća predkolona, grijane u pećnici na 25°C,
- pumpa A (amonij-acetatni pufer), pumpa B (acetonitril : metanol = 1:1), tlak 800 psi
- program gradijentnog protoka (1,0 mL/min) mobilne faze: početno pumpa B 0 %, pumpa A 100 %, zatim pumpa B 60 % linearno kroz 15 min, zatim 5 min pumpa B 0%, ukupno vrijeme analize 20 min
- spektrofotometrijski detektor s diodnim nizom (SPD-M20A) tijekom mjerenja snima spektar u UV području 190 - 370 nm; valna duljina za kvantitativno mjerenje olanzapina je 254 nm
- autoinjektor: temperatura hlađenja 10 °C, volumen iniciranja je 50 µL pripremljenog uzorka
- mobilna faza: acetonitril : metanol = 1:1 (pumpa B), amonij-acetatni pufer (pumpa A)



Slika 6. Kromatogram dobiven mjerenjem komercijalnog kontrolnog uzorka. Vrijednosti su određene od strane proizvođača: RP TDM3 L I lot. 546 OLANZAPIN 67,3 (53,8-80,7) nmol/L.

Pk #	Name	Retention Time	Area	ISTD concentration	Units
12	OLA	6,603	10026	66,073	nmol/L
21	IS	9,781	30994	1,000	nmol/L

### 3.2.4. Priprema mobilne faze

Uz pomoć menzure odlije se 250 mL metanola i 250 mL acetonitrila u zatamnjenu bočicu od 500 mL kako bi se dobila mješavina metanola i acetonitrila u volumnom omjeru 1:1. Priprema pufera (10 mM amonij-acetatni, pH 3,5) za mobilnu fazu: 0,77 g amonij-acetata otopi se u 700 mL pročišćene vode za HPLC, a pH se podese ledenom octenom kiselinom do pH 3,5 uz pH-metar. Nadopuni se do 1 L pročišćenom vodom za HPLC te se pufer filtrira kroz celulozni filter pod vakuumom. Prelije se u tamnu bocu i čuva na +4°C do uporabe. Valjanost pufera je 6 mjeseci.

### **3.2.5. Priprema kalibratora i izrada kalibracijske krivulje**

Komercijalni uzorak za kalibraciju priređen je prema uputi proizvođača: u bočicu s liofiliziranim kalibratorom na bazi seruma dodaje se 5,0 mL vode HPLC čistoće te se miješa 15 min dok se sav materijal ne otopi. Nakon otapanja i stabilizacije pripremljeni uzorak za kalibraciju koristi se za analizu ili se razdijeli u manje alikvote i pohrani u hladnjak na -20°C. Uzorak za kalibraciju tretiran je na isti način (dodan isti IS, isti postupak ekstrakcije, analiza u istoj seriji) kao i uzorci pacijenata. Pomoću računalnog programa napravljena je kalibracija u jednoj točki na temelju jedne koncentracije olanzapina (317 nmol/L) unutar raspona u kojem se očekuju prihvatljivi rezultati.

### **3.2.6. Priprema uzoraka za unutarnju kontrolu kvalitete**

Komercijalni kontrolni uzorci u dvije koncentracijske razine (LI blizu donje granice terapijskog referentnog intervala za olanzapin i LII blizu gornje granice terapijskog raspona) priređuju se prema uputi proizvođača. Svaka koncentracijska razina olanzapina pripremljena je u svojoj bočici. U svaku bočicu dodaje se 5,0 mL pročišćene vode za HPLC te se miješa 15 min dok se sav materijal ne otopi. Nakon otapanja i stabilizacije pripremljeni kontrolni uzorci koriste se za analizu (isti postupak kao i za uzorke bolesnika) ili se razdijele u manje alikvote i pohrane u hladnjak na -20°C.

„Spajkani“ uzorci također su rađeni u dvije koncentracijske razine. Olanzapin (Zypadhera®) liofilizat za intramuskularnu primjenu otopljen je prema uputi proizvođača. Dio takve suspenzije je otopljen u DMSO kako bi se dobila standardna otopina olanzapina koncentracije 300 µg/mL. Iz te otopine prirede se dva razrjeđenja tj. koncentracijske razine olanzapina (obje izvan terapijskog raspona) tako da se plazma bolesnika koji ne uzimaju olanzapin obogati olanzapinom. Jedna razina iznosi 10 ng/mL (32,0 nmol/L), a druga 100 ng/mL (320 nmol/L), faktor konverzije za olanzapin iznosi 3,20 (terapijski raspon za olanzapin: 64 – 256 nmol/L).

### 3.3. Statističke metode

Za statističku obradu podataka korišteni su računalni programi Microsoft Excel 2013 i MedCalc. Normalna distribucija podataka ispitivana je D'Agostino-Pearsonovim testom na temelju kojeg se opredjeljujemo za parametrijske ili neparametrijske testove za uspoređivanje skupova podataka. Svi su rezultati interpretirani s razinom značajnosti  $P < 0,05$ . Za grafički prikaz rezultata koristili su se box and whisker dijagrami u kojima centralni zeleni kvadrat predstavlja vrijednosti između 1. i 3. kvartila, a središnja zelena linija u kvadratu predstavlja medijan. Vertikalna zelena linija proteže se od minimalne do maksimalne vrijednosti s time da su isključene „outside“ vrijednosti, koje su 1,5 puta veće od interkvartilnog raspona, te far out vrijednosti koje su 3 puta veće od interkvartilnog raspona. Za usporedbu varijabli između muškaraca i žena, pušača i nepušača te peroralne i intramuskularne terapije korišten je neparametrijski Mann-Whitneyjev U test. Ovim testom ispitujemo postoji li statistički značajna razlika između medijana dviju ispitivanih skupina, a koristimo ga kada imamo podatke koji ne slijede normalnu raspodjelu. Dobivena vrijednost  $P$  veće od 0,05 znači da nema statistički značajne razlike između odabranih grupa. Kruskal-Wallis je neparametrijski test koji se koristi za 3 ili više nezavisnih uzoraka, umjesto analize varijance ukoliko njezini uvjeti nisu ispunjeni. Test se temelji na rangiranju, stoga podaci u uzorku moraju biti numerički, kategorijski ili već rangirani. Kruskal-Wallis test je korišten kod uspoređivanja vrijednosti koncentracije olanzapina u pet neovisnih grupa pacijenata koji su podijeljeni prema broju cigareta na dan. Razina značajnosti 0.05 predstavlja 5%-tni rizik za zaključak da statistički značajna razlika postoji, a zapravo je nema. Dobivena vrijednost  $P > 0,05$  znači odbacivanje nulhipoteze i da statistički značajna razlika među promatranim grupama ne postoji.

## 4. REZULTATI

### 4.1. Klinički i demografski podaci bolesnika uključenih u studiju

Primjenjene doze i demografski podaci 58 bolesnika s dijagnosticiranom shizofrenijom koji u terapiji imaju antipsihotik olanzapin prikazani su u Tablici 2.

