

UDK 615 (497.11)

ISSN 0004-1963 (Štampano izd.)

ISSN 2217-8767 (Online)

# ARHIV ZA FARMACIJU

Godina 62

Broj 4

Beograd, 2012.

## ČASOPIS SAVEZA FARMACEUTSKIH UDRUŽENJA SRBIJE

TEMATSKI BROJ

- SPECIFIČNOSTI FAMAKOTERAPIJE U PEDIJATRIJI -

- BIOLOŠKI LEKOVI -

4/2012

# ARHIV ZA FARMACIJU

2012, Vol 62, N<sup>o</sup> 4

## SADRŽAJ – CONTENTS

### Stručni radovi - Professional papers

- Milica Bajčetić , Teodora Vidonja Uzelac	279
Raspoloživost, efikasnost i kvalitet lekova u pedijatriji	
Availability, quality and efficacy of drugs for use in pediatric patients	
- Radica Stepanović-Petrović, Maja Tomić	288
Primena analgetika i sedativa u pedijatriji	
Analgesics and sedatives in pediatric practice	
- Marina Milenković	299
Bakterijska rezistencija i primena antibiotika u pedijatriji	
Bacterial resistance and the use of antibiotics in pediatrics	
- Katarina Vučićević, Branislava Miljković	306
Farmakokinetički aspekti doziranja lekova u pedijatriji	
Pharmacokinetic aspects in dosing regimen in paediatrics	
- Brizita Đorđević, Sladana Šobajić	322
Primena dijetetskih suplemenata u pedijatrijskoj populaciji	
Use of dietary supplements among pediatric population	
- Jela Milić, Gordana Vuleta, Snežana Savić	332
Karakteristike farmaceutskih oblika lekova za decu – aspekti individualizacije terapije	
Characteristics of pediatric pharmaceutical dosage forms – aspects of individual therapy	
- Miroslav M. Savić	352
Biološki lekovi: tri decenije razvoja	
Biological medicines: three decades of progress	
- Branka Brzaković	364
Regulatorni aspekti bioloških lekova	
Biological medicinal products: regulatory perspective	
- Snežana Savić, Jela Milić	374
Biološki lekovi: farmaceutsko-tehnološke specifičnosti	
Biologics: pharmaceutical-technological specificities	
- Goran Radunović, Nemanja Damjanov	392
Biološki lekovi u lečenju reumatskih bolesti	
Biological agents in the treatment of rheumatic diseases	
- Nenad Ugrešić	408
Monoklonska antitela u terapiji raka dojke	
Monoclonal antibody in treatment of breast cancer	
- Miloš Žarković	416
Biološki lekovi u endokrinologiji	
Use of the biological drugs in endocrinology	

## Raspoloživost, efikasnost i kvalitet lekova u pedijatriji

Milica Bajčetić<sup>1,2</sup>, Teodora Vidonja Uzelac<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Univerzitet u Beogradu - Medicinski fakultet, Institut za farmakologiju, kliničku farmakologiju i toksikologiju

<sup>2</sup> Jedinica za kliničku farmakologiju, Univerzitetska dečja klinika, Beograd

<sup>3</sup> Univerzitet u Beogradu, Institut za biološka istraživanja „Siniša Stanković”, Odeljenje za fiziologiju

---

### Kratak sadržaj

Ovaj rad je fokusiran na najznačajnije probleme savremene farmakoterapije u pedijatriji: nedostatak pedijatrijski dizajniranih i evaluiranih lekova, kao i nedostatak pedijatrijskih formulacija za decu mlađu od 12 godina. Dostupnost lekova koji se mogu koristiti u terapiji dece značajno je ograničena nedostatkom pedijatrijskih formulacija kako za oralnu tako i za parenteralnu primenu. Osim toga, veliki broj lekova koji se svakodnevno koristi u terapiji novorođene dece nije propisno evaluiran i upotrebljava se najčešće mimo propisane licence, što značajno utiče na efikasnost i bezbednost terapije. Osim toga, pojedine pomoćne supstance, koje u principu treba da budu farmakološki neaktivna jedinjenja, mogu izazvati ozbiljne neželjene efekte kod novorođenčadi i odojčadi. Doziranje lekova u formulacijama koje mogu da koriste deca, zasnovano na rezultatima pedijatrijskih kliničkih studija, imperativ je savremene farmakoterapije dece.

**Ključne reči:** deca, lekovi, pomoćne lekovite supstance, *off label* upotreba, dostupnost lekova.

---

Adresa za korespondenciju: Prof. dr Milica Bajčetić  
Medicinski fakultet, Beograd , P.O. Box 38, 11129 Belgrade 102, Serbia  
Telefon: +(381 11) 3643387 Fax: +(381 11) 3643397  
E-mail: [mbajcetic@doctor.com](mailto:mbajcetic@doctor.com)

Savremena upotreba lekova u terapiji oboljenja dece i novorođenčadi bazira se na lekovima koji nisu pedijatrijski dizajnirani i evaluirani tj. njihova efikasnost i bezbednost nije potvrđena u kliničkim ispitivanjima kod dece. Osim toga, i značajan nedostatak pedijatrijskih formulacija za decu mlađu od 12 godina doprineo je masovnoj primeni lekova bez i van upotrebne licence kod dece.

#### **Primena lekova van (*off label*) i bez upotrebne licence (*unlicensed*)**

Termin „terapijski siročići”, prvi put je upotrebio Shirkey 1968. godine, da bi ukazao na probleme neadekvatne farmakoterapije dece i novorođenčadi (1). Prvi zabeleženi neželjeni efekti primenjenih lekova kod dece datiraju još od 30-tih godina prošlog veka, kad je 107-oro dece umrlo nakon terapije eliksirim od sulfanilamida (2). Zbog slabe rastvorljivosti u vodi, sulfonamid je rastvaran u dietilenglikolu (antifrizu), za kojeg do tada nije bilo podataka o toksičnosti. U Kolumbiji, 1956. godine primena sulfonamida praćena je visokom stopom smrtnosti i porastom incidence kernikterusa kod prevremeno rođene dece (3). Sindrom „sivih beba” i pojava kardiovaskularnog kolapsa nakon primene hloramfenikola primećena je 1959. godine (4). Najveća tragedija dogodila se u periodu od 1959. do 1961. godine nakon primene talidomida kod trudnica i ona je upravo bila povod za uvođenje licence za lek (5).

