Izoniazid - metabolizam, toksičnost i interakcije

Međeši, Damir

Master's thesis / Diplomski rad

2016

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Split, Faculty of Chemistry and Technology / Sveučilište u Splitu, Kemijsko-tehnološki fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:167:196695

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

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

Repository / Repozitorij:

Repository of the Faculty of chemistry and technology - University of Split

zir.nsk.hr

UNIVERSITY OF SPLIT

dabar

DIGITALNI AKADEMSKI ARHIVI I REPOZITORIJI

SVEUČILIŠTE U SPLITU

KEMIJSKO-TEHNOLOŠKI FAKULTET

I

MEDICINSKI FAKULTET

Damir Međeši

IZONIAZID – METABOLIZAM, TOKSIČNOST I INTERAKCIJE

Diplomski rad

Akademska godina:

2015./2016.

Mentorica:

prof. dr. sc. Marica Medić-Šarić

Split, listopad 2016.

SVEUČILIŠTE U SPLITU

KEMIJSKO-TEHNOLOŠKI FAKULTET

I

MEDICINSKI FAKULTET

Damir Međeši

IZONIAZID – METABOLIZAM, TOKSIČNOST I INTERAKCIJE

Diplomski rad

Akademska godina:

2015./2016.

Mentorica:

prof. dr. sc. Marica Medić-Šarić

Split, listopad 2016.

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

DIPLOMSKI RAD

Kemijsko-tehnološki fakultet i Medicinski fakultet
Integrirani preddiplomski i diplomski studij FARMACIJA
Sveučilište u Splitu, Republika Hrvatska

Znanstveno područje:	Biomedicinske znanosti
Znanstveno polje:	Farmacija
Nastavni predmet:	Biokemija lijekova
Tema rada	je prihvaćena na sjednici Vijeća studija Farmacija te potvrđena na 4. sjednici Fakultetskog vijeća Kemijsko-tehnološkog fakulteta i sjednici fakultetskog vijeća Medicinskog fakulteta
Mentor:	prof. dr. sc. Marica Medić-Šarić
Pomoć pri izradi:	prof. dr. sc. Marica Medić-Šarić

IZONIAZID – METABOLIZAM, TOKSIČNOST I INTERAKCIJE

Damir Međeši, 49

Sažetak: Cilj istraživanja je najvažniji tuberkulostatik prvog reda, izoniazd (INH). Kao lijek koji je neophodan u liječenju tuberkuloze vrlo je važno proučiti putove njegovog metabolizma i toksičnosti te moguće interakcije u koje stupa s drugim lijekovima. S obzirom na strukturu INH, biotransformacija se odvija reakcijama I. i II. faze metabolizma pod utjecajem karakterističnih enzima. Međutim, prema dokazanim metabolitima veću važnost imaju reakcije II. faze. Biotransformacija se odvija reakcijama acetilacije, a nastali metaboliti podliježu reakcijama hidrolize te konjugacije s glicinom što predstavlja reakciju detoksikacije. Za toksičnost INH odgovorne su reakcije oksidacije nastalih metabolita. Metabolizam INH započinje reakcijom acetilacije pod utjecajem enzima NAT pri čemu nastaje N-acetilizoniazid koji se djelovanjem enzima CES hidrolizira u acetilhidrazin i izonikotinsku kiselinu. Oksidacijom acetilhidrazina nastaju reaktivni intermedijeri koji povećavaju rizik hepatotoksičnosti. Acetilhidrazin se acetilacijom može prevesti u diacetilhidrazin što predstavlja reakciju detoksikacije. Izonikotinska kiselina ulazi u reakcije konjugacije s glicinom te se izlučuje u obliku netoksične izonikotinurne kiseline. Toksični učinci INH povezuju se s genetskim polimorfizmom enzima NAT2. I brzi i spori acetilatori imaju povećani rizik od toksičnosti. INH ima antivitaminsko B_6 djelovanje čime onemogućava iskorištenje piridoksina pa može doći do perifernog neuritisa. U liječenju tuberkuloze (TBC) nužna je politerapija što povećava mogućnost nastanka neželjenih interakcija. TBC je bila i ostala jedna od najzaraznijih bolesti čovječanstva, bez obzira na znanstveni i tehnološki napredak u prevenciji i liječenju. Očekuju se otkrića učinkovitijih antituberkulotika s kraćim režimom terapije, novim mehanizmom djelovanja i boljom farmakokinetikom.

Ključne riječi: tuberkuloza, izoniazid, metabolizam, toksičnost, interakcije

Rad sadrži: 63 stranice, 33 slike, 1 tablicu i 49 literaturnih citata

Jezik izvornika: hrvatski

Sastav Povjerenstva za obranu:

1. prof. dr. sc. Davorka Sutlović	predsjednik
2. doc. dr. sc. Ivana Mudnić	član
3. prof. dr. sc. Marica Medić-Šarić	član - mentor

Datum obrane: 17. listopada 2016.

Rad je u tiskanom i elektroničkom (pdf format) obliku pohranjen u knjižnicama Kemijsko-tehnološkog fakulteta Sveučilišta u Splitu, Split, Ruđera Boškovića 35 i Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Splitu, Split, Šoltanska 2.

BASIC DOCUMENTATION CARD

GRADUATE THESIS

Faculty of Chemistry and Technology and School of Medicine
Integrated Undergraduate and Graduate Study of Pharmacy
University of Splitu, Croatia

Scientific area:	Biomedical sciences
Scientific field:	Pharmacy
Course title:	Drug Biochemistry
Thesis subject	was approved by Council of Integrated Undergraduate and Graduate Study of Pharmacy, session no. as well as by Faculty Council of Faculty of Chemistry and Technology, session no. IV and Faculty Council of School of Medicine, session no.
Mentor:	Marica Medić-Šarić, PhD, full prof.
Technical assistence:	Marica Medić-Šarić, PhD, full prof.

ISONIAZID – METABOLISM, TOXICITY AND INTERACTIONS

Damir Međeši, 49

Summary: Diploma Thesis objective is one of the most important first line tuberculostatic drug, isoniazid. As a drug which is necessary in the treatment of tuberculosis, it is very important to study the pathways of its metabolism, toxicity and drug interactions. Considering the structure of INH, biotransformation occurs phase I and II metabolism reactions, under the influence of characteristic enzymes. However, according to proven metabolites more important are the phase II metabolism reactions. Biotransformation occurs reactions of acetylation, hydrolysis and conjugation with glycine that is a reaction of detoxification. Oxidation reactions are responsible for INH toxicity. INH metabolism begins with the reaction of acetylation by enzyme NAT to provide a N-acetylisoniazid which is hydrolyzed by enzymes CES and appears acetylhydrazine and isonicotinic acid. Oxidation of acetyhydrazine produces reactive intermediates that increase the risk of hepatotoxicity. Acetylation of acetylhydrazine produces diacetylhydrazine which is a detoxification reaction. Glycine conjugate of nicotinic acid is nicotinuric acid which is not toxic. Toxic effects of INH are associated with genetic polymorphism of enzyme NAT2. Both fast and slow acetylators, are at increased risk of toxicity. INH has the effect of anti-B_6 which prevents the utilization of pyridoxine and may cause peripheral neuritis. In the treatment of TBC, polytherapy is necessary which increases the possibility of adverse drug interactions. TBC was and still is one of the most spreaded diseases of mankind, regardless of the scientific and technological advances in prevention and treatment. It is expected that the future will bring more effective anti-tuberculosis drugs which will decrease treatment length, with new mechanism of action and improved pharmacokinetics.

Key words: tuberculosis, isoniazid, metabolism, toxicity, interactions

Thesis contains: 63 pages, 33 figures, 1 table and 49 references

Original in: Croatian

Defence committee:

1. Davorka Sutlović - PhD, full prof.	chair person
2. Ivana Mudnić - PhD, associate prof.	member
3. Marica Medić-Šarić - PhD, full prof.	supervisor

Defence date: October 17 2016.

Printed and electronic (pdf format) version of thesis is deposed in Library of Faculty of Chemistry and Technology University of Split, Split, Ruđera Boškovića 35 and Library of School of Medicine University of Split, Split, Šoltanska 2.

SADRŽAJ

ZAHVALA ... 6
POPIS KRATICA ... 7
1. UVOD ... 9
1.1. Tuberkuloza ... 10
1.2. Lijekovi za liječenje tuberkuloze ... 13
1.2.1. Tuberkulostatici prvog reda ... 14
1.2.1.1. Izoniazid (INH) ... 14
1.2.1.2. Rifampicin (RMP) ... 16
1.2.1.3. Etambutol (EMB) ... 17
1.2.2. Tuberkulostatici drugog reda ... 18
1.2.2.1. Pirazinamid ... 18
1.2.2.2. Streptomicin ... 19
1.2.2.3. p-aminosalicilna kiselina (PAS) ... 20
1.2.2.4. Etionamid ... 21
1.2.2.5. Amikacin ... 21
1.2.2.6. Cikloserin ... 22
2. CILJ ISTRAŽIVANJA ... 23
3. MATERIJALI I METODE ... 25
3.1. Materijali ... 26
3.2. Metode ... 26
3.2.1. Acetilacija ... 27
3.2.2. Hidroliza ... 30
3.2.3. Konjugacija s α-aminokiselinama ... 32
4. REZULTATI ... 35
4.1. Metabolizam izoniazida ... 36
4.2. Toksičnost izoniazida ... 37
4.3. Interakcije izoniazida ... 40
4.3.1. Interakcije izoniazida i vitamina ... 40
4.3.2. Interakcije izoniazida i antikonvulziva karbamazepina i fenitoina ... 42
4.3.3. Interakcije izoniazida i analgetika ... 43
4.3.4. Interakcije izoniazida i alkohola ... 44
4.3.5. Interakcije izoniazida i antacida ... 44

4.3.6. Interakcije izoniazida i rifampicina te tetraciklina 45
5. RASPRAVA 46
5.1. Biotransformacija tuberkulostatika 47
5.2. Klinički značajne interakcije izoniazida 48
5.2.1. Interakcije velike kliničke značajnosti 49
5.2.2. Interakcije srednje kliničke značajnosti 49
6. ZAKLJUČCI 50
7. POPIS CITIRANE LITERATURE 52
8. SAŽETAK 57
9. SUMMARY 59
10. ŽIVOTOPIS 61

ZAHVALA

Zahvaljujem se od srca mojoj mentorici prof. dr. sc. Marici Medić-Šarić na strpljenju, uloženom vremenu, pomoći i trudu u izradi ovog diplomskog rada.

Posebno se zahvaljujem mojoj obitelji na beskrajnoj podršci, ljubavi i razumijevanju. Hvala i mojim prijateljima i kolegama koji su mi ovo poglavlje života učinili ljepšim i lakšim, s kojima sam proživljavao strahove i nervoze ali, i sreću i smijeh.

POPIS KRATICA

AIDS – *Acquired Immune Deficiency Syndrome* (engl.) – Sindrom stečene imunodeficijencije

ASA – *Acetylsalicylic acid* (engl.) – Acetilsalicilna kiselina

ATP – *Adenosine Triphosphate* (engl.) – Adenozin trifosfat

BCG cjepivo – *Bacillus Calmette-Guerin* (lat.) – BCG cjepivo protiv tuberkuloze

CES – *Carboxylesterase* (engl.) – Karboksilesteraza

CoA – *Coenzyme A* (engl.) – Koenzim A

CYP – *Cytochrome P450* (engl.) – Citokrom P450

DNA – *Deoxyribonucleic Acid* (engl.) – Deoksiribonukleinska kiselina

EMB – *Ethambutolum* (lat.) – Etambutol

FMO – *Flavin-containing Monooxygenase* (engl.) – Flavin monooksigenaza

HIV – *Human Immunodeficiency Virus* (engl.) – Virus humane imunodeficijencije

HZZO – Hrvatski zavod za zdravstveno osiguranje

INH – *Isoniazidum* (lat.) – Izoniazid

MDR-TB – *Multidrug-resistant Tuberculosis* (engl.) – Multirezistentna tuberkuloza

MT – *Mycobacterium Tuberculosis* (lat.) – Mikobakterija tuberkuloze

NADH – *Nicotinamide Adenine Dinucleotide* (engl.) – Nikotinamid adenin dinukleotid

NAT – *Arylamine N-acetyltransferase* (engl.) – N-acetiltransferaza

NTM – *Non Tuberculosis Mycobacterium* (lat.) – Netuberkulozne mikobakterije

OTC – *Over the counter* (engl.) – Bezreceptna prodaja lijekova

PPD – *Purified Protein Derivate* (engl.) – Pročišćeni proteinski derivat

RDA – *Recommended Dietary Allowances* (engl.) – Preporučene dnevne količine

RMP – *Rifampicinum* (lat.) – Rifampicin

RNA – *Ribonucleic Acid* (engl.) – Ribonukleinska kiselina

TBC – *Tuberculosis* (lat.) – Tuberkuloza

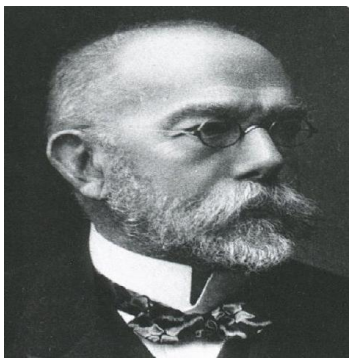
WHO – *World Health Organization* (engl.) – Svjetska zdravstvena organizacija

XDR-TB – *Extensively Drug-resistant Tuberculosis* (engl.) – Prošireno rezistentna tuberkuloza

1. UVOD

1.1. Tuberkuloza

Tuberkuloza (TBC) je kronična zarazna bolest koju uzrokuje *Mycobacterium tuberculosis* (MT), a u 90 % slučajeva zahvaća pluća (1) dok izvan pluća zahvaća poplućnicu, limfne čvorove, zglobove, živčani sustav i kralježnicu (2). Jedna je od najstarijih bolesti, na žalost još uvijek dosta raširena u svijetu. Razvojem novih lijekova i primjerenom uporabom antituberkulotika uspješno je smanjen broj oboljelih osoba svugdje u svijetu. Ipak, u današnje vrijeme bilježi se rast zaraženih u svim dijelovima svijeta, a posebno u Africi i Aziji i stoga je TBC u samom vrhu vodećih bolesti (3). Najčešća je zarazna bolest u svijetu od koje godišnje umire preko 3 milijuna ljudi te je time vodeći uzrok smrtnosti među izlječivim zaraznim bolestima (1). Porastu oboljelih pridonose epidemija HIV-om među zaraženim osobama, rezistencija na lijekove i multirezistentna tuberkuloza (MDR-TB). MDR je bolest u kojoj je TBC bacil otporan na glavne lijekove, tuberkulostatike prvog reda, izoniazid i rifampicin što liječenje čini skupljim i dužim. Današnja situacija zahtjeva veću skrb i zalaganje za prevenciju i liječenje u svrhu smanjenja broja oboljelih i širenja epidemije TBC-a, stoga je potreban razvoj novih lijekova koji će uspješno riješiti navedene probleme porasta oboljelih (4). Glavni uzročnik TBC-a je *Mycobacterium tuberculosis* iz porodice *Mycobacteriaceae*. Na području Republike Hrvatske je nekada bio prisutan i uzročnik *Mycobacterium bovis* dok u Africi postoje i drugi uzročnici kao što su *Mycobacterium africanum*, *canetti* i *microti* (1). MT se još naziva i Kochov bacil prema pruskom liječniku Robertu Kochu (Slika 1.) koji ga je otkrio 1882. godine.



Slika 1. Liječnik Robert Koch (5).

