Modulatori glutamatnog sustava kao antidepresivi s brzim učinkom

Brkljačić, Davor

Master's thesis / Diplomski rad

2018

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

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:163:228430

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

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

Repository / Repozitorij:

Repository of Faculty of Pharmacy and Biochemistry University of Zagreb

Davor Brkljačić

Modulatori glutamatnog sustava kao antidepresivi s brzim učinkom

DIPLOMSKI RAD

Predan Sveučilištu u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskom fakultetu

Zagreb, godina 2018.

Ovaj rad prijavljen je na predmetu Farmakologija Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta i izrađen u Zavodu za farmakologiju pod stručnim vodstvom izv.prof.dr.sc. Lidije Bach-Rojecky.

Veliku zahvalnost dugujem svojoj mentorici izv.prof.dr.sc. Lidiji Bach-Rojecky koja mi je uvijek bila na raspolaganju i pomagala svojim savjetima i stručnim znanjem.
Također se zahvaljujem i svojim kolegama s faksa Hrvoju Boiću i Juri Borasu koji su u meni probudili ideju za izradom ovog diplomskog rada.

Sadržaj

1. UVOD 1

1.1. Prevalencija depresije i druge posljedice 1

1.2. Nastanak bolesti 2

1.3. Mehanizam nastanka bolesti 3

1.4. Aktualni antidepresivi na tržištu i potreba za novim lijekovima 5

1.5. Stari lijekovi u novim potencijalnim indikacijacijama za liječenje depresije i otkriće novih meta 8

2.OBRAZLOŽENJE TEME 10

3.MATERIJALI I METODE 11

4.REZULTATI I RASPRAVA 12

4.1. Ionotropni glutamatni receptori (iGluR) i potencijalni lijekovi koji preko njih djeluju 12

4.1.1. Ketamin 13

4.1.1.1. Mehanizam djelovanja ketamina kao podloga za nastanak novih lijekova 14

4.1.1.2. Klinička istraživanja ketamina 18

4.1.1.3. Alternativni načini primjene ketamina 20

4.1.1.4. Sigurnosni profil i podnošljivost 22

4.1.1.5. Klinički status ketamina 22

4.1.2. Dekstrometorfan 23

4.1.3. Traksoprodil (CP-101,606) 25

4.1.4. Rislenemdaz (CERC-301; MK-0657) 26

4.1.5. Rapastinel (GLYX-13) i analozi 27

4.1.5.1. Otkriće rapastinela 27

4.1.5.2. Pretklinička istraživanja 28

4.1.5.3. Mehanizam djelovanja 29

4.1.5.4. Klinički status rapastinela 31

4.1.5.5. Nedostaci rapastinela i njegovi analozi 31
4.1.6. 4-klorokinurenin (AV-101) 32
4.2. Metabotropni glutamatni receptori (mGluR) i potencijalni lijekovi koji preko njih djeluju 34
5. ZAKLJUČAK 36
6. LITERATURA 38
7. SAŽETAK/SUMMARY 43
8. TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA/BASIC DOCUMENTATION CARD

1. Uvod

Depresija je, po definiciji Svjetske zdravstvene organizacije (engl., World Health Organisation,), poremećaj raspoloženja karakteriziran specifičnim simptomima poput tuge, gubitka interesa, osjećaja krivnje, anhedonije (izostanka zadovoljstva), niskog samopouzdanja, poremećaja sna, neprestanog osjećaja umora i slabe koncentracije. Osobe koje boluju od depresije opisuju različite jakosti simptoma poput beznađa i bespomoćnosti, nesanice, nedostatka koncentracije, gubitka apetita, gubitka interesa u ono što ih je nekoć jako zanimalo, osjećaja krivice i tuge, a k tome se mogu pridružiti i suicidalne misli. Depresija može biti akutna ili kronična, a potonja često rezultira priličnom nemogućnošću funkcioniranja u svakodnevici.

Depresija zahvaća cjelokupnu populaciju, neovisno o njihovoj rasi, dobi, spolu ili entičkoj pripadnosti, a otvara vrata širokom spektru drugih bolesti. Nastajanje nekih tipova depresije poput distimije ili velikog depresivnog poremećaja više se pripisuje genetskim i biološkim čimbenicima, dok se druge poput manjih depresivnih epizoda ili više pripisuju određenim negativnim životnim događajima.

Veliki depresivni poremećaj (engl., major depressive disorder, MDD), najistraživaniji je oblik depresije, a može se definirati kao prisustvo jedne ili više velikih depresivnih epizoda u trajanju od najmanje dva tjedna (prisutnost depresivnog raspoloženja ili gubitak interesa), sa 4 pridružena simptoma depresije (gubitak apetita, nesanica, umanjena psihomotorna aktivnost, osjećaj krivnje i bezvrijednosti, otežano razmišljanje, smanjena koncentracija, suicidalne misli te planovi i pokušaji samoubojstva.(Jesusola i sur., 2017)

1.1. Prevalencija depresije i druge posljedice

Više od 350 milijuna ljudi globalno pati od posljedica depresije. "The World Mental Health" istraživanje u 17 zemalja je pokazalo kako je svaki sedamnaesti čovjek u svijetu prijavio barem jednu depresivnu epizodu u 2016. godini. Smatra se kako čak 4,7 % svjetske populacije pati od neke vrste depresije. Depresija nastaje najčešće u adolescencijskoj dobi, a u prosjeku zahvaća više žene nego muškarce, s najvećom prevalencijom kod žena nakon poroda (10 - 20%). (Jesusola i sur., 2017)

Nadalje, depresija kao bolest ujedno je i veliki financijski problem. Primarna nemogućnost rada zbog depresivnih epizoda u kombinaciji sa sekundarnim oboljenjima koje depresija povlači, čine depresiju jednom od najskupljih bolesti u svijetu. Smatra se da je u Sjedinjenim američkim državama (SAD) depresija 2000. godine odnijela 83,1 milijardu dolara; 26,1 milijardu dolara (31%) direktno su povezane s troškovima liječenja, 5,4 milijarde dolara (7%) zbog samoubojstava te 51,5 milijardi dolara (62%) zbog smanjene produktivnosti na poslu i izostanaka s posla.(Dean i Keshavan, 2017) WHO procjenjuje kako će depresija koštati svjetsku ekonomiju 16 bilijuna dolara u idućih 20 godina. Da stvar bude gora, depresija ima tendenciju rasta, tako da će biti druga najskuplja bolest za liječenje do 2020. godine.(Jesusola i sur., 2017)

Depresija je puno ozbiljnija bolest nego što se čini, ne samo radi rizika od samoubojstva, nego i radi rizika od razvoja niza sekundarnih oboljenja. Depresija povećava rizik od nastanka kardiovaskularnih poremećaja za 1,5 do 2 puta, od srčanog udara za 1,8 puta, 2,1 puta za nastanak Alzheimerove bolesti, za rak 1,5 puta, za epilepsiju čak za 4 do 6 puta, dok je rizik od razvoja šećerne bolesti kod oboljelih od depresije veći za čak 60% !(Lang i Borgwardt, 2013)

1.2. Nastanak bolesti

Depresija je heterogeni sindrom s vrlo kompleksnom patofiziologijom, te je bolest koja se ne može opisati na jednostavan način jednim mehanizmom. Postojeća znanstvena otkrića daju do znanja kako različiti stanični, neurokemijski i neuroendokrini mehanizmi doprinose patofiziologiji depresije. Također, postoje jasne indikacije kako dolazi do neuroanatomskih promjena, pogotovo u prefrontalnom korteksu (PFC), te amigdali i hipokampusu.

Razvoj ljudskog mozga je dinamički proces koji započinje u prenatalnom periodu između trećeg i četvrtog tjedna gestacije. To je dug proces koji seže u odraslu dob. Ako dođe do određenog poremećaja ili traume u tom razdoblju, iz toga se kasnije može razviti neuropsihijatrijski poremećaj. Smatra se da postoje tri kritična razvoja u patogenezi depresivnog sindroma, prenatalni period, rano djetinjstvo i adolescencija. Smetnje razvoja u fetalnom periodu, niska porođajna masa i traume u ranom djetinjstvu veliki su faktori rizika razvoja depresije. Adolescencija je ključan period u razvoju središnjeg živčanog sustava,

trauma ili velike hormonalne promjene u ovom razdoblju života također mogu uvelike doprinijeti razvoju depresije.

U nekoliko studija pokazano je kako je depresija bolest s velikim afinitetom nasljeđivanja. Smatra se da će osoba naslijediti depresiju od svojih roditelja u čak 50% slučajeva. Drugih 50% su okolišni faktori. Tokom prenatalnog razvoja postoji velik rizik kasnijeg razvoja depresije ukoliko majka ima infekcije, ne hrani se dobro, pod stresom je i konzumira alkohol ili opijate. Traume u djetinjsvu, poput gubitka roditelja ili loših uvjeta odrastanja također mogu biti okidač depresije. Naposlijetku, pokretač depresije mogu biti i stres i teški psihosocijalni događaji u adolescenciji. U skladu s istraživanjima, doima se kako svaki od okolišnih stresora može prouzročiti promjene u ekspresijigena uključenih u regulaciju raspoloženja i prilagodbu na stres.

Genska ekspresija može biti promijenjena i epigenetskim mehanizmima. Postoji sve više dokaza iz literature o ulozi epigenetskih faktora, smatrajući ih odgovornima za važne promjene u određenim dijelovima mozga (hipotalamus, hipokampus, prefrontalni korteks i amigdala), promjene u sustavima (neuroendokrini), ponašanju (depresija i anksioznost) te kogniciji (učenje i pamćenje). Do epigenetskih promjena može doći uslijed stresa, socijalne deprivacije ili neadekvatne prehrane, a to za posljedicu ostavlja promjene u sinaptičkim krugovima i normalnoj funkciji neurona. U istraživanjima je primijećeno kako dolazi do metilacije DNA na *BDNF* genu (engl., brain derived neurotrophic factor) uslijed stresnog prenatalnog okruženja. Također, dolazi do hipometilacije gena za monoaminooksidazu A *(MAOA*). Zbog hipometilacije, gen za MAOA je aktivniji, dolazi do veće količine MAOA koja ubrzano razgrađuje monoamine. Nedostatak monoamina u sinapsama neurona je jedna od patofizioloških karakteristika depresije.(Lima-Ojeda i sur., 2017)

1.3. Mehanizam nastanka bolesti

Hipotalamično-hipofizno-adrenalna (engl., hypothalamic-pituitary-adrenal, HPA) os ima presudnu ulogu u održavanju homeostaze kao odgovoru na stres. Disfunkcija HPA osi je dovoljna da bi se prouzročio disbalans u koncetraciji i omjeru neurotransimitora, a to izaziva zdravstvene probleme poput depresije. Do disfunkcije HPA osi najvjerojatnije dolazi uslijed neadekvatnog imunog odgovora u regijama mozga u neka od tri kritična razdoblja nastanka depresije (navedeno prije). To uzrokuje povećano stvaranje proupalnih citokina i

prostaglandina, koji u kroničnom imunom odgovoru mogu inducirati promjene u HPA osi i simptome depresije. Pretjerano aktivna HPA os zatim dovodi do povećanog stvaranja citokina poput interleukina IL-10β i faktora tumorske nekroze (TNF-α), te ono što je u ovome slučaju bitnije, do lučenja velike količine kortizola. Zanimljivo je kako je baš kod depresivnih osoba značajno povećana njegova koncentracija.(Lima-Ojeda i sur., 2017). Kortizol i glukokortikoidi snažno utječu na neurotransmitorski sustav, i to izravno i posredno. Izravnim utjecajem dolazi do rapidnog oslobađanja glutamata u hipokampusu, a posredno preko endokanabinoidnog sustava stimulira stvaranje endokanabinoda u mozgu. Endokanabinoidi se zatim vežu za CB1 receptore preko kojih rade promjene u lučenju neurotransmitora, prvenstveno u glutamatnom i adrenalnom, ali i serotoninskom, acetilkolinskom i GABA sustavu. (Popoli i sur., 2011)

Uslijed povećane koncentracije glutamata dolazi do glutamatne hiperfunkcije, što se poklapa s hipotezom glutamatne hiperfunkcije u poremećajima raspoloženja, koju moramo razlikovati od glutamatne hipofunkcije kod oboljelih od shizofrenije. Iako je hipoteza još nedovoljno istražena, smatra se kako ta povećana količina novooslobođenog glutamata može "otupiti" NMDA receptore (N-metil-D-aspartat) koje inače glutamat aktivira. To posredno dovodi do inhibicije ekscitatornih piramidalnih neurona u prefrontalnom korteksu sisavaca, koji je pretežno zadužen za kritično razmišljanje. Vjeruje se i kako taj proces onemogućuje aktivaciju glutamatnih AMPA receptora (α-amino-3-hidroksi-5-metil-4-izoksazolpropionska kiselina), za koje je više istraživanja pokazalo kako je njihova aktivacija vjerojatno ključna za plastičnost mozga.(Machado-Vieira i sur., 2015) Aktiviranje AMPA receptora vodi do složenih promjena u sinaptičkoj plastičnosti, pretežno u prefrontalnom korteksu, što dovodi do poboljšanog učenja i pamćenja. Pokazano je da nakon samo 24 sata postoje značajne promjene u izgradnji trnova na dendritima. (Moskal i sur., 2017)

Kako poremećaj u glutamatnoj koncentraciji i osjetljivosti NMDA receptora onemogućuje odgovarajuću aktivaciju AMPA receptora, posljedično se ne luči ni faktor rasta moždanog porijekla (engl., brain derived neurotrophic factor, BDNF). BDNF ima vrlo važnu ulogu u izgradnji neuronskih putova. Također, pokazano je kako ljudi s depresivnim poremećajima imaju smanjenu koncentraciju BDNF-a. Smatra se kako BDNF utječe na „izgradnju“ mozga preko aktivacije mTOR kinaze (engl., mammalian target of rapamycin), serin/treonin kinaze koja regulira stanični metabolizam, rast i preživljavanje, kao i sintezu proteina i transkripciju. Nadalje, pokazano je kako i u ovom slučaju depresivni pacijenti imaju smanjenu fosforilaciju (aktivnost) mTOR kinaze, prvenstveno u prefrontalnom korteksu. Upravo ova kinaza je

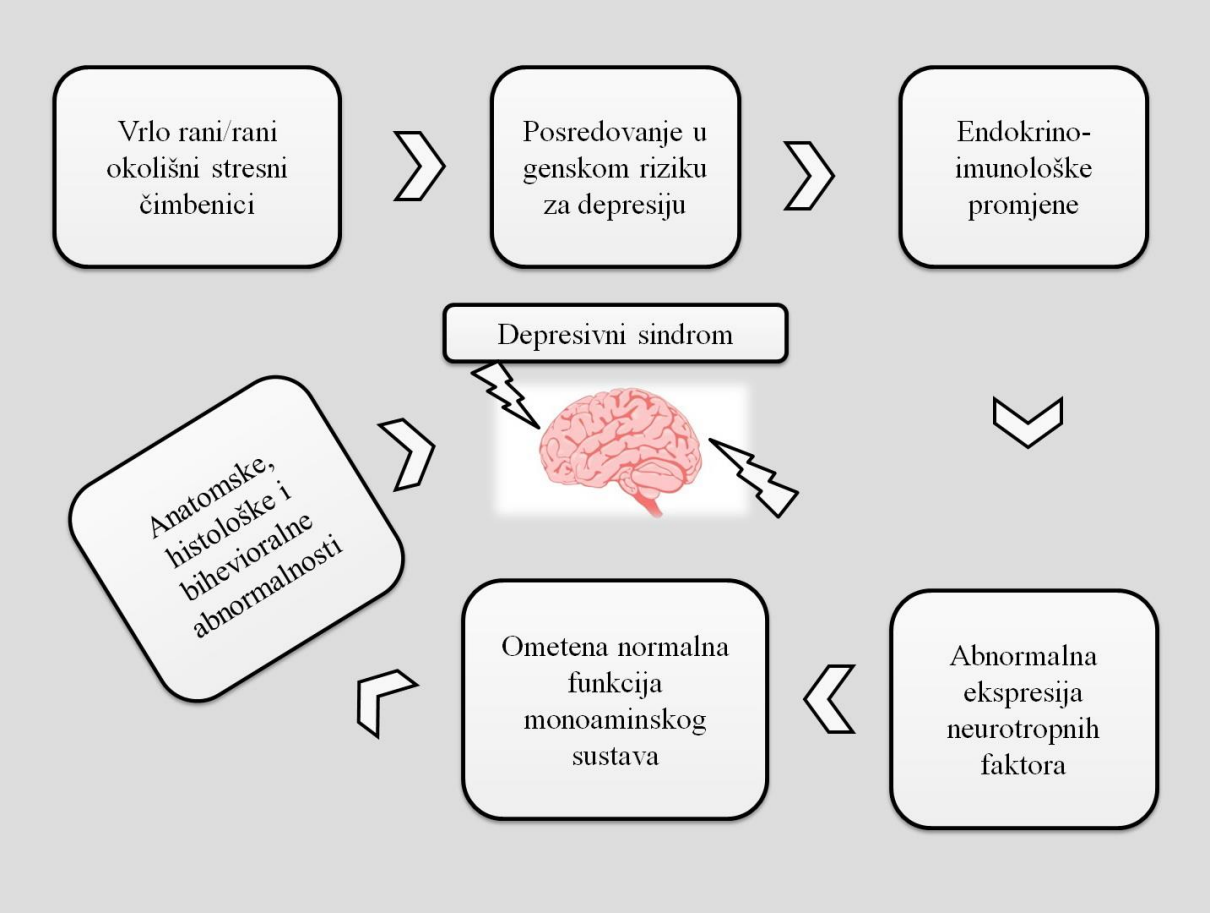
zadužena za ponovnu izgradnju gore već spomenutih dendritičnih trnova.(Machado-Vieira i sur., 2015)

Sve gore navedeno utječe i na koncentraciju monoamina, noradrenalina, serotonina i dopamina. Noradrenalin modulira funckiju prefrontalnog korteksa, radnu memoriju i regulira pažnju i ponašanje. Serotonin je neurotransmitor koji povezuje funckije najviše dijelova mozga, a zadužen je za raspoloženje, dok dopamin modulira funckije za nagradu i motivaciju te pažnju. Zapaženo je kako serotonin ima ulogu u fetalnom živčanom sustavu kao neurorazvojni signalizator. Serotonin ima ulogu u formaciji sinapse, konstrukciji sinaptičkih mreža, te u međusobnom povezivanju stanica. Poremećaj koncentracije serotonina može imati za posljedicu morfološke i bihevioralne promjene. Dopamin regulira neuronalnu proliferaciju i migraciju, rast dendrita i aksona i sinaptogenezu. Treba napomenuti kako dopaminski sustav najviše dozrijeva u adolescenciji. Studije sugeriraju da tijekom adolescencije u depresivnih pacijenata dolazi do blokade enzima koji razgrađuje monoamine, monoaminooksidaze A (MAO-A), što posljedično ometa metabolizam serotonina, dopamina i noradrenalina.(Lima-Ojeda i sur., 2017)

Prethodno opisani mehanizmisažeto su prikazani na Slici 1.