Licenca za lek podrazumeva dokazanu efikasnost, bezbednost i kvalitet leka. Precizno definisano uputstvo za lek je rezultat adekvatnih dugogodišnjih pretkliničkih i kliničkih ispitivanja. Propisivanje lekova van tog uputstva, podrazumeva da terapija nije bazirana na dokazima već na osećaju, iskustvu i ekstrapolaciji. Primena lekova van i bez upotrebne licence je široko rasprostranjen fenomen karakterističan za populaciju novorođenčadi, dece, ali i za trudnice, tj. tokom intrauterinog rasta deteta (6,7). Zajednički imenitelj ovog fenomena je nedostatak adekvatnih kliničkih ispitivanja lekova za primenu kod novorođene dece, dece i trudnica. To je direktna posledica strogih etičkih zakona koji su praktično onemogućili sva istraživanja na deci i trudnicama do kraja 20. veka.

*Primena lekova van upotrebne licence* podrazumeva upotrebu leka van naznačenih indikacija, doza, načina primene, uzrasta pacijenta i kontraindikacija propisanih upotrebnom licencom za lek. *Nelicencirani lekovi* su lekovi koji se primenjuju kod novorođenčadi i dece bez odgovarajuće licence na tržištu, kao što su uvozni lekovi, hemikalije i novi preparati. Nedostatak pedijatrijskih formulacija jedan je od najčešćih razloga za nelicenciranu primenu lekova. Improvizovana priprema tečnih oblika lekova koje deca mogu da koriste usitnjavanjem tableta ili otvaranjem kapsula namenjenih za adultnu upotrebu, u lokalnim bolničkim apotekama je još jedan vid nelicencirane primene lekova.

Veliki broj istraživanja sprovedenih širom sveta ukazuju da je fenomen propisivanja lekova van i bez upotrebne licence zastupljen u svim oblastima

pedijatrijske farmakoterapije (6-18). U zavisnosti od terapijske oblasti, procenjuje se da između 50 i 90% lekova nikada nije evaluirano za primenu kod dece i novorođenčadi ali se svakodnevno koriste u praksi kao *off label* i *unlicensed* lekovi (6-18).

U periodu od 1990. do 2010. godine, u pedijatrijskim bolničkim odeljenjima procenat lekova primenjenih van upotrebne licence kretao se do 62%, u neonatološkim bolničkim odeljenjima do 88% i u primarnoj pedijatrijskoj praksi do 80% (18). Veliki broj istraživanja sprovedenih u različitim terapijskim oblastima medicine, starosnim grupama i geografskim oblastima, otkrile su da su novorođena deca najčešće lečeni pacijenti lekovama van i bez propisane licence (6-18). Procenat dece koja su primila najmanje jedan lek van i bez upotrebne licence kreće se od 36 do 92% u pedijatrijskim bolničkim odeljenjima, od 80 do 97% u neonatološkim bolničkim odeljenjima i od 11 do 37% u primarnoj praksi (18).

Najčešći razlog za primenu leka van upotrebne licence bio je neadekvatno doziranje, uzrast, indikacija i način aplikacije leka. Ovakav redosled bio je očekivan s obzirom da su odstupanja u doznom režimu česta i kod lekova koji su pedijatrijski evalurani tj. imaju određenu, indikovanu dozu za različite starosne uzraste.

Primena lekova van i bez upotrebe licence ispitana je i u pojedinim medicinskim oblastima pedijatrije, kao što je psihijatrija, pulmologija, terapija bola, onkologija i kardiologija (6-18).

Rezultati našeg istraživanja prvi su ukazali na fenomen nedostatka pedijatrijski dizajniranih i evaluiranih lekova za terapiju kardiovaskularnih oboljenja (8). Tokom dve godine praćenja upotrebe lekova na kardiološkom i kardiohirurškom pedijatrijskom odeljenju Univerziteske dečje klinike u Beogradu, najveći broj nelicenciranih i lekova primenjenih van upotrebne licence (*off label*) predstavljaju lekovi koji deluju na kardiovaskularni sistem. U odnosu na ukupan broj propisanih lekova, 47% medikamenata bilo je propisano van propisanog uputstva za lek, a 11% bez licence za primenu kod dece. Čak 76% dece primilo je bar jedan lek propisan van uputstva (*off label*) ili licence za lek. Nelicencirana primena lekova zabeležena je u najvećem procentu kod dece uzrasta od 2 do 11 godina (17 %). Najveći broj lekova van propisanog uputstva za lek (64%) propisano je novorođenoj deci (8).

Osim toga, ovo istraživanje ukazalo je na problem nedostatka pedijatrijskih formulacija kardiovaskularnih lekova za oralnu upotrebu, tj. da se 75% propisanih lekova priprema u bolničkim apotekama od farmaceutskih oblika (kapsula, tableta) dizajniranih za adultnu upotrebu. Ovakav način spravljanja lekova značajno utiče na greške u doziranju i pojavu neželjenih efekata (16). Aagaard and Hansen, pokazali su da je propisivanje lekova van upotrebne licence u Danskoj, u periodu od 1998. do 2007. godine, u vezi sa pojmom neželjenih efekata uključujući i smrtne ishode (17). Najveći procenat neželjenih dejstva prijavljen je kod adolescenata.