Naziv tuberkuloza potječe od latinske riječi *tuberculum* (čvorić), temeljne morfološke jedinice ove bolesti. Prije otkrića uzročnika bolesti korišteni su i drugi nazivi: ftiza, lupus, sušica, jektika i mizerja. O starosti bolesti govore, a i dokazuju genetička istraživanja uzoraka uzetih iz grobnica. Najstariji dokaz prisutnosti bolesti je pronađen u kralježnici mumije u Egiptu 3400. g. pr. Kr.. Hipokrat je oko 460. g. pr. Kr. stvorio naziv „phitmis“ (ftiza), zbog

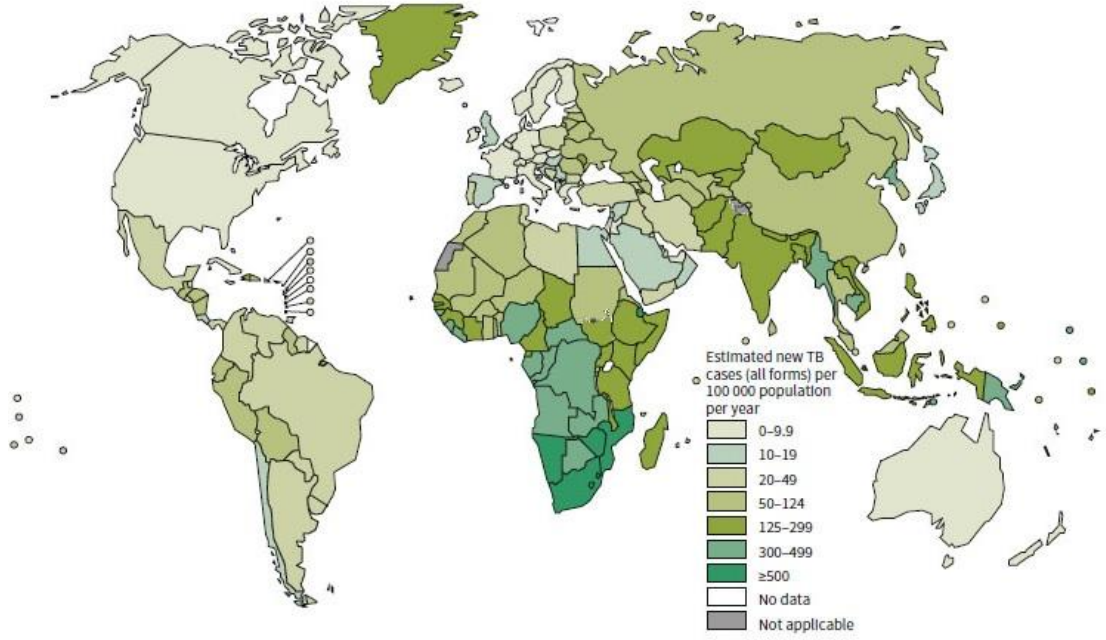
gubitka težine koja je značajka ove bolesti. Brojni su se znanstvenici kroz povijest bavili tuberkulozom, no tek je Robert Koch otkrićem tehnike bojenja prikazao mikobakteriju tuberkuloze. Kroz povijest u liječenju su korišteni planinski ili morski zrak, hladne kupke, mlijeko trudnica i odmor u krevetu (Slika 2.), a od 16. stoljeća živa, sumpor, arsen, kakao i duhan. Od 1921. godine u većini se zemalja, osim SAD-a i Nizozemske, koristi BCG cjepivo (6). Obavezno cijepljenje protiv tuberkuloze BCG-cjepivom na području Republike Hrvatske je uvedeno 1948. godine (1). 1943. g. Selman Waksman je izolirao streptomicin iz gljivice *Streptomyces griseus*. Streptomicin je prvi put uspješno upotrebljen 1949. g., a bolesnik je izliječen. No, zbog brojnih nuspojava, posebice ototoksičnosti danas se rijetko upotrebljava i na listi lijekova se nalazi samo kao generički lijek. Nakon njega, otkriveni su i pušteni u uporabu antituberkulotici poput p-aminosalicilne kiseline (PAS), izoniazida, pirazinamida, ciklosporina, etambutola i rifampicina (7). Poznatije osobe koje su preminule ili bile zaražene tuberkulozom su Tutankamon, Simon Bolivar, Franz Kafka, Frederich Chopin, Edgar Allan Poe, Moliere, Honoré de Balzac, Charles Bukowski, Albert Camus, Jean-Jacques Rousseau, Voltaire, Immanuel Kant, Baruch Spinoza, Anton Čemov, Fjodor Mihajlovič Dostojevski, Johann Wolfgang von Goethe, Charles Baudelaire, Marcel Proust i Friedrich Schiller (8).



Slika 2. La Miseria, Cristóbal Rojas, 1886. g. (9).

Najčešće obolijevaju osobe starije životne dobi (1). Trudnice i rodilje imaju povećani rizik oboljevanja od TBC-a zbog psiholoških, hormonalnih i imunoloških promjena uslijed trudnoće. Također simptomi ne moraju biti tipični što može otežati samu dijagnozu bolesti (10-13). U imunokompromitiranih osoba TBC uglavnom uzrokuju netuberkulozne mikobakterije (NTM). MT se s osobe na osobu prenosi putem dišnog sustava odnosno kašljenjem, kihanjem i govorom dok su ostali putovi prijenosa rijetki (1). Uzroci incidencije bolesti ponajviše su siromaštvo i nehigijenski uvjeti zemalja u razvoju, a samim time i

nestašica lijekova, slab nadzor liječenja čime dolazi do ranog prekida liječenja, liječenje samo jednim lijekom, porast ovisnika o drogama, beskućnika, alkoholičara te pandemija HIV-a (14). Prema podacima iz 2013. godine (Slika 3.), stopa incidencije u Hrvatskoj bila je 14/100000 stanovnika što je manje od prosječne incidencije u Europskoj regiji Svjetske zdravstvene organizacije (WHO) (15).



Slika 3. Incidencija TBC-a u svijetu 2013. godine (16).

Infekcija MT-om najčešće se događa jednom u životu, često u djetinjstvu ili adolescentnoj dobi dok rizik od razvoja bolesti ovisi o urođenoj otpornosti i funkcioniranju stanične imunosti. 5 – 10 % zaraženih osoba uistinu i razvijaju bolest, a najčešća je plućna tuberkuloza. Početak plućne tuberkuloze je postupan i često bez simptoma, a prava bolest se razvija nakon nekoliko tjedana. Opći simptomi bolesti često su izraženiji nego simptomi bolesti respiratornog sustava. Sumnju na TBC pobuđuju trajne ili rekurirajuće subfebrilne temperature, neproduktivni kašalj, hemoptize, mršavljenje, noćno znojenje i umor. S obzirom na bakteriološki nalaz, plućna tuberkuloza može biti MT-pozitivna ili MT-negativna. Plućna tuberkuloza je aktivna ako je nalaz MT-pozitivan ili se iz dinamike radioloških promjena zaključuje da je riječ o aktivnom događaju. Dijagnoza tuberkuloze temelji se na kliničkim i epidemiološkim podacima, histologiji, bakteriologiji, tuberkulinskom testu i slikovnoj obradi sumnjivog organa. Bakteriološka dijagnoza TBC-a je potvrđena kada se MT dokaže u iskašljaju, mokraći, krvi ili tkivima bolesnika, a najčešće je to svježi iskašljaj (1).

Tuberkulinski test je provjera stanične imunosti organizma prema MT-u. Pozitivan je nakon infekcije i kada se bolest ne razvije ili nakon uspješnog cijepljenja BCG-cjepivom. Pokazatelj je svježine i veličine infekcije, ali ne i bolesti. Upotrebljava se kao test probiranja za TBC, ali vrijednost mu je ograničena zbog niske osjetljivosti i specifičnosti. Lažno negativne vrijednosti susreću se u imunokompromitiranih osoba i bolesnika s ekstenzivnom tuberkulozom. Tuberkulinski test se izvodi pomoću standardizirane otopine pročišćenog proteinskog derivata (PPD), tehnikom Mantouxa. Ako se tuberkulozni bolesnici ne liječe, 60 % ih umire tijekom pet godina dok se pravilnim liječenjem stopa smrtnosti smanjuje na 3 %. Terapijski algoritmi u liječenju plućne i izvanplućne tuberkuloze se ne razlikuju. Svi algoritmi su podijeljeni na intenzivnu (početnu) fazu i stabilizacijsku (sterilizirajuću) fazu. Stabilizacijska faza započinje nakon što je postignuta negativizacija iskašljaja. U većine bolesnika do kliničkog poboljšanja dolazi nakon dva do tri tjedna, a do radiološke stabilizacije za tri do šest mjeseci. Kemoprofilaksa TBC-a znači uporaba lijekova kako bi se spriječio razvoj bolesti u već inficiranih bolesnika. Pod obaveznu kemoprofilaksu se stavljaju osobe:

a) do navršene treće godine života koje nisu cijepljene protiv tuberkuloze, a imaju pozitivan tuberkulinski test,
b) osobe do 14 godina koje burno reagiraju na tuberkulin, a žive u kontaktu s aktivnim tuberkuloznim bolesnikom,
c) osobe mlađe od 15 godina – svježi tuberkulinski konvertori,
d) osobe pod imunosupresijskim liječenjem koje traje dulje od 30 dana, a u kontaktu su s oboljelim od aktivne tuberkuloze,
e) HIV-pozitivne osobe.

Prije uvođenja kemoprofilakse potrebno je isključiti aktivnu tuberkulozu i provjeriti funkcionalne testove jetre. Osobe s patološkim nalazima funkcionalnih testova jetre se ne podvrgavaju kemoprofilaksi budući da su antituberkulotici hepatotoksični. Obveznim cijepljenjem protiv TBC-a smanjuje se morbiditet od tuberkuloze u dječjoj i adolescentnoj populaciji te eradiciraju teški diseminirani oblici u djece (1).

1.2. Lijekovi za liječenje tuberkuloze

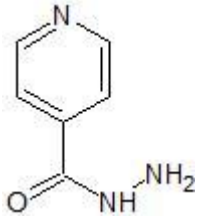
Uzročnici tuberkuloze, mikobakterije, su rezistentne na većinu antibiotika. Budući da rastu sporo, antibiotici koji su najdjelotvorniji protiv stanica u rastu su nedjelotvorni protiv mikobakterija. Stanična stijenka mikobakterija je bogata lipidima te samim time nepropusna za mnoge lijekove dok su stanice često neaktivne i time potpuno otporne na većinu lijekova ili

ih oni ubijaju vrlo sporo. Mikobakterije su poznate po svojoj sposobnosti da razvijaju rezistenciju. Da bi se svladale sve prepreke i spriječio razvoj rezistencije potrebno je davati kombinaciju dva ili više lijeka. Budući da je odgovor mikobakterijske infekcije na antibiotike spor, liječenje traje mjesecima pa čak i godinama. U liječenju tuberkuloze koriste se tuberkulostatici prvog reda i tuberkulostatici drugog reda. Tuberkulostatici prvog reda su izoniazid (INH), rifampicin (RMP) i etambutol (EMB). Najznačajniji tuberkulostatici drugog reda su pirazinamid, streptomicin, p-aminosalicilna kiselina (PAS), etionamid, amikacin, cikloserin, ciprofloksacin i levofloksacin. Alternativni lijekovi (lijekovi trećeg reda) se obično razmatraju samo u slučaju rezistencije na lijekove prvog reda, neuspjeha kliničkog odgovora na konvencionalnu terapiju, ozbiljnih štetnih učinaka koji ograničuju primjenu lijeka te postojanja stručnog nadzora za liječenje toksičnih učinaka. Kombinacija izoniazida i rifampicina tijekom devetomjesečnog liječenja dovodi do izliječenja 95 – 98 % slučajeva TBC-a. Dodavanje pirazinamida toj kombinaciji tijekom prva dva mjeseca liječenja skraćuje terapiju na šest mjeseci, a da se pri tome ne gubi na učinkovitosti. Liječenje započinje kombinacijom četiri lijeka koju čine INH, RMP, pirazinamid te EMB ili streptomicin dok se ne utvrdi osjetljivost kliničkih izolata (17). Cilj inicijalne faze liječenja i istodobne primjene barem tri antituberkulotika je što brže smanjiti broj mikobakterija te spriječiti razvoj rezistentnih mikobakterija tijekom liječenja (18). Dodatkom EMB-a i streptomicina trajanje liječenja se ne može dodatno skratiti, ali oni pružaju dodatnu zaštitu u slučaju rezistencije na INH, RMP ili oba lijeka (17).

1.2.1. Tuberkulostatici prvog reda

1.2.1.1. Izoniazid (INH)

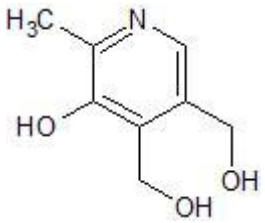
Izoniazid (Slika 4.) je najučinkovitiji lijek u liječenju tuberkuloze uzrokovane osjetljivim sojevima mikobakterija. Dobro je topljiv u vodi, a molekulska masa mu je mala (M_r 137) (17). Izoniazid je hidrazid izonikotinske kiselina (1). Sintetiziran je 1912. godine, a u uporabi je od 1951. godine.



Slika 4. Izoniazid (19).

U *in vitro* laboratorijskim uvjetima inhibira većinu bacila tuberkuloze u koncentraciji od 2 μg/mL, a djeluje baktericidno na bacile u fazi aktivnog rasta. Ulazi u makrofage te je djelotvoran protiv izvanstaničnih i unutarstaničnih mikroorganizama. Uobičajena doza za odrasle je 300 mg/dan, a u djece 5 mg/kg. Izoniazd inhibira sintezu mikoličnih kiselina koje su glavni sastojci stanične stijenke mikobakterija. Izoniazid je predlijek koji se aktivira djelovanjem mikobakterijske katalaze-peroksidaze KatG. Aktivirani oblik stvara kovalentni kompleks s proteinom koji prenosi acilne skupine i sintazom proteina koji prenosi beta-ketoacilne skupine. Nastali kompleks sprječava sintezu mikoličnih kiselina te ubija stanicu. Rezistencija na INH nastaje zbog mutacija koje dovode do prekomjerne ekspresije *inhA* koji kodira o NADH-u ovisnu reduktazu acilnog transportera. INH se brzo apsorbira iz probavnog trakta, a vršne koncentracije u plazmi postiže unutar 1 - 2 sata. Dobro prolazi u sve odjeljke tjelesne tekućine i tkiva, a koncentracije u likvoru se kreću u rasponu od 20 do 100 % koncentracije u serumu. Metabolizam izoniazida, a posebno acetilacija putem N-acetiltransferaze ovisi o genetskom polimorfizmu. Koncentracija izoniazida u plazmi brzih acetilatora iznosi trećinu do polovinu one u plazmi sporih acetilatora dok je vrijeme polueliminacije u brzih acetilatora 1 sat, a u sporih 3 sata. Metaboliti i male količine nepromijenjenog lijeka izlučuju se mokraćom. Prilagodba doze nije potrebna pri bubrežnoj insuficijenciji dok u bolesnika s jetrenom insuficijencijom prilagodba doze nije jasno definirana te je smanjenje doze potrebno provoditi uz praćenje serumske koncentracije lijeka. Izoniazid se obično daje oralno, ali je moguća i parenteralna primjena. Incidencija i težina štetnih učinaka izoniazida ovisi o dozi i trajanju liječenja. Groznica, osip i sistemni eritematozni lupus se javljaju kao odgovor na imunološku reakciju. Najčešći i najznačajniji toksični učinak izoniazida je hepatitis. Porast vrijednosti jetrenih transaminaza 3 - 4 puta se javlja u 10 – 20 % bolesnika i ne zahtijeva prekid liječenja (17). Uzastopno registrirano povišenje transaminaza 5 puta više od normale obično je predznak hepatitisa (18). U 1 % bolesnika se javlja klinički hepatitis s gubitkom teka, mučninom, povraćanjem, žuticom i bolom u gornjem desnom kvadrantu te je potrebno prekinuti uzimanje lijeka jer može doći do fatalnog ishoda. Rizik za pojavu hepatitisa ovisi o dobi, a najveći je u osoba starijih od 50 godina, alkoholičara, tijekom trudnoće i postpartalnog perioda. Hepatitis uzrokovan izoniazidom je kontraindikacija za daljnju primjenu ovog lijeka. Periferna neuropatija se pojavljuje u 10 – 20 % bolesnika koji primaju veće doze od uobičajenih, češća je u sporih acetilatora te u bolesnika sa stanjima koja stvaraju predispoziciju za njezino nastajanje kao što su malnutricija, AIDS, uremija, alkoholizam i dijabetes. Periferna neuropatija nastaje zbog nedostatka piridoksina te se ovaj oblik toksičnosti liječi primjenom niske doze piridoksina od

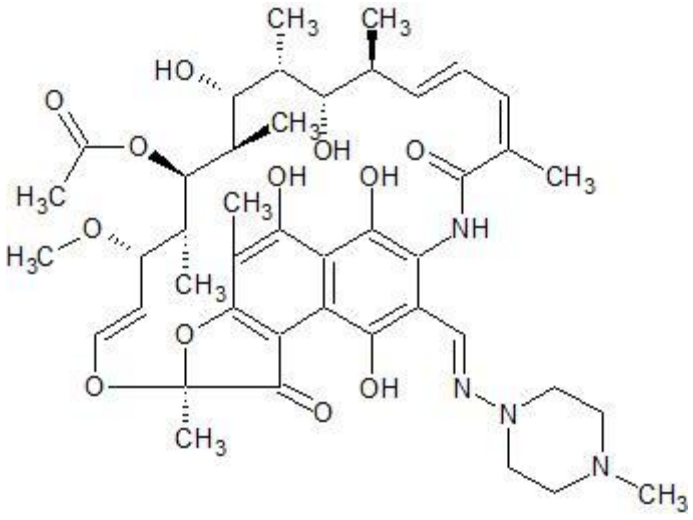
10 mg/dan. U osoba s predispozicijom za pojavu periferne neuropatije, kao nuspojave izoniazida, preporučuje se dodatna primjena piridoksina u dozi 25 - 50 mg/dan. Danas postoje i kombinacije izoniazida i vitamina B_6 (Slika 5.) u istoj kapsuli ili tableti (npr. lijek Eutizon $B_6^{®}$) (17).



Slika 5. Vitamin B_6 (piridoksin) (19).

1.2.1.2. Rifampicin (RMP)

Rifampicin (Slika 6.) je polusintetski derivat antibiotika rifamicina podrijetlom iz *Streptomyces mediterranei*.



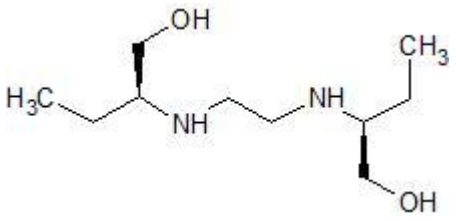
Slika 6. Rifampicin (19).