1.4. Aktualni antidepresivi na tržištu i potreba za novim lijekovima

Trenutačno na tržištu postoji velik broj antidepresiva različitih mehanizama djelovanja. Prvi antidepresivi na tržištu, inhibitori MAO-A danas se izbjegavaju u prvoj liniji liječenja te se gotovo više ne koriste. Oni inhibiraju enzim koji razgrađuje monoamine, čime dolazi do njihove povećane koncentracije te samim time i povećane neurotransmisije. Dijelimo ih na dvije podskupine, ireverzibilne, poput izokarboksazida, fenelzina i tranilcipromina, te reverzibilne poput moklobemida. Obje skupine inhibitora se danas koriste isključivo ako prve dvije linije liječenja zakažu, ponajprije zbog loše podnošljivosti i sigurnosnog profila. Ireverzibilni MAO-A inhibitori imaju velik potencijal za predoziranje, za razliku od reverzbilnih. Nuspojave ovih lijekova vrlo su ozbiljne. MAO-A inhibitori vrlo lako mogu izazvati serotoninski sindrom, što može imati fatalni ishod (javljaju se simptomi poput visoke tjelesne temperature, pojačanih refleksa, tremora, znojenja,midrijaze, proljeva, a komplikacije uključuju epileptične napadaje i rabdomiolizu). Nadalje, bolesnici koji primjenjuju MAO-A



Slika 1:Uslijed stresnih okolišnih čimbenika dolazi do posredovanja u aktivaciji gena vezanih za nastanak depresije. To uzrokuje imunosne promjene, poput povećane koncentracije citokina koji mogu poremetiti normalno funkcioniranje hipotalamično hipofizno adrenalne osi (HPA). To dalje remeti ekspresiju neurotropnih faktora, poput BDNF-a (engl., brain derived neurotrophic factor), najvjerojatnije preko neodgovarajućeg funkcioniranja glutamatnih NMDA (N-metil-D-aspartat) i AMPA (α-amino-3-hidroksi-5-metil-4-izoksazolepropionskakiselina) receptora. Zbog nedostatka BDNF propadaju dendritični trnovi, a primjećuje se i poremećaj u radu monoaminskog neurotransmitorskog sustava. Naposlijetku se mogu zapaziti i anatomske i histološke abnormalnosti i promjene u ponašanju te se može dijagnosticirati depresivni sindrom. (Lima-Ojeda i sur., 2017)

inhibitore, ne smiju konzumirati hranu bogatu tiraminom, poput sira. MAO-A inhbitori sprječavaju razgradnju viška tiramina zbog čega može doći do naglog povišenja krvnog tlaka, odnosno do potencijalno fatalne hipertenzivne krize.

Zbog svih gore navedenih nuspojava, primjena MAO inhibitora kao antidepresiva je danas svedena na minimum.

Triciklički antidepresivi (TCA), poput amitriptilina, nortriptilina ili dezipramina došli su na tržište nakon MAO-A inhibitora. Srodni ovoj skupini su i tetraciklički antidepresivi poput mirtazapina. TCA su prilično neselektivni, zbog čega imaju dosta nuspojava. Svoje djelovanje ostvaruju prvenstveno preko blokade serotoninskog transportera (engl, serotonin reuptake transporter, SERT) i noradrenalinskog transportera (engl., noradrenaline transporter, NET) i time povećavaju neurotransmisiju. Zanimljivo je da ova skupina lijekova ne blokira dopaminski transporter (engl., dopamine transporter, DAT). Dosta nuspojava mogu se pridružiti antimuskarinskim svojstvima TCA, poput suhih usta, nosa, zamućenog vida, konstipacije, urinarne retencije, kao i anksioznosti, zbunjenosti, vrtoglavice, promjene apetita i težine, mučnine te seksualne disfunkcije. Neki TCA, poput imipramina, amitriptilina i nortriptilina su i vrlo toksični uslijed predoziranja. Mnogo od gore navedenih nuspojava može se pripisati neselektivnosti ovih lijekova, zbog čega su ih nakon nekog vremena istisnuli novi, moderniji lijekovi selektivnijeg mehanizma, poput inhibitora ponovne pohrane serotonina (engl., selective serotonine reuptake inhibitors, SSRI) te inhibitora ponovne pohrane serotonina i noradrenalina (engl., serotonine and noradrenaline reuptake inhibitors, SNRI).

SSRI su stigli na tržište 1987. godine, prvo fluoksetin, a zatim i sertralin, citalopram, paroksetin i escitalopram. Oni djeluju tako da inhibiraju ponovnu pohranu serotonina s minimalnim ujtecajima na druge neurotransmitore i receptore, na noradrenalin imaju čak do 1500 puta manji učinak te nemaju govoto nikakav afinitet za adrenergične, muskarinske, histaminske i dopaminske receptore. SNRI, poput venlafaksina, inhibiraju i ponovni povrat noradrenalina. Nuspojave ovih lijekova mogu biti već opisani serotoninski sindrom, povećan rizik od frakture kostiju za oko 1,7 puta, zatim gastrointestinalno krvarenje čiji se rizik povećava u kombinaciji s antikoagulansima poput varfarina i antiagregacijskim lijekovima poput acetilsalicilne kiseline, te smanjeni libido, anorgazmija i erektilna disfunkcija. Zbog potonje nuspojave ovi lijekovi nisu omiljeni, pogotovo među mlađom populacijom muškaraca, za koje je pokazan najveći stupanj neadherencije i prekida terapije.

Jedan od najnovijih antidepresiva na tržištu je vortioksetin. Inhibira serotoninske, dopaminske i noradrenalinske transportere, s nešto većim afinitetom za SERT. Zbog dodatnih afiniteta vezanja za različite serotoninske receptore, od kojih neka aktivira, a druge blokira, smatra se da ima multimodalno djelovanje. Nuspojave su usporedive sa SSRI, ali je učestalost seksualne disfunkcije značajno smanjena. Postoji i rizik za debljanje, ali je znatno manji u usporedbi s TCA. Vortioksetin se smatra najučinkovitijim lijekom za liječenje kliničke

depresije.(Hillhouse i Porter, 2015;Carvalho i sur., 2016;Bleakley, 2013;Santarsieri i Schwartz, 2015)

1.5. Stari lijekovi u novim potencijalnim indikacijacijama za liječenje depresije i otkriće novih meta

Razvojem molekularne biologije polako su se otkrivalireceptori, specifične postreceptorske signalizacijske kaskade koje bi mogle bolje objasniti mehanizam nastanka depresije nego dosadašnjeteorije koje su bile fokusirane na nedostatak monoamina su sinapsama. Donedavno najpoznatija teorija, teorija poremećaja monoaminske ravnoteže, pomalo postaje sve manje važna iz jednostavnog razloga: poremećaju ravnoteže monoamina vjerojatno prethodi niz drugih poremećaja u živčanom sustavu.

Danas aktualnija glutamatna teorija, ima temelje još iz davne 1956. godine, kada su kemičari u *Parke Davis Company* sintetizirali fenilciklidin. Istraživanjem fenilciklidina pokazalo se da ima anestetička svojstva, ali i niz ozbiljnih nuspojava, poput osjećaja inteznivne opijenosti, delirija i katalepsije (mišićne rigidnosti). Naposlijetku je proglašen nepoželjnim za ljudsku uporabu i odbačen. (Li i Vlisides, 2016)

Kemičari su nastavili sa sintezama cijelog niza spojeva koji su trebali biti kratkog djelovanja i izazivati manje nuspojava. Iz tih spojeva izdvojen je ketamin. Dobra anestetička svojstva u kombinaciji s analgezijom i sedacijom učinili su ga poželjnim anestetikom. Ketamin ne izazava respiratornu depresiju kao dotadašnji anestetici, dapače, stimulira refleks disanja. Iako je na granici između subanestetičke i anestetičke doze znao imati delirij kao nuspojavu, ona se nije javljala pri višim anestetičkim dozama. Osim toga, nije imao nikakvih jakih nuspojava u odnosu na dotadašnje anestetike, pa je kao anestetik ušao u kliničku praksu.

Tijekom godina primjene ketamina u kliničkoj praksi, primijećeno je kako pacijenti s kliničkom depresijom kojima je ketamin primijenjivan tijekom operativnog zahvata nakon operacije više ne osjećaju simptome depresije. Taj fenomen je zapažalo sve više istraživača, pa se o tome sve više pričalo u znanstvenom svijetu, što je povećalo novčana ulaganja u nova istraživanja ketamina. (Li i Vlisides, 2016). U potrazi za mehanizmom antidepresivnog djelovanja ketamina otkrivali su se novi receptori i signalni putovi, poput AMPA receptora, zatim uloga neurotropnih faktora, poput BDNF-a u funkcioniraju SŽS-a, te se dala naslutiti moguća poveznica između tih receptora i neurotropnih faktora s kinazama koje pridonose

sinaptičkoj i neuralnoj plastičnosti, poput mTOR kinaze. (Hashimoto, 2016; Machado-Vieira i sur., 2015) Time su se otvorila vrata istraživanjima nove generacije lijekova za depresiju, kao potencijalno boljoj, bržoj i djelotvornijoj alternativi dosadašnjim antidepresivima. Antidepresivi budućnosti s novim mehanizmima djelovanja obradit će se u poglavlju Rezulati i rasprava.

2.Obrazloženje teme

Unatoč tome što su se antidepresivi kroz generacije mijenjali tako da im je djelotvornost povećana, a nuspojave smanjene, i dalje se suočavamo s brojnim nedostacima njihove primjene u kliničkoj praksi. Jedan od najvećih nedostataka svih antidepresiva je odgođeno djelovanje; potrebno je u prosjeku tri do četiri tjedna kako bi se mogla procijeniti terapijska korist, dok će lijek svoje puno djelovanje ostvariti u prosjeku tek nakon šest mjeseci kontinuirane primjene. Nadalje, čak 30%-40% bolesnika nemaju željeni odgovor na terapiju, odnosno kod njih nije moguće postići terapijske ciljeve. Takvim se bolesnicima često uz antidepresive uvodi takozvana adjuvantna terapija koja uključuje atipične antipsihotike, litij ili trijodotironin. Općenito gledajući, 10%-30% bolesnika s depresijom ne reagira ni na kakvu trenutačno dostupnu terapiju, te i dalje trpe simptome depresije, s posljedičnim teškoćama u socijalnom funkcioniranju, slabljenjem općeg psihofizičkog stanja, uz često javljanje suicidalnih misli. (Al-Harbi, 2012; Bleakley, 2013; Machado-Vieira i sur., 2015)

S obzirom da je prevalencija depresije u svijetu sve veća, a samim time i broj oboljelih koji pate od oblika bolesti rezitentnog na terapiju, potreba za novim lijekovima s boljim terapijskim i farmakološkim profilom od postojećih, dodatno je naglašena.

Cilj ovog rada je prikazati potencijalne nove antidepresive s brzim nastupom kliničkog učinka koji su različitim fazama razvoja. Dosadašnji lijekovi utječu tek na omjer i koncentraciju monoamina u sinapsama, što je vjerojatno jedan od zadnjih koraka u patofiziološkim kaskadama koje dovode do razvoja depresije. Današnja znanstvena otkrića ukazala su na mehanizme koji prethode monoaminskom disbalansu. Pritom se glutamatni sustav, i to prvenstveno preko NMDA receptora, pokazao ključnom poveznicom u složenoj patofiziologiji depresije. Iz tog razloga većina antidepresiva nove generacije, od kojih su neki ušli u drugu i treću fazu kliničkih istraživanja, djeluju kao modulatori funkcije glutamatnog NMDA receptora. Upravo o ishodima kliničkih istraživanja koja će usporediti farmakološki i terapijski profil novih antidepresiva s dosadašnjom standardnom terapijom, ovisit će hoćemo li za nekoliko godina svjedočiti novoj eri liječenja depresije i govoriti o revolucionarnoj generaciji novih antidepresiva koja bolest može u potpunosti izliječiti u svih bolesnika, pa i onih s rezistentnim oblikom bolesti.

3.Materijali i metode

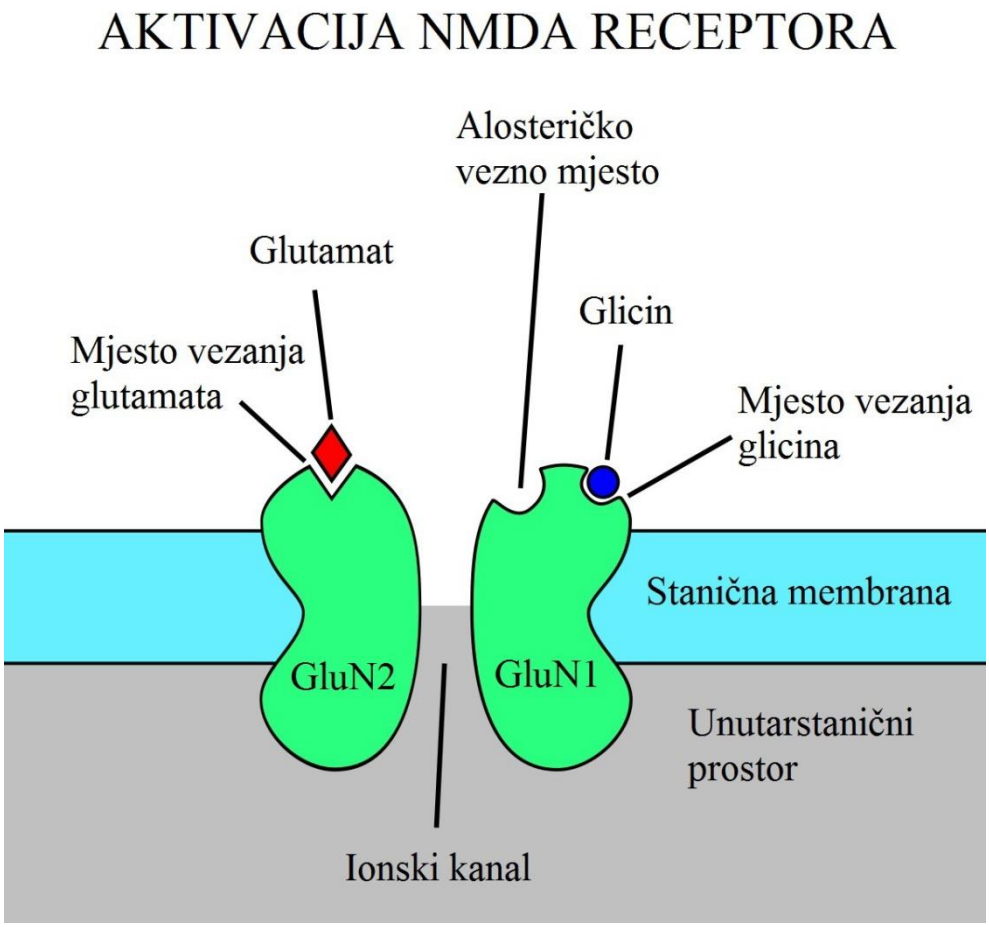
U ovom teorijskom diplomskom radu korištena je stručna i znanstvena literatura na temu antidepresiva s naglaskom na one koji su trenutno u različitim fazama istraživanja i razvoja. Pregledavane su bibliografske baze poput Pubmeda, a pretraživanje se radilo prema odabranim kombinacijama ključnih riječi: *depression, patophysiology, antidepressants, chemical structure,pharmacokinetics, pharmacodynamics, antagonist, partial agonist, agonist, prefrontal cortex, monoamine system, glutamate system, NMDA receptor, AMPA receptor, BDNF, mTOR kinase, experimental models, clinical study*.