## **Nedostatak lekova dizajniranih za pedijatrijsku upotrebu.**

U neonatološkim bolničkim odeljenjima najčešći uzrok primene lekova van upotrebnice licence bile su indikacije (7,18). Specifična stanja u pedijatriji i neonatologiji zahtevaju i specifična terapijska sredstva. Za većinu takvih stanja upotrebljavaju se lekovi koji su dizajnirani za adultnu populaciju. Na primer, nesteroidni antiimflamatorni lek indometacin često se koristi u neonatologiji, ali ne za inflamatorna oboljenja već za nehirurško zatvaranje *ductusa arteriosus*-a. Ovaj lek se takođe često koristi i u terapiji Bartter-ovog sindroma kod odojčadi i dece. Teofilin se u neonatologiji ne koristi za terapiju astme, već kao prevencija apnee novorođenčadi. Dva druga poznata centralna stimulansa: kofein i doksapram se praktično koriste samo u neonatologiji u prevenciji apnee novorođenčadi. Jedan od retkih izuzetaka od ovakvog pravila je surfaktant, lek specijalno dizajniran za terapiju pedijatrijskih stanja - respiratornog distres sindroma. Međutim, uprkos visokom stepenu razvijenosti farmaceutske industrije, mi i dalje nemamo adekvatnu terapiju za uobičajena stanja kao sto su dijareja, bronhitis, srčana insuficijencija itd, koja se razlikuju od istih stanja kod odraslih (6,7,19).

## **Raspoloživost lekova koje mogu da koriste deca mlađa od 12 godina**

Značajan problem u terapiji kardiovaskularnih oboljenja kod dece predstavlja nedostatak fabrički proizvedenih oralnih i drugih preparata na tržištu za decu mlađu od 12 godina (20). Većina od postojećih lekova na tržištima zemalja sveta nije dostupna u obliku koji se može oralno ili parenteralno primeniti kod dece (21-25). Dostupni lekovi na tržištu uglavnom su dizajnirani za odrasle osobe pa su preparati za oralnu upotrebu mahom proizvedeni u oblicima koje deca do 12 godina ne mogu koristiti (tablete, kapsule). Na primer, kaptopril je na tržištu raspoloživ u obliku tableta od 12.5, 25, 50 i 100 mg što zadovoljava potrebe za dnevnim dozama kod odraslih. Kod odojčadi, doza za kaptopril se kreće od 0.1 do 0.3 mg po kilogramu telesne težine, pa tablete u ovim jačinama nisu primenjive. Naše istraživanje raspoloživosti oralnih preparata koje mogu da koriste deca mlađa od 12 godina obuhvatilo je tržišta SAD, Nemačke, Norveške i Srbije (25). Ova studija je pokazala da postoji izražena razlika u raspoloživosti pedijatrijskih oblika lekova izmedju Srbije i Norveške sa jedne strane i Nemačke i SAD sa druge. Istraživanje je pokazalo da tržište SAD ima najviše registrovanih lekova za oralnu upotrebu koje mogu da koriste deca do 12 godine života (47,7%), zatim sledi Nemačka (39,1%) dok je dostupnost u Srbiji i Norveškoj identična tj. manja od 30% u odnosu na registrovane lekove za oralnu upotrebu. Imajući u vidu da Norveška ima značajno viši nacionalni dohodak, čak i u odnosu na Nemačku, očigledno je da veličina tržišta i finansijska dobit kompanije diktiraju i raspoloživost oralnih preparata za decu. U tom kontekstu važno je napomenuti da sva četiri tržišta imaju različitu regulativu. U SAD je 1998. godine donet zakon koji omogućava sprovođenje kliničkih ispitivanja kod

dece i finansijski stimuliše kompanije da lek proizvode i registruju u odgovarajućem pedijatrijskom obliku. Sličan zakon donet je 2007. u EU. Norveška i Srbija nisu članovi EU. U Srbiji ne postoji ni jedan pedijatrijski evaluiran lek u formulaciji koju mogu da koriste oralno deca mlađa od 12 godina za terapiju kardiovaskularnih oboljenja. U ostalim ispitanim zemljama najmanju raspoloživost, svega od 12 do 14%, imaju lekovi za terapiju kardiovaskularnih oboljenja kod dece u odnosu na ostale terapijske grupe lekova. Osim toga, ovo istraživanje je pokazalo da čak i u SAD gde je raspoloživost pedijatrijskih lekova najveća, postoji čak 6 terapijskih podgrupa prema ATC klasifikaciji u kojima nema ni jednog raspoloživog pedijatrijskog oblika leka. Naprimer, ni jedan antihipertenziv u obliku za oralnu upotrebu koji dete do 12 godina može koristiti nije dostupan ni u jednoj od 4 ispitane države (25). To znači da se deca sa hipertenzijom, širom sveta, leče preparatima koji se pripremaju u lokalnim apotekama i čiji kvalitet, efikasnost i bezbednost nisu ekvivalentni originalnim oralnim preparatima koje koriste odrasli.

Takođe, lekovi za parenteralnu primenu uglavnom su prekoncentrovani za decu (20). Iz tog razloga deca se uglavnom leče „domaćim proizvodima” koji se spravljaju u lokalnim apotekama. Na primer, digoksin za parenteralnu primenu raspoloživ je samo u koncentraciji od 500 mikrograma u 2 ml. Odmeravanje malih zapremina poput 4 do 8 mikrograma po kilogramu, koliko iznosi dnevna doza za novorođenu decu može izazvati intoksikaciju. Česta trovanja „modifikovanim” digoksinom nakon parenteralne primene opisana su u literaturi (26). Nedostatak komercijalnih preparata, pedijatrijski dizajniranih lekova, veliki je bezbednosni problem jer se brojni lekovi pripremaju u lokalnim apotekama iz tableta i kapsula, a injekcioni rastvori razblažuju, pa su biološka raspoloživost i kvalitet ovih preparata krajnje nepouzdani. Istraživanje Mulla-e i saradnika pokazalo je da se u engleskim bolnicama primenjuju nelicencirane formulacije kaptopril-a za koje ne postoje podaci o bioraspoloživosti, što značajno može uticati na ishod hirurških intervencija na srcu kod ovih pacijenata (27). Takođe, usled nedostatka komercijalnih lekova za oralnu upotrebu kod dece, u praksi se neretko dešava da se lekovi za parenteralnu primenu za odrasle upotrebljavaju kao oralni preparati kod bolesne dece (*off label* u odnosu na način primene) što ih izlaže povećanom riziku od neželjenih dejstava leka (7,8). Osim toga, pojedini oblici lekova, kao što su npr. film tablete, ne smeju se deliti ni usitnjavati, pa to dodatno smanjuje izbor, čak i za improvizovane preparate (20).