Tablica 2. Podaci o ispitanicima i doze olanzapina

Spol	Muškarci	Žene	Ukupno
N (%)	41 (70,7%)	17 (29,3%)	58
Dob, X/ g (SD)	40,9 (11,44)	46,3 (9,22)	42,8 (10,95)
i.m. N (%)	30 (73,2%)	11 (64,7%)	41 (70,7%)
p.o. N (%)	11 (26,8%)	6 (35,3%)	17 (29,3%)
Pušači N (%)	29 (70,7%)	9 (52,9%)	38 (65,5%)
Nepušači N (%)	12 (29,3%)	8 (47,1%)	20 (34,5%)
Dnevna doza/ mg (SD)	13,8 (3,2)	12,4 (3,9)	13,4 (3, 5)
i.m. 405 mg/ mjesec N (%)	24 (58,5%)	3 (17,6%)	27 (46,6%)
i.m. 300 mg/ mjesec N (%)	6 (14,6%)	8 (47,1%)	14 (24,1%)
p.o. 20 mg dnevno N (%)	7 (17,1%)	3 (17,6%)	10 (17,2%)
p.o. 10 mg dnevno N(%)	4 (9,8%)	3 (17,6%)	7 (12,1%)

N- broj bolesnika; i.m.- intramuskularna terapija; p.o.- peroralna terapija

Oko dvije trećine bolesnika uključenih u studiju su muškog spola (69,6%), a žena samo jedna trećina (29,3%). Prosječna starost svih bolesnika u studiji je 42,8 godine, pri čemu je prosječna dob muškaraca ( $X=40,9$  godina) niža u odnosu na prosječnu dob žena ( $X= 46,4$  godina). Većina muškaraca je na intramuskularnoj terapiji olanzapinom 30 (73,2%), a od toga je većina na višoj intramuskularnoj dozi od 405 mg (24 bolesnika, 80%). Žene su također učestalije na intramuskularnoj terapiji, 12 (64.7%), a od toga je većina (8 bolesnika, 72,7%) na nižoj intramuskularnoj dozi od 300 mg/mjesecu. Na peroralnoj terapiji olanzapinom je 11(26,8%) muškaraca, a 6 (35,3%) žena . Broj muškaraca na peroralnoj terapiji je viši nego u žena, ali je postotak niži. U ukupnoj skupini, više je ispitanika na intramuskularnoj terapiji 41 (70,7%) u odnosu na peroralnu 17 (29,3%).

Udio muškaraca pušača je 70,7% (29), a žena 52,9%(9) . Pušača je više u muškoj skupini u odnosu na žene. Analiza ukupne skupine pokazala je da je više ispitanika pušača 38 (65,5%) nego nepušača 20 (34,5%).

Srednja vrijednost dnevne doze olanzapina u muškaraca je 13,8 mg i viša je u odnosu na žene 12,4 mg.

#### 4.2. Koncentracije olanzapina prema spolu

Koncentracije olanzapina (nmol/ L) u serumu bolesnika s dijagnosticiranom shizofrenijom podijeljenih prema spolu prikazane su u Tablici 3.

Tablica 3. Usporedba koncentracije olanzapina u serumu ispitanika prema spolu

	Olanzapin (nmol/ L)		
	Muškarci	Žene	Ukupno
N (%)	41 (70,7%)	17 (29,3%)	58
Minimum	19,60	22,50	19,60
Maksimum	231,00	522,00	522,00
Medijan	80,10	87,40	85,80
95 CI	62,92- 112,48	54,56-157,92	63,43- 113,87
Percentil 5	26,66	26,63	26,62
Percentil 95	204,97	461,10	221,80
P*	0,1525	0,0001	<0,0001
P**	0,682		

\*- D' Agostino-Pearson test

\*\* - Mann-Whitney U test

U skupini muških ispitanika (N=41) medijan koncentracije olanzapina iznosi 80,10 nmol/L (95 CI 62,92- 112,48) i niži je u odnosu na medijan koncentracije olanzapina u skupini žena (N=17), koji iznosi 87,40 nmol/L (95 CI 54,56- 157,92).

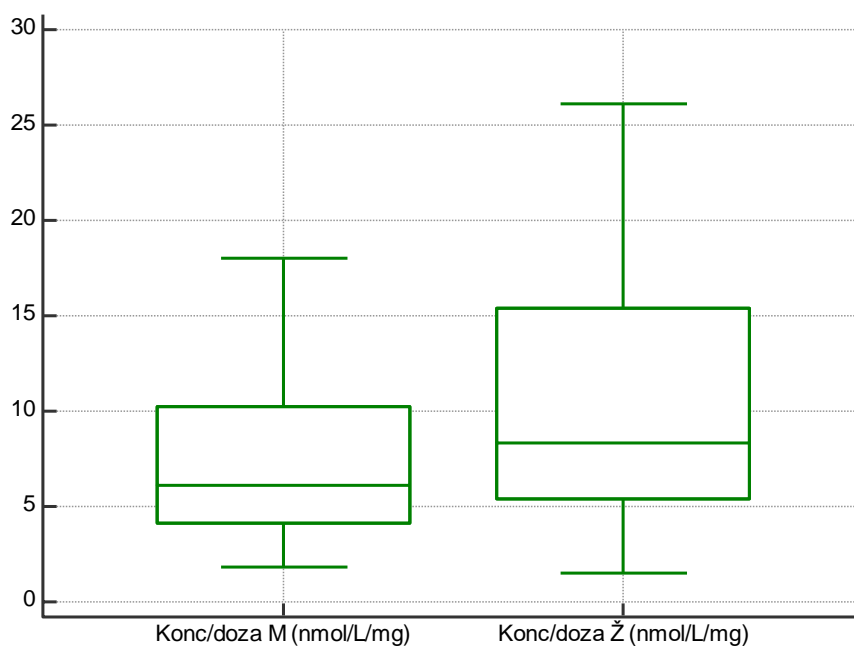
Minimalna vrijednost koncentracije olanzapina u serumu zabilježena je u muškaraca, dok je maksimalna zabilježena u žena.



Usporedbom dobivenih rezultata nije dokazana statistički značajna razlika koncentracija lijeka u serumu muških i ženskih ispitanika ( $Z=0,410$ ,  $P=0,682$ ) (Tablica 3.).

Koncentracije olanzapina (nmol/ L) u serumu bolesnika podijeljene su s dnevnom dozom lijeka (mg) kako bi se koncentracija ujednačila prema dozi (nmol/L/mg). Kod bolesnika na intramuskularnoj terapiji su iz depo doza od 300 i 405 mg, koje se primjenjuju jednom mjesečno, izračunate dnevne doze (10, i 13,5 mg/danu) i one su dalje korištene za ujednačavanje koncentracija olanzapina prema dozi.

Statistička obrada koncentracija olanzapina ujednačenih prema dozi pokazala je slične rezultate prema spolu kao i izmjerene koncentracije olanzapina u serumu. Nakon ujednačavanja, koncentracije su također više u žena (8,3 nmol/L/mg) u odnosu na muškarce (6,1 nmol/L/mg) i nisu dosegnule statistički značajnu razliku ( $Z=1.589$ ,  $P=0,112$ ) (Slika 7).



Slika 7. Koncentracije olanzapina ujednačene prema dozi analizirane prema spolu (M- muškarci, Ž- žene)

### 4.3. Koncentracije olanzapina prema načinu primjene terapije

Usporedba koncentracija olanzapina (nmol/ L) u serumu bolesnika s dijagnosticiranom shizofrenijom prema načinu primjenjene terapije (peroralno ili intramuskularno) prikazana je u Tablici 4.

Tablica 4. Usporedba koncentracije olanzapina u serumu bolesnika na peroralnoj i intramuskularnoj terapiji

	Olanzapin (nmol/ L)		
	Peroralno	Intramuskularno	Ukupno
N (%)	17 (29,3%)	41 (70,7%)	58
Minimum	26,50	19,60	19,60
Maksimum	522,00	202,50	522,00
Medijan	112,00	68,30	85,80
95 CI	60,78-182,87	61,63-106,39	63,43- 113,87
Percentil 5	30,53	24,87	26,62
Percentil 95	461,10	180,18	221,80
P*	0,0006	0,0782	<0,0001
P**	0,066		