Do podataka se također došlo pregledavanjem mrežnih stranica različitih organizacija i agencija od interesa, poput stranica Svjetske zdravstvene organizacije, Američke agencije za hranu i lijekove, Europske agencije za lijekove, a podaci o tijeku kliničkih studija dobiveni s mrežne stranice *www.clinicaltrials.gov*. Nakon iščitavanja relevantnih članaka, isti su kratko opisani i kritički raspravljani.

4.*Rezultati i rasprava*

4.1. Ionotropni glutamatni receptori (iGluR) i potencijalni lijekovi koji preko njih djeluju

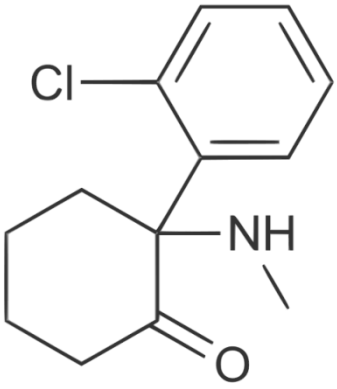
U skladu s glutamatnom teorijom depresije i daljnjim istraživanjem molekularnog mehanizma u podlozi, otkrivena su dva moguća mehanizma djelovanja na glutamatni sutav, preko ionotropnih glutamatnih receptora (iGluR) i metabotropnih glutamatnih receptora (mGluR). U obitelj ionotropnih glutamatnih receptora, uz delta i kainatne receptore, spadaju i za ovaj rad bitniji NMDA (N-metil-D-aspartat) i AMPA (α-amino-3-hidroksi-5-metil-4-izoksazolpropionska kiselina) receptori. Česta karakteristika ionotropnih glutamatnih receptora je da su tetrameri, to jest da sadrže četiri receptorske podjedinice. NMDA tetrameri su sastavljeni od dvije podjedinice na koje se veže glicin (GluN1) i dvije podjedinice na koje se veže glutamat (GluN2) ili ponekad GluN3. GluN2 može doći u 4 varijacije (GluN2A, GluN2B, GluN2C, GluN2D), dok GluN3 dolazi kao GluN3A ili GluN3B. Na GluN1 podreceptore djeluju dva prirodna agonista, glicin i D-serin, a na GluN2 podreceptore djeluje glutamin. Aktiviranjem (vezanjem agonista) oba ili nekih od podreceptora, dolazi do neselektivnog propuštanja natrijevih, kalijevih i kalcijevih iona. Ukoliko je prirodnih agonista previše, dolazi do pretjerane aktivacije NMDA receptora koji propuštaju previše kalcijevih kationa u stanicu, koji nadalje mogu izazvati ekscitotoksične procese koji vode do neurodegeneracije. To će izazvati, kako je već u uvodu opisano, smanjenu osjetljivost NMDA receptora i onemogućenog normalnog funkcioniranja ekscitatornog glutamatnog sustava, što u konačnici dovodi do razvoja depresije. Stoga, kako bi optimalno modulirali glutamatni sustav, moramo blokirati ili negativno alosterički modulirati NMDA receptor, neku od njegovih podjedinica ili samu poru, odnosno ionski kanal. Što se manje podjedinica blokira, djelovanje bi trebalo biti selektivnije. Kako svaka receptorska podjedinica ima različitu aminoterminalnu domenu, mala molekula lijeka koja bi specifično ciljala tu domenu bi u teoriji bila najselektivnija. Primjerice, GluN2A ima različitu aminoterminalnu domenu od GluN2B, što znači da bi odgovarajući lijek mogao djelovati na samo jedan podtip receptorske podjedinice, što bi omogućilo vrlo selektivno djelovanje. Prikaz NMDA receptora je vizualiziran na***Slici 2***. (Ruppa i sur., 2012; Machado-Vieira i sur., 2015)



Slika 2:Prikazan je prerez kroz NMDA receptor. NMDA receptor je tetramer koji se sastoji od dvije GluN1 podjedinice i najčešće dvije GluN2 podjedinice, a u nekim slučajevima GluN3. Na GluN1 podreceptore djeluju dva prirodna agonista, glicin i D-serin, a na GluN2 podreceptore djeluje glutamin. Aktiviranjem receptora dolazi do neselektivnog propuštanja natrijevih, kalijevih i kalcijevih iona. Antagoniziranjem veznog mjesta za glicin, odnosno glutamat ili negativnim alosteričkim moduliranjem alosteričkog veznog mjesta mogli bismo spriječiti posljedični unos ekscitotoksične količine iona (ponajviše kalcija) u neuron koja za posljedicu može izazvati promjene u neuroplastičnosti, što pak dovodi do razvoja depresije. Potencijalni lijek može inhibirati cijeli receptor ili njegovu podjedinicu. Što manje podjedinica lijek inhibira, djelovanje bi trebalo biti selektivnije. (Jaso i sur., 2016)

4.1.1. Ketamin

Ketamin (***Slika 3***) je nastao iz svog prekursora fenilciklidina (PCP) i ima dugu povijest sigurne primjene kao intravenski anestetik. Istraživanjima se pokazalo kako ketamin u subanestetičkim dozama može pokazati i antidepresivni učinak.

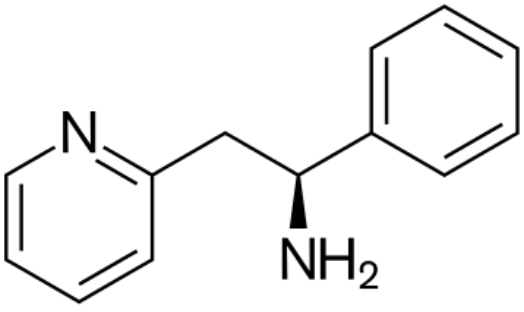


Slika 3: Ketamin
(https://www.wikipedia.org)

4.1.1.1. Mehanizam djelovanja ketamina kao podloga za nastanak novih lijekova

Ketamin je nekompetitivni antagonist NMDA receptora, veže se za ionski kanal između podjedinica receptora i blokira ulazak u stanicu različitih iona, ponajviše kalcija. S obzirom da je nekompetitivni antagonist, ketamin blokira receptor u otvorenom stanju. U kanalu ketamin ostaje i nakon disocijacije glutamata s podjedinice NMDA, čak i nakon što se kanal prevede u zatvorenu konformaciju, što izaziva produljenu blokadu koja ometa fiziološku, ali i patološku funkciju receptora. Pokazano je da ketamin ima čak 86%-tnu stopu zadržavanja na receptoru. Smatra se da je upravo taj veliki afinitet za NMDA receptor odgovoran i za njegove psihomimetičke učinke.(Sleigh i sur., 2014) Ponukani ovakvim rezultatima, znanstvenici su pokušali naći kemijski spoj koji bi imao manji stupanj zadržavanja na NMDA receptoru. Jedan od tih spojeva je i memantin, koji ima stopu zadržavanja u receptoru od 50% do 70%. Zbog nižeg zadržavanja memantin ima minimalne psihotomimetične i sedativne učinke. Smatra se da zbog brže disocijacije s recepora, veže samo one NMDA receptore koji su patološki otvoreni kroz dugo razdoblje. Međutim, u placebo kontroliranoj osmotjednoj studiji koju su proveli Zarate i sur. 2006. godine, memantin nije pokazao značajan antidepresivni učinak. Isto tako, mematin nije povećao niti aktivnost mTOR kinaze, niti količinu BDNF u prefrontalnom korteksu, što su jasni biomarkeri antidepresivnog učinka. (Sleigh i sur., 2014; Machado-Vieira i sur., 2015)

Slično se dogodilo i s laniceminom (***Slika 4***). Lanicemin(AZD6765) je još jedan neselektivni i nekompetitivni antagonist NMDA receptora, ali s manjom stopom zadržavanja u receptoru od ketamina. Dva mala istraživanja su pokazala kako lanicemin nema nuspojave karakteristične za ketamin poput disocijacije i psihomimetskih učinaka, te ima rapidno antidepresivno djelovanje, ali vrlo kratkotrajno, te ni približno robusno kao kod ketamina. Šestotjedna studija kliničke faze IIb je pokazala kako ponovljene doze lanicemina (50mg i 150mg) nisu postigle značajno

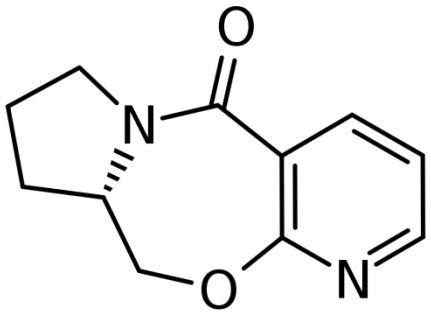


Slika 4: Lanicemin(https://www.wikipedia.org)

različit klinički učinak od placeba. Nakon ovog istraživanja, AstraZeneca je obustavila daljnji razvoj lanicemina za terapiju kliničke depresije. (Garay i sur., 2017; Jaso i sur., 2016; Machado-Vieira i sur., 2015)

Sudeći po gore navedenim istraživanjima, mehanizam djelovanja ketamina ne ovisi samo o blokiranju NMDA receptora. Ovaj podatak dodatno podržava činjenica da antidepresivno djelovanje ketamina traje 3 do 7 dana, unatoč tome što je poluživot ($t_{1/2}$) ketamina svega 2,5 do 3 sata. Primijećeno je da ketamin utječe na naponom kontrolirane kalcijeve kanale, opioidne receptore, monoaminske i muskarinske receptore, te AMPA receptore, koje se u mehanizmu ketamina smatra i najvažnijima. Taj mehanizam uključuje depolarizaciju AMPA receptora koja dovodi do aktivacije naponom kontroliranih kalcijevih kanala, što rezultira ulaskom velike struje kalcija u stanicu i egzocitozom BDNF-a. Kaskadno se aktivira protein kinaza B (PKB) i ERK (engl., extracellular signal-related kinase). Pokazano je kako je bolesnicima koji su kao terapiju primali ketamin, rapidno, ali prolazno rasla koncentracija aktivnog fosforiliranog oblika ER kinaze. Također, ketamin inhibira e-EF2 kinazu (engl., eukaryotic elongation factor-2 kinase). Valja napomenuti kako ERK i e-EF2 kinaza igraju ključnu ulogu u regulaciji mTOR kinaznog puta, koji je izravno povezan s rastom dendritičkih trnova te njihovim povećanjem. Veća gustoća dendritičkih trnova dovodi do povećane sinaptičke plastičnosti u mozgu, prvenstveno u PFC-u, te nestanku depresivnih simptoma. Neodgovarajuća blokada NMDA receptora, poput one kod memantina, ne izaziva inhibiciju e-EF2 kinaze kao ni povećanje koncentracije BDNF. Istraživanje koje su proveli Haile i suradnici 2014. godine pokazalo je kako je koncentracija BDNF-a u plazmi osoba kod kojih je ketamin ostvario antidepresivno djelovanje bila značajno viša u odnosu na osobe kod kojih ketamin nije djelovao. To je još jedan dokaz u prilog važnosti BDNF-a u predviđanju antidepresivnog djelovanja ovih lijekova. Važna uloga svakog receptora ili kinaze u kaskadi dokazana je i u više istraživanja. U prilog uključenosti AMPA receptora i mTOR signalnog puta u antidepresivno djelovanje ketamina idu rezultati istraživanja Zhou i suradnika koji su 2014. godine pokazali da primjena AMPA antagonista NBQX značajno smanjuje antidepresivni učinak ketamina, kao i koncentracije BDNF-a i aktivne mTOR kinaze. Također, ukoliko se prije primjene ketamina inhibira mTOR kinaza rapamicinom, antidepresivni učinak ketamina izostaje, a markeri sinaptičke plastičnosti ostaju sniženi. (Machado-Vieira i sur., 2015; Sleigh i sur., 2014)

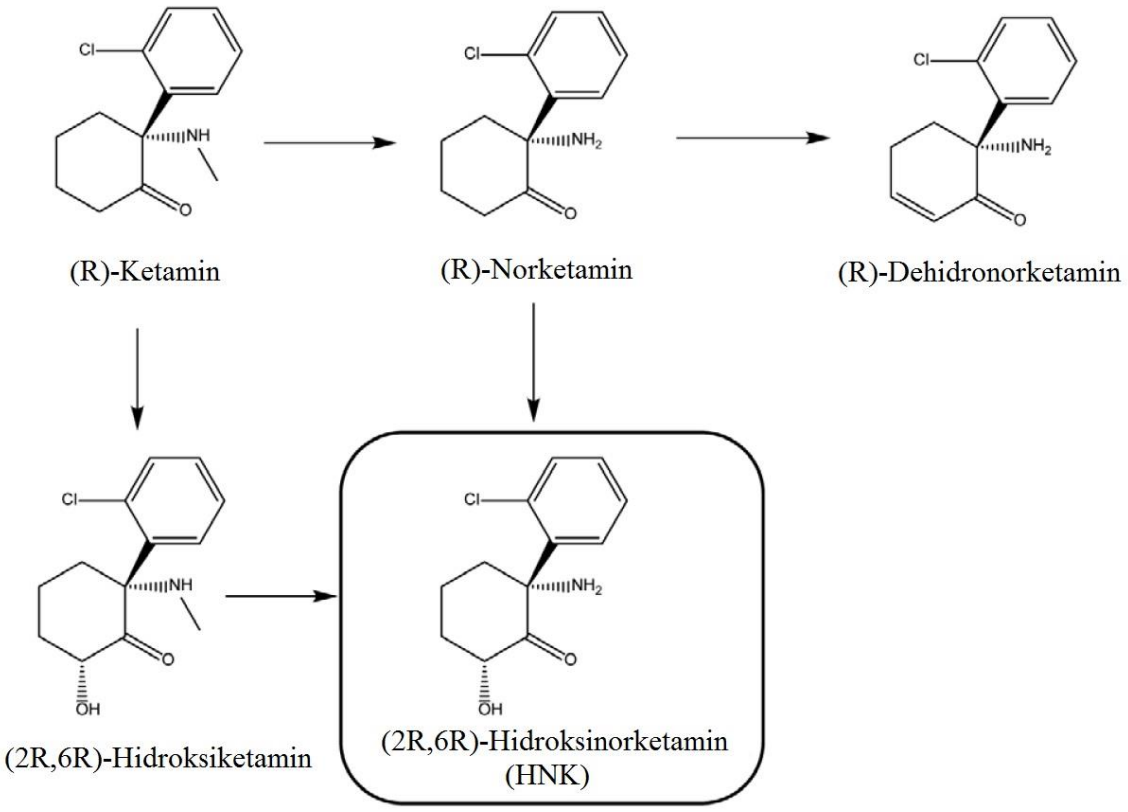
Produbljavanjem znanja o ulozi pojedinih signalnih molekula u opisanim unutarstaničnim kaskadama unutar glutamatnog sustava, istraživači su pokušavali pronaći nove mete na koje bi djelovali potencijalni novi lijekovi. Kao logična opcija nametnuli su se agonisti mTOR kinaze, no ubrzo su se takva razmatranja odbacila iz razloga što mTOR kinazni put ima važnu ulogu u karcinogenezi. Izravna aktivacija mTOR kinaze mogla bi uzrokovati prekomjernu ekspresiju različitih kaskada i proteina, s vrlo neugodnim nuspojavama. Osim mTOR kinaze, istraživači su usmjerili istraživanja na nove AMPA agoniste. Pretklinička istraživanja su sugerirala kako bi skupina agonista AMPA receptora, nazvanih "AMPAkinima", mogli ostvariti željeni učinak na staničnoj razini, kao i u kliničkoj praksi. Primjeri AMPAkina su farmampator (CX-691/ORG 2448) te ORG-26576 (***Slika 5***). Ravoj farmampatora je zaustavljen, dok je ORG-26576 ušao u kliničko istraživanje na 54 dobrovoljca i pacijenata s kliničkom depresijom. Iako je ORG-26576 poboljšao brzinu procesuiranja informacija i opće funkcioniranje bolesnika, povećao razinu lučenja hormona i smanjio lučenje kortizola, nije mijenjao razinu BDNF-a, niti je pokazao da je učinkovitiji od placeba. Naposlijetku je i razvoj spoja ORG-26576 zaustavljen. Iako su za druge agoniste AMPA receptora potrebna daljnja istraživanja, "ampakini" su se, poput spoja ORG-26576 pokazali uspješnijim nootropicima nego antidepresivima. Stoga je fokus istraživanja ovih spojeva usmjeren na Alzheimerovu bolest, što prelazi okvire ovog rada.(Lapidus i sur., 2013; Jaso i sur., 2016; Machado-Vieira i sur., 2015; Froestl i sur., 2012)



Slika 5: ORG-26576
(https://www.wikipedia.org)