Improvizovana priprema tečnih oblika lekova u lokalnim apotekama usitnjavanjem tableta ili otvaranjem kapsula namenjenih za adultnu upotrebu, doprinosi riziku od neefikasnosti i nepredvidivoj bezbednosti terapije (20). Deljenje tableta može da dovede do pogrešnog doziranja leka, drobljenje tableta može da utiče na resorpciju leka, a sve to može rezultirati terapijskim neuspehom (28). Ovakvi, modifikovani preparati označavaju se kao nelicencirani lekovi ukoliko modifikacija komercijalnog

preparata nije testirana. Istraživanje dve nelicencirane formulacije kaptoprila u poređenju sa komercijalnom tabletom pokazalo je značajne razlike u bioekvivalenciji, što utiče na terapijski ishod (29). Za modifikovane preparate koji će se koristiti za i.v. primenu neophodno je testirati sterilnost i pirogenost. Obavezni testovi za lekove za oralnu primenu su: potentnost aktivne supstance, bioraspoloživost i stabilnost pod normalnim uslovima (20). Nažalost, u praksi podaci o bioraspoloživosti, efikasnosti i bezbednosti *ekstempore* pripremljenih lekova uglavnom nedostaju. Santovena i saradnici ispitivali su pet različitih oralnih formulacija hidrochlortiazida, pripremljenih tradicionalnom tehnikom u lokalnoj apoteci, za terapiju srčane insuficijencije kod beba (30). Od pet formulacija hidrochlortiazida, samo je jedna sadržavala pravu dozu nakon tri nedelje čuvanja na temperaturi od 5°C, zaštićena od svetlosti. (30)

## Pomoćna lekovita sredstva u pedijatrijskim formulacijama

Osim toga, ekscipijens, pomoćna supstanca koja se koristi za *extempore* pripremu leka, koja u principu treba da je farmakološki neaktivna supstanca, može izazvati neželjena dejstva kod dece. U literaturi je opisano da kod dece, naročito mlađeg uzrasta: propilen glikol može uzrokovati hiperosmolalnost; zasladičivači mogu povećati nivoje šećera u krvi, sobitol i ksitol osmotsku dijareju, laktaza intoleranciju itd. (31,32). U odnosu na aktivne supstance, u većini zemalja upotreba pomoćnih supstanci nije dobro definisana. Istraživanje *ESNEE Point prevalence study* sprovedeno u 27 zemalja Evropske unije, Srbiji, Švajcarskoj, Norveskoj i Islandu pružiće informacije o individualnoj izloženosti neonatusa neadekvatnim pomoćnim supstancama, kao i o neophodnosti zamene sa lekovima koji sadrže bezbedne pomoćne supstance (33). Preliminarni rezultati istraživanja u Srbiji ukazuju da je čak 60% lekova koji se koriste u terapiji neonatusa neadekvatno zbog pomoćnih lekovitih supstanci koje su njihov sastavni deo (34).

## Zaključak

Sprovođenje adekvatnih kliničkih ispitivanja lekova kod dece različitog uzrasta, stimulacija razvoja lekova dizajniranih za decu, proizvodnja formulacija lekova koje deca mogu da koriste, kao i regulativa koja bi propisala esencijalnu listu proizvoda koji moraju biti dostupni na tržištu svake zemlje, osnovna je strategija unapređenja efikasne i bezbedne farmakoterapije oboljenja kod dece globalno.

Formiranje stručnog tela koje bi odlučivalo o upotrebi lekova, uključujući i *off label* primenu u terapiji pedijatrijskih oboljenja, što je inače praksa u zemljama EU, predstavlja prioritet u unapređenju farmakoterapije oboljenja kod dece u Srbiji. Po ugledu na SAD i EU, ovo telo bi trebalo da bude sastavljeno od stručnjaka pedijatrijske farmakoterapije koji zbog specifičnosti problematike jedini mogu da procene značaj

primene pojedinih lekova, pa i onih koji formalno nemaju indikaciju, ali se u svetu primenjuju kao lekovi prvog izbora u terapiji pojedinih oboljenja.

## Zahvalnica

Ovaj rad podržan je od strane Ministarstva za nauku i tehnologiju Republike Srbije projekat broj 173014