U *in vitro* laboratorijskim uvjetima je djelotvoran protiv mikobakterija, gram-pozitivnih i gram-negativnih bakterija, enteričkih bakterija i klamidija. Koncentracija niža od 1 μg/mL inhibira osjetljive organizme. Ne pokazuje reakciju ukrižane rezistencije s ostalim skupinama antituberkulotika. Rifampicin inhibira sintezu RNA vežući se za β-podjedinicu bakterijske, o DNA ovisne, RNA-polimeraze. Djeluje baktericidno na mikobakterije. Dobro prodire u većinu tkiva i u fagocite te može uništiti organizme koji su teško dostupni za većinu lijekova poput mikroorganizama u plućnim šupljinama. Rezistencija nastaje zbog točkastih mutacija koje dovode do smanjenoga vezanja rifampicina na RNA-polimerazu te ne dolazi do

inhibicije njezine sinteze. Aposrpcija nakon oralne primjene je dobra, podliježe enterohepatičkoj cirkulaciji te se većina lijeka izlučuje fecesom, a u manjim količinama mokraćom. Oralna doza RMP-a je 600 mg/dan te se mora davati zajedno s INH ili drugim antituberkuloticima zbog sprječavanja nastanka rezistentnih sojeva mikobakterija. Monoterapija rifampicinom u dozi 600 mg/dan tijekom 4 mjeseca je alternativa profilaksi izoniazidom u bolesnika s latentnom tuberkulozom koji ne mogu primati izoniazid (17). RMP uzrokuje bezopasno bojenje mokraće, znoja, suza i kontaktnih leća u narančasto do crveno (jednostavna i jeftina provjera uzimanja lijeka) (1). Od rjeđih nuspojava javljaju se osip, trombocitopenija i nefritis. RMP je jaki induktor većine izoformi enzima citokrom P450 te povećava eliminaciju velikog broja lijekova uključujući antikoagulanse, metadon, inhibitore proteaze i oralne kontraceptive (17).

1.2.1.3. Etambutol (EMB)

Etambutol (Slika 7.) je sintetski, u vodi topljivi termostabilni spoj koji se proizvodi kao dihidrokloridna sol u obliku desnog izomera (17). Derivat je etilendiamina (1).

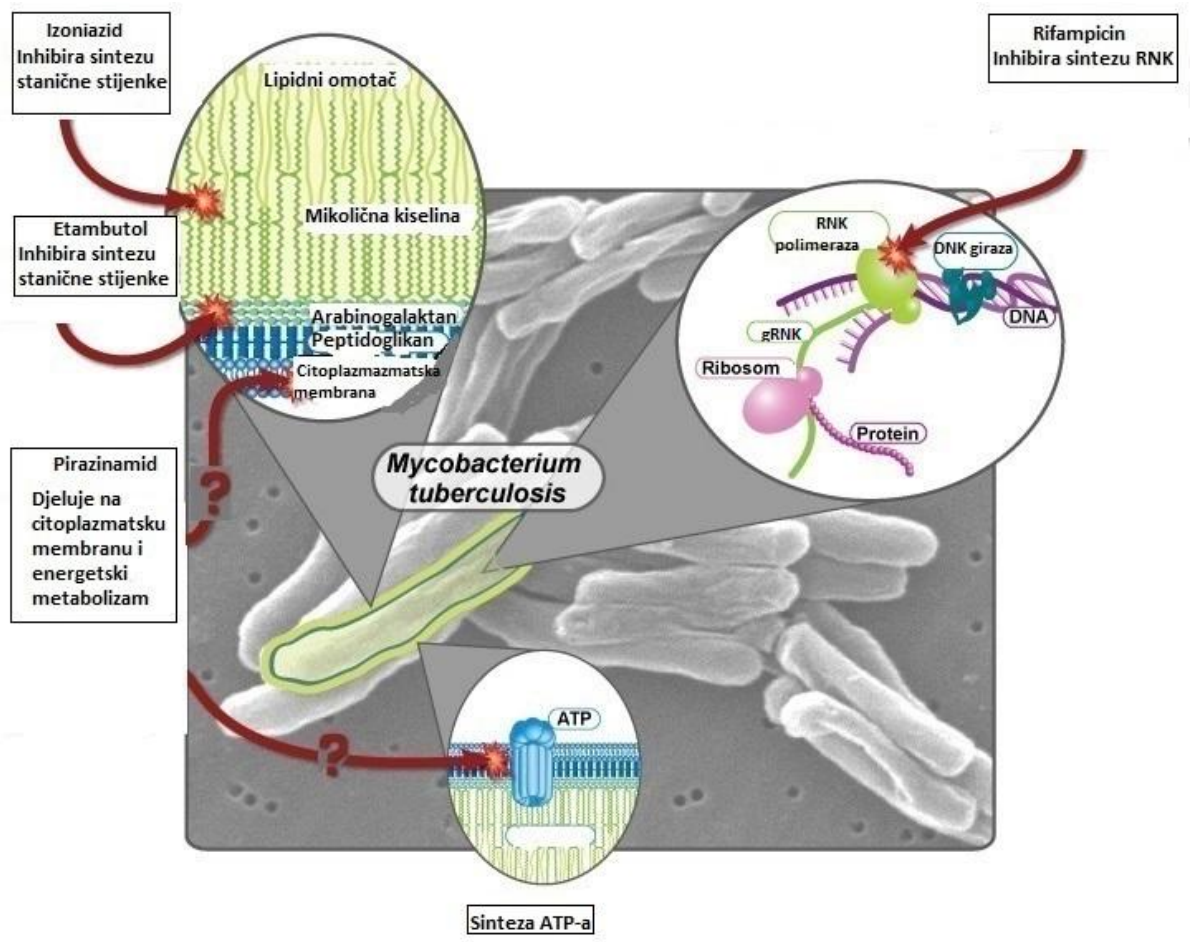


Slika 7. Etambutol (19).

U *in vitro* laboratorijskim uvjetima inhibira osjetljive sojeve mikobakterija pri koncentraciji 1 - 5 μg/mL. EMB inhibira mikobakterijske arabinozil-transferaze koje su uključene u reakciju polimerizacije arabinoglikana, esencijalne sastavnice mikobakterijske stanične stijenke. Nakon oralne apsorpcije dobro se apsorbira iz crijeva. 20 % lijeka se izlučuje fecesom, a 50 % urinom u nepromijenjenom obliku. Nakuplja se pri zatajenju bubrega te se doza mora prepoloviti ukoliko je klirens kreatinina manji od 10 mL/min. EMB se uvijek daje u kombinaciji s drugim antituberkuloticima jer se vrlo brzo razvija rezistencija ukoliko se primjenjuje kao monoterapija. U dozi od 15 do 25 mg/kg obično se daje jednom na dan u kombinaciji s INH ili RMP. Ukoliko se primjenjuju veće doze nekoliko mjeseci, može doći do retrobulbarnog neuritisa koji dovodi do gubitka oštrine vida i sljepoće za crvenu i zelenu boju (17). Jednom mjesečno potrebno je odrediti širinu vidnog polja i ispitati razlikovanje crvene i zelene boje. Vidno polje treba ispitati i prije početka terapije (1).

Relativno je kontraindiciran u male djece u koje nije moguće provesti pouzdanu procjenu oštrine vida i razlikovanja crvene i zelene boje (17).

Tuberkulostatici prvog reda međusobno se razlikuju prema mehanizmu djelovanja (Slika 8.), što je također razlog zbog kojeg se kombiniraju u liječenju tuberkuloze. INH inhibira sintezu mikoličnih kiselina, ključnih dijelova stanične stijenke mikobakterija. RMP inhibira, o DNA ovisnu, RNA-polimerazu te tako sprječava stvaranje mikobakterijske RNA. EMB inhibira mikobakterijske arabinozil-transferaze koje su uključene u reakciju polimerizacije arabinoglikana, esencijalne komponente stanične stijenke mikobakterija (17).



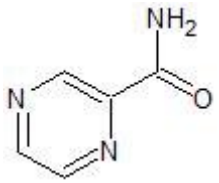
Slika 8. Mehanizam djelovanja tuberkulostatika (20).

1.2.2. Tuberkulostatici drugog reda

1.2.2.1. Pirazinamid

Pirazinamid (Slika 9.), iako dobar tuberkulostatik, duži niz godina se nije koristio u terapiji zbog izrazite toksičnosti. Pojavom rezistencije na tuberkulostatike prvog reda ponovno se vraća u terapiju. Često se koristi u prva tri mjeseca liječenja TBC-a zajedno s

INH, RMP i EMB, ali pod strogim nadzorom liječnika. Pirazinamid je stabilan, ali slabo topljiv u vodi. Pri neutralnom pH je neaktivan, ali pri pH 5,5 i koncentraciji 20 μg/mL inhibira bacile TBC-a i neke druge mikobakterije. Ulazi u makrofage gdje djeluje na mikobakterije u kiselom mediju lizosoma.

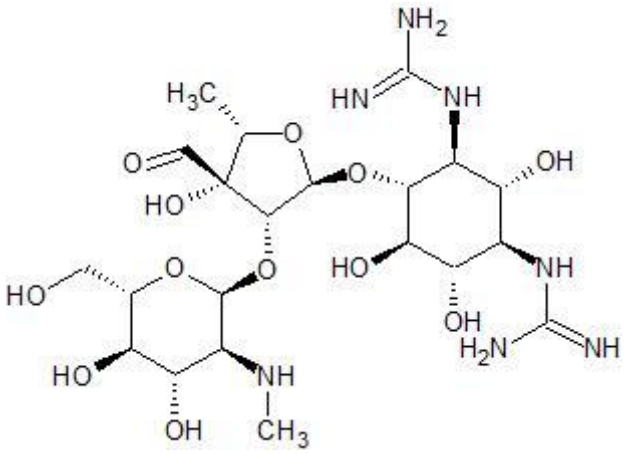


Slika 9. Pirazinamid (19).

Pirazinamid se djelovanjem mikobakterijske pirazinamidaze prevodi u aktivni oblik lijeka – pirazinoičnu kiselinu (17). Pirazinoična kiselina se oksidira u 5-hidroksipirazinoičnu kiselinu koja se izlučuje glomerularnom filtracijom (1). Oralna doza pirazinamida je 25 mg/kg/dan. Dobro se apsorbira iz probavnog trakta i široko rasprostranjuje u tkiva. Metabolizira se u jetri, a klirens njegovih metabolita se događa u bubrezima. Pirazinamid, u kombinaciji s INH i RMP u kraćem režimu doziranja (6 mjeseci), daje se kao „sterilizirajući" lijek, djelotvoran protiv rezidualnih unutarstaničnih organizama koji bi mogli izazvati relaps bolesti. Mikobakterije brzo razvijaju rezistenciju na pirazinamid, ali se pri tome ne razvija ukrižana rezistencija s izoniazidom ili drugim antimikobakterijskim lijekovima. Štetni učinci pirazinamida su hepatotoksičnost, mučnina, povraćanje, vrućica uzrokovana lijekovima i hiperuricemija koja nije razlog za prekid terapije, ali može potaknuti akutni napadaj gihta u obliku artritisa (17).

1.2.2.2. Streptomicin

Streptomicin (Slika 10.) *in vitro* inhibira većinu bacila tuberkuloze pri koncentraciji 1 - 10 μg/mL. Prosječna doza za odrasle iznosi 15 mg/kg/dan. Streptomicin slabo prodire u stanice i djelotvoran je samo protiv izvanstaničnih bacila tuberkuloze. Sprječava sintezu bakterijskih proteina vezanjem za S12 podjedinicu ribosoma. Streptomicin sulfat se rabi u slučaju potrebe za parenteralnom primjenom u obliku injekcija, a posebno u slučaju po život opasnih oblika tuberkuloze (17). Streptomicin se uključuje u terapiju ukoliko se na samom početku terapije utvrdi rezistencija na INH što je ujedno i jedina indikacija za primjenu streptomicina danas.

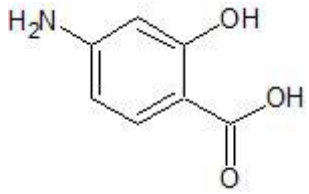


Slika 10. Streptomicin (19).

U Republici Hrvatskoj nije odobren, ali se parenteralni oblik nalazi na bolničkoj listi lijekova kao generički lijek (18). Najčešće nuspojave su ototoksičnost i nefrotoksičnost, a gubitak sluha može ostati i trajan. Toksičnost je ovisna o dozi, a rizik se povećava s dobi. Dozu je potrebno prilagoditi u skladu s bubrežnom funkcijom. Toksičnost se smanjuje ograničavanjem liječenja na razdoblje kraće od šest mjeseci (17).

1.2.2.3. p-aminosalicilna kiselina (PAS)

p-aminosalicilna kiselina (Slika 11.) je antagonist sinteze folata i djeluje isključivo protiv MT. Strukturno je slična p-aminobenzojevoj kiselini i sulfonamidima.

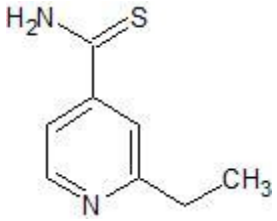


Slika 11. p-aminosalicilna kiselina (19).

Koncentracija koja *in vitro* inhibira bacile TBC-a je 1 - 5 μg/mL. Oralna doza za odrasle iznosi 8 - 12 g/dan te 300 mg/kg/dan za djecu. Dobro se apsorbira iz probavnog trakta. Izlučuje se urinom, dijelom kao aminosalicilna kiselina, a dijelom kao acetilirani spoj u obliku drugih metaboličkih produkata. Budući da se u mokraći postižu vrlo visoke koncentracije aminosalicilne kiseline može doći do pojave kristalurije. PAS je danas rijetko u uporabi jer se drugi oralni lijekovi bolje podnose. Gastrointestinalne nuspojave su česte, a ublažavaju se davanjem lijeka uz obrok ili primjenom antacida. Od drugih nuspojava može doći do boli u zglobovima, kožnih osipa, adenopatije, granulocitopenije i hepatosplenomegalije (17).

1.2.2.4. Etionamid

Etionamid (Slika 12.) je strukturno sličan izoniazidu pa im je i mehanizam djelovanja isti – inhibicija sinteze mikoličnih kiselina. Slabo je topljiv u vodi, a dostupan je samo za oralnu primjenu.

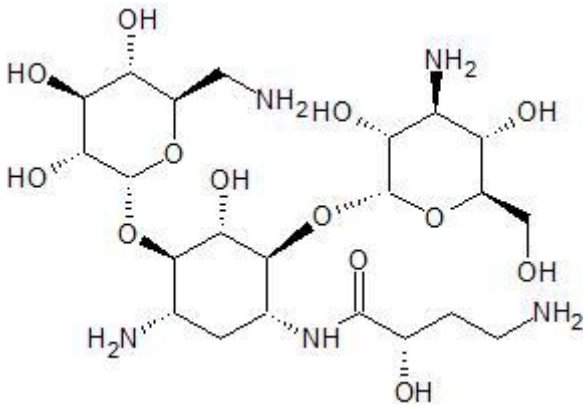


Slika 12. Etionamid (19).

Metabolizira se u jetri, a djelotvorna koncentracija je manja od 2,5 μg/mL. Početna doza etionamida je 250 mg/dan te se povećava za 250 mg do ukupne dnevne doze od 1 g. Etionamid je hepatotoksičan što se smanjuje primjenom piridoksina. Rezistencija se javlja vrlo brzo, a moguća je i ukrižena rezistencija između izoniazida i etionamida (17).

1.2.2.5. Amikacin

Uloga aminoglikozidnog antibiotika amikacina (Slika 13.) u liječenju tuberkuloze povećala se povećanjem incidencije i prevalencije višestruko rezistentne tuberkuloze.

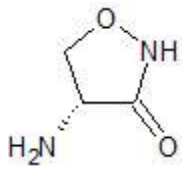


Slika 13. Amikacin (19).

Amikacin inhibira MT pri koncentraciji manjoj od 1 μg/mL, a djelotvoran je i protiv atipičnih bakterija. Indiciran je za liječenje tuberkuloze za koju se sumnja da je uzrokovana streptomicin rezistentnim sojevima. Mora se davati s barem jednim, a poželjno je i s dva ili tri druga lijeka na koje su izolati pokazali osjetljivost u liječenju slučajeva rezistentnih na lijekove (17).

1.2.2.6. Cikloserin

Cikloserin (Slika 14.) je inhibitor sinteze stanične stijenke, a koncentracije 15 - 20 μg/mL inhibiraju mnoge sojeve *M. tuberculosis*.



Slika 14. Cikloserin (19).

Doza je 0,5 - 1 g/dan podijeljena u dva obroka. Izlučuje se bubrezima. Štetni učinci cikloserina su periferna neuropatija i poremećaji središnjeg živčanog sustava. Neurološka toksičnost se ublažava primjenom piridoksina u dozi 150 mg/dan (17).

2. CILJ ISTRAŽIVANJA

Tuberkuloza se u današnje vrijeme u Hrvatskoj te u razvijenom svijetu smatra bolešću koja je gotovo iskorijenjena zbog vrlo male incidencije. Ipak, u nerazvijenim i siromašnim dijelovima svijeta, a poglavito u Africi i Aziji, incidencija TBC-a je velika te je bolest čak i u porastu (3). Zbog svoje teške kliničke slike, dugotrajnosti liječenja te nemogućnosti liječenja samo jednim lijekom već nužne politerapije, liječenje tuberkuloze i dalje predstavlja veliki izazov za liječnike i farmaceute.