Ketamin je racemat, mješavina S(+) i R(-) ketamina. Izolirani S(+) ketamin ima veći afinitet za NMDA receptore i ima 3 do 4 puta jači anestetski učinak od R(-) ketamina. Tijekom anestezije, S(+) izomer je povezan sa manjom stimulacijom srca, manjom spontanom motornom aktivnošću, jačom analgezijom, bržim oporavkom, te za ovaj rad bitnije, povezan je s manje psihomimetičkih učinaka i manjim delirijem. Izolirani esketamin(S(+) ketamin) je razvijan jer se vjerovalo da NMDA receptor igra ključnu ulogu u antidepresivnom učinku ketamina. Međutim, studije na miševima pokazale su drugačije. U miševa, (R)-ketamin je pokazao jači antidepresivni učinak u odnosu na esketamin. Također, pokazano je kako sam ketamin ima aktivne metabolite. Ketamin se metabolizira u norketamin, hidroksiketamin,

dehidronorketamin i hidroksinorketamin, kako je prikazano na Slici 6. Metabolit pronađen u plazmi i mozgovima miševa nakon primjene ketamina je (2S,6S;2R,6R)-hidroksinorketamin (HNK), kao i norketamin i ketamin u jednakim količinama. Kako bi se jasno razlučilo je li metabolizam ketamina neophodan preduvjet za njegovo antidepresivno djelovanje, znanstvenici su primijenili 6,6-dideuteroketamin, koji se manje metabolizira do 2S,6S;2R,6R)-HNK, bez da se promijeni koncentracija ketamina u mozgu. Na iznenađenje, 6,6-dideuteroketamin nije pokazao antidepresivno djelovanje, iako je u prethodnim studijama pokazano kako infuzija (R)-ketamina izravno u PFC štakora pokazuje antidepresivne učinke. Nadalje, istraživanje je pokazalo kako metabolit (R)-ketamina, (2R,6R)-HNK ima potentnije djelovanje od (2S,6S)-HNK, koje je trajalo najmanje 3 dana. Također, (2R,6R)-HNK nije funkcionalno inhibirao NMDA receptore, dok je pokazao značajnu aktivaciju AMPA receptora. Slično kao i s ketaminom, primjena antagonista AMPA receptora (NBQX) prije primjene (2R,6R)-HNK, blokirala je njegov antidepresivni učinak, ponovno ukazujući na važnu ulogu AMPA receptora u djelovanju ketamina i njegovih metabolita. (Hashimoto, 2016; Li i Vlisides, 2016)



Shema 3: Metabolizam (R)-ketamina do (R)-norketamina, (R)-dehidronorketamina, (2R,6R)-hidroksiketamina i (2R,6R)-hidroksinorketamina.(Hashimoto, 2016)

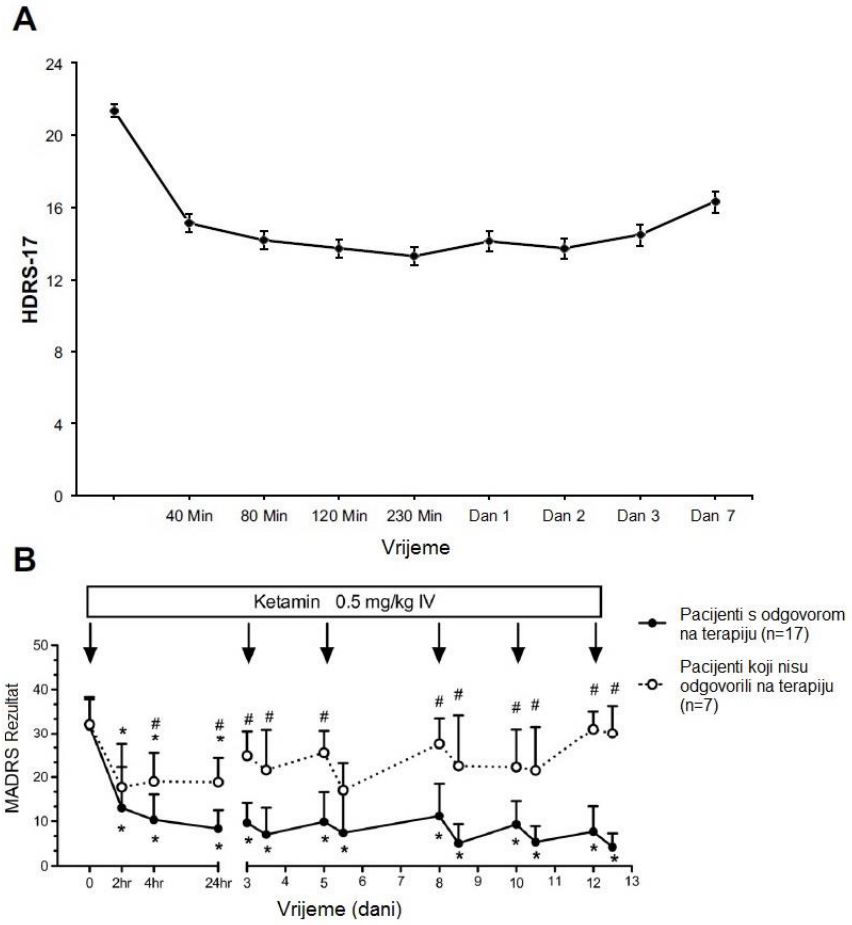
Međutim, treba biti pažljiv u ekstrapolaciji ovih rezultata na ljude. Isto tako, djelovornost (2R,6R)-HNK je testirana tri dana, bez dokaza o učincima kod dugotrajnije primjene. Iz ovog proizlazi potreba za daljnjim istraživanjima o trajanju antidepresivnog učinka (2R,6R)-HNK, a antidepresivnu djelotvornost S(+), odnosno R(-) ketamina, potrebno je ispitati na ljudima. (Garay i sur., 2017; Hashimoto, 2016)

4.1.1.2. Klinička istraživanja ketamina

Ketamin se kao antidepresiv koristi u subanestetičkoj dozi 0,5 mg/kg, najčešće u obliku racemata i primjenjuje se najčešće intravenski. Godine 2000. Berman i suradnici su proveli prvo randomizirano dvostruko-slijepo placebom-kontrolirano ukriženoistraživanje subanestetičke doze ketamina (0,5 mg/kg, ketamin je primijenjen intravenskom infuzijom tijekom 40 min) u liječenju depresije i bipolarnog poremećaja na ukupno 9 osoba. Po Hamiltonovoj ljestvici za ocjenu depresije, situacija se kod ketaminske infuzije značajno poboljšala, dok kod placeba nije bilo značajne promjene. Antidepresivni učinak je nastao gotovo odmah i zadržao se u prosjeku 72 sata. (Berman i sur., 2000) Ove rezultate u nešto većoj studiji (18 ispitanika) ponovili su Zarate i suradnici 2006. godine. Čak 71% pacijenata je odgovorilo na terapiju ketaminom, a stopa remisije bila je 29%. Nakon jednog tjedna antidepresivni učinak je počeo slabiti. Unatoč tome, kod 35% pacijenata ketamin je zadržao učinak tijekom dužeg vremena. (Zarate i sur., 2006) U trećoj studiji na 10 pacijenata s depresijom rezistentnom na terapiju, također je pokazan brz i robustan učinak ketamina. (Valentine i sur., 2011) Murrough i suradnici napravili su istraživanje na 73 pacijenta s depresijom rezistentnom na terapiju u kojoj su umjesto inertnog placeba koristili prihoaktivni placebo, tj. midazolam.Iako je midazolam pokazao veći antidepresivni učinak tijekom prvih 24 sata, kao što je i pokazano u drugim kliničkim studijama, učinak nakon 24 sata bio je puno veći za ketamin u odnosu na midazolam (64% pacijenata je zadržalo učinak nakon 24 sata uz ketaminsku infuziju u odnosu na 28% uz midazolam). (Murrough i sur., 2013)

Unatoč tome što se ketamin pokazao učinkovitim, njegov učinak je ipak bio prolazan. Kako bi riješili taj problem, istraživači su odlučili prijenjivati ketamin ponovljenim infuzijama. U jednoj studiji na 24 pacijenta s depresijom rezistentnom na terapiju primijenjeno je 6 infuzija racemičnog ketamina u dozi od 0,5 mg/kg, intravenski, tijekom dvanaest dana. Nakon 12 dana odgovor na terapiju bio je 70,8%. Stanje pacijenata je praćeno kroz slijedeća 83 dana. Iako je prosječno vrijeme do relapsa bilo 18 dana, kod 30% pacijenata se učinak zadržao do kraja

razdoblja praćenja.(Murrough i sur., 2013) ***Slika 6*** sumira rezultate dosadašnjih istraživanja s jednom i više doza ketamina na ispitanicima s kliničkom i bipolarnom depresijom. Nuspojave su bile blage i prolazne, a najveći problem može predstavljati disocijativnost (otuđenost od realnosti) nakon primjene lijeka. Ovaj problem se pokušao riješiti tako da se infuzija s ketaminom daje kroz 100 minuta umjesto 40 minuta, ali nuspojave nisu bile ništa manje izražene. (Rasmussen i sur., 2013;Jaso i sur., 2016)



Slika 6: A. Prikazana je promjena intenziteta depresivnih simptoma nakon jedne intravenske infuzije ketamina (0,5mg/kg, tijeom 40 minuta) kod pacijenata s kliničkom depresijom otpornom na terapiju i bipolarnom depresijom. Rezultati su dobiveni mjerenjem poHamiltonovoj ljestvici depresije koja ocjenjuje 17 faktora (HAM-D17) tjedan dana po početku primjene lijeka. **B.** Promjena intenziteta depresivnih simptoma nakon ponovljenih infuzija ketamina kod osoba s kliničkom depresijom rezistentnom na terapiju. Graf prikazuje promjenu intenziteta depresivnih simptoma tijekom 12 dana mjerenih Montgomery-Åsbergovoj ljestvicom depresije (MADRS). Infuzije ketamina primjenjivane su nultog, trećeg, petog, osmog, desetog i dvanaestog dana. Prvog dana intenzitet depresije mjeren je 2,4 i 24 sata nakon infuzije ketamina. MADRS rezultat je značajno drugačiji kod pacijenata sa i bez odgovora na terapiju. (Jaso i sur., 2016)

Također, u istraživanjima je pokazano kako ketamin pokazuje rapidna anksiolitička i antisuicidalna svojstva. Post-hoc analiza 133 pacijenta koji boluju od kliničke depresije i bipolarnog poremećaja pokazala je kako intravenska infuzija racemičnog ketamina u dozi 0,5mg/kg pokazuje anksiolitički i antisuicidalni učinak 230 minuta nakon početka infuzije. (Ballard i sur., 2014) Kod oboljelih od anksiozno-depresivnog poremećaja antisuicidalni učinak je trajao u prosjeku 17,9 dana u odnosu na 1 dan kod oboljelih od depresije bez anksioznosti. (Lener i sur., 2017)

Nadalje, u dva istraživanja je pokazano kako ne postoji jasna krivulja ovisnosti učinka ketamina o primijenjenoj dozi. Četiri pacijenta s depresijom rezistentnom na terapiju primila su po 4 intravenske infuzije ketamina tijekom 4 tjedna, počevši od doze 0,1 mg/kg do 0,4 mg/kg. Tri su pacijenta odgovorila na terapiju (>50% smanjenja bodova po MADRS ljestvici u odnosu na placebo), od toga su dva imala maksimalni odgovor već pri dozi od 0,1 mg/kg, dok se samo kod jednog pacijenta učinak pojačavao s povećanjem doze.(Lai i sur., 2014)

U drugom istraživanju dizajniranom na istom principu, 12 od 15 pacijenata odgovorilo je već na dozu od 0,1 mg/kg, iz čega se može zaključiti kako je za većinu bolesnika učinkovita pet puta niža doza ketamina od uobičajenih 0,5 mg/kg, što bi moglo utjecati na podnošljivost, odnosno smanjiti nuspojave lijeka. (Loo i sur., 2016;Lener i sur., 2017)

4.1.1.3. Alternativni načini primjene ketamina

Ketamin je spoj koji je topljiv i u vodi i u lipidima, što znači da u tijelo može doći različitim putovima.(Li i Vlisides, 2016) Osim intravenske primjene, koja zahtijeva prisutnost medicinskog osoblja, postoje i alternativne primjene ketamina. Jedna od njih je intranazalna primjena koja se ponekad koristi u stomatologiji kad je potrebna anestezija u pedijatrijskim slučajevima, a bioraspoloživost ketamina seže i do 50%. U randomiziranoj, dvostruko slijepoj, ukriženoj, placebo-kontroliranoj studiji, 20 pacijenata s kliničkom depresijom je primjenjivalo intranazalno ketamin u dozi 50mg (intranazalna primjena fiziološke otopine je bila placebo). Nakon 24 sata, postignut je antidepresivan učinak, a rezultat je po Montgomery-Åsbergovoj ljestvici depresijepao u prosjeku za 7,6 bodova. Uočene su samo blage hemodinamske, disocijativne i psihomimetičke promjene u ispitanika. Unatoč lakšoj primjeni od intavenskog ketamina, intranazalni ketamin nije pokazao učinak značajniji od placeba nakon 72 sata od primjene, dok je nakon intravenske primjene učinak u prosjeku

trajao 7 dana. Pretpostavlja se da bi da bi se učestala intranazalna primjena ketamina mogla riješiti ovaj problem, no za to su potrebna daljnja istraživanja.(Lapidus i sur., 2014)

Nešto manju bioraspoloživost ketamina ima sublingvalni put primjene (~30%). U jednoj studiji, 27 bolesnika primjenjivan je ketamin u subanestetičkoj dozi svakih 2 do 7 dana. Kod 20 bolesnika postignut je antidepresivni učinak (77%). Najupečatljiviji podatak iz ovog istraživanja je da je kao nuspojava bila opisana jedino vrtoglavica. Za razliku od intravenske i intranazalne primjene, nisu uočene nikakve disocijativne ili psihomimetičke promjene. (Jaso i sur., 2017)

Iako je oralna primjena vrlo primamljiva zbog svoje jednostavnosti i veće suradljivosti bolesnika, primjena ketamina tim putem je prilično upitna radi vrlo značajnog jetrenog metabolizma prvog prolaza i bioraspoloživosti koja je manja od 20%.(Garay i sur., 2017) Iako su dvije studije pokazale pozitivne rezultate nakon oralne primjene ketamina, primijenjena doza je dosezala čak do 3 mg/kg uz farmakološke pojačivače. Ta istraživanja nisu objavila podatke o nuspojavama, a koncentracije ketamina i njegovih metabolita u krvi nisu niti mjerene, tako da je u ovom području potrebno još dosta ciljanih istraživanja. (Jaso i sur., 2017)

I naposlijetku, treba razmotriti intramuskularni put primjene ketamina koji ne bi zahtijevao specijaliziranu opremu kao intravenski, a bio bi pogodan za primjenu i kod bolesnika na hemodijalizi. U jednoj studiji pacijentima su primjenjivane intramuskularne injekcije ketamina u dozama od 0,5 mg/kg do 1,0 mg/kg. Učinak je primijećen tek pri najvišoj dozi. U jednom radu opisana su dva slučaja bolesnica s rezistentnom bipolarnom depresijom u kojima je ketamin pokazao stabilan antidepresivni učinak ako je primijenjen u dozi 50 mg intramuskularno svaka 3-4 dana tijekom 5-6 mjeseci. Međutim, pojavio se niz neugodnih nuspojava poput iritabilnosti, glavobolja, noćnih mora i snažne disocijacije. Još jedno istraživanje je pokazalo kako je jednaka intramuskularna doza ketamina (0,5 mg/kg) bila puno inferiornija u odnosu na intravenski primijenjen ketamin. Iako bi se intramuskulana primjena trebala još istražiti, dosadašnji rezultati o inferiornosti i snažnijim nuspojavama podosta kompromitiraju ovaj način primjene.(Jaso i sur., 2017)

4.1.1.4. Sigurnosni profil i podnošljivost

Kao anestetik, ketamin ima dugu povijest sigurne kliničke primjene i ima dopuštenje za uporabu od Američke agencije za hranu i lijekove (engl., Food and Drug Agency, FDA) u humanoj medicini i Europske agencije za lijekove u veterinarskoj medicini. Ketamin se kao anestetik primjenjuje samo jednom prije operacije, intravenski, u dozi 1-4,5 mg/kg. Kao antidepresiv, ketamin bi imao drugačiji režim doziranja. Infuzija ketamina bi se trebala davati više puta, u manjoj, subanestetičkoj dozi. S obzirom da se ketamin u nekim krajevima svijeta koristi i kao rekreativna droga, a zlouporaba ketamina u velikim dozama ponovljenom primjenom može rezultirati neurotoksičnošću, došlo je do zabrinutosti dijela znanstvenika o sigurnosti dugoročne primjene ketamina. Stoga su Perry i suradnici proveli istraživanje na 450 dobrovoljaca kojima su dali ukupno 833 infuzije ketamina. Najizraženije nuspojave su bile pretjerana sedacija, disforija i disocijativnost, međutim te nuspojave su nestale kod svih pacijenata do kraja dana, osim kod jednog. Od ispitanika koji su pristali sudjelovati u postinfuzijskom praćenju tijekom tjedan dana, samo trojica su prijavila nuspojave poput mučnine, umora, glavobolje, vrtoglavice i noćnih mora. Niti kod jednog pacijenta nije bila primijećena tjeskoba ili suicidalne misli. Ipak, u drugom istraživanju je prijavljeno kako su pacijenti s opsesivno kompulzivnim poremećajem dan nakon primjene ketamina razvili tjeskobu, disforiju i suicidalne misli. Jedno je istraživanje analiziralo rezultate 3 kliničke studije na ukupno 97 bolesnika s rezistentnom depresijom koji su zajedno primili ukupno205 intravenskih infuzija subanestetičke doze ketamina (0,5 mg/kg tijekom 40 min). Kod 65 bolesnika ketamin je za više od 50% popravio stanje prema Montgomery-Asberg skali procjene simptoma depresije, a samo su 3 ispitanika zbog izraženih nuspojava isključeni iz istraživanja. Prva 4 sata nakon infuzije ketamina primijećene su nuspojave poput vrtoglavice, sedacije, zamućenog vida ili depresonalizacije. Zaključeno je da ketamin dovodi do stabilnog i značajnog poboljšanja stanja kod bolesnika s rezistentnom depresijom uz prihvatljiv profil nuspojava, međutim naglašena je potreba za daljnjim istraživanjima na većem broju ispitanika.(Jaso i sur., 2017; Lener i sur., 2017)