## Literatura

1. Shirkey H. Therapeutic orphans. *J Pediatr* 1968;72:119-20.
2. Geling EMK, Cannon PR. Pathologic effects of elixir of sulfanilamide poisoning. *JAMA* 1938;111:919-26.
3. Andersen DH, Blanc WA, Crozier DN, Silverman WA. A difference in mortality rate and incidence of kernicterus among premature infants allotted to two prophylactic antibacterial regimens. *Pediatrics*.1956 Oct;18(4):614-25.
4. Suterland JM. Fatal cardiovascular collapse of infants receiving large amounts of chloramphenicol. *AMA J Dis Child.* 1959 Jun;97(6):761-7.
5. Turner S, Nunn A:J, Choonara I. Unlicensed drug use in children in the UK. *Pediatr Perinat Drug Ther.* 1997;1:52-55
6. Kimland E, Odlind V. Off-label drug use in pediatric patients. *Clin Pharmacol Ther* 2012; 91(5): 796-801.
7. Cuzzolin L, Atzei A, Fanos V. Off-label and unlicensed prescribing for newborns and children in different settings: a review of the literature and a consideration about drug safety. *Expert Opin Drug Saf.* 2006;5:703-18.
8. Bajcetic M, Jelisavcic M, Mitrovic J, *et al.* Off label and unlicensed drugs use in paediatric cardiology. *Eur J Clin Pharmacol* 2005; 61: 775-9.
9. Kimland E, Nydert P, Odlind V, Böttiger Y, Lindemalm S. Paediatric drug use with focus on off-label prescriptions at Swedish hospitals—a nationwide study. *Acta Paediatr* 2012; 101(7): 772-8.
10. Lass J, Kää R, Jögi K, Varenni H, Metsvaht T, Lutsar I. Drug utilisation pattern and off-label use of medicines in Estonian neonatal units. *Eur J Clin Pharmacol* 2011; 67(12): 1263–71.
11. Hsien L, Bredemann A, Frobel AK, Heusch A, Schmidt KG, Läer S. Off-label drug use among hospitalised children: identifying areas with the highest need for research. *Pharm World Sci* 2008; 30(5): 497-502.
12. Di Paolo ER, Stoetter H, Cotting J, *et al.* Unlicensed and off-label drug use in a Swiss paediatric university hospital. *Swiss Med Wkly* 2006; 136: 218–22.
13. Pandolfini C, Impicciatore P, Provasi D, Rocchi F, Campi R, Bonati M. Off-label use of drugs in Italy: a prospective, observational and multicentre study. *Acta Paediatr* 2002; 91(3): 339–47.
14. O'Donnell CP, Stone RJ, Morley CJ. Unlicensed and off-label drug use in an Australian neonatal intensive care unit. *Pediatrics* 2002; 110(5): e52.
15. 't Jong GW, Vulto AG, de Hoog M, Schimmel KJ, Tibboel D, van den Anker JN. A survey of the use of off-label and unlicensed drugs in a Dutch children's hospital. *Pediatrics* 2001; 108(5): 1089–93.

16. Mason J, Pirmohamed M, Nunn T. Off-label and unlicensed medicine use and adverse drug reactions in children: a narrative review of the literature. *Eur J Clin Pharmacol* 2012; 68(1): 21-8.
17. Aagaard L, Hansen EH. Prescribing of medicines in the Danish paediatric population outwith the licensed age group: characteristics of adverse drug reactions. *Br J Clin Pharmacol* 2011; 71(5): 751-7.
18. Bajčetić M. Primena lekova van i bez upotrebe licence u neonatologiji i pedijatriji. *Klinički seminari 2007.*, Beograd 2008:128-135.
19. Bajcetic M, Kokic Nikolic A, Djukic M, *et al.* Effects of carvedilol on left ventricular function and oxidative stress in infants and children with idiopathic dilated cardiomyopathy: a 12-month, two-center, open-label study. *Clin Ther* 2008; 30: 702-14.
20. Nahata MC. Drug formulations. In: Yaffe SJ, Aranda JV, Eds. *Neonatal and pediatric pharmacology: therapeutic principles in practice*, 4<sup>th</sup> ed. LWW: Philadelphia, PA 2011; pp. 121-9.
21. van Riet-Nales DA, de Jager KE, Schobben AF, Egberts TC, Rademaker CM. The availability and age-appropriateness of medicines authorized for children in The Netherlands. *Br J Clin Pharmacol* 2011; 72(3): 465-73.
22. Balakrishnan K, Tordoff J, Norris P, Reith D. Establishing a baseline for the monitoring of medicines availability for children in the UK: 1998-2002. *Br J Clin Pharmacol* 2007; 63(1): 85-91.
23. Chui J, Tordoff J, Reith D. Changes in availability of paediatric medicines in Australia between 1998 and 2002. *Br J Clin Pharmacol* 2005; 59(6): 736-42.
24. Chui J, Tordoff J, Kennedy J, Reith D. Trends in accessibility to medicines for children in New Zealand: 1998-2002. *Br J Clin Pharmacol* 2004; 57(3): 322-7.
25. Bajcetic M, Kalikstad B, Jovanovic I, Brajovic M, Kearns GL, van den Anker J. Large differences in the availability of oral formulations labelled for use in young children in Serbia, Norway, Germany, and the USA. *Curr Pharm Des* 2012; in press
26. Kozer E, Scolnik D, Keays T, Shi K, Luk T, Koren G. Large errors in the dosing of medications for children. *N Engl J Med* 2002; 346(15): 1175-6.
27. Mulla H, Tofeig M, Bu'Lock F, Samani N, Pandya HC. Variations in captopril formulations used to treat children with heart failure: a survey in the United kingdom. *Arch Dis Child* 2007; 92(5): 409-11.
28. Breitkreutz J, Wessel T, Boos J. Dosage forms for peroral drug administration to children. *Paediatr Perinatal Drug Ther* 1999; 3: 25-33.
29. Mulla H, Hussain N, Tanna S, *et al.* Assessment of liquid captopril formulations used in children. *Arch Dis Child* 2011; 96: 293-6.
30. Santoveña A, Hernández-Paiz Z, Fariña JB. Design of a pediatric oral formulation with a low proportion of hydrochlorothiazide. *Int J Pharm* 2012; 423(2): 360-4.
31. Salunke S, Giacoia G, Tuleu C. The STEP (safety and toxicity of excipients for paediatrics) database. Part 1-A need assessment. *Int J Pharm* 2012; In press
32. Alkahtani S, Sammons H, Choonara I. Epidemics of acute renal failure in children (diethylene glycol toxicity). *Arch Dis Child* 2010; 95(12): 1062-4.
33. Turner M. ESNEE Point Prevalence Study. Available at: <http://public.ukcrn.org.uk/search/StudyDetail.aspx?StudyID=12123>. Accessed: August 7<sup>th</sup> 2012.
34. Bajcetic M. European study of neonatal exposure to excipients, ESNEE. Serbian preliminary none publish data.