\*- D' Agostino-Pearson test

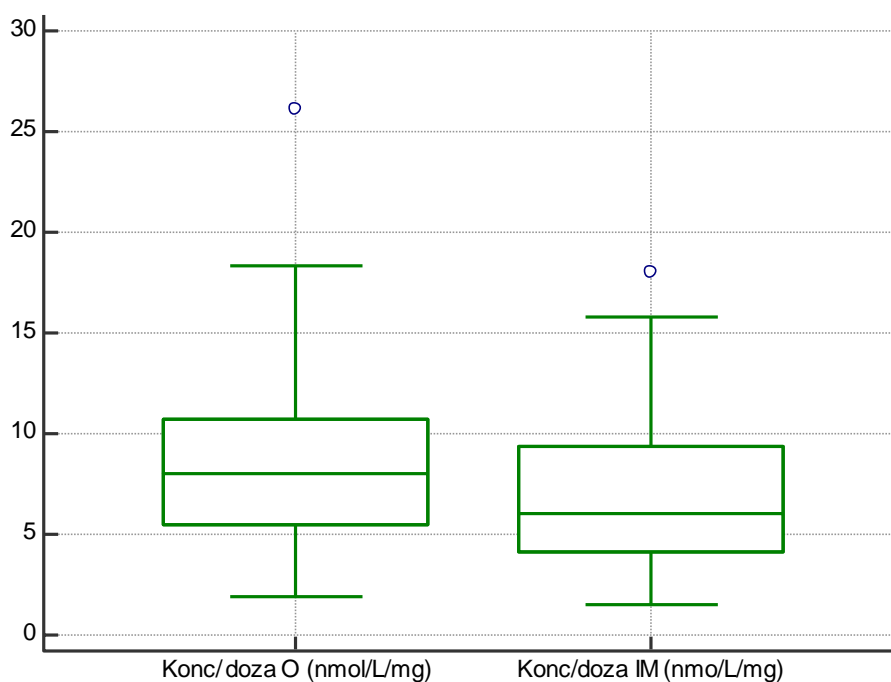
\*\* - Mann-Whitney U test

U skupini bolesnika na peroralnoj terapiji olanzapinom (N= 17) medijan koncentracije olanzapina iznosi 112,00 nmol/L (95 CI 60,78-182,87) i viši je u odnosu na medijan koncentracija olanzapina u skupini bolesnika na intramuskularnoj terapiji ( N= 41), koji iznosi 68,30 nmol/L (95 CI 61,63-106,39). Kod svih bolesnika (N=58) zabilježena je vrijednost medijana 85,80 nmol/L (95 CI 63,43- 113,87) i usporedbom sa pojedinim skupinama je vidljivo kako je viša u odnosu na skupinu bolesnika na intramuskularnoj, a niža u odnosu na skupinu bolesnika na peroralnoj terapiji.

Minimalna vrijednost koncentracije olanzapina u serumu zabilježena je u bolesnika na intramuskularnoj, dok je maksimalna zabilježena u bolesnika na peroralnoj terapiji.

Iako se medijani koncentracija olanzapina u serumu bolesnika na peroralnoj i intramuskularnoj terapiji vidno razlikuju statističkom obradom nije dobivena statistički značajna razlika ( $Z=1,836$ ,  $P=0,066$ ) (Tablica 4).

Usporedbom koncentracija olanzapina ujednačenih prema dozama u bolesnika na peroralnoj i intramuskularnoj terapiji također nije dobivena statistički značajna razlika ( $Z=1,435$ ,  $P=0,151$ ) (Slika 8).



Slika 8. Koncentracije olanzapina ujednačene prema dozama u bolesnika na peroralnoj (O) i intramuskularnoj terapiji (IM)

#### 4.4. Koncentracije olanzapina prema pušenju

Koncentracije olanzapina (nmol/ L) u serumu ispitanika oboljelih od shizofrenije analizirane prema pušenju prikazane su u Tablici 5.

Tablica 5. Usporedba koncentracije olanzapina u serumu pušača i nepušača

	Olanzapin (nmol/ L)		
	Nepušači	Pušači	Ukupno
N (%)	20 (34,5%)	38 (65,5%)	58
Minimum	44,90	19,60	19,60
Maksimum	522,00	208,00	522,00
Medijan	119,00	79,25	85,80
95 CI	61,70- 175,01	59,14- 103,01	63,43- 113,87
Percentil 5	48,50	24,10	26,62
Percentil 95	435,00	178,60	221,80
P*	<0,0001	0,1181	<0, 0001
P**	0,071		

\*- D' Agostino-Pearson test

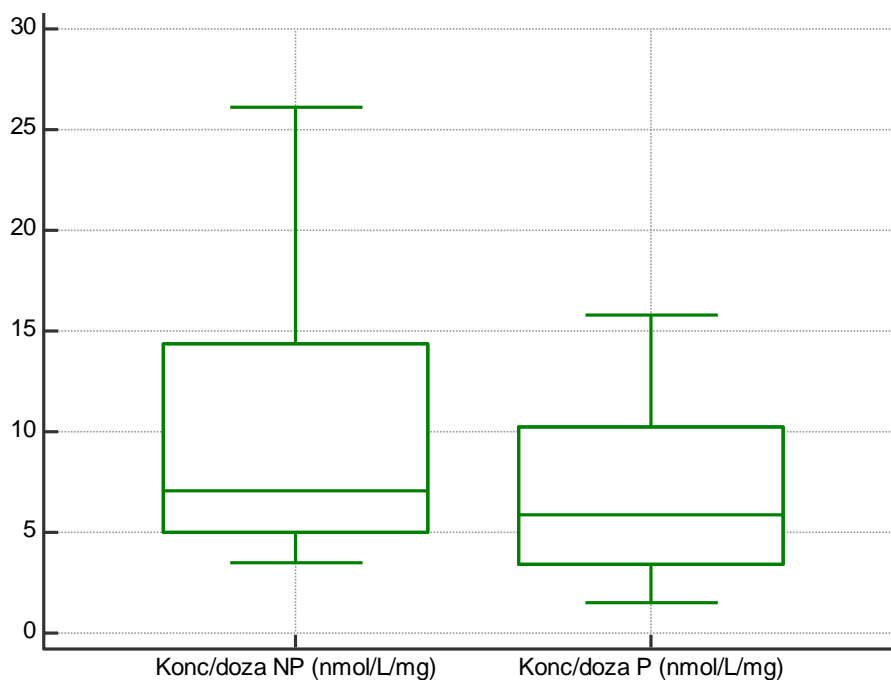
\*\* - Mann-Whitney U test

U skupini bolesnika nepušača (N=20) medijan koncentracije olanzapina iznosi 119,00 nmol/L (95 CI 61,70- 175,01) i viši je u odnosu na medijan koncentracije olanzapina u skupini pušača (N=38), koji iznosi 79,25 nmol/L (95 CI 59,14- 103,01). U ukupnoj skupini (N=58) zabilježena je vrijednost medijana koncentracije olanzapina u serumu 85,80 nmol/L (95 CI 63,43- 113,87) i usporedbom je vidljivo kako je niža u odnosu na skupinu nepušača, a viša u odnosu na skupinu ispitanika pušača.

Minimalna vrijednost koncentracije olanzapina u serumu zabilježena je u skupini pušača, dok je maksimalna zabilježena u nepušača.

Usporedbom dobivenih rezultata nije dokazana statistički značajna razlika koncentracije lijeka u serumu bolesnika pušača i nepušača (Z=1,808 P=0,071) (Tablica 5.).

Statistička obrada koncentracija olanzapina ujednačenih prema dozi pokazala je slične rezultate u pušača i nepušača kao i izmjerene koncentracije olanzapina. Nakon ujednačavanja koncentracije su također više u nepušača (7,1 nmol/L/mg) u odnosu na pušače (5,9 nmol/L/mg) i nisu dosegule statistični značajnu razliku ( $Z=1,759$ ,  $P=0,079$ ) (Slika 9.).



Slika 9. Koncentracije olanzapina ujednačene prema dozama u bolesnika pušača (P) i nepušača (NP)

#### 4.5. Koncentracija olanzapina prema broju cigareta dnevno

Koncentracije olanzapina (nmol/ L) određene su u serumu ispitanika oboljelih od shizofrenije koji su podijeljeni u skupine prema prema načinu primjene terapije (Tablica 6.) i prema broju cigareta dnevno (Tablica 7.).