4.1.1.5. Klinički status ketamina

Racemični ketamin, primijenjen intravenski, je trunutačno u fazi III kliničkih istraživanja. Iako je ketamin u višestrukim studijama pokazao svoju djelotvornost, još nije sigurno koja je

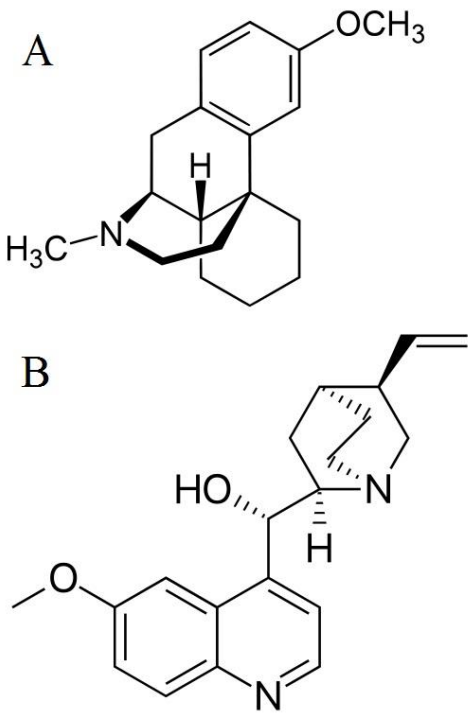
optimalna doza. Jedna studija, NCT01920555, koja upravo to ispituje, je u tijeku. Ukoliko se pokaže da se ketamin može primjenjivati i u manjim dozama, to bi značilo i manji rizik od nuspojava, odnosno željenu učinkovitost, uz poboljšanu podnošljivost. Još tri druge studije istražuju podnošljivost, doziranje i trajanje učinka ketamina. Također, provodi se i studija djelotvornosti ketamina u pacijenata koji pate od depresije rezistentne na terapiju u kasnoj životnoj dobi (NCT02556606). Kandidati za ovo ispitivanje nisu imali terapijski odgovor na barem dva prethodno korištena antidepresiva koje je odobrila FDA. Još jedno istraživanje (NCT01945047) prikuplja dobrovoljce kako bi ispitala učinkovitost jedne doze ketamina u kao brze intervencije u osoba s depresijom rezistetnom na terapiju. Uključni kriteriji za sudjelovanje u istraživanju su izostanak terapijskog odgovora na barem dva antidepresiva, te na dva terapijska pristupa s adjuvantnim lijekovima koji bi trebali pojačati učinak antidepresiva. Također, kod ovih bolesnika će se ispitati i trajanje učinka nakon 3 ponovljene injekcije ketamina. (Garay i sur., 2017)

Esketamin, S-enantiomer ketamina ima 3 do 4 puta jači afinitet za NMDA receptore od R-ketamina, te je također u fazi III kliničkih istraživanja, i to u obliku za intranazalnu primjenu.U dosadašnjim kliničkim studijama faze II intranazalni esketamin je pokazao svoju djelotvornost, usporedivu s intravenski primijenjenim racemičnim ketaminom. Esketamin djeluje brzo i snažno, te je pokazao značajnu nadmoć nad placebom tijekom čak 8 dana nakon primjene. Trenutno je u različitim fazama pripreme za provođenje nekoliko velikih kliničkih studija. TRANSFORM-1 (NCT02417064) i TRANSFORM-2 (NCT02418585) studije će ispitati učinkovitost i podnošljivost različitih doza esketamina (uključit će sebolesnici s depresijom rezistentnom na terapiju koji dosad nisu odgovorili na dva oralna antidepresiva). TRANSFORM-3 (NCT02422186) studija će ispitivati intranazalni esketamin kod starijih osoba, SUSTAIN-1 (NCT02493868) studija će evaluirati korištenje intranazalnog esketamina za prevenciju relapsa depresije, dok će SUSTAIN-2 (NCT02497287) studija proučavati dugoročnu učinkovitost i sigurnost intranazalnog esketamina. (Garay i sur., 2017)

4.1.2. Dekstrometorfan

Dekstrometorfan (***Slika 7A***) je dobro poznati lijek, korišten kao antitusik, za kojeg se pokušava naći nova indikacija. Dekstrometorfan je NMDA antagonist, a u višim dozama iagonist σ_1- receptora, a upravo takvo djelovanje na oba receptora bi u teoriji trebalo izazvati antidepresivan učinak. Djeluje još i kao inhibitor serotoninskih (SERT) i noradrenalinskih

(NET) transportera, te kao agonist muskarinskih receptora.Dekstrometorfan se u kombinaciji s kinidinom, generičkog imena AVP-923 i komercijalnog imena Nuedexta®, koristi za liječenje pseudobulbarnog sindroma (nekontrolirane epizode plakanja i/ili smijanja). Kinidin (***Slika 7B)*** je inhibitor CYP2D6 enzima, te stoga povisuje plazmatske koncentracije dekstrometorfana i produljuje mu poluvijek. Kod pacijenata koji su istovremeno patili od pseudobulbarnog sindroma i kliničke depresije, primijećeno je da su se nakon korištenja kombinacije dekstrometorfana i kinidina simptomi depresije smanjili. Iako do danas ne postoji završena randomizirana klinička studija ispitivanja djelotvornosti dekstrometorfana u monoterapiji, postoje retrospektivne studije na ljudima s bipolarnom depresijom koji su adjuvantno uz svoju terapiju primjenjivali i dekstrometorfan (20mg) u kombinaciji s kinidinom (10mg) tijekom 90 dana. Tijekom tog perioda bolesnicima se značajno popravilo stanje prema Clinical Global Impression (CGI) ljestvici. Ovi zanimljivi rezultati su potaknuli znanstvenike da pokrenu klinička istraživanja. NCT01882829 je mala klinička studija faze II koja je dizajnirana kako bi procijenila efikasnost, sigurnost i podnošljivost kombinacije dekstrometorfana i kinidina (45 mg/10 mg) u 20 bolesnika s depresijom rezistentnom na terapiju. Lijek se primjenjivao per os tijekom 10 tjedana, a učinkovitost se procjenjivala pomoću Montgomery-Åsberg ljestvice (MADRS). U 16 bolesnika koji su završili 10-tjedno ispitivanje zabilježeno je 45% smanjenje simptoma depresije, a nisu primjećeni psihotomimetski i disocijativni učinci, niti suicidalne misli. (Murrough i sur., 2017)



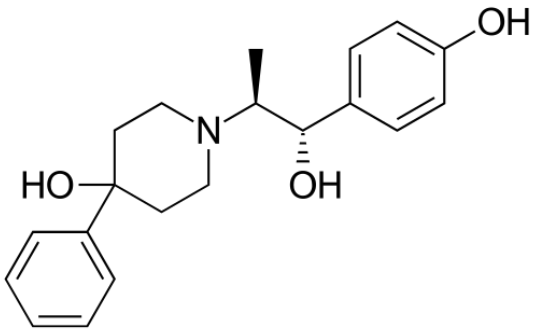
Slika 7: Djelotvorne tvari lijeka Nuedexta®; **A**:Dekstrometorfan i **B**:Kinidin (https://www.wikipedia.org)

Također, u fazi II kliničkih istraživanja je i kombinacija deuteriranog (d6)-dekstrometorfana s ultraniskom dozom kinidina (AVP-786). Ubacivanje deuterija u strukturu dekstrometorfana služi kako bi se smanjio metabolizam prvog prolaska kroz jetru, adoza kinidina je smanjena kako bi se smanjio rizik interakcija s drugim lijekovima i kardiološke smetnje. Studija faze II NCT02153502 će evaluirati učinkovitost, sigurnost i podnošljivost lijeka AVP-786 kao pomoćne terapije kod pacijenata s kliničkom depresijom i neadekvatnim odgovorom na

prethodnu antidepresivnu terapiju. (Garay i sur., 2017; Jaso i sur., 2017; Lener i sur., 2017; Machado-Vieira i sur., 2015)

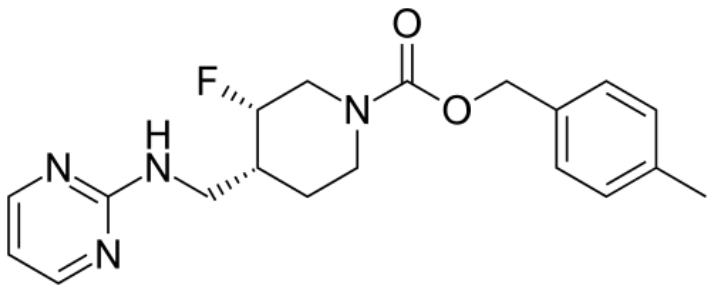
4.1.3. Traksoprodil (CP-101,606)

U potrazi za selektivnijim lijekovima otkriveni su novi antagonisti NMDA receptora. Jedan od njih, traksoprodil (***Slika 8***), je selektivni antagnonist GluN2B podjedinice NMDA receptora. S ozbirom da blokira samo jednu podjedinicu NMDA receptora, i to GluN2B koja nijesastavni dio svih NMDA receptora (npr. može umjestno GluN2B biti GluN2A), u teoriji bi lijek sa selektivnim djelovanjem na GluN2B podjedinicu trebao ostvariti antidepresivno djelovanje, ali uz manje nuspojava od ketamina. Međutim, primijećeno je kako aktivira i σ-receptore, tako da se ne može sa sigurnošću potvrditi je li antidepresivni učinak rezultat jedino blokade NMDA receptora. Studija provedena na miševima je pokazala kako traksoprodil djeluje sinergistički s lijekovima poput dezipramina, paroksetina, milnaciprana i bupropiona. Ipak, nije do kraja jasno da li je sinergizam farmakodinamičke ili farmakokinetičke prirode, ili pak oboje. Primijećeno je kako se uslijed kombinacije traksoprodila s milnacipranom, paroksetinom ili dezipraminom njegova koncentracija u moždanom tkivu miševa povećala, dok se u kombinaciji s bupropionom povećala koncentracija bupropiona. (Stasiuk i sur., 2016) U drugoj randimoziranoj, dvostruko slijepoj, placebo kontroliranoj kliničkoj studiji,traksoprodil je kao monoterapija testiran na 30 bolesnika s depresijom rezistentnom na terapiju. Bolesnicima je prvo primijenjena infuzija paroksetina, odnosno placeba, tijekom 6 tjedana, da bi se nakon toga onima koji nisu odgovorili na terapiju primijenila infuzija traksoprodila ili placeba s paroksetinom iduća 4 tjedna. Na terapiju traksoprodilom je odgovorilo 60% bolesnika, značajno više od placeba (20%). Kod 78% bolesnika antidepresivni učinak je zadržan barem 1 tjedan. Donekle su primijećeni disocijativni učinci. Unatoč dobrim rezultatima, razvoj traksoprodila je zaustavljen, jer je uočena potencijalna kardiotoksičnost zbog produljenja QT intervala.(Lener i sur., 2017)



***Slika 8*: Traksoprodil (CP-101,606)**
(https://www.wikipedia.org)

4.1.4. Rislenemdaz (CERC-301; MK-0657)



Slika 9: Rislenemdaz (CERC-301)
(https://www.wikipedia.org)

Rislenemdaz (***Slika 9***) je visokoafinitetni selektivni antagnonist GluN2B podjedinice NMDA receptora koji, za razliku od traksoprodila, ne pokazuje učinke na druge receptore i enzime. Brzo i lako prolazi krvno-moždanu barijeru pasivnom difuzijom. Istraživanja na štakorima su pokazala kako već 30%-tna zauzetost GluN2B podjedinice NMDA receptora pokazuje antidepresivan učinak (doza u plazmi miševa je bila ~ 120nmol/L). Nikakvi disocijativni neželjeni učinci nisu zapaženi, a ostale nuspojave su bile minimalne. Druga studija na miševima s fokusom na nuspojave, prijavila je prolaznu hipertenziju kao glavnu nuspojavu ovisnu o dozi u rasponu od 0,3mg/kg do 1 mg/kg. Studija je također pokazala kako se blokadom α_1-adrenergičkih receptora može spriječiti povišen krvni tlak uzrokovan rislenemdazom, međutim, detaljnije studije su potrebne kako bi se ovo dodatno ispitalo. Rislenemdaz nije pokazao nikakve znakove neurotoksičnosti čak ni pri dozama od 100mg/kg, za razliku od nekih konvencionalnih NMDA antagnoista u visokim dozama, poput ketamina i memantina. Sličan rezultat su pokazali i drugi antagonisti GluN2B podjedinice NMDA receptora, poput traksoprodila (CP-101,606) i Ro 63-1908. Dapače, traksoprodil bi mogao imati i neuroprotektivne učinke tijekom faze razvoja mozga. Izostanak neurotoksičnosti kod miševa u kombinaciji s izostankom nuspojava sličnih ketaminu, poput psihomimetičkog i disocijativnog učinka, osiguralo je rislenemdazu daljnja klinička istraživanja. (Garner i sur., 2015)

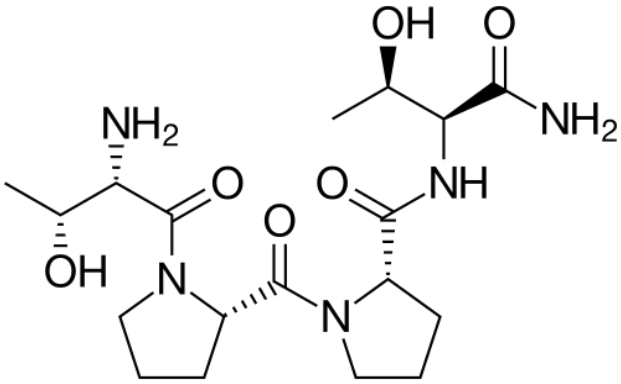
Mala, randomizirana, dvostruko slijepa, placebom kontrolirana, ukrižena studija, u kojoj se rislenemdaz kao monoterapija oralno davao jednom dnevno u dozi od 8mg, ispitivala je depresivne simptome tijekom 12 dana kod 21 bolesnika s depresijom rezistentnom na terapiju. Iako smanjenje depresivnih simptoma nije bilo značajno po Montgomery-Åsberg ljestvici, ono je bilo primijećeno po Hamiltonovoj ljestvici procjene depresivnosti i Beckovoj skali depresivnosti (BDI, Beck Depression Inventory). Za razliku od traksoprodila, nije zamijećen nikakav disocijativan učinak. Jedno nedavno placebom kontrolirano istraživanje faze II

(NCT02459236), u kojoj su se koristile veće doze rislenemdaza (12mg, odnosno 20mg), pokazalo je kako po Hamiltonovoj ljestvici procjene depresivnosti (HAM-D17) lijek nije ostvario primarne ishode, unatoč statistički značajnom smanjenju depresivnih simptoma u drugom danu ispitivanja u dozi od 20mg. Potrebna su daljnja klinička istraživanja kako bi se dodatno procijenila korisnost ovog lijeka. (Lener i sur., 2017)

4.1.5. Rapastinel (GLYX-13) i analozi

4.1.5.1. Otkriće rapastinela

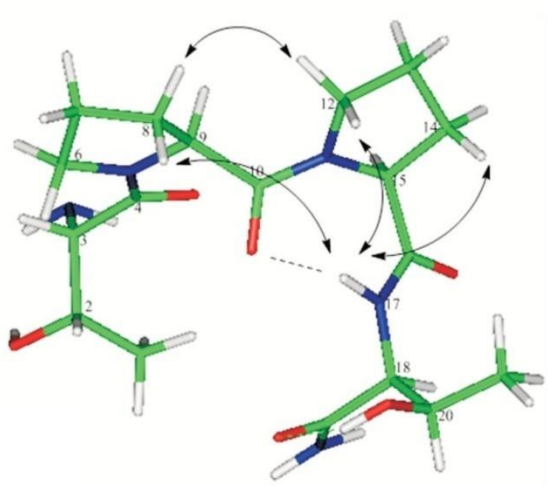
Rapastinel (***Slika 10***) je tetrapeptid s amidnom funkcionalnom skupinom na kraju slijeda, (treonin-prolin-prolin-treonin-amid), nastao kloniranjem i sekvenciranjem hipervarijabilnih regija teških i lakih lanaca monoklonskog protutijela B6B21. Monoklonsko protutijelo (mAB) B6B21 je, između ostalih mAB, dizajnirano kako bi se djelovalo na sinaptičku plastičnost povezanu s učenjem i pamćenjem, te tako dodatno razjasnili molekularni mehanizmi koji na to utječu. U početku su birana ona protutijela koja su se vezala za hipokampalne neurone u primarnim staničnim kulturama. Od njih birana su ona koja su djelovala na jačanje dugoročne potencijacije sinapsi (engl., long term potentiation, LTP). Zanimljivo je kako nije ciljano tražen modulator NMDA receptora, ali je daljnjim istraživanjima za protutijelo koje je izazvalo najrobusniji LTP učinak, B6B21, pokazano da ima parcijalni agonistički učinak na glicinskom mjestu NMDA receptora. S obzirom na veličinu, monoklonska protutijela ne mogu proći krvno-moždanu barijeru, što značajno otežava njihov način primjene (jedino bi intratekalna primjena došla u obzir).