# **Availability, quality and efficacy of drugs for use in pediatric patients**

**Milica Bajčetić<sup>1,2</sup> Teodora Vidonja Uzelac<sup>3</sup>**

<sup>1</sup>Clinical Pharmacology Unit, University Children's Hospital, Belgrade, Serbia.

<sup>2</sup>Department of Pharmacology, Clinical Pharmacology and Toxicology, School of Medicine, University of Belgrade, Serbia.

<sup>3</sup>Department of Physiology, Institute for Biological Research „Siniša Stanković”, University, Serbia.

---

## **Summary**

This paper is focused on the most prominent problems of the contemporary pediatric pharmacotherapy: the lack of pediatically designed and evaluated drugs, as well as the lack of pediatric formulations for children under 12 years of age. The availability of drugs that can be used in the treatment of children is significantly limited with the lack of pediatric formulations both for oral and parenteral use. Besides that, a majority of drugs that are used in the therapy of neonates and children's are not properly evaluated, so they are used off-label and unlicensed, which significantly influences efficacy and safety of a therapy. In addition, certain excipients that should be pharmacologically inactive can eventually cause severe adverse effects in neonates and infants. The dosing of drugs in formulations that can be used by children, based on results of pediatric clinical studies, is the utmost imperative of the contemporary pediatric pharmacotherapy.

**Key words:** children, drugs, excipients, off-label use, drug availability.

---

## Primena analgetika i sedativa u pedijatriji

**Radica Stepanović-Petrović, Maja Tomić**

Univerzitet u Beogradu - Farmaceutski fakultet, Katedra za farmakologiju,  
Vojvode Stepe 450, POB 146, 11221 Beograd , Srbija

E-mail: [racabbr@eunet.rs](mailto:racabbr@eunet.rs)

---

### Kratak sadržaj

Deca, kao i odrasli, mogu da iskuse različite vrste akutnih i hroničnih bolova. Percepcija bola u dece je kompleksna i često je taj bol teško izmeriti. Za merenje bola koriste se vizuelne, numeričke, ili verbalno-deskriptivne skale. Bol može da se kontroliše primenom različitih farmakoloških i nefarmakoloških mera. Nesteroidni antiinflamatorni lekovi (NSAIL) koriste se za lečenje blagih do umerenih bolova u dece, opioidni analgetici za umerene i jake bolove, dok se za hronične neuropatske bolove koriste adjuvantni analgetici. Sedativi/analgetici se primenjuju u pedijatriji i za ublažavanje straha i bola u bolnim dijagnostičkim i terapijskim procedurama.

***Ključne reči:*** sedativi, neopioidni analgetici, opioidni analgetici, adjuvantni analgetici

---

## Uvod

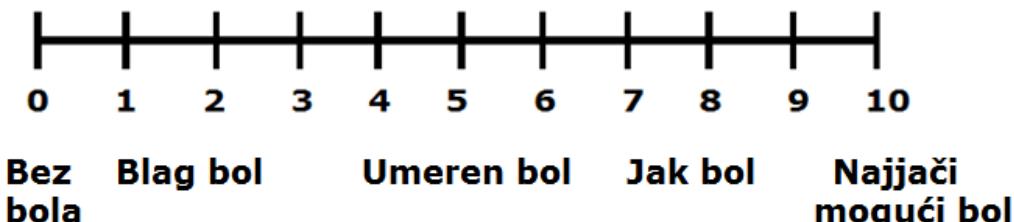
Deca, kao i odrasli, mogu da iskuse različite vrste akutnih i hroničnih bolova. Međutim, zastupljenost izvesnih vrsta bolova je različita u odraslih i dece. Tako, na primer, hronični bol u ledjima je najčešći u odraslih, dok su akutni bolovi: abdominalni bol, glavobolja i bolovi u nogama najčešći tipovi bola u dece. Neretko je terapija bola u dece neadekvatna zbog: 1. neznanja i predrasuda da „mala deca ne osećaju bol kao odrasli”, 2. teškog prepoznavanja bola u dece, 3. straha od neželjenih dejstava lekova i 4. problema dostupnosti lekova namenjenih deci. Savremeni pristup farmakoterapiji bola je multimodalан i preventivan. Multimodalан znači da se kombinuju analgetici različitog mehanizma dejstva čime se ostvaruje aditivni ili synergistički efekat, i povećava efikasnost a smanjuju neželjeni efekti lekova. Preventivan pristup bolu podrazumeva: 1. da je bol lakše sprečiti nego lečiti; 2. da energično lečenje akutnog bola sprečava nastanak hroničnog bola i 3. da treba preventivno primeniti analgetike kod bolnih dijagnostičkih i terapijskih procedura (1,2).

## Merenje bola

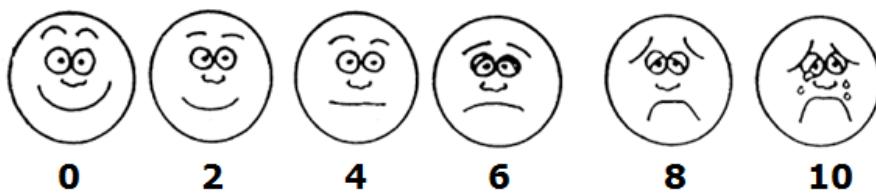
Određivanje intenziteta, kvaliteta i anatomske lokalizacije bola vrši se pre započinjanja terapije bola, kao i periodično tokom terapije, radi procene efikasnosti. Za merenje bola koriste se vizuelne, numeričke, ili verbalno-deskriptivne skale. *Vizuelna analogna skala (VAS)* sastoji se od jedne linije dužine 10 cm koja je na početku obeležena sa „0” (bez bola), a na kraju sa „10” (najjači mogući bol). Dete školskog uzrasta treba osećaj bola da izrazi kroz numerizaciju između ove dve krajnje tačke. Kod dece starije od 3 godine (kao i kod mentalno retardiranih osoba i starijih osoba sa kognitivnim poremećajima) primenjuje se *Wong-Baker FACES skala*, na kojoj treba pokazati na broj ili lice koje pokazuje stepen bola koji dete oseća (Slika 1).