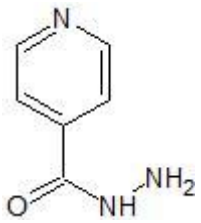
Veliki broj lijekova koji se koriste u liječenju, a podijeljenih u tri reda, govore nam kako je upravo liječenje tuberkuloze područje u kojem će se u budućnosti morati još istraživati te razvijati nove lijekove.

U ovome radu istraživan je jedan od najvažnijih tuberkulostatika prvog reda, izoniazid. Kao lijek koji je neophodan u liječenju tuberkuloze vrlo je važno proučiti putove njegovog metabolizma i toksičnosti. Opisane su i najznačajnije interakcije s drugim lijekovima te polimorfizam enzima NAT.

3. MATERIJALI I METODE

3.1. Materijali

Tuberkulostatici su skupina lijekova koji se međusobno razlikuju prema strukturi i mehanizmu djelovanja (17). Prema anatomsko-terapijsko-kemijskoj klasifikaciji lijekova (ATK klasifikacija lijekova) tuberkulostatici su pripravci za liječenje infekcija mikobakterijama te pripadaju J04 skupini lijekova (18). Prema Registru lijekova iz 2016. godine, tuberkulostatici odobreni od strane Hrvatske agencije za lijekove i medicinske proizvode (HALMED) su rifampicin (Rimactan®) i pirazinamid (Pyrazinamid Krka®). Tuberkulostatici koji su na Listi lijekova HZZO-a navedeni samo pod nezaštićenim nazivom, a na recept ih mogu propisivati izabrani liječnici su izoniazid + piridoksin i etambutol (21). Predmet istraživanja ovog rada je tuberkulostatik prvog reda, izoniazid (Slika 15.) pa je njemu posvećena najveća pažnja.



Slika 15. Izoniazid (19).

Za strukturni prikaz lijekova kao i reakcija u koje stupa izoniazid korišten je program ACD/ChemSketch 2015 Pack 2 koji je besplatno dostupan na internetskoj stranici www.acdlabs.com (19).

Za prikaz potencijalnih interakcija izoniazida s drugim lijekovima korišten je besplatan javno dostupan internetski pretraživač interakcija Interactions Checker na internetskoj stranici www.drugs.com. Odabir lijekova za pretragu temeljio se na postojećim dostupnim podacima o interakcijama izoniazida. Rezultati pretraživanja navedenog pretraživača nadopunjeni su dostupnim znanstvenim člancima i literaturom.

3.2. Metode

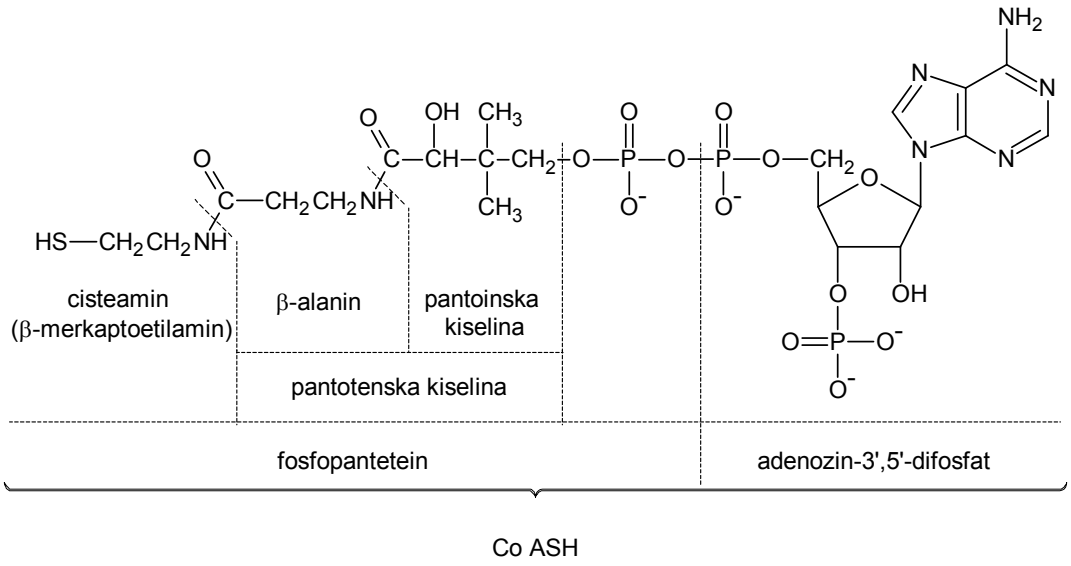
U ovom diplomskom radu posebna pažnja je posvećena metaboličkim promjenama izoniazida koje se zbivaju u ljudskom organizmu. S obzirom na strukturu izoniazida, biotransformacija ovoga lijeka odvija se reakcijama I. i II. faze metabolizma pod utjecajem karakterističnih enzimskih sustava. Međutim, prema dokazanim metabolitima, pronađenim u biološkom materijalu, očito veću važnost imaju reakcije II. faze pa će one biti posebno opisane i raspravljene. Biotransformacija izoniazida odvija se reakcijama acetilacije, hidrolize

te konjugacije s glicinom što predstavlja reakciju detoksikacije. Za toksičnost izoniazida odgovorne su reakcije oksidacije (22).

3.2.1. Acetilacija

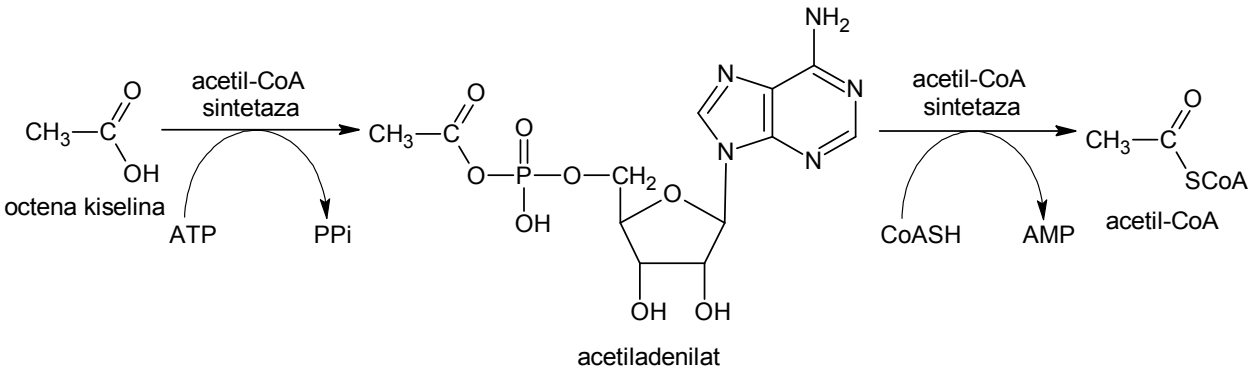
Prva reakcija koja se odvija u metabolizmu izoniazida je reakcija acetilacije. Acetilacije su prvi opisali M. Jaffe i R. Cohn 1887. godine, primjetivši u urinu prisustvo neuobičajene tvari, nakon primjene furfurala u pasa i kunića. Nakon primjene 3-nitrobenzaldehida identificirali su, u urinu kunića, 3-acetamidbenzojevu kiselinu, prvi N-acetilirani metabolit. Ulogu koenzima A (CoA) kod acetilacije sulfonamida otkrio je F. A. Lipmann koji je za svoj rad 1953. godine dobio Nobelovu nagradu. Supstrati u reakcijama acetilacije mogu biti endogeni supstrati, ali i različiti ksenobiotici. Acetiliraju se supstrati koji u svojoj strukturi sadrže amino-skupinu ($-NH_2$), hidroksilnu skupinu (-OH) ili tiolnu skupinu (-SH). Enzimi koji kataliziraju reakcije N-acetilacije nazivaju se N-acetiltransferaze (NAT). Predstavljaju skupinu topljivih, citosolnih enzima koji se nalaze pretežito u jetri, ali se reakcija acetilacije može odvijati i u plućima, mukozi probavnog trakta, limfocitima, crvenim krvnim stanicama i drugim tkivima. N-acetiltransferaze nalaze se u svim životinjskim vrstama osim psa i lisice. U čovjeka i nekih životinjskih vrsta kao što su kunić i hrčak identificirana su dva gena i dva funkcionalna enzima koji se skraćeno označavaju s NAT1 i NAT2, dok su, primjerice u miša, prisutna tri gena i tri funkcionalna enzima NAT1, NAT2 i NAT3. Aktivan centar enzima s cisteinskim ostatkom nalazi se na N-terminalnom dijelu proteina (Cys^{68}). Enzimi se međusobno razlikuju prema životinjskoj vrsti od koje potječu te organu ili tkivu iz kojeg su izolirani kao i specifičnosti prema supstratima, optimalnoj pH vrijednosti reakcije i stabilnosti. Unutar određene vrste međusobno su vrlo slični po slijedu aminokiselina pa su tako NAT1 i NAT2 slični 79 – 95 %, ovisno o životinjskoj vrsti. NAT1 se nalazi u svim tkivima, dok se NAT2 nalazi u jetri i probavnom traktu. Enzimi imaju određeni stupanj specifičnosti, ali niti jedan od supstrata nije isključivo supstrat jednog enzima. Izoniazid je pretežito supstrat enzima NAT2 dok je, primjerice antituberkulotik PAS, pretežito supstrat enzima NAT1. Polimorfizam acetilacija je važna značajka NAT1 i NAT2 enzima. Otkriven je 1950. godine kada je opisana promjenjivost kapaciteta acetilacije tuberkulostatika izoniazida kataliziranа enzimom NAT2, a povezana s neželjenim učincima terapije odnosno s pojavom periferne neuropatije inducirane ovim lijekom. Ovisno o prisutnim varijantama enzima, zapaženo je povećanje ili smanjenje aktivnosti lijeka ili aktivnosti uopće nije bilo. To je imalo za posljedicu ubrzano ili usporeno izlučivanje lijeka, kod nekih osoba, uvjetovano genetskim nasljeđem. S obzirom na sposobnost acetilacije, osobe su označene kao tzv. brzi ili spori

acetilatori, a sama pojava je nazvana genetski polimorfizam. Iako je genetski polimorfizam acetilacija zapažen i kod enzima NAT1 većim dijelom je vezan uz enzim NAT2. Genetski polimorfizam enzima NAT povezuje se s rizikom pojave različitih oblika raka (NAT1) ili pojave hepatotoksičnosti (NAT2). Raspodjela u zastupljenosti brzih i sporih acetilatora ovisi o populaciji kojoj osobe pripadaju. Zastupljenost sporih acetilatora je najveća (70 – 80 %) u populaciji Srednjeg Istoka (Saudijska Arabija, Maroko i Egipat). Orijentalni narodi iz Azije (Japanci, Koreanci i Kinezi) su pretežito brzi acetilatori (90 %) dok u populaciji Europe, Amerike i Australije (bijela populacija) oko 50 % populacije pripada sporim acetilatorima. 1960. godine je objavljeno da se acetilacija izoniazida odvija bimodalnom distribucijom. Kod osoba s izraženim genetskim polimorfizmom, tzv. brzih acetilatora, nađene su niže koncentracije izoniazida u krvi i postojala je mogućnost nastajanja rezistentnih sojeva mikobakterija uzročnika tuberkuloze. Polimorfizam acetilacije utječe na sudbinu i učinke izoniazida mijenjajući farmakokinetske značajke i biološke učinke. Kod brzih acetilatora vrijeme polueliminacije ($t_{1/2}$) lijeka je kraće, a kod sporih acetilatora dulje. Kod brzih acetilatora (posebno kod primjene lijeka jednom dnevno) kraći $t_{1/2}$ može imati za posljedicu smanjeni učinak terapije tuberkuloze te je potrebno skratiti interval doziranja, tj. primijeniti lijek dva puta dnevno. Toksična će djelovanja, kod brzih acetilatora, biti jače izražena ako je taj učinak vezan uz nastajanje toksičnih metabolita i intermedijera u reakcijama biotransformacije što je slučaj kod izoniazida. Kod osoba sa značajkama sporih acetilatora mogu doći do izražaja neželjena djelovanja lijekova kao posljedica nakupljanja i produženog djelovanja zbog usporenog metabolizma lijeka. Središnju ulogu u reakcijama acetilacije ima acetil-CoA kao prenositelj acetilne skupine. Temelj njegove strukture je koenzim A (CoASH) (Slika 16.) građen od cisteamina, pantotenske kiseline (vitamin B_5) i adenozinskog ostatka fosforiliranog u položaju 3 (22).



Slika 16. Koenzim A (CoASH) (23).

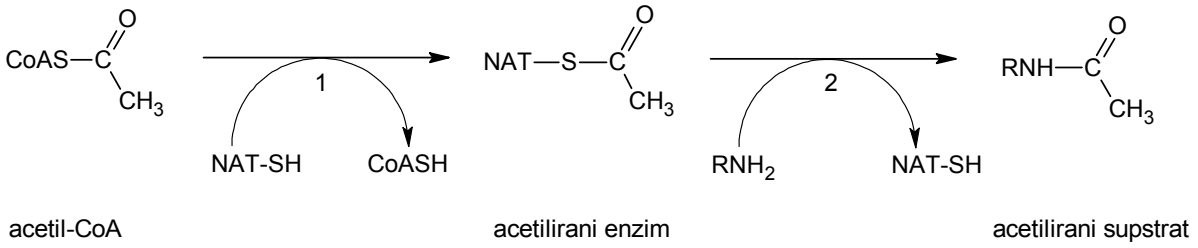
Pantotenska kiselina i adenozin su povezani fosfodiesterskom vezom. Reaktivna skupina u strukturi CoA je SH-skupina cisteaminskog dijela molekule na koju se tioesterskom vezom (energijom bogatom vezom) veže acetilna skupina, pri čemu nastaje acetil-CoA koji se dobiva biosintezom (Slika 17.) (22).



Slika 17. Biosinteza acetil-CoA (22).

Reakcije acetilacije se mogu razmatrati u dva koraka. U prvom koraku se acetilna skupina prenosi s acetil-CoA na aktivni centar (-SH skupinu aminokiseline cistein) topljivog enzima N-acetiltransferaze (NAT-SH), uz nastajanje intermedijarnog acetiliranog enzima pri čemu se oslobađa CoA. Drugi korak se odnosi na prijenos acetilne skupine s acetiliranog enzima na amino-skupinu supstrata, uz regeneraciju enzima (Slika 18.). Kod jako bazičnih

amina brzina reakcije je uvjetovana prvim korakom, odnosno acetilacijom enzima, dok je kod slabo bazičnih amina brzina reakcije kontrolirana reakcijama u drugom koraku (22).



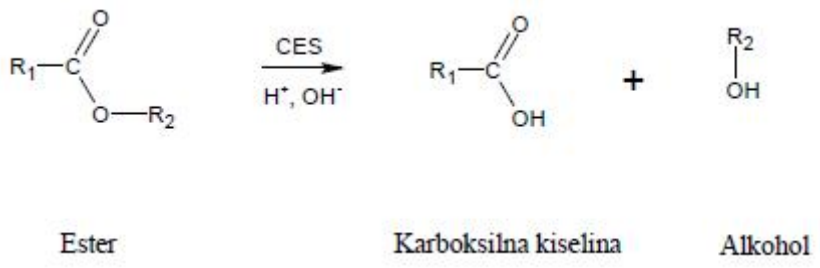
Slika 18. Mehanizam reakcije acetilacije (22).

Produkti reakcija acetilacije u većini slučajeva su biološki inaktivni, odnosno manje toksični i gube terapijski učinak. Tek rijetki acetilirani metaboliti zadržavaju terapijski učinak (npr. N-acetilprokainamid, metabolit antiaritmika prokainamida). Produkti acetilacija su polarni, ali budući da se acetilacijom ionizirajuća amino skupina zaštićuje i prevodi u neionizirajuću amidnu skupinu, topljivost u vodi im se ne povećava ili se u nekim slučajevima čak i smanjuje (22).