Slika 10: **Rapastinel**, tetrapeptid s amidnom funkcionalnom skupinom na kraju aminokiselinskog slijeda (https://www.wikipedia.org)

Stoga se rodila ideja da se B6B21 koristi kao uzorak u dizajnu malih molekula koje bi oponašale mehanizam djelovanja te zadržale terapijski potencijal. Aminokiseline koje sačinjavaju hipervarijabilne regije na dijelu protutijela koja veže antigen određuju specifičnost vezanja tog protutijela. Pokazano je kako sintetički peptidi nastali iz tih aminokislinskih

slijedova na hipervarijabilnim regijama mogu ispoljavati sličnu biološku aktivnost poput samog protutijela. Nakon kloniranja teškog i lakog lanca protutijela B6B21 pomoću RT-PCR (engl., reverse transcriptase - polymerase chain reaction), samo jedan aminokiselinski slijed QQHYSTPPT (glutamin, glutamin, histidin, tirozin, serin, treonin, prolin, prolin, treonin) iz lakog lanca je pokazao vezanje na NMDA receptor. Iz tog slijeda sintetiziran je različit spektar manjih peptida, a od svih najrobusniji učinak pokazao je rapastinel. Metodom nuklearnog Overhauserovog efekta (engl., Nuclear Overhauser effect) je pokazano kako rapastinel postoji kao troprstenasta struktura stabilizirana vodikovim vezama (***Slika 11***). Stoga je trodimenzionalna struktura rapastinela prilično stabilna i kompleksna za tako mali peptid.(Moskal i sur., 2016)



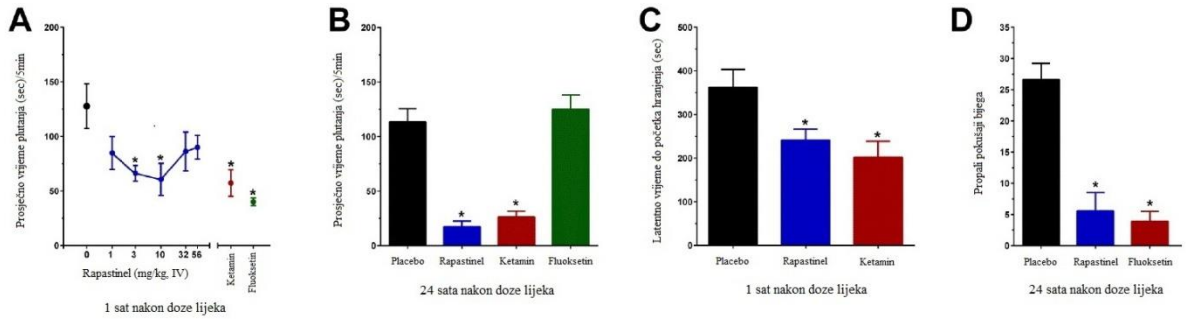
Slika 11: Troprstenasta struktura **rapastinela** stabilizirana trima vodikovim vezama(Moskal i sur., 2016)

4.1.5.2. Pretklinička istraživanja

Nakon početnih istraživanja, provedeno je niz bihevioralnih farmakoloških studija. U prvom nizu, rapastinel je testiran u različitim modelima učenja i pamćenja na mladim štakorima i starim štakorima skognitivnim oštećenjem. Primijećeno je robusno kognitivno poboljšanje u obje skupine, međutim, posebno je zanimljiv podatak da rapastinel može poništiti kognitivne deficite u starijih štakora.

U drugom nizu istraživanja su se proučavala antidepresivna svojstva rapastinela na životinjama. U eksperimentalnim modelima prinudnog plivanja, naučene bespomoćnosti i hipofagije uslijed novog stresnog okruženja pokazao je antidepresivan učinak. Rezultati testova su opisani na ***Slici 12***. U daljnjim istraživanjima korišten je model blagog kroničnog nepredviljivog stresa (engl., chronic unpredictable stress, CUS) za uzrokovanje depresivnih simptoma. Pokazano je da rapastinel brzo i značajno smanjuje depresivne simptome uzrokovane CUS-om. Primijećeno je kako rapastinel smanjuje i simptome PTSP-a.(Moskal i sur., 2016)

Naposlijetku je napravljena serija istraživanja koja su za cilj imala ispitati dugoročne antidepresivne učinke te poboljšanje kognitivnih sposobnosti tjedan dana nakon primjene rapastinela u štakora. Samo jedna doza rapastinela pokazala je primjetan antidepresivni učinak te poništila negativne učinke kroničnog nepredvidljivog stresa (CUS), a učinak je ostao prisutan do kraja istraživanja, tj. tjedan dana. Također, primijećeno je kako je rapastinel 24 sata nakon primjene na kulturama neurona hipokampusa povećao LTP te je uzrokovao značajno povećanje broja dendritičkih trnova u prefrontalnom korteksu i hipokampusu.(Moskal i sur., 2016)



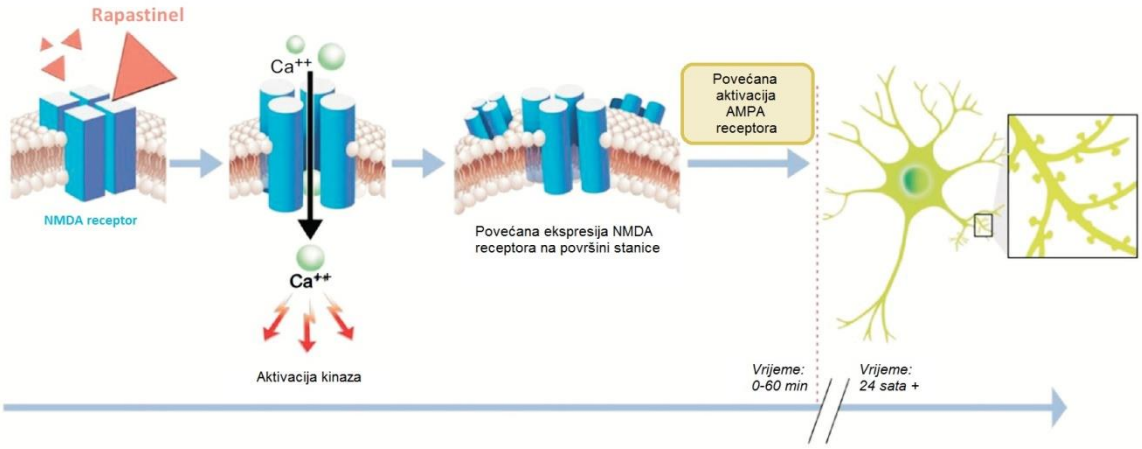
Slika 12: (**A**) Antidepresivni učinci rapastinela (3mg/kg, IV) u odnosu na placebo, ketamin i fluoksetin 1 sat nakon primjene lijeka, te (**B**) 24 sata nakon primjene lijeka. (**C**) Usporedba vremena latencije do početka hranjenja sat vremena nakon primjene rapastinela, u odnosu na ketamin i placebo u testu hipofagije uzrokovane novim stresnim okruženjem. (**D**) Dijagram prikazuje pokušaje bijega štakora 24 sata nakon primjene rapastinela u odnosu na placebo i fluoksetin u testu naučene bespomoćnosti.(Moskal i sur., 2016)

4.1.5.3. Mehanizam djelovanja

Rapastinel je nastao iz protutijela B6B21 za koje se pokazalo da posjeduje parcijalni agonistički učinak na glicinskom mjestu NMDA receptora, stoga je bilo za očekivati da daleko najaktivniji slijed aminokiselina tog protutijela, rapastinel, ima jednak mehanizam djelovanja. Daljnje studije su to i potvrdile. Rapastinel je pokazao slične odnose ovisnosti učinka o dozi kao i parcijalni agonist glicinskog mjesta NMDA receptora, D-cikloserin (DCS). Nadalje, rapastinel je uspio nadjačati učinak kompetitivnog antagonista glicinskog mjesta NMDA receptora, 7-klorokinurenske kiseline, a konačnu potrvrdu da je NMDA receptor krucijalan u djelovanju rapastinela dala je studija u kojoj je pokazano kako je CPP, antagonist NMDA receptora, potpuno poništio antidepresivni učinak rapastinela. Dodatne

elektrofiziološke studije mjerenja električnih potencijala preko NMDA receptora, također su potvrdile parcijalna agonistička svojstva rapastinela. Unatoč navedenim dokazima, i dalje se ne može sa 100%-tnom sigurnošću reći da je rapastinel parcijalni agonist glicinskog mjesta NMDA receptora, jer dosad nije provedena niti jedna studija koja je koristila direktni ligand NMDA receptora ili studija koja bi proučila kompeticiju rapastinela s radioaktivno-obilježenim glicinom.(Moskal i sur., 2016)

S obzirom da je poluživot rapastinela u plazmi samo 7 minuta, smatra se kako rapastinel, kao i ketamin, ima kaskadni mehanizam djelovanja. Veže se za glicinsko mjesto NMDA receptora, te ga parcijalno aktivira, pri čemu dolazi do ulaska umjerene struje kalcija kroz NMDA receptor u neuron. Pretpostavlja se kako uslijed tog umjerenog influksa kalcijevih iona dolazi do promjena na unutarstaničnim kinazama/fosfatazama koje mijenjaju stanje fosforiliranosti NMDA receptora. To dovodi do povećane izloženosti NMDA receptora na površini, a kaskadno posljedično dolazi do povećane aktivacije AMPA receptora. Nakon AMPA aktivacije dolazi do izgradnje dendritičkih trnova i povećane sinaptičke plastičnosti, koji su blisko povezani s antidepresivnim učinkom i procesima učenja i pamćenja, a značajne promjene na dendritima mogu se zamijetiti već nakon 24 sata (***Slika 13***). (Moskal i sur., 2016)

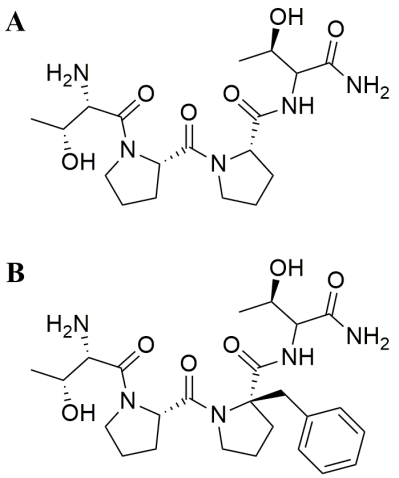


Slika 13: Rapastinel se veže za glicinsko mjesto NMDA receptora i djeluje kao parcijalni agonist. Dolazi do konformacijske promjene receptora što rezultira ulaskom kalcijevih iona u stanicu koja utječe na funkciju neuronalnih kinaza. To posljedično izaziva ekspresiju NMDA receptora na površinu stanice što rezultira povećanom aktivacijom AMPA receptora, a oni kroz niz kaskadnih reakcija dovode do povećane sinaptičke plastičnosti i značajnih promjena na dendritičkim trnovima koje se mogu zapaziti već nakon 24 sata. Potonji fenomeni su blisko povezani s procesima učenja i pamćenja, te s antidepresivnim učinkom.(Moskal i sur., 2016)

4.1.5.4. Klinički status rapastinela

Rapastinel se pokazao vrlo učinkovitim lijekom i u fazi II kliničkih istraživanja. Jedna studija je testirala rapastinel kao monoterapiju na 116 neliječenih bolesnika s depresijom rezistentnom na terapiju. Pacijenti su rapastinel primili kao intravensku infuziju tijekom 3 do 15 minuta u dozama od 1 mg/kg, 5 mg/kg, 10 mg/kg, ili 30 mg/kg, a zatim su praćeni sljedećih 7 dana. Rezultati su pokazali kako su bolesnici koji su primili rapastinel u dozama od 5 mg/kg i 10 mg/kg osjetili snažan antidepresivni učinak u odnosu na placebo. Isti istraživači su zatim proveli randomizirano, dvostruko slijepo kliničko istraživanje u kojem je rapastinel, ponovljeno davan bolesnicima (n=116) s depresijom rezistentnom na terapiju. Dodatne doze su primjenjivane treći, sedmi i četrnaesti dan nakon prve doze. Oni bolesnici koji su primili rapastinel u dozama od 5 mg/kg i 10 mg/kg su osjetili snažan antidepresivni učinak kojeg su zadržali do sedmog dana, ali se učinak izgubio do 14. dana. Čini kako je rapastinel nužno davati češće, a ne sa 7 dana pauze, kao što je to bio slučaj (lijek nije primijenjen između 7. i 14. dana). Druga studija koja je pratila bolesnike do 28 dana je koristila rapastinel samo u dozi od 30 mg/kg i pritom nije primijećen antidepresivni učinak. Smatra se kako U-krivulja ovisnosti djelovanja o dozi rapastinela ovisi o njegovim jedinstvenim molekularnim interakcijama s glicinskim mjestom na NMDA receptoru, što ga čini parcijalnim agonistom. Vrlo je bitna činjenica da rapastinel nije izazvao nikakve tipične nuspojave za klasične NMDA antagoniste, niti je prijavljena bilo kakva jača nuspojava u bilo kojoj spomenutoj studiji.(Lener i sur., 2017)

U naknadnim istraživanjima, nakon što je doza i režim izdavanja rapastinela optimiziran, lijek je pokazao ne samo snažan, nego i dugotrajan antidepresivni učinak. Trenutačno je u fazi III kliničkih istraživanja kao jedan od rapidnih antidepresiva u istraživanju koji najviše obećava. (https://mentalhealthdaily.com)



Slika 14: (**A**) **Rapastinel** i (**B**) **apimostinel**. (https://www.wikipedia.org)

4.1.5.5. Nedostaci rapastinela i njegovi analozi

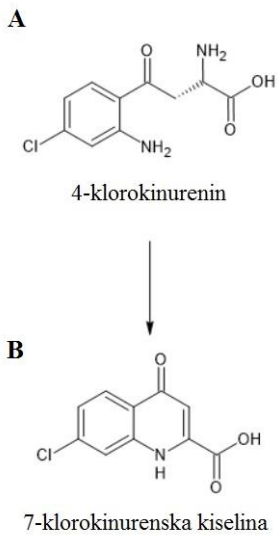
Iako vrlo obećavajući, rapastinel ima svoje nedostatke. Jedan od najvećih je nemogućnost primjene oralnim putem. Iako u plazmi pod fiziološkim uvjetima postoji kao troprstenasta struktura stabilizirana vodikovim vezama, unesen oralno je

ipak sklon razgradnji. Također, ukoliko bolesnik ima jako izražene simptome depresije, takvo stanje zahtijeva jači učinak lijeka i primjenu veće doze. Međutim, pri većim dozama rapastinela učinak se gubi, što je povezano s njegovim samim mehanizmom djelovanja. Rapastinel je slabi parcijalni agonist glicinskog mjesta NMDA receptora, i ta slaba parcijalna aktivacija se ne mijenja povećanjem doze, što ipak ukazuje na potrebu za razvojem jačeg parcijalnog agonista glicinskog mjesta NMDA receptora. Takav potencijalni lijek je analog rapastinela, **apimostinel (NRX-1074)**, za kojeg se smatra da je i do 1000 puta potentniji u odnosu na svoju relativnu molekulsku masu. Također, apimostinel je oralno aktivan, što bi značajno pojednostavnilo uzimanje lijeka. Slično rapastinelu, apimostinel je amidirani tetrapeptid, ali u odnosu na rapastinel, dodana mu je benzilna funkcionalna skupina(***Slika 14***). Zbog svoje potentnosti, primjena apimostinela ne mora biti ograničena samo na adjuvantnu terapiju kod bolesnika s teškim oblicima depresije. Slično rapastinelu, nisu uočene psihotomimetske ili disocijativne nuspojave, niti je prijavljena bilo kakva jača nuspojava u ranim kliničkim istraživanjima. Apimostinel je trenutačno u fazi II kliničkih istaživanja u intravenskom obliku, odnosno u fazi I kliničkih istraživanja u oralnom obliku. (https://mentalhealthdaily.com)

4.1.6. 4-klorokinurenin (AV-101)

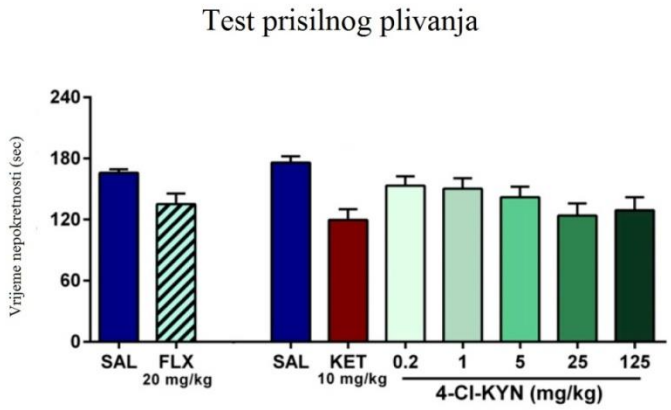
7-klorokinurenska kiselina je potentan i visokoselektivni kompetitivni antagonist glicinskog mjesta NMDA receptora. Dosad je naveliko korišten u istraživanjima NMDA receptora, ali je terapijska korist 7-klorokinurenske kiseline bila limitirana zbog svoje slabe prolaznosti krvno-moždane barijere. Međutim, iz 7-klorokinurenske kiseline je razvijen inaktivan prolijek, 4-klorokinurenin koji zboge manje polarnosti prolazi krvno-moždanu barijeru, a nakon prolaska se u astrocitima enzimski konvertira u 7-klorokinurensku kiselinu (***Slika 15***).