*FLACC skala* (Face, Legs, Activity, Crying and Consolability) se primenjuje kod dece 2-7 godina, a podrazumeva merenje bola prema izrazu lica, položaju nogu, aktivnosti, plaču i tome kako se dete može utešiti (1).

## 0-10 Numerička skala bola



## Wong-Baker FACES skala bola



Slika 1. Skale za određivanje intenziteta bola.

## Lečenje bola

Farmakološki pristup lečenju bola u dece podrazumeva primenu neopiodnih, opioidnih i adjuvantnih analgetika, kao i primenu sedativa/analgetika za bolne dijagnostičke procedure.

### ***Neopiodni analgetici: paracetamol (acetaminofen) i nesteroidni antiinflamatorni lekovi (NSAIL)***

Paracetamol i NSAIL se koriste za lečenje akutnog i hroničnog bola blagog do umerenog intenziteta. Mehanizam analgezičkog/antipiretičkog dejstva paracetamola je nedovoljno jasan. NSAIL inhibiraju enzim ciklooksigenazu (COX) i produkciju prostaglandina, čime ostvaruju ne samo analgezičko već i antipiretičko i antiinflamatorno dejstvo. Kod primene jedne doze nema značajne razlike u analgezičkom efektu između paracetamola i NSAIL i prednost se daje paracetamolu.

Ali, imajući u vidu veliku individualnu varijabilnost u efikasnosti paracetamola i NSAIL, lek izbora je pitanje individualnog odgovora na lek. Zbog toga se pri izboru obično treba rukovoditi anamnestičkim podacima o prethodnoj delotvornosti paracetamola/NSAIL. NSAIL su efikasniji od paracetamola kod hroničnog bola kada je prisutna inflamacija. Preporučuje se da terapija počne sa manjom dozom NSAIL, a zatim se doza postepeno povećava sve dok se ne postigne željeni stepen analgezije. Povećanje doze može biti ograničeno pojavom dozno-zavisnih neželjenih efekata, kao i dostizanjem maksimalne analgetičke doze. Bol počinje da popušta ubrzo posle primene prve doze NSAIL, ali puni analgetički efekat postiže se posle jedne do dve nedelje. Za postizanje punog antiinflamatornog dejstva NSAIL potrebno je da prođe tri nedelje od početka terapije (3,4). U Tabeli I prikazani su ne opioidni analgetici koji se mogu primeniti u dece.

**Tabela I** Ne opioidni analgetici u terapiji bola kod odojčadi i dece

Lek	Doziranje	Napomene*
<b>Paracetamol</b>	10-15 mg/kg, p.o., na 4-6 h	Maks. dnevna doza je 75 mg/kg ili 4 g kod dece starije od 12 godina (uzima se manja doza). Kod perioperativne analgezije može se koristiti udarna rektalna doza od 40 mg/kg.
<b>Diklofenak</b>	1 mg/kg, p.o., na 8-12 h	Primenjivati uz oprez kod pacijenata sa oboljenjima jetre i bubrega, kompromitovanom srčanom funkcijom, hipertenzijom (može dovesti do zadržavanja tečnosti i edema), istorijom GI krvarenja ili ulceracija. Može dovesti do inhibicije agregacije trombocita. Uzimati uz hranu ili mleko kako bi se minimizirala GI neželjena dejstva. Maks. pojedinačna doza je 50 mg.
<b>Ibuprofen</b>	5-10 mg/kg, p.o., na 12 h	Maks. dnevna doza je 40 mg/kg, tako da se ne prekoraci doza od 2400 mg/dan. Važe iste napomene kao i za diklofenak.
<b>Naproksen**</b>	5-10 mg/kg, p.o., na 12 h	Maks. dnevna doza je 1g. Važe iste napomene kao i za diklofenak.

\* Povećanje doze ne opioidnog analgetika iznad preporučene terapijske doze dovodi do tzv. „ceiling“ efekta, gde se sa povećanjem doze ne beleži dalje povećanje analgetičkog efekta, ali se značajno povećava toksičnost i incidencija neželjenih efekata.

\*\* Doziranje se odnosi na terapiju juvenilnog artritisa.

Skraćenice: **p.o.**, peroralno; **GI**, gastrointestinalno

U terapijskim dozama paracetamol može da izazove manje ozbiljna, a retko ozbiljna neželjena dejstva. Paracetamol je najbezbedniji analgetik i antipiretik, samo ako se ne predozira, jer u tom slučaju može da izazove teško oštećenje jetre. Primena NSAIL u dece je ograničena njihovom potencijalnom toksičnošću, posebno mogućnošću krvarenja u gastrointestinalnom traktu (GIT), renalnom toksičnošću i pogoršanjem astme. Prema najnovijim podacima, NSAIL u dece ne povećavaju rizik od krvarenja, kada se primenjuju u kontroli postoperativnog bola. Gastrointestinalni i renalni neželjeni efekti su retki nakon kratkotrajne primene NSAIL. Hronična primena NSAIL, međutim, može izazvati ezofagitis, gastritis, duodenitis, i gastrični i duodenalni ulkus. Međutim, incidenca ovih komplikacija nije sasvim poznata. U jednoj kliničkoj studiji u kojoj je praćeno 14 dece koja su bila na hroničnoj terapiji NSAIL zbog juvenilnog reumatoидног artritisa, 27% se žalilo na GIT problem, a makroskopske lezije dijagnostikovane endoskopijom nađene su u 43% pacijenata (5). Rizik od pogoršanja astme kretao se od 2 do 30%, s tim što je veći rizik bio kod starije dece sa ozbilnjom astmom i istovremenim alergijskim rinitisom (2).