**Tablica 6. Podjela bolesnika po broju cigareta dnevno i načinu primjene terapije**

Broj cigareta dnevno	Peroralno	Intramuskularno	Ukupno
0 N (%)	5 (25,0%)	15 (75,0%)	20
5 N (%)	0 (0%)	3 (100%)	3
15 N (%)	6 (31,6%)	13 (68,4%)	19
25 N (%)	3 (30,0%)	7 (70,0%)	10
35 N (%)	3 (50,0%)	3(50,0%)	6

N- broj bolesnika; broj cigareta dnevno 0- nepušač; 5- 1 do 10 cigareta dnevno; 15- 11 do 20 cigareta dnevno; 25- 21 do 30 cigareta dnevno; 35- više od 31 cigarete dnevno

**Tablica 7. Koncentracija olanzapina i broj cigareta dnevno**

	Olanzapin (nmol/ L)					
	Broj cigareta					Ukupno
	0	5	15	25	35	
N (%)	20 (34,5%)	3 (5,2%)	19 (32,8%)	10 (17,2%)	6 (10,3%)	58
Minimum	44,90	68,30	26,50	22,50	19,60	19,60
Maksimum	522,00	155,00	181,00	158,00	208,00	522,00
Medijan	119,00	84,20	80,10	54,50	95,20	85,80
95 CI	61,70- 175,01	/	50,44- 140,92	37,90- 107,25	28,08- 198,49	63,43- 113,87
Percentil 5	48,50	/	26,64	22,50	/	26,62
Percentil 95	435,00	/	178,30	158,00	/	221,80
P*	<0,0001	***	0,0924	0,1681	***	<0, 0001
P**	0,181					

\*- D' Agostino-Pearson test

\*\* - Mann-Whitney U test

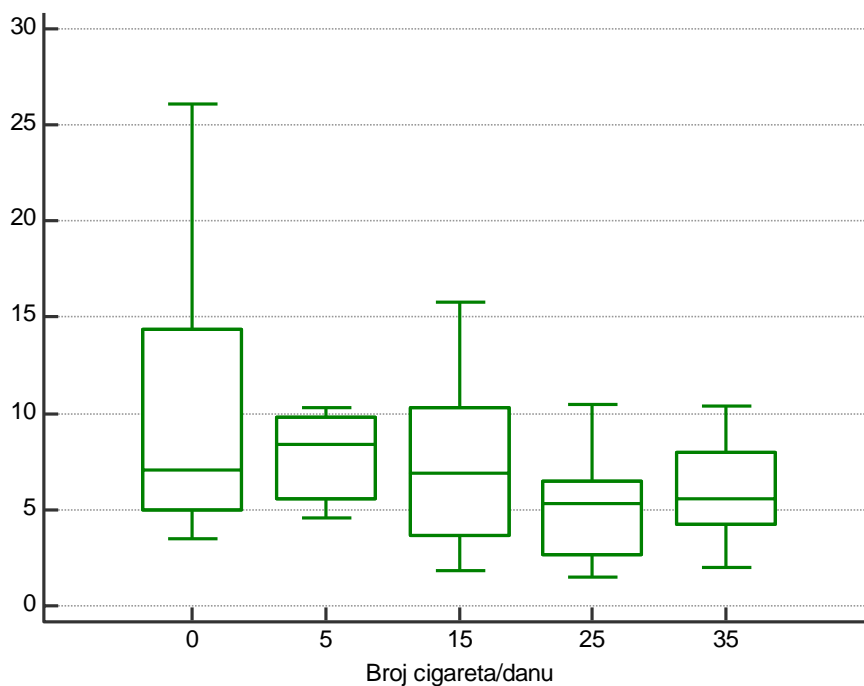
\*\*\* - Premali broj uzoraka

Analizom bolesnika u skupinama prema broju cigareta na dan, vidljivo je kako su skupina 0 (N=20) i 15 (N=19) najbrojnije, dok je skupina 5 najmanja (N=3). U svakoj skupini je viši postotak bolesnika na intramuskularnoj terapiji u odnosu na peroralnu, osim u skupini 35 gdje je omjer 50:50. U skupini 5 sva tri bolesnika su na intramuskularnoj terapiji.

U skupini ispitanika po broju cigareta na dan redom 0, 5, 15, 25, 35 vrijednosti medijana koncentracije olanzapina iznose redom 119,00 nmol/L (95 CI 61,70-175,01); 84,20 nmol/L (95 CI /); 80,10 nmol/L (95 CI 50,44-140,92); 54,50 nmol/L (95 CI 37,90-107,25); 95,20 nmol/L (95 CI 28,08-198,49). Vrijednosti medijana za prve četiri grupe bolesnika padaju porastom broja cigareta dnevno, a skupina s 35 cigareta na dan ima drugu najveću vrijednost medijana.

Minimalna vrijednost koncentracije olanzapina u serumu zabilježena je u bolesnika iz skupine 35 cigareta dnevno, dok je maksimalna zabilježena u bolesnika nepušača (0 cigareta dnevno). Analizom koncentracija olanzapina u bolesnika podijeljenih prema broju cigareta na dan nije dobivena statistički značajna razlika u koncentraciji olanzapina (P=0,181) (Tablica 7.).

Statistička obrada koncentracija olanzapina ujednačenih prema dozi pokazala je slične rezultate prema broju cigareta dnevno kao i izmjerene koncentracije olanzapina. Nakon ujednačavanja koncentracije nisu dosegnule statistički značajnu razliku (P=0,270) (Slika 10.).



Slika 10. Koncentracije olanzapina ujednačene prema dozama u bolesnika prema broju cigareta dnevno

## 5. RASPRAVA

Olanzapin je antipsihotik druge generacije koji se koristi u liječenju akutnih simptoma shizofrenije i u terapiji održavanja bolesnika koji su pokazali početni odgovor na liječenje, a primjenjuje se još za liječenje umjerenih do teških epizoda manije i za prevenciju relapsa u bolesnika s bipolarnim poremećajem čije su manične epizode reagirale na liječenje olanzapinom. Zbog manje potentnosti blokade dopaminskih D2 receptora u odnosu na tipične antipsihotike, rizik za pojavu ekstrapiramidalnih nuspojava je manji i češće su koristi u liječenju. Biotransformacija se odvija u jetri i glavni metabolitčki putevi olanzapina su N-glukuronidacija putem UGT1A4 i N-demetilacija putem CYP1A2, a u manjoj mjeri se odvijaju N-oksidacija preko FMO3 i 2-hidroksilacija preko CYP2D6 (Kassahun i sur., 1997). Metabolizam olanzapina može se inducirati pušenjem i karbamazepinom, što može dovesti do smanjenja koncentracija olanzapina i uočen je samo blag do umjeren porast klirensa olanzapina. Lijekovi poput fluvoksamina i ciprofloksacina su inhibitori CYP1A2 i povećavaju serumske razine olanzapina ([www.halmed.hr](http://www.halmed.hr)).

Postotak pušača u psihijatrijskih bolesnika veći je u odnosu na opću populaciju. Policiklički aromatski ugljikovodici iz duhanskog dima uzrokuju povećanje aktivnosti CYP1A2, dok nikotin nema utjecaj; na zamjenskoj terapiji nikotinom nije primjećen utjecaj na aktivnost enzima (Martin i Lucas, 2013).

### 5.1. Koncentracija olanzapina prema spolu

U provedenom ispitivanju u skupini muškaraca (N=41) medijan koncentracije olanzapina iznosio je 80,10 nmol/ L i niži je u odnosu na medijan u skupini žena (N=17) koji iznosi 87,40 nmol/ L. Nakon ujednačavanja koncentracija prema dozi razlika medijana koncentracija je još viša (muškarci 6,1, a žene 8,3 nmol/L), ali analizom dobivenih rezultata Mann-Whitney U-testom za neovisne varijable nije dokazana statistički značajna razlika koncentracija olanzapina (Z=0,410, P=0,682), a niti koncentracija olanzapina ujednačenih prema dozi (Z=1,589, P=0,112) u serumu bolesnika podjeljenih prema spolu.

Višem medijanu u skupini žena ide u prilog činjenica da žene imaju sporije izlučivanje olanzapina. Razlika u koncentraciji olanzapina ovisno o spolu je moguća; u žena je prosječno poluvrijeme eliminacije nešto duže u odnosu na muškarce (36,7 naspram 32,3 sata), a klirens je smanjen (18,9 naspram 27, 3L/ h) ([www.halmed.hr](http://www.halmed.hr)).