U pretkliničkim istraživanjima 4-klorokinurenin ispitivan je u različitim modelima depresije, poput metode prinudnog plivanja. Miševima je osim 4-klorokinurenina, primjenjivan i placebo, ketamin (10 mg/kg) te fluoksetin (20 mg/kg) kao pozitivna kontrola (***Slika 16***).



Slika 15: **4-klorokinurenin (A)** i aktivna**7-klorokinurenska kiselina (B)**(https://seekingalpha.com)

Primijećeno je kako su doze 4-klorokinurenina od 25 mg/kg i 125 mg/kg statistički značajno smanjile vrijeme nepokretnosti u spomenutom testu sat vremena nakon primjene supstanci. Jedan dan nakon primjene, 4-klorokinurenin je zadržao svoje djelovanje, kao i ketamin, za razliku od fluoksetina koji nije pokazao nikakav učinak. Slični rezultati su kasnije dobiveni i u testu hipofagije uzrokovane novim stresnim okruženjem. Kako bi se utvrdilo je li antidepresivno djelovanje posljedicablokade glicinskog mjesta NMDA receptora, miševima je prije primjene 4-klorokinurenina dana visoka doza glicina, koja je spriječila antidepresivni učinak 4-klorokinurenina. Na sličan način je provjerena uključenost AMPA receptora u mehanizmu djelovanja 4-klorokinurenina. Antagonist AMPA receptora, NBQX, koji je miševima primijenjen 5 minuta prije 4-klorokinurenina, potpuno je blokirao njegov antidepresivni učinak, čime je pokazano kako 4-klorokinurenin ima kaskadni mehanizam djelovanja, poput ketamina.(Zanos i sur., 2015)



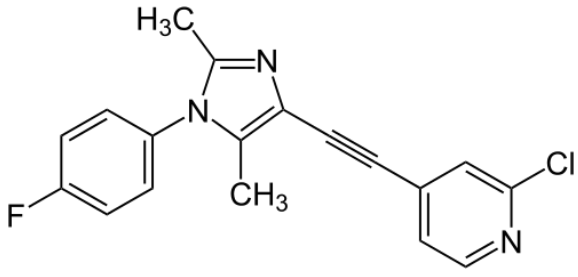
Slika 16: Antidepresivni učinci 4-klorokinurenina (4-Cl-KYN) na miševima u dozama od 0,2 do 125 mg/kg u odnosu na fluoksetin (FLX) u dozi od 20 mg/kg, ketamin (KET) u dozi od 10 mg/kg i fiziološku otopinu kao placebo (SAL), 1 sat nakon primjene. Može se primijetiti kako je 4-klorokinurenin u dozama od 25 mg/kg i 125 mg/kg značajno smanjio vrijeme nepokretnosti miševa, što se interpretira kao smanjenje depresivnog ponašanja.(Zanos i sur., 2015)

4-klorokinurenin, za razliku od ketamina, ne pokazuje nuspojave poput psihotomimetskih ili disocijativnih učinaka, a nema ni drugih težih nuspojava. U fazi I kliničkih istraživanja to je i potvrđeno, a 4-klorokinurenin je trentačno u fazi II kliničkih istraživanja. (https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02484456; Zanos i sur., 2015)

4.2. Metabotropni glutamatni receptori (mGluR) i potencijalni lijekovi koji preko njih djeluju

Metabotropni glutamatni receptori (mGluR) su receptori spareni s G-proteinima koji izravno utječu na razinu glutamata i sinaptičku plastičnost, a blisko su povezani s patofiziologijom poremećaja raspoloženja i drugim ionotropnim receptorima, poput NMDA i AMPA receptora. Postoji 8 različitih metabotropnih glutamatnih receptora, podijeljenih u tri grupe. Njihova aktivacija općenito smanjuje aktivnost NMDA receptora i oslobađanje neurotransimitora, a stoga i ekscitotoksičnost. Posebna grupa mGlu receptora ($mGluR_1$ i $mGluR_5$) djeluje obrnuto, njihovom aktivacijom se povećava aktivnost NMDA receptora i dolazi do povećanog rizika ekscitotoksičnosti. Stoga se najviše pažnje dalo negativnim alosteričkim modulatorima (NAM) $mGluR_5$ receptora i pozitivnim alosteričkim modulatorima (PAM) $mGluR_2$ receptora, iako se pokušalo i s ostalim kombinacijama, poput NAM-a $mGluR_2$ i $mGluR_3$ receptora.(Machado-Vieira i sur., 2015)

Jedan takav NAM $mGluR_{2/3}$ receptora je i dekoglurant (RG1578, RO4995819). Na temelju pozitivnih rezultata iz pretkliničke nastavljena su klinička istraživanja, no ona su zaustavljena u fazi II zbog nedjelotvornosti. Slične rezultate doživio je i spoj JNJ-40411813/ADX71149, koji djeluje kao PAM $mGluR_2$ receptora. Primjenjivan je bolesnicima s kliničkom depresijom kao adjuvantna terapija. Niti na jednom od 100 bolesnika koji su sudjelovali u istraživanju nije pokazan antidepresivan učinak bez obzira na korištene alate za procjenu depresije. (Lener i sur., 2017)



Slika 17: Basimglurant (https://www.wikipedia.org)

Basimglurant (RG-7090, RO-4917523), negativni alosterički modulator $mGluR_5$ receptora(***Slika 17***), također je pokazao dobre rezultate u pretkliničkim istraživanjima.

Nakon toga je provedena dvostruko slijepa, placebom kontrolirana studija u kojoj je 333 pacijenta primalo 0,5 mg, odnosno 1,5 mg basimgluranta dnevno. Nakon 42 dana, nije došlo ni do kakvog poboljšanja depresivnih simptoma po MADRS ljestvici. Iako su pacijenti

subjektivno osjetili poboljšanje općeg stanja (samoprocjena), ukupni rezultati istraživanja su bili negativni, moguće i zbog prilično jakog odgovora na placebo, koji je bio veći od 40%. Stoga su potrebna daljnja istraživanja kako bi se kvalitetno procijenila učinkovitost basimgluranta. Treba napomenuti kako je basimglurant bio siguran i dobro podnošljiv, a najčešće nuspojave istaknuli bile su vrtoglavica (11,1%) i glavobolja (8,4%).(Lener i sur., 2017; Lindemann i sur., 2015; Quiroz i sur., 2016)

5. Zaključak

Temeljem istraživanja u posljednjih 10-tak godina, čini se kako je glutamatni NMDA (N-metil-D-aspartat) receptor u samom središtu patofiziologije depresije. Preko tog receptora pokreće se kaskada unutarstaničnih reakcija koja na kraju dovodi do složenih patoloških promjena u samim neuronima, posebice u prefrontalnom korteksu. Stoga se modulacija signalizacije preko NMDA receptora čini logičnim izborom. Prvi lijek za koji je eksperimentalno pokazan, a u kliničkoj praksi potvrđen antidepresivni učinak bio je ketamin, klasični kompetitivni antagonist NMDA receptora. Posebnost ketamina je brzi antidepresivni učinak nakon jednokratne intravenske primjene subanestetičkih doza koji se zadržava i do 7 dana. Međutim, nuspojave ketamina poput psihotomimetskih i disocijativnih učinaka, potencijal zlouporabe i halucinogeno djelovanje u višim dozama su veliki nedostatak ovog lijeka te su velika zapreka njegovoj mogućoj široj terapijskoj primjeni. Slične karakteristike dijeli i dekstrometorfan, još jedan nekompetitivni NMDA antagonist koji je u kombinaciji s kinidinom trenutno u fazi II kliničkih istraživanja za liječenje kliničke depresije.

Iduća skupina potencijalnih novih antidepresiva su antagonisti GluN2B podjedinice NMDA receptora, koji su trebali biti selektivniji od ketamina i imati manje nuspojava. Međutim, traksoprodil (CP-101,606), osim na GluN2B podjedinicu NMDA receptora, djeluje i na σ-receptore te je također pokazao neželjene psihotomimetske i disocijativne učinke, a njegov daljnji razvoj je zustavljen zbog kardiotoksičnosti. Rislenemdaz (CERC-301; MK-0657), premda selektivni GluN2B blokator, do sada nije pokazao zadovoljavajuće rezultate u kliničkim studijama, a istraživanja su ipak nastavljena radi daljnje procjene učinkovitosti i sigurnosti.

Posljednja skupina NMDA lijekova su modulatori glicinskog mjesta NMDA receptora. Rapastinel (GLYX-13) je parcijalni agonist glicinskog mjesta NMDA receptora te je trenutno u fazi III kliničkih istraživanja gdje pokazuje potencijal kao adjuvantna terapija uz konvencionalne antidepresive. Djeluje brzo, već nakon sat vremena od intravenske primjene, a podnošljivost mu je dobra. Stabilniji analog rapastinela za oralnu primjenu, apimostinel (NRX-1074)je do 1000 puta potentniji u odnosu na molekulsku masu i stoga se smatra da će biti učinkovit i u monoterapiji depresije. 4-klorokinurenin, proliijek 7-klorokinurenske kiseline je potentni antagonist glicinskog mjesta NMDA receptora, također se pokazao

djelotvornim u pretkliničkim istraživanjima, a trenutačno je u fazi II kliničkih istraživanja. Potencijalni novi lijekovi iz ove skupine djeluju selektivno na glicinsko mjesto, postižu brz i stabilan antidepresivni učinak, a lišeni su tipičnih nuspojava koje se vežu uz ostale NMDA modulatore. Stoga su oni najperspektivnija skupina molekula s brzim antidepresivnim djelovanjem.

Modulatori metabotropnih glutamatnih receptora (mGluR) su se zasad pokazali prilično neučinkovitima u kliničkim istraživanjima i razvoj većine spojeva je zaustavljen. Basimglurant (RG-7090, RO-4917523), negativni alosterički modulator $mGluR_5$ receptora, jedini je iz ove skupine koji se još istražuje. Iako je pokazao nezadovoljavajuće rezultate u fazi II kliničkih istraživanja, daljnja istraživanja su ipak nastavljena kako bi se dodatno provjerila njegova učinkovitost i sigurnost.

6. Literatura

Al-Harbi KS. Treatment-resistant depression: therapeutic trends, challenges, and future directions. *Patient Prefer Adherence*, 2012, 6, 369–388.

Ballard ED, Ionescu DF, Vande Voort JL, Niciu MJ, Richards EM, Luckenbaugh DA, Brutsché NE, Ameli R, Furey ML, Zarate CA Jr. Improvement in suicidal ideation after ketamine infusion: relationship to reductions in depression and anxiety. *J Psychiatr Res*, 2014,58, 161–6.

Berman RM, Cappiello A, Anand A, Oren DA, Heninger GR, Charney DS, Krystal JH. Antidepressant effects of ketamine in depressed patients. *Biol Psychiatry*, 2000,47(4), 351-354.

Carvalho AF, Sharma MS, Brunoni AR, Vieta E, Fava GA. The Safety, Tolerability and Risks Associated with the Use of Newer Generation Antidepressant Drugs: A Critical Review of the Literature. *Psychother Psychosom*, 2016, 85, 270–288.

Dean J i Keshavan M. The neurobiology of depression: An integrated view. *Asian JPsychiatr*, 2017, 27, 101-111.

Froestl W, Muhs A, Pfeifer A. CognitiveEnhancers (Nootropics). Part 1: DrugsInteractingwithReceptors. *J Alzheimer's Dis*, 2012, 32(4), 793-887.

Garay RP, Zarate CA Jr., Chaperaud T, Citrome L, Correll CU, Hameg A, Llorca PM. Investigational drugs in recent clinical trials for treatment-resistant depression. *Expert Rev of Neurother*, 2017, 17, 593-609.

Garner R, Gopalakrishnan S, McCauley JA, Bednar RA, Gaul SL, Mosser SD, Kiss L, Lynch JJ, Patel S, Fandozzi C, Lagrutta A, Briscoe R, Liverton NJ, Paterson BM, Vornov JJ, Mazhari R. Preclinical pharmacology and pharmacokinetics of CERC-301, a GluN2B-selective N-methyl-D-aspartate receptor antagonist. *Pharma ResPerspect*, 2015, 3(6), e00198.

Hashimoto K. Ketamine's antidepressant action: Beyond NMDA receptor Inhibition. *Expert OpinTherTargets*, 2016, 20(11), 1389-1392.

Hillhouse TM i Porter JH. A brief history of the development of antidepressant drugs: From monoamines to glutamate. *Exp Clin Psychopharmacol*, 2015, 23(1), 1-21.

Jaso BA, Niciu MJ, Iadarola ND, Lally N, Richards EM, Park M, Ballard ED, Nugent AC, Machado-Vieira R, Zarate CA Jr. Therapeutic Modulation of Glutamate Receptors in Major Depressive Disorder. *CurrNeuropharmacol*, 2017, 15, 57-70.

Jesusola E, Micalos P, Baguley IJ. Understanding the Pathophysiology of Depression: From Monoamines to the Neurogenesis Hypothesis model - are we there yet?, *BehavBrainRes*, 2017, 341, 79-90.

Lai R, Katalinic N, Glue P, Somogyi AA, Mitchell PB, Leyden J, Harper S, Loo CK. Pilot dose-response trial of i.v. ketamine in treatment-resistant depression. *World J Biol Psychiatry*, 2014, 15(7), 579–84.

Lang UE i Borgwardt S. Molecular Mechanisms of Depression: Perspectives on New Treatment Strategies. *Cell Physiol Biochem*, 2013, 31, 761-777.

Lapidus KAB, Soleimani L, Murrough JW. Novel Glutamatergic drugs for the treatment of mood disorders. *NeuropsychiatrDisTreat*, 2013, 9, 1101-1112.

Lapidus KA, Levitch CF, Pere, AM, Brallier JW, Parides MK, Soleimani L, Feder A, Iosifescu DV, Charney DS, Murrough JW. A randomized controlled trial of intranasal ketamine in major depressive disorder. *Biol Psychiatry*, 2014,76(12), 970-976.

Lener MS, Kadriu B, Zarate CA Jr. Ketamine and Beyond: Investigations into the Potential of Glutamatergic Agents to Treat Depression. *Drugs*, 2017, 77(4), 381-401.

Li L i Vlisides PE. 50 Years of Modulating the Mind. *Front Hum Neurosci*, 2016, 10,612.

Lima-Ojeda JM, Rupprecht R, Baghai TC. Neurobiology of depression: A neurodevelopmentalapproach. *World J BiolPsychiatry*, 2018, 19(5), 349-359.

Lindemann L, Porter RH, Scharf SH, Kuennecke B, Bruns A, von Kienlin M, Harrison AC, Paehler A, Funk C, Gloge A, Schneider M, Parrot NJ, Polonchuk L, Niederhauser U, Morairty SR, Kilduff TS, Vieira E, Kolczewski S, Wichmann J, Hartung T, Honer M, Borroni E, Moreau JL, Prinssen E, Spooren W, Wettstein JG, Jaeschke G. Pharmacology of Basimglurant (RO4917523, RG7090), a Unique Metabotropic Glutamate Receptor 5 Negative

Allosteric Modulator in Clinical Development for Depressions. *J Pharmacol Exp Ther*, 2015, 353, 213-233.

Loo CK, Galvez V, O'Keefe E, Mitchell PB, Hadzi-Pavlovic D, Leyden J, Harper S, Somogyi AA, Lai R, Weickert CS, Glue P. Placebo-controlled pilot trial testing dose titration and intravenous, intramuscular and subcutaneous routes for ketamine in depression. *Acta Psychiatr Scand*, 2016, 134(1), 48–56.