3.2.2. Hidroliza

Hidroliza je reakcija endogenog ili egzogenog supstrata s nukleofilnim sastojkom stanice (H_2O). Hidrolitičke reakcije su česte reakcije biotransformacije kod metabolizma endogenih tvari (proteina, peptida, lipida i dr.) ali i ksenobiotika (lijekova). Hidrolizom lijekova često se djelomično ili potpuno gubi djelovanje lijeka, ali se ovom reakcijom može i osloboditi aktivan oblik iz neaktivnog oblika lijeka (prolijekovi). Reakcijama hidrolize mijenjaju se fizikalno-kemijske osobine lijekova (topljivost, kiselost, površinska napetost i dr.). Promjena ovih značajki utječe na ukupnu sudbinu lijeka u organizmu, kroz promjenu distribucije, metabolizma i eliminacije lijeka. Što je neka tvar postojanija prema hidrolizi, veće joj je vrijeme polueliminacije u organizmu pa stoga ima i dulje djelovanje. Hidroliza lijekova odvija se enzimski ili neenzimski što ovisi o strukturi supstrata. Enzimi koji kataliziraju hidrolitičke reakcije nazivaju se hidrolaze, a značajna se aktivnost ovih enzima nalazi u svim organima i tkivima. U stanicama se nalaze u membranama (mitohondrija i endoplazmatskog retikuluma) i u citosolu. Enzimi se obično dijele prema strukturnim značajkama i nazivima pretežitih supstrata pa su najznačajnije karboksil-esteraze (CES), kolin-esteraze, aril-esteraze, sterol-esteraze, epoksid-hidrolaze, fosfataze i peptidaze. U nekim slučajevima isti enzimi mogu katalizirati hidrolizu strukturno različitih supstrata. Najčešći supstrati hidrolaza, pri biotransformaciji lijekova, su esteri i amidi. Ako se u susjedstvu

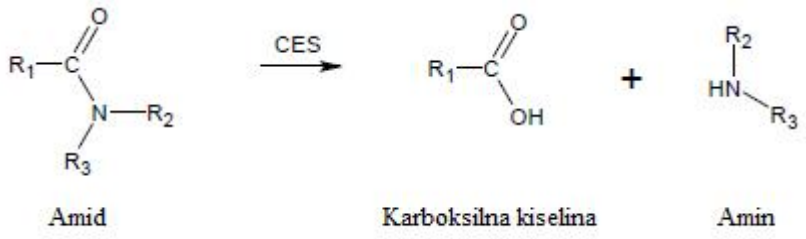
esterske ili amidne veze nalazi skupina koja privlači elektrone, preferirana je neenzimska hidroliza. Hidrolizom estera i amida nastaju karboksilne kiseline i alkoholi, odnosno amini, a nastali produkti se izlučuju iz organizma urinom ili fecesom ili mogu biti supstrati reakcija II. faze. Brzina hidrolize, a samim time i terapijski učinak, ovisi o brojnim čimbenicima, prije svega o vrsti funkcionalne skupine koja se hidrolizira (ester ili amid). Esteri se hidroliziraju brže nego amidi. Na brzinu reakcije hidrolize veliki utjecaj imaju i sterički čimbenici u strukturi supstrata (veličina, položaj i dužina lanca supstituenta u blizini esterske odnosno amidne veze). Prisustvo prostorno velikih supstituenata u blizini mjesta hidrolize estera i amida usporava reakciju. Elektronska svojstva supstituenata u molekuli supstrata također utječu na brzinu reakcije hidrolize. Prisustvo elektrondonorske skupine (amino skupine) usporava reakciju hidrolize, dok prisustvo elektronakceptorske skupine (halogeni supstituenti) u strukturi supstrata ubrzava reakciju hidrolize. Karboksil-esteraze, enzimi koji kataliziraju reakcije hidrolize estera (Slika 19.), spadaju u skupinu tzv. serinskih hidrolaza, a nalaze se u različitim tkivima i serumu sisavaca s najvećom aktivnošću u jetri (22).



Slika 19. Hidroliza estera (22).

Karboksil-esteraze svojom aktivnošću određuju duljinu učinka brojnih lijekova. Kod osoba koje pokazuju polimorfizam odnosno smanjenu aktivnost enzima, lijekovi supstrati enzima mogu imati produljeni učinak. Karboksil-esteraze su glikoproteini molekulske mase od oko 60 kDa, sadrže 540 aminokiselinskih ostataka, a sličnost sekvencije aminokiselina u strukturi enzima među vrstama je oko 70 %. Enzimi seruma imaju veću stabilnost zbog strukturnih značajki. Karboksil-esteraze imaju 4 cisteinska ostatka koji čine intramolekulske disulfidne mostove koji povećavaju stabilnost enzima. Kidanje disulfidnih mostova ne utječe na enzimsku aktivnost. Enzimi se mogu razlikovati prema specifičnosti u odnosu na supstrate, a široka specifičnost u odnosu na različite strukture supstrata se objašnjava fleksibilnošću konformacije ovih enzima. Amidi su također podložni reakciji hidrolize pod katalitičkim učinkom amidaza (karboksil-esteraza). Supstrati su primarni, sekundarni i tercijarni amidi, a

podložni su joj i ureidi, hidrazini i laktami. Produkti hidrolize amida su kiseline i odgovarajući amini (Slika 20.) (22).



Slika 20. Hidroliza amida (22).

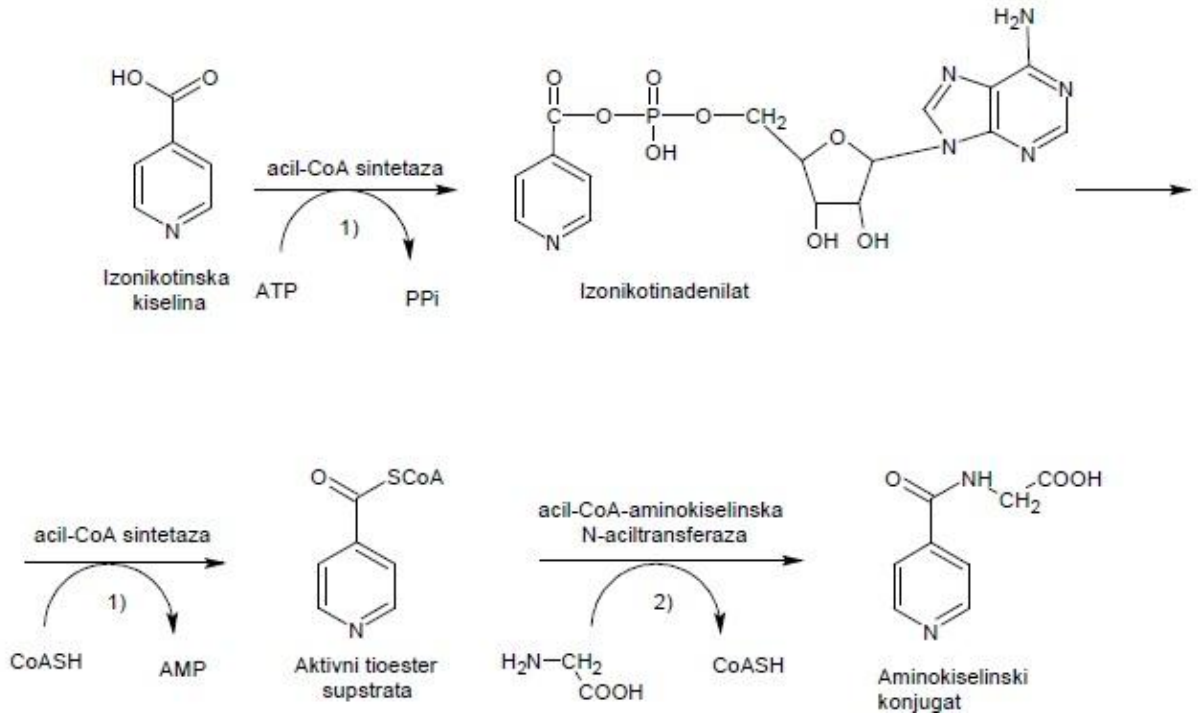
Sterički čimbenici imaju utjecaj na brzinu hidrolize amida. Hidroliza je sporija ukoliko se u blizini amidne veze nalaze velike skupine. Elektronski čimbenici također imaju utjecaj na brzinu hidrolize amida. Uvođenjem elektrondonorske skupine znatno se smanjuje brzina reakcije hidrolize. Kombinacijom elektronskog i steričkog učinka može se potpuno isključiti reakcija hidrolize (22).

3.2.3. Konjugacija s α-aminokiselinama

Reakcije konjugacije s α-aminokiselinama i endogenim aminima (N-acilacije) su reakcije II. faze i mogu se odvijati na dva načina. Prvim načinom konjugiraju se ksenobiotici koji u strukturi imaju karboksilnu skupinu s amino skupinom aminokiseline (obično glicin, glutamin ili taurin) ili nekog amina. Ksenobiotik se prethodno aktivira reakcijom s koenzimom A (CoA). Drugim načinom konjugiraju se ksenobiotici koji u strukturi imaju aromatsku hidroksilamino skupinu (N-hidroksi aromatski amini) koja reagira s karboksilnom skupinom aminokiseline (obično serin ili prolin). Kod ovog načina aktivira se aminokiselina reakcijom koju katalizira aminoacil-tRNA-sintaza, a produkti reakcije su reaktivni N-esteri. Konjugati lijekova sa strukturom karboksilnih kiselina s α-aminokiselinama i endogenim aminima su manje česti u usporedbi s konjugatima nastalim u ostalim reakcijama konjugacije. Razlog je ograničena raspoloživa koncentracija slobodnih amina u stanicama. Konjugirajući agensi su pretežito glicin, taurin i glutamin, ali se konjugacije mogu odvijati i s ornitinom, argininom, asparginskom kiselinom, serinom, histidinom i dipeptidima kao što su glicilglicin, gliciltaurin i glicilvalin. Koja će α-aminokiselina sudjelovati kao konjugirajući agens ovisi o životinjskoj vrsti, ali i o ksenobiotiku koji sudjeluje u reakciji. Supstrati reakcija konjugacije su ksenobiotici sa strukturama aromatskih, alifatskih, heteroatomskih i ariloctenih kiselina, te dugolančane i kratkolančane masne kiseline. Lijekovi-supstrati uglavnom pripadaju

skupinama protuupalnih lijekova, analgetika, diuretika i hipolipemika. Mogućnost supstrata da sudjeluje u reakciji konjugacije s α-aminokiselinama ovisi o steričkim smetnjama supstituenta oko karboksilne skupine i prirodi supstituenta na aromatskom prstenu i alifatskom lancu. Enzimi koji kataliziraju konjugacije s α-aminokiselinama su N-aciltransferaze, a nalaze se u citosolu, ER i/ili mitohondrijima. Produkti konjugacija s α-aminokiselinama su odgovarajući amidi tj. konjugati koji tvore amidne veze između supstrata i konjugirajućeg agensa, a često se nazivaju i peptidni konjugati. Produkti su vrlo polarni, polarniji od supstrata, jer u strukturi imaju dodatnu ionizirajuću –COOH skupinu. Male su molekulske mase (do 400 Da), izlučuju se pretežito urinom, ali i putem žuči i fecesa. Konjugacije karboksilnih skupina s α-aminokiselinama su alternativne reakcijama konjugacija s glukuronskom kiselinom. Ove reakcije se smatraju reakcijama detoksikacije, dok u reakcijama glukuronidacije mogu nastati i potencijalno toksični acil-glukuronidi. Reakcija konjugacije s α-aminokiselinama razmatra se u dva koraka (Slika 21.) (22).

1. Aktivacija karboksilne skupine supstrata reakcijom s ATP, uz nastajanje anhidrida. Reakcijom s CoASH supstrat se zatim prevodi u odgovarajući stabilniji acil-CoA-tioester (intermedijarni acil-CoA-derivat) koji zadržava reaktivnost prema nukleofilnoj amino-skupini. Obje reakcije katalizira enzim acil-CoA-sintetaza (22).



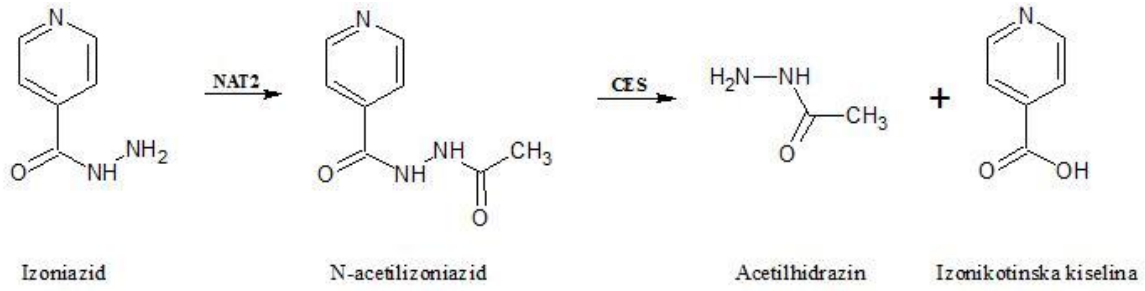
Slika 21. Mehanizam reakcije konjugacije s α-aminokiselinama (22).

2. Konjugacijom aktiviranog supstrata (acil-CoA-tioester) s aminokiselinom (reakcija acilacije amino skupine u strukturi aminokiseline) nastaje amidna veza između -NH_2 skupine aminokiseline i karboksilne skupine ksenobiotika ili metabolita. Reakciju katalizira odgovarajuća N-aciltransferaza (acil-CoA-aminokiselinska-N-aciltransferaza). Reakcija se odvija tako da se ksenobiotik prvo prenosi na cisteinski ostatak u enzimu uz oslobađanje CoA, a zatim na aminokiselinu s kojom stvara konjugat uz regeneraciju enzima. Mehanizam reakcije konjugacije s α-aminokiselinama prikazan je na izonikotinskoj kiselini (Slika 21.) (22).

4. REZULTATI

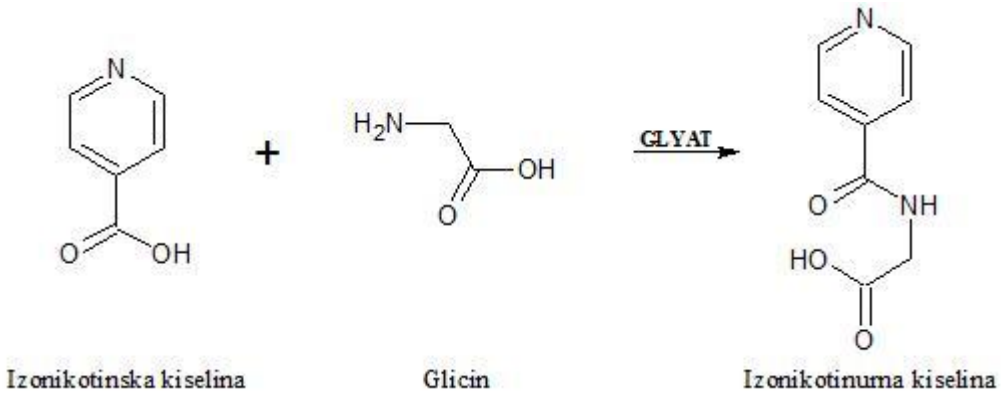
4.1. Metabolizam izoniazida

S obzirom na strukturu izoniazida, biotransformacija ovoga lijeka odvija se reakcijama I. i II. faze metabolizma pod utjecajem karakterističnih enzimskih sustava. Međutim, prema dokazanim metabolitima, pronađenim u biološkom materijalu, očito veću važnost imaju reakcije II. faze pa će njima biti posvećena posebna pažnja. Prvi korak u metabolizmu izoniazida odvija se reakcijom acetilacije pod utjecajem enzima NAT2 (Slika 22.).



Slika 22. Metabolizam izoniazida (24).

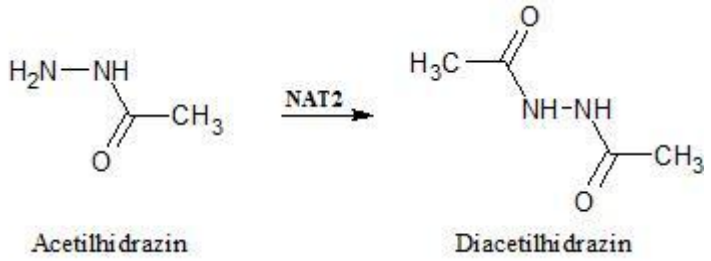
Izoniazid se acetilira katalitičkim učinkom enzima N-acetiltransferaza 2 (NAT2) te nastaje N-acetilizoniazid. Nastali metabolit se nadalje reakcijama I. faze (hidroliza, oksidacija) i II. faze (konjugacija s α-aminokiselinama), uz sudjelovanje odgovarajućih enzimskih sustava prevodi u konačne toksične i netoksične metabolite. N-acetilizoniazid se hidrolizira djelovanjem enzima karboksil-esteraze (CES) u acetilhidrazin i izonikotinsku kiselinu. Acetilhidrazin se može N-oksidirati katalitičkim učinkom enzima citokrom P450 ili enzima FMO u reaktivni N-hidroksiacetilhidrazin čijom razgradnjom nastaju reaktivni intermedijeri koji povećavaju rizik hepatotoksičnosti. No, isti metabolit, acetilhidrazin, nastao hidrolizom, može se enzimom NAT2 ponovno acetilirati u diacetilhidrazin što predstavlja reakciju detoksikacije. Drugi metabolit koji je nastao reakcijom hidrolize, izonikotinska kiselina, ulazi u reakcije konjugacije s glicinom, katalitičkim djelovanjem enzima glicin-N-aciltransferaza (GLYAT), i izlučuje se u obliku netoksične izonikotinurne kiseline što predstavlja reakciju detoksikacije (Slika 23.) (22).



Slika 23. Konjugacija izonikotinske kiseline s glicinom (25).