Moguć je utjecaj i ostalih lijekova na koncentraciju olanzapina u pacijenata jer su dvije ženske ispitanice uzimale u terapiji 400 mg karbamazepina dnevno; obje niže od medijana za žensku skupinu. Ispitanik i ispitanica koji su uzimali fluvoksamin, potentni inhibitor CYP1A2, u dozi 50 mg i 100 mg dnevno, imali su koncentracije olanzapina 231,0 i 158,0 nmol/ L; obje više od medijana u svojoj skupini.

Brojne studije istraživale su utjecaj spola na koncentracije olanzapina. U manjoj studiji na 67 ispitanika pokazano je da žene (N=28) imaju otprilike 30% više serumske razine olanzapina u odnosu na muškarce (N=39). Mogući utjecaj komedikacije nije ispitan jer nisu bili uključeni pacijenti koji u terapiji imaju fluvoksamin ili karbamazepin (Weiss i sur., 2005). Druga studija pokazala je da su medijan koncentracije olanzapina i omjera koncentracije i doze bili povišeni u žena (N=80) i mogućim uzrokom toga se smatra povećana aktivnost CYP1A2 u muškaraca (N=71) te veći udio masnog tkiva u žena gdje se olanzapin nakuplja rezultirajući povećanim razinama u serumu (Lu i sur., 2016).

## **5.2. Koncentracija olanzapina prema načinu primjene terapije**

Antipsihotik olanzapin dostupan je na tržištu u obliku obloženih tableta i oralno raspadljivih tableta za peroralnu primjenu i formulacije u obliku soli za intramuskularnu primjenu. Prije primjene lijeka Zypadhera u obliku duboke glutealne intramuskularne injekcije bolesnike se mora liječiti oralnim olanzapinom kako bi se utvrdila podnošljivost i postojanje odgovora na liječenje. Polagano otapanje soli olanzapin pamoata u mišićnom tkivu započinje odmah nakon primjene injekcije i osigurava polagano kontinuirano oslobađanje kroz više od 4 tjedna; poluvrijeme eliminacije je 30 dana, dok je kod oralnih oblika poluvrijeme eliminacije oko 30 sati.

U provedenoj studiji 70,7% (41/58) bolesnika je na intramuskularnoj, a 29,3% (17/ 58) na peroralnoj terapiji olanzapinom. Dobivene vrijednosti medijana koncentracije olanzapina u skupinama na peroralnoj i intramuskularnoj terapiji iznose 112,00 i 68,30 nmol/ L. Vrijednost medijana u bolesnika na peroralnoj terapiji viša je za 39,0% u odnosu na intramuskularnu primjenu, međutim analiza rezultata Mann-Whitney U-testom za neovisne varijable nije pokazala statistički značajnu razliku koncentracija lijeka u ispitanika na peroralnoj i intramuskularnoj terapiji (P=0,066), ali je P vrijednost vrlo blizu vrijednosti koja utvrđuje statističku značajnost. Medijani koncentracije ujednačene prema dnevnoj dozi u skupinama s peroralnom i intramuskularnom terapijom iznose redom 8,00 i 6,00 nmol/mg/L. Vrijednost medijana u bolesnika na peroralnoj terapiji viša je za 25,0% u odnosu na intramuskularnu,

međutim usporedbom rezultatata Mann Whitney U-testom za neovisne varijable nije dokazana statistički značajna razlika koncentracije ujednačene prema dnevnoj dozi u bolesnika na peroralnoj i intramuskularnoj terapiji ( $P=0,151$ ). U obje skupine je postotak pušača (P) i muškaraca (M) viši u odnosu na nepušače (NP) i žene (Ž). U intramuskularnoj skupini je omjer pušači: nepušači= 26: 15 (63,4%: 36,6%), muškarci: žene= 30: 11 (73,2%: 26,8%), a u peroralnoj pušači: nepušači= 12: 5 (70,6%: 29,4%) , muškarci: žene= 11: 6 (64,7%: 35,3%). Viši postotak muških ispitanika u intramuskularnoj skupini ide u prilog nižim vrijednostima medijana koncentracije i koncentracije ujednačene prema dnevnoj dozi u toj skupini jer muškarci imaju kraće prosječno poluvrijeme eliminacije, tj. bržu eliminaciju lijeka u odnosu na žene. Pušači također imaju brže poluvrijeme eliminacije lijeka u odnosu na nepušače, ali činjenica da je u peroralnoj skupini, koja ima više vrijednosti medijana koncentracije i koncentracije ujednačene prema dnevnoj dozi, viši postotak pušača ne ide tome u prilog. Oba bolesnika koji u terapiji imaju 400 mg karbamazepina dnevno, koji je potentan induktor CYP1A2, pripadaju intramuskularnoj skupini s nižim vrijednostima medijana, dok oba bolesnika koji u terapiji imaju fluvoksamin, potentan inhibitor CYP1A2, u dozi 50 i 100 mg dnevno pripadaju peroralnoj skupini s višim vrijednostima medijana.

### **5.3. Koncentracija olanzapina prema pušenju**

Farmakokinetika olanzapina pokazuje varijabilnost ovisno o dobi, spolu i pušenju pa tako mladi, muškarci i pušači imaju kraće poluvrijeme eliminacije, veći klirens i brže izlučivanje lijeka iz organizma, dok za starije, žene i nepušače vrijedi obratno. Duhanski dim u pušača utječe na metabolizam olanzapina jer policiklički aromatski ugljikovodici induciraju aktivnost enzima CYP1A2. Taj enzim katalizira reakciju pretvorbe olanzapina u N-desmetilolanzapin koji se dalje izlučuje iz organizma i posljedica indukcije je snižena razina olanzapina u serumu te negativan utjecaj na terapijsku učinkovitost.

U meta-analizi koja obuhvaća sedam studija ispitivan je utjecaj pušenja na koncentracije olanzapina u 1094 pacijenta sa shizofrenijom i drugim psihijatrijskim poremećajima. Ukupno je bilo 652 pušača i 442 nepušača i zaključeno je kako su vrijednosti omjera koncentracije i doze značajno niže u pušača u odnosu na nepušače. Procjenjeno je da ukoliko pušači uzimaju 10 i 20 mg dnevno, nepušači bi trebali uzimati 7 i 14 mg za postizanje iste koncentracije lijeka. Također, preporučena je redukcija doze olanzapina za 30% za nepušače u odnosu na pušače u odnosu na pušače (Tsuda i sur., 2014).

U manjoj studiji na 17 psihijatrijskih bolesnika zaključeno je značajno smanjenje koncentracije olanzapina zbog utjecaja pušenja na aktivnost CYP1A2 enzima (Carrillo i sur., 2003).

U provedenom ispitivanju je ukupno 65,5% (38/ 58) pušača i 34,5% (20/ 58) nepušača.. Medijani koncentracije olanzapina u skupini nepušača i pušača su 119,00 i 79,25 nmol/ L. Iznos medijana u bolesnika nepušača je viši za 33, 4% u odnosu na pušače, međutim usporedbom rezultata Mann-Whitney U testom za neovisne varijable nije dokazana statistički značajna razlika koncentracija lijeka u ispitanika pušača i nepušača (P=0,071). Medijani koncentracije ujednačene prema dnevnoj dozi olanzapina u skupini nepušača i pušača su 7,10 i 5,90 nmol/mg/L. Iznos medijana koncentracije olanzapina ujednačene prema dozi u skupini nepušača viši je za 16,9% u odnosu na pušače. Snižene vrijednosti u pušača idu u prilog činjenici da pušenje smanjuje koncentraciju olanzapina indukcijom CYP1A2, ali usporedbom rezultata Mann-Whitney U testom za neovisne varijable nije dokazana statistički značajna razlika koncentracije ujednačene prema dnevnoj dozi u bolesnika pušača i nepušača (P=0,079), ali je P vrijednost vrlo blizu vrijednosti koja utvrđuje statističku značajnost i na većem broju ispitanika i ujednačenijim skupinama vrijednost bi mogla doseći statističku značajnost. U obje skupine je postotak muškaraca viši u odnosu na žene. U skupini pušača je omjer muškarci: žene 29: 9 (76, 3%: 23, 7%), a u skupini nepušača je omjer muškarci: žene 12: 8 (60,0%: 40,0%). Činjenica da je eliminacija lijeka sporija u žena ide u prilog tome da je medijan viši u skupini s višim postotkom žena (skupina nepušači).