Machado-Vieira R, Henter ID, Zarate CA Jr., New Targets for RapidAntidepressantAction, *ProgNeurobiol*, 2015, 152, 21-37.

Moskal JR, Burgdorf JS, Stanton PK, Kroes RA, Disterhoft JF, Burch RM, Khan MA. The Development of Rapastinel (Formerly GLYX-13); A Rapid Acting and Long Lasting Antidepressant. *CurrNeuropharmacol*, 2017,15, 47-56.

Murrough JW, Iosifescu DV, Chang LC, Al Jurdi RK, Green CE, Perez AM, Iqbal S, Pillemer S, Foulkes A, Shah A, Charney DS, Mathew SJ. Antidepressant efficacy of ketamine in treatment-resistant major depression: a two-site randomized controlled trial. *Am J Psychiatry*, 2013,170(10), 1134-1142.

Murrough JW, Perez AM, Pillemer S, Stern J, Parides MK, aan het Rot M, Collins KA, Mathew SJ, Charney DS, Iosifescu DV. Rapid and longer-term antidepressant effects of repeated ketamine infusions in treatment-resistant major depression. *Biol Psychiatry*, 2013,74(4), 250-256.

New Antidepressants (2018): DrugsInClinicalTrials, 2018., https://mentalhealthdaily.com, pristupljeno 26.6.2018.

New Antidepressant NRX-1074 (NMDA Receptor Modulator) In Development, 2014., https://mentalhealthdaily.com, pristupljeno 26.6.2018.

Popoli M, Yan Z, McEwen B, Sanacora G. The stressed synapse: the impact of stress and glucocorticoids on glutamate transmission. *Nat Rev Neurosci*, 2011, 13(1), 22-37.

Quiroz JA, Tamburri P, Deptula D. Efficacy and Safety of Basimglurant as Adjunctive Therapy for Major DepressionA Randomized Clinical Trial. *JAMA Psychiatry*, 2016, 73(7), 675-684.

Rasmussen KG, Lineberry TW, Galardy CW, Kung S, Lapid MI, Palmer BA, Ritter MJ, Schak KM, Sola CL, Hanson AJ, Frye MA. Serial infusions of low-dose ketamine for major depression. *J. Psychopharmacol (Oxford)*, 2013, 27(5), 444- 450.

Ruppa KB, King D, Olson RE. NMDA Antagonists of GluN2B Subtype and Modulators of GluN2A, GluN2C, and GluN2D Subtypes—Recent Results and Developments. U: Annual ReportsinMedicinalChemistry, vol. 47, Desai MC(ur),Cambrige, SAD,AcademicPress, 2012, str: 89-103

Santarsieri D, Schwartz TL. Antidepressant efficacy and side-effect burden: a quick guide for clinicians. *DrugsContext*, 2015, 4, 212290.

Sleigh J, Harvey M, Voss L, Denny B. Ketamine - More mechanisms of action than just NMDA blockade. *Trends in Anaesthesia and Critical Care*, 2014, 4, 76-81.

Stasiuk W, Szopa A, Serefko A, Wyska E, Świąder K, Dudka J, Wlaź P, Poleszak E. Influence of the selective antagonist of the NR2B subunit of the NMDA receptor, traxoprodil, on the antidepressant-like activity of desipramine, paroxetine, milnacipran, and bupropion in mice. *J NeuralTransm*, 2017,124, 387–396.

Valentine GW, Mason GF, Gomez R, Fasula M, Watzl J, Pittman B, Krystal JH, Sanacora G, The antidepressant effect of ketamine is not associated with changes in occipital amino acid neurotransmitter content as measured by [(1)H]-MRS. *PsychiatryRes*, 2011,191(2), 122-127.

Zanos P, Piantadosi SC, Wu H, Pribut HJ, Dell MJ, Can A, Snodgrass HR, Zarate CA Jr., Schwarcz R, Gould TD. The Prodrug 4-Chlorokynurenine Causes Ketamine-Like Antidepressant Effects, but Not Side Effects, by NMDA/GlycineB-Site Inhibition. *J Pharmacol Exp Ther*, 2015, 355,76–85.

Zarate CA Jr., Singh JB, Carlson PJ, Brutsche NE, Ameli R, Luckenbaugh DA, Charney DS, Manji HK. A randomized trial of an N-methyl-D-aspartate antagonist in treatment-resistant major depression. *Arch Gen Psychiatry*, 2006, 63(8), 856-864.

Izvori slika:

Apimostinel, https://www.wikipedia.org, pristupljeno 5.7.2018.

Basimglurant, https://www.wikipedia.org, pristupljeno 5.7.2018.

Dextrometorphane, https://www.wikipedia.org, pristupljeno 5.7.2018.

Ketamine, https://www.wikipedia.org, pristupljeno 5.7.2018.

Lanicemine, https://www.wikipedia.org, pristupljeno 5.7.2018.

ORG-26576, https://www.wikipedia.org, pristupljeno 5.7.2018.

Quinidine, https://www.wikipedia.org, 5.7.2018.

Rapastinel, https://www.wikipedia.org, pristupljeno 5.7.2018.

Rislenemdaz, https://www.wikipedia.org, pristupljeno 5.7.2018.

Traxoprodil, https://www.wikipedia.org, pristupljeno 5.7.2018.

VistaGen - Nanocap CNS Drug Chasing Ketamine Fame, 2018, https://seekingalpha.com, pristupljeno 5.7.2018.

7. Sažetak/Summary

Depresija je heterogeni sindrom, težak poremećaj raspoloženja karakteriziran simptomima poput tuge, gubitka interesa, osjećaja krivnje, anhedonije, niskog samopouzdanja i slabe koncentracije, a smatra se kako čak 4,7% svjetske populacije pati od te širokorasprostranjene psihičke bolesti. Do depresije dolazi uslijed disfunkcije hipotalamično-hipofizno-adrenalne osi, glutamatne hiperfunkcije, abnormalne ekspresijemoždanog neurotropnog faktora, te disbalansa monoaminskog sustava u središnjem živčanom sustavu. Svim aktualnim antidepresivima na tržištu treba 3 do 4 tjedna da počnu djelovati, a osim širokog spektra neželjenih učinaka koji negativno utječu na suradljivost bolesnika, velik je broj oboljelih koji su rezistentni na postojeću farmakoterapiju. Stoga je pronalazak novih, uspješnijih antidepresiva imperativ, kako za istraživače, tako i za kliničare i oboljele. Predvodnik potencijalne nove generacije antidepresiva s brzim (trenutnim) antidepresivnim učinkom je ketamin, no zbog nuspojava poput psihotomimetskih i disocijativnih učinaka, kao i potencijala zlouporabe, traže se podnošljiviji i sigurniji lijekovi. Istraživanje mehanizma djelovanja pokazano je da ketamin nekompetitivno blokira glutamatni NMDA receptor, a aktivira AMPA, pa su sintetizirani novi spojevi koji bi dijelili taj mehanizam. S obzirom na strukturne karakteristike NMDA ionotropnog receptora te moguća različita vezna mjesta za ligande na tom proteinskom kompleksu, ciljano su dizajnirani spojevi koji bi trebali više ili manje selektivno djelovati na određeno vezno mjesto na receptoru, te posljedično modulirati unutarstaničnu signalizaciju na način da ona u konačnici rezultira zadovoljavajućim antidepresivnim učinkom, uz izostanak tipičnih nuspojava. Najviše istraživanja napravljeno je sa spojevima koji su dizajnirani kao antagonisti GluN2B podjedinice NMDA receptora. Međutim, premda su ušli u klinička istraživanja, niti traksoprodil, niti rislenemdaz nisu ispunili primarne terapijske ciljeve. Skupina spojeva koja najviše obećava su modulatori glicinskog mjesta NMDA receptora. Parcijalni agonist glicinskog mjesta rapastinel te njegov analog za oralnu primjenu apimostinel pokazuju zadovoljavajuće rezultate u fazama kliničkih istraživanja te su očekivanja znanstvene javnosti najveća upravo za te spojeve. Modulatori metabotropnih glutamatnih receptora (mGluR), izuzev negativnog alosteričkog modulatora basimgluranta koji se još procjenjuje u kliničkim istraživanjima, nisu pokazali zadovoljavajući antidepresivni učinak te im je zaustavljen daljnji razvoj.

Čini se da je potraga za novim antidepresivom s idealnim farmakološkim i terapijskim profilom i dalje veliki izazov, no rezultati istraživanja ipak daju nadu da ćemo u skoroj budućnosti govoriti o depresiji kao uspješno liječenoj bolesti za sve oboljele.

Depression is a mood disorder characterized by symptoms such as sadness, loss of interest, feelings of guilt, anhedonia, low self-esteem and poor concentration, and it is believed that as many as 4.7% of the world's population suffer from this widespread mental illness. Depression may be caused by hypothalamic-pituitary-adrenal axis dysfunction, glutamate hyperfunction, , abnormal expression of brain derived neurotrophic factor, and abnormalities of the monoamine system in the central nervous system. All current antidepressants on the market can take 3 to 4 weeks to become effective, and apart from a wide spectrum of adverse effects that negatively affect patient compliance, there is a large number of patients who are resistant to existing pharmacotherapy.Therefore, finding new, more successful antidepressants is an imperative for researchers, clinicians and patients. The leader of a potential new generation of antidepressants with a fast (immediate) antidepressant effect is ketamine, but due to side effects such as psychotomimetic and dissociative effects as well as potentials of abuse, more tolerable and safer medications are required. By studying the mechanism of action, it was shown that ketamine noncompetitively blocks glutamate NMDA receptor and activates AMPA receptor, and new compounds were synthesized to work with that mechanism. Given the structural characteristics of the NMDA ionotropic receptor and possible different binding sites for the ligands on that protein complex, target compounds are designed which should more or less selectively act on a particular binding site and consequently modulate intracellular signaling in a manner that ultimately results in satisfactory antidepressant effect, with the absence of typical side effects. Most studies have been conducted with compounds designed as antagonists of the GluN2B subunit of the NMDA receptor. However, although they have entered into clinical trials, neither traxoprodil nor rislenemdaz have met primary therapeutic goals. The most promising group of compounds are modulators of the glycine site of the NMDA receptor. The partial glycine site agonist rapastinel and its analogue for oral administration apimostinel show satisfactory results in the phases of clinical research and the expectations of the scientific public are greatest for those compounds. Metabotropic glutamate receptor (mGluR) modulators, with the exception of the negative allosteric modulator basimglurant still being evaluated in clinical studies, did not show a satisfactory antidepressant effect anddevelopment of nearly all of them was discontinued.

The search for a new antidepressant with an ideal pharmacological and therapeutic profile seems to be a big challenge, but the results of the research give hope that in the near future we will be able to talk about depression as a successfully treated illness for all patients.

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

Diplomski rad

MODULATORI GLUTAMATNOG SUSTAVA KAO ANTIDEPRESIVI S BRZIM UČINKOM

Davor Brkljačić

SAŽETAK

Depresija je heterogeni sindrom, težak poremećaj raspoloženja karakteriziran simptomima poput tuge, gubitka interesa, osjećaja krivnje, anhedonije, niskog samopouzdanja i slabe koncentracije, a smatra se kako čak 4,7% svjetske populacije pati od te širokorasprostranjene psihičke bolesti. Do depresije dolazi uslijed disfunkcije hipotalamično-hipofizno-adrenalne osi, glutamatne hiperfunkcije, abnormalne ekspresije moždanog neurotropnog faktora, te disbalansa monoaminskog sustava u središnjem živčanom sustavu. Svim aktualnim antidepresivima na tržištu treba 3 do 4 tjedna da počnu djelovati, a osim širokog spektra neželjenih učinaka koji negativno utječu na suradljivost bolesnika, velik je broj oboljelih koji su rezistentni na postojeću farmakoterapiju. Stoga je pronalazak novih, uspješnijih antidepresiva imperativ, kako za istraživače, tako i za kliničare i oboljele. Predvodnik potencijalne nove generacije antidepresiva s brzim (trenutnim) antidepresivnim učinkom je ketamin, no zbog nuspojava poput psihotomimetskih i disocijativnih učinaka, kao i potencijala zlouporabe, traže se podnošljiviji i sigurniji lijekovi. Istraživanje mehanizma djelovanja pokazano je da ketamin nekompetitivno blokira glutamatni NMDA receptor, a aktivira AMPA, pa su sintetizirani novi spojevi koji bi dijelili taj mehanizam. S obzirom na strukturne karakteristike NMDA ionotropnog receptora te moguća različita vezna mjesta za ligande na tom proteinskom kompleksu, ciljano su dizajnirani spojevi koji bi trebali više ili manje selektivno djelovati na određeno vezno mjesto na receptoru, te posljedično modulirati unutarstaničnu signalizaciju na način da ona u konačnici rezultira zadovoljavajućim antidepresivnim učinkom, uz izostanak tipičnih nuspojava. Najviše istraživanja napravljeno je sa spojevima koji su dizajnirani kao antagonisti GluN2B podjedinice NMDA receptora. Međutim, premda su ušli u klinička istraživanja, niti traksoprodil, niti rislenemdaz nisu ispunili primarne terapijske ciljeve. Skupina spojeva koja najviše obećava su modulatori glicinskog mjesta NMDA receptora. Parcijalni agonist glicinskog mjesta rapastinel te njegov analog za oralnu primjenu apimostinel pokazuju zadovoljavajuće rezultate u fazama kliničkih istraživanja te su očekivanja znanstvene javnosti najveća upravo za te spojeve. Modulatori metabotropnih glutamatnih receptora (mGluR), izuzev negativnog alosteričkog modulatora basimgluranta koji se još procjenjuje u kliničkim istraživanjima, nisu pokazali zadovoljavajući antidepresivni učinak te im je zaustavljen daljnji razvoj. Čini se da je potraga za novim antidepresivom s idealnim farmakološkim i terapijskim profilom i dalje veliki izazov, no rezultati istraživanja ipak daju nadu da ćemo u skoroj budućnosti govoriti o depresiji kao uspješno liječenoj bolesti za sve oboljele.

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

Rad sadrži: 44 stranice, 17 grafičkih prikaza i 48 literaturnih navoda. Izvornik je na hrvatskom jeziku.

Ključne riječi: *depresija, antidepresivi, farmakokinetika, farmakodinamika, glutamatni sustav*

Mentor: **Dr. sc. Lidija Bach-Rojecky**, *izvanredni profesor Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.*

Ocjenjivači: **Dr. sc. Lidija Bach-Rojecky**, *izvanredni profesorSveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.*
Dr. sc. Maja Ortner Hadžiabdić, *docent Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.*
Dr. sc. Višnja Drinovac Vlah, *viši asistent Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.*

Rad prihvaćen: srpanj 2018.

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

Diploma thesis

GLUTAMATE SYSTEM MODULATORS AS RAPID ANTIDEPRESSANTS

Davor Brkljačić

SUMMARY

Depression is a mood disorder characterized by symptoms such as sadness, loss of interest, feelings of guilt, anhedonia, low self-esteem and poor concentration, and it is believed that as many as 4.7% of the world's population suffer from this widespread mental illness. Depression may be caused by hypothalamic-pituitary-adrenal axis dysfunction, glutamate hyperfunction, abnormal expression of brain derived neurotrophic factor, and abnormalities of the monoamine system in the central nervous system. All current antidepressants on the market can take 3 to 4 weeks to become effective, and apart from a wide spectrum of adverse effects that negatively affect patient compliance, there is a large number of patients who are resistant to existing pharmacotherapy. Therefore, finding new, more successful antidepressants is an imperative for researchers, clinicians and patients. The leader of a potential new generation of antidepressants with a fast (immediate) antidepressant effect is ketamine, but due to side effects such as psychotomimetic and dissociative effects as well as potentials of abuse, more tolerable and safer medications are required. By studying the mechanism of action, it was shown that ketamine noncompetitively blocks glutamate NMDA receptor and activates AMPA receptor, and new compounds were synthesized to work with that mechanism. Given the structural characteristics of the NMDA ionotropic receptor and possible different binding sites for the ligands on that protein complex, target compounds are designed which should more or less selectively act on a particular binding site and consequently modulate intracellular signaling in a manner that ultimately results in satisfactory antidepressant effect, with the absence of typical side effects. Most studies have been conducted with compounds designed as antagonists of the GluN2B subunit of the NMDA receptor. However, although they have entered into clinical trials, neither traxoprodil nor rislenemdaz have met primary therapeutic goals. The most promising group of compounds are modulators of the glycine site of the NMDA receptor. The partial glycine site agonist rapastinel and its analogue for oral administration apimostinel show satisfactory results in the phases of clinical research and the expectations of the scientific public are greatest for those compounds. Metabotropic glutamate receptor (mGluR) modulators, with the exception of the negative allosteric modulator basimglurant still being evaluated in clinical studies, did not show a satisfactory antidepressant effect and development of nearly all of them was discontinued. The search for a new antidepressant with an ideal pharmacological and therapeutic profile seems to be a big challenge, but the results of the research give hope that in the near future we will be able to talk about depression as a successfully treated illness for all patients.

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

Thesis includes: 44 pages, 17 figures, and 48 references. Original is in Croatian language.

Keywords: *Depression, antidepressants, pharmacokinetics, pharmacodynamics, glutamate system, NMDA receptor*

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

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

The thesis was accepted: July 2018.