4.2. Toksičnost izoniazida

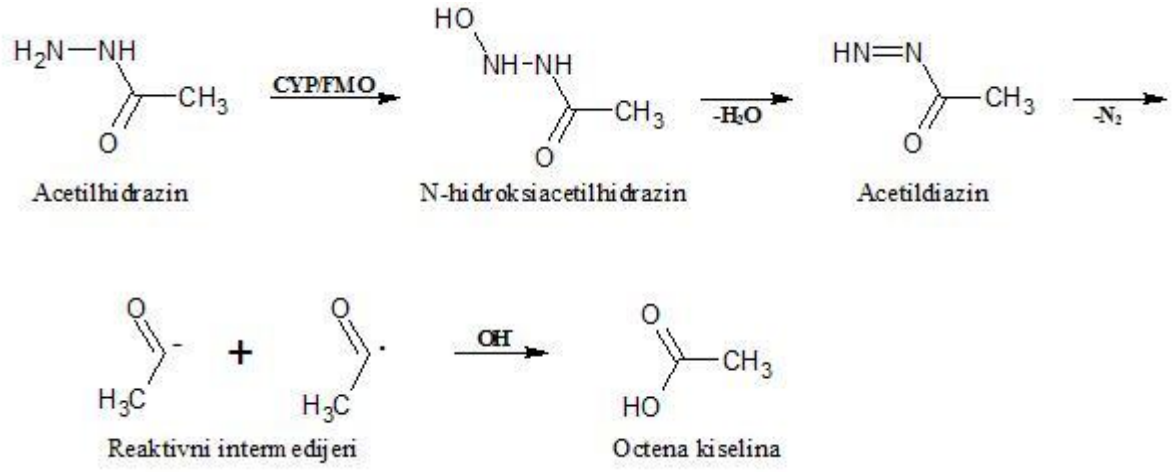
Toksični učinci izoniazida povezuju se s genetskim polimorfizmom enzima NAT2. Nakon acetilacije enzimom NAT2 izoniazid se hidrolizira u izonikotinsku kiselinu i acetilhidrazin. Acetilhidrazin se može enzimom NAT2 ponovno acetilirati te nastaje diacetilhidrazin što predstavlja reakciju detoksikacije. Ova reakcija se brže odvija kod brzih acetilatora (Slika 24.)



Slika 24. Acetilacija acetilhidrazina u diacetilhidrazin (26).

Enzim NAT2 sudjeluje u stvaranju acetilhidrazina, ali i u njegovoj detoksikaciji u diacetilhidrazin. Kod brzih acetilatora povećani rizik od toksičnosti proizlazi iz bržeg nastajanja acetilhidrazina i mogućnosti da se on dalje oksidira u toksičan N-hidroksiacetilhidrazin (Slika 25.). Veći rizik toksičnosti kod sporih acetilatora povezan je sa sporom acetilacijom acetilhidrazina u diacetilhidrazin. Smanjena mogućnost acetilacije acetilhidrazina u diacetilhidrazin povećava mogućnost oksidacije acetilhidrazina u toksični N-hidroksiacetilhidrazin (22).

Acetilhidrazin, nastao hidrolizom N-acetilizoniazida, se može N-oksidirati katalitičkim učinkom enzima citokrom P450 ili enzima FMO u reaktivni N-hidroksiacetilhidrazin.

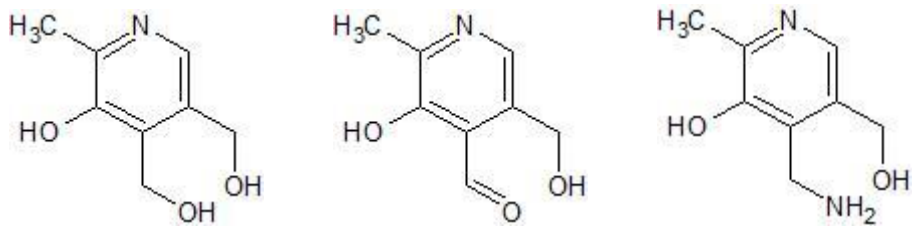


Slika 25. Toksičnost izoniazida (27).

Razgradnjom N-hidroksiacetilhidrazina nastaju reaktivni intermedijeri (Slika 25.) koji povećavaju rizik od hepatotoksičnosti posebice kod brzih acetilatora jer se ubrzanom acetilacijom stvara više acetilhidrazina koji se oksidira u N-hidroksiacetilhidrazin. Spori acetilatori također imaju rizik od hepatotoksičnosti jer je sporija reakcija detoksikacije odnosno acetilacije acetilhidrazina u diacetilhidrazin što ponovno omogućuje bržu oksidaciju acetilhidrazina u reaktivni N-hidroksiacetilhidrazin. Rizik nastajanja toksičnog N-hidroksiacetilhidrazina posebice dolazi do izražaja kod osoba s povećanom aktivnošću enzima CYP2E1 i/ili enzima FMO. Rifampicin i etanol povećavaju toksičnost izoniazida indukcijom aktivnosti enzima CYP2E1, koji katalizira N-hidroksilaciju N-acetilhidrazina u toksični N-hidroksiacetilhidrazin. Razgradnjom N-hidroksiacetilhidrazina preko acetildiazina nastaju reaktivni intermedijeri koji se kovalentno vežu za proteine što dovodi do hepatotoksičnosti. Reaktivni intermedijeri se u prisutstvu OH^- prevode do netoksične octene kiseline te se izlučuju iz organizma. Kod terapije izoniazidom moguća je pojava periferne neuropatije i hepatitisa. Periferna neuropatija, uslijed većih koncentracija lijeka, češće se javlja kod sporih acetilatora nego kod brzih acetilatora. Blaži oblik hepatotoksičnosti nakon primjene izoniazida zapažen je kod oko 10 – 20 % populacije, a kod 1 % populacije dolazi do jakog oštećenja jetre. Epidemiološka ispitivanja ukazuju da brzi acetilatori imaju veći rizik pojave hepatotoksičnih reakcija, međutim i spori acetilatori imaju rizik hepatotoksičnosti primjenom izoniazida. Ovi nalazi se mogu objasniti razlikama u kapacitetu acetilacije izoniazida (22).

Izoniazid, ali i cikloserin neki su od lijekova koji imaju antivitaminsko B_6 djelovanje tako što onemogućavaju iskorištenje piridoksina. Kao posljedica toga može doći do pojave perifernog neuritisa. Simptomi nestaju nakon primjene piridoksina, ali preporučuje se i

preventivna primjena vitamina B_6. Vitamin B_6 koristi se i kao antidot u bolesnika koji uzimaju prevelike doze tuberkulostatika izoniazida ili pri toksičnosti cikloserina. Danas se kao tuberkulostatici uspješno koriste preparati izoniazida koji su kombinirani s piridoksinom (npr. Eutizon $B_6^{®}$). Vitamin B_6 je vitamin B-kompleksa. Osim piridoksina, vitaminsku aktivnost posjeduju još i piridoksal i piridoksamin. Prema tome vitaminom B_6 se naziva više strukturno srodnih spojeva (Slika 26.). Iako je vitamin B_6 sastavni dio pripravaka B-kompleksa često se koristi i kao monoterapija u hipovitaminozi (28).



Slika 26. Piridoksin, piridoksal i piridoksamin – sastavnice vitamina B_6 (27).

1936. godine P. György je otkrio skupinu strukturno sličnih spojeva koje je nazvao vitaminom B_6 te njima uspješno liječio dermatitis. Dvije godine kasnije piridoksin je izoliran iz rižine ljuske i kvasca. Sastavnice vitamina B_6, piridoksin (alkohol), piridoksal (aldehid) i piridoksamin (amin), su strukturno slični spojevi, a razlikuju se po skupini u položaju C_4. Piridoksin je bijeli kristalični prah, topljiv u vodi, slabije topljiv u alkoholu, a netopljiv u kloroformu i eteru. Čuva se u posudama zaštićenim od svjetla jer se pod njegovim utjecajem razgrađuje. Razgradnja je manja i ukoliko se čuva s vitaminom A ili riboflavinom. Razgrađuje se i pod utjecajem alkalija. Sva tri sastojka vitamina B_6 dostupna su u prirodi. Piridoksin se nalazi u biljnim i životinjskim tkivima, osobito u jetri i bubrezima, kvascu, ribi, soji, jajima, cerealijama, raznom voću te zelenom lisnatom povrću. Vitamin B_6 se brzo apsorbira iz probavnog trakta ukoliko se primjenjuje peroralno. U jetri sva tri oblika prelaze u aktivne metabolite, dok se piridoksal fosfat i piridoksamin fosfat u jetri i deponiraju. Dalje se oksidiraju do 4-piridoksin kiseline i drugih inaktivnih metabolita te se izlučuju urinom. Piridoksal prolazi kroz posteljicu i pojavljuje se u majčinom mlijeku. Piridoksal fosfat je koenzim velikog broja enzima, posebno onih koji kataliziraju metabolizam aminokiselina, transaminaciju, dekarboksilaciju i racemizaciju. Piridoksal fosfat djeluje kao koenzim u fosforilazama i kao važan faktor u sintezi proteina. Vitamin B_6 sudjeluje i u prevođenju triptofana u niacin. Nastajanje niacina posredstvom vitamina B_6, kao i vitamina D_3 pod utjecajem ultraljubičastih zraka, jedina su dva primjera endogenog stvaranja vitamina. Piridoksin je esencijalan i u sintezi γ-aminomaslačne kiseline (GABA) u središnjem

živčanom sustavu, te u sintezi hema. Vitamin B_6 posreduje u prijelazu metionina u cistein. Vitamin B_6 je bitan sastojak ljudske prehrane, a klinički simptomi njegovog nedostatka su vrlo rijetki. Nedostatak se javlja kod primjene nekih lijekova, primjerice izoniazida, ili je vezan za nedostatak drugih vitamina B skupine. Simptomi nedostatka piridoksina očituju se promjenama na koži, u središnjem živčanom sustavu i hematopoetskom sustavu. Koncentracija vitamina B_6 smanjena je u alkoholičara, u krvi trudnica i u žena koje su uzimale oralne kontraceptive s estrogenima. Vitamin B_6 ima relativno nisku toksičnost. U ljudi su zapaženi neurotoksični učinci pri uzimanju piridoksina u dnevnoj dozi većoj od 200 mg/dan. Nakon prestanka uzimanja piridoksina oporavak je polagan i u nekih bolesnika samo djelomičan. Suvišak vitamina B_6 u pravilu se izlučuje urinom. Potrebe za piridoksinom povećavaju se s količinom proteina u hrani. Preporučene dnevne količine za odrasle zdrave muškarce su 2 mg dok su za odrasle zdrave žene 1,6 mg dnevno, pri normalnoj prehrani. Primjena vitamina B_6 opravdana je u svim slučajevima njegove hipovitaminoze. Neurološki problemi, seboroični dermatitis i kelioza svakako su indikacije za uporabu piridoksina. Može se primjenjivati parenteralno i peroralno (28).

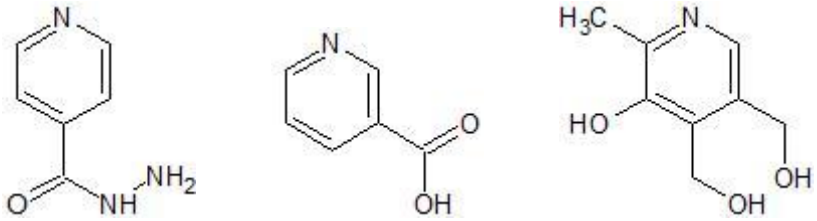
4.3. Interakcije izoniazida

Istodobna primjena više lijekova jedan je od čimbenika koji mogu promijeniti učinak nekih lijekova, bilo u smjeru njihovog jačeg ili slabijeg djelovanja (29) ili nastanka toksičnih reakcija te nuspojava (30). Međudjelovanje dva ili više lijeka pri njihovoj istodobnoj primjeni naziva se *interakcija lijekova* (29). Osim s drugim lijekovima, interakcije mogu nastati s bilo kojom drugom tvari s kojom čovjek dolazi u kontakt, primjerice hrana, piće, dodaci prehrani te biljni lijekovi, ali i s laboratorijskim pretragama (30). Istodobna primjena više lijekova u liječenju nekih bolesti, primjerice tuberkuloze, je vrlo korisna jer su interakcije između antituberkulotika poznate i očekivane. Nekontrolirana i neracionalna primjena velikog broja lijekova dovodi do neočekivanih i nepredvidivih interakcija te nastanka ozbiljnih nuspojava. Prema mehanizmu nastanka interakcije se dijele u dvije velike skupine, farmakokinetske i farmakodinamske. Farmaceutske interakcije su treća skupina interakcija do kojih dolazi *in vitro*, odnosno izvan organizma (primjerice u štrcaljki) pri čemu dolazi do možebitne inaktivacije jednog ili oba lijeka. Osim ovih velikih podjela interakcija postoji još čitav niz drugih klasifikacija interakcija, ali one nisu od pretjerane važnosti za ovaj rad (29).

4.3.1. Interakcije izoniazida i vitamina

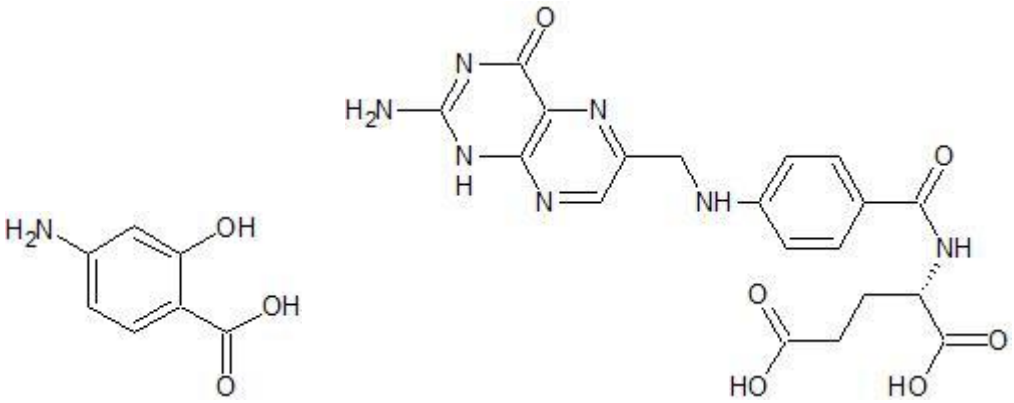
Izoniazid može izazvati nedostatak niacina (vitamin B_3) i vitamina B_6 (Slika 27.) (29). Niacin ili vitamin B_3 je vrlo važan vitamin koji ima veliki utjecaj na mentalno zdravlje

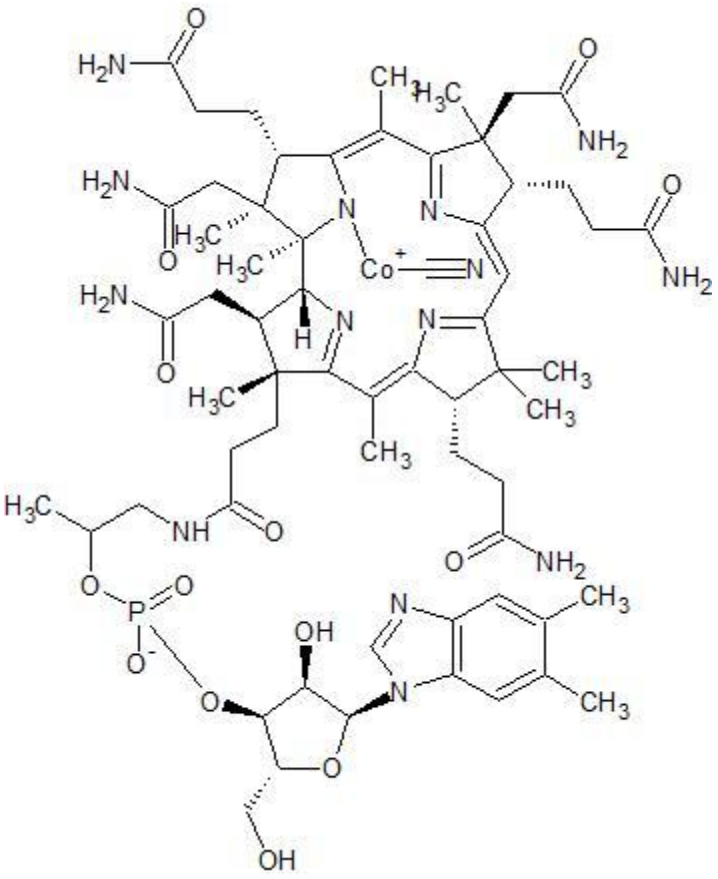
čovjeka pokazujući povoljne učinke u liječenju depresije, demencije, shizofrenije te očuvanju kognitivnih funkcija. Bolest koja nastaje nedostatkom vitamina B_3 naziva se pelagra, a karakterizira ju smanjenje kognitivnih sposobnosti i demencija, što se liječi nadoknadom niacina (31).



Slika 27. Izoniazid, niacin i piridoksin (23).

O piridoksinu je ranije bilo već dovoljno govora, no unos dodatnih količina vitamina B_6, a koje su veće od RDA doza, moraju se uzimati pod strogom kontrolom liječnika, jer velike doze mogu smanjiti učinak izoniazida (29). Preporučene dnevne doze vitamina B_6 su 6 – 50 mg, a niacina 15 – 25 mg (32). INH također interferira s metabolizmom vitamina D te kalcija, pa su nadoknade potrebne, ali pod kontrolom liječnika. Osim INH, tuberkulostatik PAS također dovodi do nedostatka vitamina i to vitamina B_9 i B_{12} (Slika 28.) (29). Folna kiselina ili vitamin B_9 pripada skupini vitamina B kompleksa. Neophodna je za sintezu nukleinskih kiselina, metabolizam aminokiselina i održavanje normalne eritropoeze. Nedostatak folne kiseline može dovesti do megaloblastične anemije. Bogati izvori folne kiseline su jetra, bubrezi, zeleno povrće, kvasac te orašasti plodovi. Cijanokobalamin ili vitamin B_{12} je u vodi topljiv vitamin kao i svi vitamini B skupine. Ima vrlo važnu ulogu u metaboličkim i sintetskim putovima u organizmu. Nedostatak dovodi do megaloblastične anemije i neuroloških oštećenja. Bogati izvori vitamina B_{12} su morski plodovi, riba, mlijeko, fermentirani sirevi, jetra i srce (33, 34).