Dva ispitanika koja u terapiji imaju karbamazepin u dnevnoj dozi 400 mg su u skupini pušača. Karbamazepin smanjuje koncentraciju olanzapina u serumu pa je i to moglo utjecajati na niže vrijednosti medijana u pušača. Bolesnik s 50 mg fluvoksamina dnevno je u skupini nepušača pa inhibicija CYP1A2 fluvoksaminom ide u prilog višim vrijednostima medijana u nepušača, dok drugi ispitanik koji uzima 100 mg fluvoksamina dnevno pripada skupini pušača pa nema poveznice s nižim vrijednostima medijana u pušača.

#### **5.4. Koncentracija olanzapina prema broju cigareta dnevno**

Povećanje aktivnosti CYP1A2 ovisi o broju cigareta dnevno, ali točna granica nije poznata; značajno je povećana u osoba koje konzumiraju više od 20 cigareta dnevno u odnosu na nepušače, ovisi o bioraspoloživosti duhanskog dima i načinu inhalacije (Martin i Lucas, 2013).

U studiji na 12 ispitanika koji su pušili barem 20 cigareta dnevno (raspon 22.3-27.7) praćena

je aktivnost enzima CYP1A2 uz pomoć test lijeka kofeina koji se gotovo u potpunosti metabolizira putem tog enzima. Smanjenje aktivnosti CYP1A2 prvi, drugi, treći i četvrti dan nakon prestanka pušenja i za tjedan dana bilo je 12,3%, 20,1%, 25,0%, 28,2% i 36,1% (Kroon, 2007).

U studiji na 73 bolesnika sa shizofrenijom koji u terapiji imaju klozapin (N=33) i olanzapin (N=40), pušači su podijeljeni su 4 grupe ovisno o broju cigareta dnevno; 1-6, 7-12, 13-19 i >20. Statistički značajna razlika dokazana je za koncentracije ujednačene prema dozi između pušača i nepušača, ali nije između pojedinih grupa pušača. Dnevna konzumacija 7-12 cigareta je vjerojatno dovoljna za maksimalnu indukciju metabolizma olanzapina i klozapina (Haslemo i sur., 2006).

U provedenom ispitivanju bolesnici su podijeljeni u 5 skupina prema broju cigareta na dan; 0 (0 cigareta dnevno) N=20, 5 (1-10 cigareta dnevno) N= 3, 15 (11-20 cigareta dnevno) N= 19, 25 (21-30 cigareta dnevno) N=10 i 35 (>30 cigareta dnevno) N=6. Koristio se Kruskal Wallis test jer je prisutno pet nezavisnih uzoraka i nije dokazana statistički značajna razlika ovisnosti koncentracije ujednačene prema dnevnoj dozi među pojedinim grupama (P= 0,270).

## 6. ZAKLJUČCI

U ovom radu ispitivan je utjecaj spola, načina primjene terapije i pušenja na koncentracije olanzapina u serumu 58 bolesnika sa shizofrenijom.

Iz dobivenih rezultata zaključeno je sljedeće:

- Žene imaju viši medijan koncentracija olanzapina i koncentracija olanzapina ujednačenih prema dozama od muškaraca, ali navedena razlika nije dosegla statističku značajnost
- Bolesnici koji uzimaju olanzapin peroralno imaju viši medijan koncentracija olanzapina u krvi i koncentracija olanzapina ujednačenih prema dozama od bolesnika koji su na intramuskularnom pripravku, ali obradom rezultata nije dobivena statistički značajna razlika
- Pušači imaju niži medijan koncentracija olanzapina i koncentracija olanzapina ujednačenih prema dozama od nepušača i statistička obrada rezultata pokazala je graničnu statističku značajnost
- Daljnom obradom koncentracija olanzapina kod pušača nije dobivena statistički značajna razlika koncentracije, niti koncentracije olanzapina ujednačene prema dozi prema dnevnom broju cigareta zbog malog broja uzoraka u pojedinim skupinama

Iz navedenih rezultata nije moguće sa sigurnošću utvrditi utjecaj spola, načina primjene terapije i pušenja na koncentracije olanzapina u serumu ispitanika i potrebno je provesti dodatna ispitivanja na većem broju pacijenata.

S obzirom da se vrijednosti medijana koncentracija olanzapina znatno razlikuju prema spolu, načinu primjene terapije, te između pušača i nepušača, a P vrijednosti su blizu značajnih, smatramo da je vrijedno proširiti studiju na veći broj ispitanika, te ujednačiti skupine kako bi se dokazale statistički značajne razlike ispitivanih skupina.

## 7. LITERATURA

A brief history of schizophrenia, 2012., <https://www.livingwithschizophreniauk.org>, pristupljeno 20.8.2018.

Altamura AC, Sassella F, Santini A, Montresor C, Fumagalli S, Mundo E. Intramuscular preparations of antipsychotics: uses and relevance in clinical practice. *Drugs*, 2003, 63, 493–512.

Callaghan JT, Bergstrom RF, Ptak LR, Beasley CM. Olanzapine. Pharmacokinetic and pharmacodynamic profile. *Clin Pharmacokinet*, 1999, 37, 177-93.

Carrillo JA, Herraiz AG, Ramos SI, Gervasini G, Vizcaino S, Benitez J. Role of the smoking-induced cytochrome P450 (CYP)1A2 and polymorphic CYP2D6 in steady-state concentration of olanzapine. *J Clin Psychopharmacol*, 2003, 23, 119–127.

Ciudad A, Anand E, Berggren L, Casillas M, Schacht A, Perrin E. Switching to olanzapine long-acting injection from either oral olanzapine or any other antipsychotic: a comparative post hoc analyses. *Neuropsych Dis Treat*, 2013, 9, 1737-1750.

Green B. Focus on Olanzapine. *Current Medical Research and Opinion*, 1999, 15, 79-85.

Hor K, Taylor M. Suicide and schizophrenia: a systematic review of rates and risk factors. *J Psychopharmacol*, 2010, 4, 81-90.

Howes OD, McCutcheon R, Owen MJ, Murray RM. The role of genes, stress and dopamine in the development of schizophrenia. *Biol Psychiatry*, 2017, 81, 9-20.

Jablensky A. The diagnostic concept of schizophrenia: its history, evolution, and future prospects. *Dialogues Clin Neurosci*, 2010, 12, 271–287.

Kane JM, Aguglia E, Altamura AC, Gutierrez JLA, Brunello N, Fleischhacker WW, Gaebel W, Gerlach J, Guelfi JD, Kissling W, Lapierre YD, Lindström E, Mendlewicz J, Racagni G, Carulla LS, Schoder NR. Guidelines for depot antipsychotic treatment in schizophrenia. *Eur Neuropsychopharmacol*, 1998, 8, 55-66.

Kane JM, Correll CU. Pharmacologic treatment of schizophrenia. *Dialogues Clin Neurosci*, 2010, 12, 345–357.

Kane JM, Detke HC, Naber D, Sethuraman G, Lin DY, Bergstrom RF, et al. Olanzapine long-acting injection: a 24-week, randomized, double-blind trial of maintenance treatment in patients with schizophrenia. *Am J Psychiatry*, 2010, 167, 181–189.

Kassahun K, Mattiuz E, Nyhart EJ, Obermeyer B, Gillespie T, Murphy A, Goodwin RM, Tupper D, Callaghan JT, Lemberger L. Disposition and biotransformation of the antipsychotic agent olanzapine in humans. *Drug Metab Dispos*, 1997, 1, 81-93.

Lieberman JA, Stroup TS, McEvoy JP, Swartz MS, Rosenheck RA, Perkins DO. Effectiveness of antipsychotic drugs in patients with chronic schizophrenia. *N Engl J Med*, 2005, 353, 1209–1223.

Liječenje shizofrenije, 2009., <https://www.plivazdravlje.hr>, pristupljeno 22.8.2018.

Lu ML, Wu YX, Chen CH, Kuo PT, Chen YH, Lin CH, Wu TH. Application of Plasma Levels of Olanzapine and N-Desmethyl-Olanzapine to Monitor Clinical Efficacy in Patients with Schizophrenia. *Schizophr Res*, 2018, 193, 139-145.

Lucas C, Martin J. Smoking and drug interaction. *Aust Prescr*, 2013, 36, 102-104.

Miyamoto S, Miyake N, Jarskog LF, Fleischhacker WW, Lieberman JA. Pharmacological treatment of schizophrenia: a critical review of the pharmacology and clinical effects of current and future therapeutic agents. *Mol Psychiatry*, 2012, 17, 1206 – 1227.

Meltzer H. Antipsihotici i litij. U: Temeljna i klinička farmakologija. Katzung BG, Masters SB, Trevor AJ, urednici, Zagreb, Medicinska naklada, 2011, str. 489-507.

Patel KR, Cherian J, Gohil K, Atkinson D. Schizophrenia: Overview and Treatment Options. *Pharmacol Ther*, 2014, 39, 638-645.

Raben AT, Marshe VS, Chintoh A, Gorbovskaya I, Muller DJ, Hahn MK. The Complex Relationship between Antipsychotic-Induced Weight Gain and Therapeutic Benefits: A Systematic Review and Implications for Treatment. *Front Neurosci*, 2018, 11, 741.

Šagud M, Mihaljević-Peles A, Muck-Seler D, Pivac N, Vuksan-Cusa B, Brataljenović T, Jakovljević M. Smoking and schizophrenia. *Psychiatr Danub*, 2009, 3, 371-375.

Sažetak opisa svojstava lijeka- Zypadhera, 2012., <http://www.halmed.hr>, pristupljeno 20.8.2018.

Shizofrenija, 2016., <http://www.msd-prirucnici.placebo.hr>, pristupljeno 25.8.2018.

Solmi M, Murru A, Pacchiarotti I, Undurraga J, Veronese N, Fornaro M, Stubbs B, Monaco F, Vieta E. Safety, tolerability, and risks associated with first- and second-generation antipsychotics: a state-of-the-art clinical review. *Ther Clin Risk Manag*, 2017, 13, 757–777.

Tsuda Y, Saruwatari J, Yasui-Furukori N. Meta-analysis: the effects of smoking on the disposition of two commonly used antipsychotic agents, olanzapine and clozapine. *BMJ Open*, 2014, 4(3), DOI: 10.1136/bmjopen-2013-004216.

Weiss U, Marksteiner J, Kemmler G, Saria A, Aichorn W. Effects of age and sex on olanzapine plasma concentrations. *J Clin Psychopharmacol*, 2005, 6, 570-574.

Zanger UM, Schwab M. Cytochrome P450 enzymes in drug metabolism: regulation of gene expression, enzyme activities, and impact of genetic variation. *Pharmacol Ther*, 2013, 138, 103-141.



Zhang XY, Liang J, Chen DC, Xiu MH, He J, Cheng W, Wu Z, Yang FD, Haile CN, Sun H, Lu L, Kosten TA, Kosten TR. Cigarette smoking in male patients with chronic schizophrenia in a Chinese population: prevalence and relationship to clinical phenotypes. *PloS One*, 2012, 7(2), DOI: 10.1371/journal.pone.0030937.

Zhornitsky S, Stip E. Oral versus Long-Acting Injectable Antipsychotics in the Treatment of Schizophrenia and special Populations at Risk for Treatment Nonadherence: A Systematic Review. Hindawi Publishing Corporation. *Schizop Res Treatmant*, 2012, 407171, 1-12.

## 8. Sažetak

Olanzapin je atipični antipsihotik učinkovit u liječenju simptoma shizofrenije. 10-N-glukuronid je najzastupljeniji metabolit, ali se djelovanjem enzima CYP1A2 metabolizira u 4'-N-desmetilolanzapin. Pušenje i karbamazepin induciraju CYP1A2 i smanjuju koncentraciju olanzapina, a fluvoksamin i ciprofloksacin inhibiraju. Prevalencija pušenja je značajno visoka u psihijatrijskih bolesnika, preko 60%. Pušači i muškarci imaju viši klirens olanzapina u odnosu na žene i nepušače. Cilj ovog rada je ispitati utjecaj pušenja, spola i načina primjene lijeka na koncentraciju olanzapina u serumu. Koncentracije olanzapina u serumu određene su HPLC-DAD metodom. Istraživanje uključuje 58 pacijenata sa shizofrenijom liječenih olanzapinom; 65,5% su pušači i 34,5% nepušači; 70,7% su muškarci i 29,3% žene; 70,7% su na terapiji olanzapinom i.m. i 29,3% su na p.o terapiji. Mann-Whitney U testom ispitivane su razlike između dvije neovisne grupe i nije dokazana statistički značajna razlika u koncentraciji olanzapina ( $P=0,682$ ) i koncentraciji olanzapina ujednačenoj prema dnevnoj dozi ( $P=0,112$ ) između muškaraca i žena; u koncentraciji olanzapina ( $P=0,066$ ) i koncentraciji ujednačenoj prema dnevnoj dozi ( $P=0,151$ ) između bolesnika na peroralnoj i intramuskularnoj terapiji; u koncentraciji olanzapina ( $P=0,071$ ) i koncentraciji ujednačenoj prema dnevnoj dozi ( $P=0,079$ ) između pušača i nepušača. Kruskal-Wallis test je korišten za ispitivanje razlike između pet neovisnih grupa pacijenata koji su podijeljeni prema broju cigareta dnevno. Nije dokazana statistički značajna razlika u koncentraciji olanzapina ( $P=0,181$ ) i koncentraciji ujednačenoj prema dnevnoj dozi ( $P=0,270$ ) između grupa. S obzirom da se vrijednosti medijana koncentracija olanzapina prema načinu primjene terapije, te između pušača i nepušača razlikuju, a P vrijednosti su blizu značajnih, smatramo da je vrijedno proširiti studiju na veći broj ispitanika, te ujednačiti skupine kako bi se dokazale statistički značajne razlike ispitivanih skupina.

## Summary

Olanzapine is atypical antipsychotic effective in treatment symptoms of schizophrenia. The 10-N-glucuronide is the most abundant metabolite and formation of 4'-N-desmethylolanzapine is via CYP1A2. Smoking and carbamazepine induce CYP1A2 activity and decrease serum levels of olanzapine; fluvoxamine and ciprofloxacin are inhibitors. Prevalence of smoking in psychiatric patients is very high, more than 60%. Smokers and men have higher clearance of olanzapine. The aim of this study was to examine effect of smoking, gender and administration route on serum levels of olanzapine. HPLC-DAD method was used to determine serum levels of olanzapine. This study included 58 patients with schizophrenia; 65,5% are smokers and 34,5% are nonsmokers; 70,7% are men and 29,3% are women; 70,7% receive i.m. olanzapine and 29,3% receive p.o. olanzapine. The Mann-Whitney U test was used to compare differences between two independent groups and there were no statistically significant differences found between men and women for olanzapine serum concentration ( $P=0,682$ ) and for concentration/ daily dose ratio ( $P=0,112$ ), between p.o and i.m. group for olanzapine serum concentration ( $P=0,066$ ) and concentration/ daily dose ratio ( $P=0,151$ ), between smokers and nonsmokers for olanzapine serum concentration ( $P=0,071$ ) and for concentration/ daily dose ratio ( $P=0,079$ ). The Kruskal-Wallis test was used to compare differences between five groups of patients divided according to number of cigarettes daily. There were no statistically significant differences found between groups for olanzapine serum concentration ( $P=0,181$ ) and for concentration/ daily dose ratio ( $P=0,270$ ). Because of differences in median values of olanzapine serum level between smokers and nonsmokers and in administration route group, also P values were close to significant, it is recommended to make bigger study with more patients and have more equal groups to prove statistically significant differences between them.