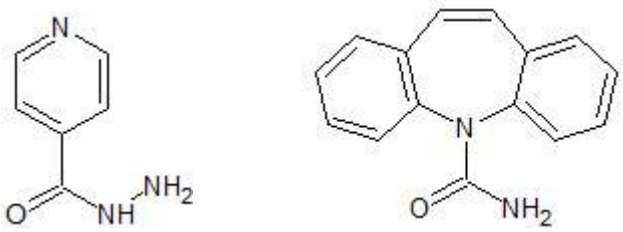




Slika 28. PAS, B_9 i B_{12} (23).

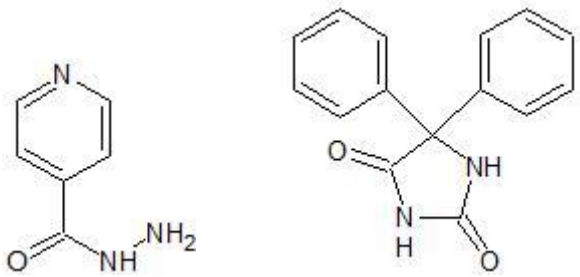
4.3.2. Interakcije izoniazida i antikonvulziva karbamazepina i fenitoina

Antikonvulzivi se nazivaju još i antiepileptici, a pripadaju strukturno raznolikoj skupini lijekova koji se koriste u sprječavanju epileptičkih napadaja. Neki od njih se često koriste i u liječenju bipolarnog poremećaja. Cilj antikonvulziva je suzbijanje abnormalnih neuronalnih električnih izbijanja, pri čemu ne djeluju na uzrok napadaja, nego je njihova uloga simptomatsko liječenje (35). INH stupa u interakciju s antikonvulzivom karbamazepinom (Slika 29.) te utječe na njegov metabolizam tako što povećava razinu karbamazepina u krvi (32).



Slika 29. Izoniazid i karbamazepin (36).

Karbamazepin je triciklički spoj (derivat tricikličkh antidepresiva) koji je izvorno bio razvijen za terapiju trigeminalne neuralgije. Apsorpcija karbamazepina nakon oralne primjene je spora, ali potpuna te se usporuje, ako se lijek uzima nakon obroka (37). Većina pacijenata koji uzimaju karbamazepin i izoniazid imaju veće koncentracije karbamazepina u krvi nego što su imali prije početka uzimanja izoniazida. Karbamazepin također povećava toksičnost izoniazida prema jetri. Ukoliko se oba lijeka uzimaju istovremeno potrebno je redovno pratiti razine karbamazepina u krvi i jetrene enzime te se savjetovati s liječnikom ukoliko dođe do odstupanja od referentnih vrijednosti. Simptomi toksičnosti karbamazepina su mučnina, povraćanje, mamurluk, nestabilnost, vrtoglavica, grčevi i tremor mišića, nepravilno disanje, ubrzan rad srca te promjene u krvi i urinu. U slučaju bilo kojih simptoma potrebno se javiti liječniku. Osim s karbamazepinom, izoniazid stupa u interakcije i s drugim antikonvulzivima, posebice hidantoinskim, primjerice fenitoinom (Slika 30.) (32).



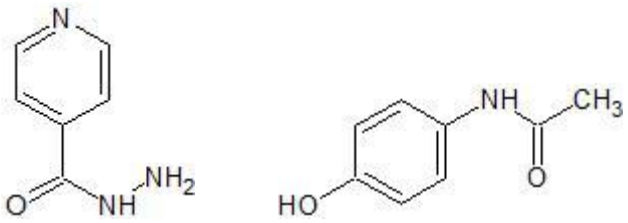
Slika 30. Izoniazid i fenitoin (36).

Fenitoin je najstariji nesedativni antikonvulziv. Apsorpcija fenitoina nakon oralne primjene je potpuna. Fenitoin stupa u interakciju s velikim brojem lijekova zbog činjenice da je 90 % fenitoina vezano za proteine plazme pa ga drugi lijekovi mogu istisnuti i dovesti do povećanja koncentracije slobodnog lijeka u plazmi (38). Gotovo jedna trećina ljudi koji uzimaju istovremeno INH i fenitoin pokazuju simptome toksičnosti fenitoina. Rizik toksičnosti je veći nego kod osoba koje uzimaju samo fenitoin. Ova interakcija može biti smrtno opasna. Ukoliko se u terapiju uvodi izoniazid potrebno je redovno pratiti razine fenitoina u krvi. Simptomi toksičnosti fenitoina su nekontrolirani pokreti očima, nestabilnost, nerazumljiv govor, vrtoglavica te ukočenost mišića. Ukoliko se pojave simptomi potrebno se javiti liječniku (32).

4.3.3. Interakcije izoniazida i analgetika

Analgetici su lijekovi za suzbijanje bolova. Acetilsalicilna kiselina (ASA), ibuprofen, naproksen i paracetamol u nižim koncentracijama su dostupni i kao OTC preparati. Svi oni,

osim paracetamola, imaju i protuupalno djelovanje te se svrstavaju u skupinu nesteroidnih antireumatika. U analgetske svrhe se ne bi smjeli upotrebljavati duže od 7 do 10 dana, a ako simptomi ne prolaze ili se čak pogoršaju, nužno je obratiti se liječniku. Paracetamol se još naziva i acetaminofen, a kao OTC je odobren 1960. godine. Paracetamol gotovo da nema želučanih nuspojava i pacijenti na njega povoljno reagiraju. Međutim, uzimanje većih doza duže vrijeme nosi određene rizike, uključujući hepatotoksičnost i nefrotoksičnost. S obzirom da je paracetamol dostupan u ljekarnama bez recepta, uvriježeno je mišljenje da je to bezopasan lijek i često se ne razmišlja kako i on može stupiti u interakcije s drugim lijekovima (39). Izoniazid povećava toksičnost paracetamola (Slika 31.) te dovodi do oštećenja jetre (32).



Slika 31. Izoniazid i paracetamol (36).

Studije pokazuju da je izoniazid snažan inhibitor metabolizma paracetamola što dovodi do povećane razine paracetamola i njegovih metabolita te dužeg zadržavanja u tijelu (40). Visoke doze ili dugotrajnu primjenu paracetamola bi trebalo izbjegavati za vrijeme primjene izoniazida odnosno posavjetovati se s liječnikom (32).

4.3.4. Interakcije izoniazida i alkohola

Poznato je da izoniazid djeluje štetno na jetru, a česta konzumacija alkohola (svaki dan ili nekoliko puta tjedno) povećava rizik od hepatitisa izazvanog izoniazidom ili drugim lijekovima. Zbog toga bi se alkohol trebao izbjegavati za vrijeme primjene izoniazida budući da i sam djeluje toksično na jetru (32).

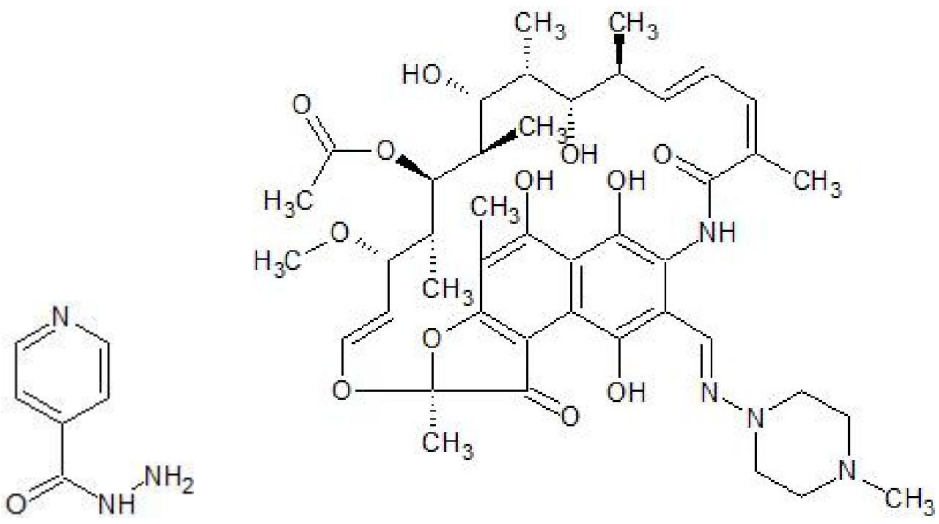
4.3.5. Interakcije izoniazida i antacida

Antacidi, a posebno oni koji sadrže magnezijeve i aluminijeve soli, stupaju u umjerenu ili neznatnu interakciju s izoniazidom te mu smanjuju učinak (30). Od takvih antacida danas su na tržištu Republike Hrvatske dostupni Gastal®, Rennie® i Rupurut® pa je kod njih potreban oprez u kombinaciji s INH. Svi se nalaze u bezreceptnom režimu što nikako ne znači da ne mogu stupiti u interakcije s drugim lijekovima. Gastal® je po svom sastavu Al-

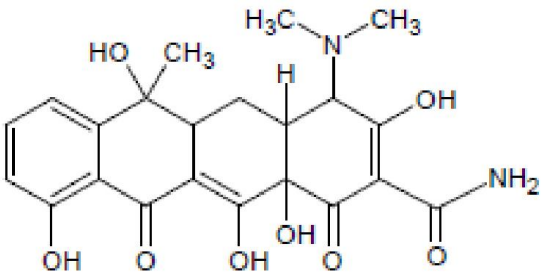
hidroksid, Mg-karbonat gel i Mg-hidroksid. Rennie® je po svom sastavu sol Ca-karbonata i Mg-karbonata dok je Rupurut® po sastavu hidrotalcit (18).

4.3.6. Interakcije izoniazida i rifampicina te tetraciklina

Interakcije izoniazida i rifampicina (Slika 32.) ili tetraciklina (Slika 33.) su moguće, ali se javljaju rijetko te su umjerene ili neznatne. Izoniazid dovodi do povišenja vrijednosti jetrenih transaminaza hepatocelularnim oštećenjem. Odstupanja vrijednosti transaminaza u tijeku terapije rifampicinom se smatraju normalnom pojavom i nisu indikacija za prekid liječenja nego upozorenje da se razine transaminaza moraju redovno pratiti (30). Potrebno se odmah javiti liječniku ukoliko se pojave neki od sljedećih simptoma: povišena temperatura, zimica, bol u zglobovima ili oticanje, prekomjeran umor ili slabost, iznenadno krvarenje ili nastanak modrica, kožni osip ili svrbež, žuta boja kože ili bjeloočnica (41).



Slika 32. Izoniazid i rifampicin (23).



Slika 33. Tetraciklin (23).

5. RASPRAVA

Tuberkuloza je bila i ostala jedna od najzaraznijih bolesti čovječanstva, bez obzira na znanstveni i tehnološki napredak u prevenciji i liječenju oboljelih. WHO čini velike napore prema smanjenju bolesti širokom suradnjom nacionalnih programa za suzbijanje, farmaceutskih tvrtki te edukacijom, prevencijom i razvojem novih lijekova. Global Alliance za razvoj antituberkulotika, osnovan pod nadzorom WHO, a u suradnji s farmaceutskim tvrtkama jamac je budućeg uspjeha u liječenju tuberkuloze. Očekuju se otkrića učinkovitijih antituberkulotika s kraćim režimom terapije, novim mehanizmom djelovanja i boljom farmakokinetikom. Radi se na lijekovima s učinkom u obje faze liječenja, a osobito uskog antibakterijskog spektra djelovanja na MT. Nada je vidljiva u odobrenju za uporabu bedakvilina, prvog lijeka nakon rifampicina, a na pomolu je još nekoliko novih lijekova. Novi obećavajući kandidati su PA-824, SQ-109 i gatifloksacin (42). Na globalnom planu incidencija tuberkuloze je smanjena u razvijenim zemljama, a porast bilježe siromašne zemlje u razvoju, naročito u Africi i Aziji gdje predstavlja epidemiološku opasnost. Problem predstavljaju MDR-TBC i XDR-TBC koje su u porastu. Ipak, smrtnost je u padu upravo zbog prevencije i široke uporabe antituberkulotika. Republika Hrvatska nije epidemiološki ugrožena. Rast tuberkuloze je odavno smanjen te su i dalje u opadanju incidencija i smrtnost. Incidencija još uvijek nije kao u Europskoj uniji, ali je ipak vrlo zadovoljavajuća situacija. MDR-TBC gotovo da i ne postoji, a sustav edukacije, prevencije i liječenja odlično funkcionira od samih početaka borbe protiv tuberkuloze (3, 4).

5.1. Biotransformacija tuberkulostatika

Tuberkulostatici prvog i drugog reda se međusobno jako razlikuju prema metaboličkim reakcijama biotransformacije u koje stupaju. Najvažnija reakcija biotransformacije izoniazida je reakcija acetilacije, katalitičkim učinkom enzima NAT2. Međutim, enzim NAT2 i reakcija acetilacije nemaju nikakvog učinka u biotransformaciji ostalih tuberkulostatika. Rifampicin se brzo metabolizira u jetri reakcijom deacetilacije odnosno hidrolize, većinom u aktivni metabolit desacetilrifampicin (43). Preko 80 % primijenjenog etambutola izlučuje se u nepromijenjenom obliku putem urina i fecesa, a samo manji dio podliježe biotransformaciji u jetri. Etambutol je primarni alkohol pa biotransformacija započinje oksidacijom katalitičkim učinkom alkohol-dehidrogenaze (ADH) te nastaje intermedijarni aldehid koji se katalitičkim učinkom aldehid-dehidrogenaze (ALDH) oksidira do 2,2-etilendiiminodimaslačne kiseline (22). Tuberkulostatik drugog reda, pirazinamid se hidrolizira u jetri djelovanjem mikobakterijskih pirazinamidaza do pirazinoične kiseline, koja je i sama aktivna protiv bacila tuberkuloze. Pirazinoična kiselina se

katalitičkim učinkom enzima aldehid oksidaze oksidira do 5-hidroksipirazinoične kiseline (17). Biotransformacija p-aminosalicilne kiseline može se odvijati reakcijama I. faze (hidroksilacija aromatskog prstena) i reakcijama II. faze (glukuronidacija, konjugacija s glicinom i acetilacija katalitičkim učinkom enzima NAT1) (22). Etionamid se metabolizira S-oksidacijom katalitičkim učinkom enzima flavinmonooksigenaza 2 (FMO2) i mikobakterijske EtaA pri čemu nastaju etionamid sulfoksid i inaktivni 2-etil-4-amidopiridin (44).

5.2. Klinički značajne interakcije izoniazida

Interakcije koje se javljaju prilikom korištenja različitih vrsta lijekova su vrlo česte, posebice kod kroničnih pacijenata s politerapijom. Međutim, ne pridaje se svim interakcijama jednaka važnost. Hrvatska ljekarnička komora ističe kako postoji pet stupnjeva klinički značajnih interakcija među lijekovima – A, B, C, D i X. Rastući niz od A do X praćen je rastućom važnosti odgovora na interakciju (Tablica 1.). Lijekovi s A i B stupnjem kliničke značajnosti uglavnom su znanstvenog značaja, a manje kliničkog. Lijekovi sa stupnjem kliničke značajnosti C, D i X uvijek zahtjevaju pažnju zdravstvenog radnika (45).

Stupanj kliničke značajnosti	Postupanje	Obrazloženje
A	Interakcija nije poznata	Podaci ne pokazuju niti farmakodinamsku niti farmakokinetsku interakciju između odabranih lijekova.
B	Nije potrebna intervencija pri liječenju	Podaci pokazuju da odabrani lijekovi mogu stupiti u interakciju. No, ima malo ili uopće nema dokaza o postojanju klinički značajne interakcije kao posljedice njihove istovremene uporabe.
C	Potrebno je pratiti bolesnika tijekom liječenja	Podaci pokazuju da odabrani lijekovi mogu stupiti u klinički značajnu interakciju. Korist istovremene primjene ovih lijekova najčešće je veća od rizika. Bolesnika je potrebno pratiti, kako bi se na vrijeme uočili mogući negativni učinci. Prilagodba doza jednog ili oba lijeka može biti potreba kod manjeg broja bolesnika.
	Razmisliti o prilagodbi terapije	Podaci pokazuju da dva lijeka mogu stupiti u klinički značajnu interakciju. Kod svakog bolesnika potrebno je procijeniti je li korist istovremene primjene veća od

D		rizika. Potrebno je provesti određene postupke kako bi se procijenila korist i minimalizirala toksičnost koja nastaje kao rezultat istovremene uporabe ovih lijekova. Spomenuti postupci uključuju pozorno praćenje bolesnika, prilagodbe doza i odabir alternativnih lijekova.
X	Izbjegavati kombinaciju	Podaci pokazuju da odabrani lijekovi mogu stupiti u klinički značajnu interakciju. Rizik povezan s istovremenom uporabom ovih lijekova u većini slučajeva je veći od koristi. Ovi lijekovi se uglavnom smatraju kontraindiciranima.

Tablica 1. Definicije rizika – stupnja kliničke značajnosti (45).