## 9. PRILOZI

### 9.1. Popis kratica

5-HT- 5-hidroksitriptamin

AMPA- alfa-amino-3-hidroksi-5-metil-4-izoksazolpropionska kiselina

CNS- središnji živčani sustav (*engl.* Central Nervous System)

CYP- citokrom P450 enzim

D2 receptori- dopaminski tip 2 receptori

DMSO- dimetilsulfoksid

FGA- antipsihotici prve generacije (*engl.* First Generation Antipsychotics)

FMO- flavin monooksigenaza enzim

GABA- gama-aminomaslačna kiselina

HPLC- tekućinska kromatografija visoke djelotvornosi (*engl.* High performance liquid chromatography)

i.m.- intramuskularno

KA- kainatna kiselina

LSD- dietilamid lizergične kiseline

M- muški spol

NMDA- N-metil-D-aspartat

NP- nepušači

P- pušači

p.o.- peroralno

PIS- posinjekcijski sindrom

SGA- antipsihotici druge generacije (*engl.* Second Generation Antipsychotics)

TD- tardivna diskinezija

TGA- antipsihotici treće generacije (*engl.* Third Generation Antipsychotics)

UGT- uridin-5'-difosfo-glukuronil transferaza enzim

Ž- ženski spol

## Temeljna dokumentacijska kartica

Sveučilište u Zagrebu  
Farmaceutsko-biokemijski fakultet  
Studij: Farmacija  
Zavod za farmakologiju  
Domagojeva 2, 10000 Zagreb, Hrvatska

Diplomski rad

### UTJECAJ PUŠENJA NA KONCENTRACIJE OLANZAPINA U BOLESNIKA SA SHIZOFRENIJOM

Mate Kadija

#### SAŽETAK

Olanzapin je atipični antipsihotik učinkovit u liječenju simptoma shizofrenije. 10-N-glukuronid je najzastupljeniji metabolit, ali se djelovanjem enzima CYP1A2 metabolizira u 4'-N-desmetilolanzapin. Pušenje i karbamazepin induciraju CYP1A2 i smanjuju koncentraciju olanzapina, afluvoksamin i ciprofloksacin inhibiraju. Prevalencija pušenja je značajno visoka u psihijatrijskih bolesnika, preko 60%. Pušači i muškarci imaju viši klirens olanzapina u odnosu na žene i nepušače. Cilj ovog rada je ispitati utjecaj pušenja, spola i načina primjene lijeka na koncentraciju olanzapina u serumu. Koncentracije olanzapina u serumu određene su HPLC-DAD metodom. Istraživanje uključuje 58 pacijenata sa shizofrenijom liječenih olanzapinom; 65,5% su pušači i 34,5% nepušači; 70,7% su muškarci i 29,3% žene; 70,7% su na terapiji olanzapinom i.m. i 29,3% su na p.o terapiji. Mann-Whitney U testom ispitivane su razlike između dvije neovisne grupe i nije dokazana statistički značajna razlika u koncentraciji olanzapina ( $P=0,682$ ) i koncentraciji olanzapina ujednačenoj prema dnevnoj dozi ( $P=0,112$ ) između muškaraca i žena; u koncentraciji olanzapina ( $P=0,066$ ) i koncentraciji ujednačenoj prema dnevnoj dozi ( $P=0,151$ ) između bolesnika na peroralnoj i intramuskularnoj terapiji; u koncentraciji olanzapina ( $P=0,071$ ) i koncentraciji ujednačenoj prema dnevnoj dozi ( $P=0,079$ ) između pušača i nepušača. Kruskal-Wallis test je korišten za ispitivanje razlike između pet neovisnih grupa pacijenata koji su podijeljeni prema broju cigareta dnevno. Nije dokazana statistički značajna razlika u koncentraciji olanzapina ( $P=0,181$ ) i koncentraciji ujednačenoj prema dnevnoj dozi ( $P=0,270$ ) između grupa. S obzirom da se vrijednosti medijana koncentracija olanzapina prema načinu primjene terapije, te između pušača i nepušača razlikuju, a P vrijednosti su blizu značajnih, smatramo da je vrijedno proširiti studiju na veći broj ispitanika, te ujednačiti skupine kako bi se dokazale statistički značajne razlike ispitivanih skupina.

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

Rad sadrži: 47 stranica, 10 grafičkih prikaza, 7 tablica i 30 literaturnih navoda. Izvornik je na hrvatskom jeziku.

Ključne riječi: Shizofrenija, olanzapin, pušenje, CYP1A2

Mentor: **Dr. sc. Lidija Bach-Rojecky**, izvanredni profesor i **Dr. sc. Mila Lovrić**, naslovni docent Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.

Ocjenjivači: **Dr. sc. Lidija Bach-Rojecky**, izvanredni profesor Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.  
**Dr. sc. Mila Lovrić**, naslovni docent Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.

**Dr. sc. Višnja Drinovac Vlah**, viši asistent Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.

Rad prihvaćen: rujna, 2018.

## Basic documentation card

University of Zagreb  
Faculty of Pharmacy and Biochemistry  
Study: Pharmacy  
Department of Pharmacology  
Domagojeva 2, 10000 Zagreb, Croatia

Diploma thesis

### THE EFFECT OF SMOKING ON SERUM LEVELS OF OLANZAPINE IN PATIENTS WITH SCHIZOPHRENIA

Mate Kadija

#### SUMMARY

Olanzapine is atypical antipsychotic effective in treatment symptoms of schizophrenia. The 10-N-glucuronide is the most abundant metabolite and formation of 4'-N-desmethylolanzapine is via CYP1A2. Smoking and carbamazepine induce CYP1A2 activity and decrease serum levels of olanzapine; fluvoxamine and ciprofloxacin are inhibitors. Prevalence of smoking in psychiatric patients is very high, more than 60%. Smokers and men have higher clearance of olanzapine. The aim of this study was to examine effect of smoking, gender and administration route on serum levels of olanzapine. HPLC-DAD method was used to determine serum levels of olanzapine. This study included 58 patients with schizophrenia; 65,5% are smokers and 34,5% are nonsmokers; 70,7% are men and 29,3% are women; 70,7% receive i.m. olanzapine and 29,3% receive p.o. olanzapine. The Mann-Whitney U test was used to compare differences between two independent groups and there were no statistically significant differences found between men and women for olanzapine serum concentration ( $P=0,682$ ) and for concentration/ daily dose ratio ( $P=0,112$ ), between p.o and i.m. group for olanzapine serum concentration ( $P=0,066$ ) and concentration/ daily dose ratio ( $P=0,151$ ), between smokers and nonsmokers for olanzapine serum concentration ( $P=0,071$ ) and for concentration/ daily dose ratio ( $P=0,079$ ). The Kruskal-Wallis test was used to compare differences between five groups of patients divided according to number of cigarettes daily. There were no statistically significant differences found between groups for olanzapine serum concentration ( $P=0,181$ ) and for concentration/ daily dose ratio ( $P=0,270$ ). Because of differences in median values of olanzapine serum level between smokers and nonsmokers and in administration route group, also P values were close to significant, it is recommended to make bigger study with more patients and have more equal groups to prove statistically significant differences between them.

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

Thesis includes: 47 pages, 10 figures, 7 tables and 30 references. Original is in Croatian language.

Keywords: Schizophrenia, olanzapine, smoking, CYP1A2

Mentor: **Lidija Bach-Rojecky, Ph.D.** Associate Professor and **Mila Lovrić, Ph.D.** Assistant Professor, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry

Reviewers: **Lidija Bach-Rojecky, Ph.D.** Associate Professor, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry  
**Mila Lovrić, Ph.D.** Assistant Professor, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry  
**Višnja Drinovac Vlah, Ph.D.** Senior Assistant, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry

The thesis was accepted: September, 2018.