5.2.1. Interakcije velike kliničke značajnosti

Prema trenutno dostupnim podacima, 16 lijekova stupa u interakcije velike kliničke značajnosti s izoniazidom. Najčešće se radi o opasnom oštećenju jetre ili o povišenju slobodne koncentracije lijeka u krvi (46). Primjerice leflunomid, teriflunomid, halotan, rifampicin ili mipomersen mogu dovesti do teških oštećenja jetre posebice ukoliko se uzimaju istovremeno s izoniazidom. Moguće je i da se visoke koncentracije lijekova zadrže u krvi pa se interakcije i nuspojave jave u periodu nakon prestanka uzimanja lijeka (47). Primjena tuberkulostatika je kontraindicirana za vrijeme primjene BCG cjepiva kao što ni primjena BCG cjepiva za vrijeme tuberkulostatske terapije nije opravdana. Tuberkulostatici mogu antagonizirati antitumorske učinke BCG cjepiva (48). Istovremena primjena izoniazida i citaloprama, halofantrina, lomitapida, pimozida ili tiazinidina može dovesti do povećanja koncentracije navedenih lijekova u krvi te time do nastanka po život opasnih srčanih aritmija (46). Primjena izoniazida i klopidogrela može dovesti do smanjenja koncentracije klopidogrela čime se gubi njegov učinak u prevenciji srčanog ili moždanog udara (49).

5.2.2. Interakcije srednje kliničke značajnosti

Trenutno je poznato preko četiri stotine interakcija srednje kliničke značajnosti s izoniazidom. Većinom se radi o oštećenju jetre te povećanom ili smanjenom učinku samog lijeka o čemu je ranije već bilo govora. O svakoj primijećenoj nuspojavi bi se trebalo posavjetovati s liječnikom o mogućoj promjeni terapije (46).

6. ZAKLJUČCI

1. Tuberkuloza je bila i ostala jedna od najzaraznijih bolesti čovječanstva, bez obzira na znanstveni i tehnološki napredak u prevenciji i liječenju oboljelih.

2. U liječenju tuberkuloze najznačajniji su lijekovi prvog reda, izoniazid, rifampicin i etambutol, a od velikog značaja su i lijekovi drugog reda. Zbog razvoja rezistencije u budućnosti će biti sve veća potreba za novim lijekovima odnosno lijekovima trećeg reda.

3. S obzirom na strukturu izoniazida, biotransformacija ovoga lijeka odvija se reakcijama I. i II. faze metabolizma pod utjecajem karakterističnih enzimskih sustava. Međutim, prema dokazanim metabolitima, pronađenim u biološkom materijalu, očito veću važnost imaju reakcije II. faze.

4. Biotransformacija izoniazida započinje reakcijom acetilacije pri čemu nastaje N-acetilizoniazid. Nastali metabolit se nadalje reakcijama I. faze (hidroliza, oksidacija) i II. faze (konjugacija s glicinom), uz sudjelovanje odgovarajućih enzimskih sustava prevodi u konačne toksične i netoksične metabolite.

5. Toksični učinci izoniazida povezuju se s genetskim polimorfizmom enzima NAT2. I brzi i spori acetilatori imaju povećani rizik od toksičnosti.

6. Izoniazid ima antivitaminsko B_6 djelovanje što znači da onemogućava iskorištenje piridoksina. Kao posljedica toga može doći do pojave perifernog neuritisa. Simptomi nestaju nakon primjene piridoksina, ali preporučuje se i preventivna primjena vitamina B_6.

7. U liječenju tuberkuloze nužna je politerapija što povećava mogućnost nastanka neželjenih interakcija, ali smanjuje moguću pojavu rezistencije. Prema trenutno dostupnim podacima izoniazid stupa u 16 interakcija velike kliničke značajnosti i preko četiri stotine interakcija srednje kliničke značajnosti.

7. POPIS CITIRANE LITERATURE

1. Peroš-Golubičić T, Pavlović M. Tuberkuloza. U: Interna medicina. Vrhovac B i sur., četvrto promijenjeno i dopunjeno izdanje, Zagreb, Naklada Ljevak, 2008.

2. Golden MP, Vikram HR: Extrapulmonary tuberculosis: an overview. American family physician, 2005., svezak 72(broj 9): str. 1761.–1768.

3. World Health Organization. "Epidemiology", Global tuberculosis control: epidemiology, strategy, financing, 2009.

4. Becerra MC, Appleton SC, Franke MF, Chalco K, Arteaga F, Bayona J, Murray M, Atwood SS, Mitnick CD. Tuberculosis burden in households of patients with multidrug-resistant and extensively drug-resistant tuberculosis: A retrospective cohort study. Lancet. 2011;377(9760):147–152.

5. http://hr.wikipedia.org/wiki/Robert_Koch, pristupljeno 6.9.2016.

6. Daniel T: The impact of tuberculosis on civilization". Infect Dis Clin N Am (PDF). Karger. Basel:2004;18(1):157–165.

7. Chalke HD: Some historical aspects of tuberculosis. Public Health. 74 1959;(3):83–95.

8. Rothman M, Sheila M: Living in the Shadow of Death: Tuberculosis and the Social Experience of Illness in American History. 1994.

9. http://en.wikipedia.org/wiki/History_of_tuberculosis, pristupljeno 06.09.2016.

10. Zenner D, Kruijshaar ME, Andrews N, and Abubakar I, "Risk of tuberculosis in pregnancy: a national, primary care-based cohort and self-controlled case series study," Am J Respir Crit Care Med. 2012;185(7):779-784.

11. Janma N, Barik S, Arora N, and Singh AK, "Tuberculosis in pregnancy: the challenges for South Asian countries," J Obstet Gynaecol Res. 2012;38(9):125-1136.

12. Gupta A, Chandrasekhar A, Gupte N et al., "Symptom screening among HIV-infected pregnant women is acceptable and has high negative predictive value for active tuberculosis," Clin Infect Dis. 2011;53(10):1015-1018.

13. Hoffmann CJ, Variava E, Rakgokong M et al., "High prevalence of pulmonary tuberculosis but low sensitivity of symptom screening among HIV-infected pregnant women in South Africa," PLoS ONE. 2013;8(4):2211.

14. World Health Organization. Antituberculosis drug resistance in the world. The WHO/IUATLD global project on anti-tuberculosis drug resistance surveillance WHO. Geneva. 2008;1-120.

15. Jurčev-Savičević A, Mulić R, Ban B, Kožul K, Bacun-Ivček Lj, Valić J, Popijač-Cesar G, Marinović-Dunatov S, Gotovac M, Šimunović A. „Risk factor for pulmonary tuberculosis in Croatia: a matched case-control study“ BMC Public Health. 2013;13:991.

16. http://www.tbalert.org/about-tb/statistics-a-targets/global-stats-and-targets/, pristupljeno 06.09.2016.

17. Chambers FH, Deck DH. Lijekovi koji djeluju protiv mikobakterija. U:Temeljna i klinička farmakologija. 11. izdanje. Katzung GB i sur., Zagreb, Medicinska naklada, 2011, str. 823-833.

18. Francetić I, i sur: Farmakoterapijski priručnik, šesto izdanje, Zagreb, Medicinska naklada, 2010. str 398-401.

19. ACD/ChemSketch 2015, pristupljeno 20.4.2016.

20. http://www.flickr.com/photos/niaid/5102295729/in/photostream/, pristupljeno 06.09.2016.

21. Bencarić L. Registar lijekova u Hrvatskoj 2016. Zagreb:2016.

22. Rendić S, Medić-Šarić M. Metabolizam lijekova i odabranih ksenobiotika. Zagreb: Medicinska naklada. 2013

23. ACD/ChemSketch 2015, pristupljeno 7.9.2016.

24. ACD/ChemSketch 2015, pristupljeno 1.5.2016.

25. ACD/ChemSketch 2015, pristupljeno 27.4.2016.

26. ACD/ChemSketch 2015, pristupljeno 21.4.2016.

27. ACD/ChemSketch 2015, pristupljeno 23.4.2016.

28. Medić-Šarić M, Buhač I, Bradamante V. Vitamini i minerali istine i predrasude. Zagreb: Hoffmann F. – La Roche. 2000.

29. Medić-Šarić M. Seminar trajne edukacije, Interakcije lijekova. Zagreb: Farmaceutsko-biokemijski fakultet Sveučilišta u Zagrebu; 1999.

30. Vrhovac B, Simić D. Libelli Medici Interakcije lijekova: Volumen IV: Zagreb. 1980.

31. Young SL, Kim EJ, Kim A, Lee HJ, Choi HJ, Jang SJ. Nutritional Factors Affecting Mental Health. Clin Nutr Res. 2016.Jul;5(3):143-152.

32. Graedon J, Graedon T. Deadly Drug Interactions The People's Pharmacy Guide: St. Martin's Griffin, New York: May 1997.

33. Beltrame FL, Sasso-Cerri E. Vitamine B12-induced spermatogenesis recovery in cimetidine treated rats: effect on the spermatogonia number and sperm concentration. Sao Paulo State University, Brazil.August 2016.

34. Zhang SL, Chen TS, Ma CY, Meng YB, Zhang YF, Chen YW, Zhou YH. Effect of Vitamin B supplementation on cancer incidence, death due to cancer, and total mortality. Medicine(Baltimore). 2016.Aug;95(31):3485.

35. Rang HP, Dale MM, Ritter JM, Moore PK. PHARMACOLOGY, International edition, 7th edition, Churchill Livingstone, London, 2012.

36. ACD/ChemSketch 2015, pristupljeno 6.9.2016.

37. Grover S, Kukreti R.:HLA alleles and hypersensitivity to carbamazepine: an updated systematic review with meta-analysis;Pharmacogenet Genomics.2013.Dec;11.

38. Singh NA, Khan M, Vijayalakshmi KR, Subhas GT, Nataraju B, Anitha M.:A study on gingival enlargement and folic acid levels in phenytoin-treated epileptic patients: Testing hypotheses.;Surg Neurol Int. 2013.Oct;3;4:133.

39. Hong YM, Yoon KT, Heo J, Woo HY, Lim W, An DS, Han JH, Cho M. The Prescription Pattern of Acetaminophen and Non-Steroidal Anti-Inflammatory Drugs in Patients with Liver Cirrhosis. J Korean Med Sci. 2016.Oct;31(10):1604-1610.

40. Epstein MM, Nelson SD, Slattery JT, Kalhom TF, Wall RA, Wright JM. Inhibition of the metabolism of paracetamol by isoniazid. Br J Clin Pharmacol. 1991.Feb;31(2):139–142.

41. Niemi M, Backman JT, Fromm MF, Neuvonen PJ, Kivisto KT. Pharmacocinetic Interactions with Rifampicin. Clin Pharmacokinet 2003.42:819.

42. Comas I, Gagneux S. The Past and Future of Tuberculosis Research. PloS Pathog. 2009.Oct;5(10):e1000600.

43. http://www.halmed.hr/upl/lijekovi/SPC/UP-I-530-09-05-02-795.pdf, pristupljeno 19.9.2016.

44. Palmer AL, Leykam VL, Larkin A, Kreuger SK, Phillips IR, Shephard EA, Williams DE. Metabolism and Pharmacokinetics of the Anti-tuberculosis Drug Ethionamide in a Flavin-Containing Monooxygenase Null Mouse. Pharmaceuticals 2012 Nov;5(11):1147-1159.

45. http://www.interakcije.com/usdocs/Lexi-letak-uputstva-15-05-2012-final.pdf, pristupljeno 9.9.2016.

46. https://www.drugs.com/drug-interactions/isoniazid-index.html?filter=3&generic_only=, pristupljeno 10.9.2016.

47. https://www.drugs.com/drug-interactions/arava-with-isoniazid-1440-852-1393-0.html, pristupljeno 10.9.2016.

48. https://www.drugs.com/drug-interactions/bcg-with-isoniazid-324-0-1393-0.html?professional=1, pristupljeno 10.9.2016.

49. https://www.drugs.com/drug-interactions/clopidogrel-with-isoniazid-705-0-1393-0.html, pristupljeno 10.9.2016.

8. SAŽETAK

Cilj istraživanja: Cilj istraživanja je najvažniji tuberkulostatik prvog reda, izoniazd (INH). Kao lijek koji je neophodan u liječenju tuberkuloze vrlo je važno proučiti putove njegovog metabolizma i toksičnosti te moguće interakcije u koje stupa s drugim lijekovima.

Materijali i metode: S obzirom na strukturu INH, biotransformacija se odvija reakcijama I. i II. faze metabolizma pod utjecajem karakterističnih enzima. Međutim, prema dokazanim metabolitima veću važnost imaju reakcije II. faze. Biotransformacija se odvija reakcijama acetilacije, a nastali metaboliti podliježu reakciji hidrolize te konjugacije s glicinom što predstavlja reakciju detoksikacije. Za toksičnost INH odgovorne su reakcije oksidacije nastalih metabolita.

Rezultati: Metabolizam INH započinje reakcijom acetilacije pod utjecajem enzima NAT2 pri čemu nastaje N-acetilizoniazid koji se djelovanjem enzima CES hidrolizira u acetilhidrazin i izonikotinsku kiselinu. Oksidacijom acetilhidrazina nastaju reaktivni intermedijeri koji povećavaju rizik hepatotoksičnosti. Acetilhidrazin se acetilacijom može prevesti u diacetilhidrazin što predstavlja reakciju detoksikacije. Izonikotinska kiselina ulazi u reakcije konjugacije s glicinom te se izlučuje u obliku netoksične izonikotinurne kiseline. Toksični učinci INH povezuju se s genetskim polimorfizmom enzima NAT2. I brzi i spori acetilatori imaju povećani rizik od toksičnosti. INH ima antivitaminsko B_6 djelovanje čime onemogućava iskorištenje piridoksina, te može doći do perifernog neuritisa. U liječenju tuberkuloze (TBC) nužna je politerapija što povećava mogućnost nastanka neželjenih interakcija.

Zaključci: TBC je bila i ostala jedna od najzaraznijih bolesti čovječanstva, bez obzira na znanstveni i tehnološki napredak u prevenciji i liječenju. Acetilacija je najznačajnija reakcija u biotransformaciji INH, a nastali metaboliti podliježu reakcijama hidrolize i konjugacije s glicinom. Očekuju se otkrića učinkovitijih antituberkulotika s kraćim režimom terapije, novim mehanizmom djelovanja i boljom farmakokinetikom.

9. SUMMARY

Diploma Thesis Title: Isoniazid – Metabolism, toxicity and interactions.

Objectives: Diploma Thesis objective is one of the most important first line tuberculostatic drug, isoniazid. As a drug which is necessary in the treatment of tuberculosis, it is very important to study the pathways of its metabolism, toxicity and drug interactions.

Material and Methods: Considering the structure of INH, biotransformation occurs phase I and II metabolism reactions, under the influence of characteristic enzymes. However, according to proven metabolites more important are the phase II metabolism reactions. Biotransformation occurs reactions of acetylation, hydrolysis and conjugation with glycine that is a reaction of detoxification. Oxidation reactions are responsible for INH toxicity.

Results: INH metabolism begins with the reaction of acetylation by enzyme NAT to provide a N-acetylisoniazid which is hydrolyzed by enzymes CES and appears acetylhydrazine and isonicotinic acid. Oxidation of acetyhydrazine produces reactive intermediates that increase the risk of hepatotoxicity. Acetylation of acetylhydrazine produces diacetylhydrazine which is a detoxification reaction. Glycine conjugate of nicotinic acid is nicotinuric acid which is not toxic. Toxic effects of INH are associated with genetic polymorphism of enzyme NAT2. Both fast and slow acetylators, are at increased risk of toxicity. INH has the effect of anti-B_6 which prevents the utilization of pyridoxine and may cause peripheral neuritis. In the treatment of TBC, polytherapy is necessary which increases the possibility of adverse drug interactions.

Conclusion: TBC was and still is one of the most spreaded diseases of mankind, regardless of the scientific and technological advances in prevention and treatment. Acetylation is the most important reaction that occurs during biotransformation and the created metabolytes suffer give in to the reactions of hydrolysis and conjugation with glycine. It is expected that the future will bring more effective anti-tuberculosis drugs which will decrease treatment length, with new mechanism of action and improved pharmacokinetics.

10. ŽIVOTOPIS

OSOBNI PODACI

Ime i prezime: Damir Međeši

Datum i mjesto rođenja: 9. studenog 1991. godine, Đakovo, Republika Hrvatska

Adresa: 204. vukovarske brigade 98, 32 000 Vukovar

Mobitel: +385996853492

Elektronička pošta: medjesi@hotmail.com

Državljanstvo: Republike Hrvatske

OBRAZOVANJE

2011. – 2016. Kemijsko-tehnološki fakultet Sveučilišta u Splitu i Medicinski fakultet Sveučilišta u Splitu, Integrirani preddiplomski i diplomski studij Farmacija

2006. – 2010. Medicinska škola Osijek, smjer Farmaceutski tehničar

1998. – 2006. Osnovna škola Dragutina Tadijanovića Vukovar

RADNO ISKUSTVO

3. 2016. – 9. 2016. Stručno osposobljavanje u Ljekarnama Splitsko-dalmatinske županije, Ljekarna Dobri

2014. – 2016. Studentski poslovi u Studentskom centru Split

POSEBNE VJEŠTINE

Rad na računalu: Aktivno i svakodnevno korištenje MS Office paketa, Eskulap 2000

Strani jezik: Engleski jezik – aktivno u govoru i pismu

Vozačka dozvola: B kategorija

ČLANSTVO

CPSA Split (Udruga studenata farmacije i medicinske biokemije Hrvatske)