Zbog mogućnosti nastanka Reye-ovog sindroma, aspirin (antipiretik/analgetik/antiinflamator) se ne daje deci mlađoj od 12 godina u nekim zemljama, odnosno 16 godina (u našoj zemlji, Velikoj Britaniji i dr.) izuzev u izvesnim indikacijama kao što su Kawasaki sindrom i juvenilni idiopatski artritis. Reye-ov sindrom je oboljenje koje se karakteriše akutnom encefalopatijom i masnom degeneracijom jetre. Mnogi faktori mogu uticati na razvoj Reye-ovog sindroma, ali najvažniji su prethodno preležana ili aktuelna virusna infekcija (varičele, gastroenteritis, respiratorne virusne infekcije) (6,7).

*Od selektivnih inhibitora COX-2, (celekoksib i etorikoksib), etorikoksib može da se primenjuje u dece, ali samo iznad 16 godina, dok se primena celekoksiba ne preporučuje u dece (8).*

Kombinacije paracetamola sa opioidima ili NSAIL, kao i kombinacije NSAIL sa opioidima poboljšavaju analgeziju i mogu izazvati manje neželjene efekte.

### **Opioidni analgetici**

Kada se opioidi koriste pravilno i u medicinske svrhe, bezbedni su i efikasni lekovi. Opioidi ostvaruju analgetički efekat agonističkim ili pacijalno agonističkim dejstvom na nivou opioidnih receptora ( $\mu$ ,  $\delta$  i  $\kappa$ ) koji se nalaze na periferiji i u centralnom nervnom sistemu. Na taj način opioidi vrše inhibiciju ushodne transmisije nociceptivnih informacija od dorzalnih rogova kičmene moždine do mozga i aktivaciju

nishodnog sistema kontrole bola od srednjeg mozga preko medule do dorzalnih rogova kičmene moždine.

Morfin je glavni analgetik koji se primenjuje u dece koja pate od umerenog do jakog akutnog ili hroničnog kancerskog bola. Ogromno je kliničko iskustvo sa ovim lekom, koji ostaje zlatni standard među opioidima za kontrolu umerenog do jakog akutnog i hroničnog bola. Morfin je jeftin i dostupan lek u većini institucija, a bezbednosni profil ovog leka je dobro poznat. U Tabeli II dat je režim doziranja za morfin i druge opioidne analgetike koji se primenjuju u pedijatriji. Postoje velike razlike među pacijentima u dozi opioida koja je potrebna da antagonizuje bol i dovede do ispoljavanja neželjenih dejstava. Zato od početka primene treba podešavati dozu i interval doziranja do postizanja optimalnog efekta. **Neželjena dejstva opioidnih analgetika su:** mučnina i povraćanje, sedacija, opstipacija, depresija disanja, svrab (oslobađanje histamina), hipotenzija, urinarna retencija, rigiditet mišića, konvulzije u velikim dozama (petidin), halucinacije (pentazocin) i dr. Bol i opioidi su antagonisti. Bol štiti pacijenta od depresije disanja, sem u slučaju da je doza opioida veća od bola koji treba antagonizovati. Pri pravilnom doziranju (prema bolu) rizik od jatrogene zavisnosti je, pri hroničnoj primeni, minimalan. Tolerancija se javlja na sva neželjena dejstva izuzev na opstipaciju, koja se prevenira redovnom primenom laksanasa. Takođe se tolerancija javlja na analgetičke efekte, ali ista doza morfina (per os) može se primenjivati nedeljama ili mesecima sa nesmanjenom efikasnošću. Osim tolerancije, fizička zavisnost i apstinencijalni sindrom mogu se javiti pri hroničnoj primeni opioida, ali to ne treba da spreči primenu opioida. Psihička zavisnost je veoma retka kada se opioid prvi put primenjuje za otklanjanje bola. Ukrštena-tolerancija među opioidima postoji, ali među odgovarajućim  $\mu$  agonistima nije potpuna.

**Tabela II** Opioidni analgetici: uobičajene inicijalne doze kod odojčadi i dece

Lek	Ekvianalgetička doza (parenteralno)	Inicijalna doza (i.v.)	i.v. : p.o. odnos	Inicijalna doza (p.o./transdermalno)	Dužina trajanja dejstva
Kodein	130 mg	bez preporuke	/	1 mg/kg na 4 h (maks. pojedinačna doza je 1,5 mg/kg)	3-4 h
Fentanil*	100 µg	0,5-2,0 µg/kg/h, kao kontinuirana infuzija	/	12-25 µg (flaster)	72 h (flaster)
Hidromorfon	2 mg	15-20 µg/kg na 2-4 h	1:2	40-60 µg/kg na 2-4 h	2-4 h
Petidin†	75 mg	1,0-1,5 mg/kg na 3-4 h	1:4	1,0-1,5 mg/kg na 3-4 h (maks. doza 150 mg)	1-3 h
Morfin	10 mg	bolus doza = 0,05-0,10 mg/kg na 2-4 h; kontinuirana infuzija = 0,01-0,04 mg/kg/h	1:2	0,2-0,4 mg/kg na 4 h	3-4 h
Oksikodon	5-8 mg	bez preporuke	/	0,1-0,2 mg/kg na 3-4 h	3-4 h
Tramadol	100 mg	1-2 mg/kg na 4-6 h	/	1-2 mg/kg na 4-6 h (maks. 400 mg/dan)	4-6 h

*Napomena:* Doze se odnose na pacijente koji nisu prethodno primali opioidne analgetike. Za odojčad ispod 6 meseci početi sa 1/4 ili 1/3 preporučene doze i titrirati do željenog efekta.

*Skraćenice:* p.o., peroralno; i.v., intravenski.

\* Potencijalno visoko toksičan. Ne primenjuje se u tretmanu akutnog bola osim tokom anestezije. Ne bi ga trebalo prepisivati kod pacijenata koji nisu prethodno primali opioidne analgetike.

† Izbegavati kod pacijenata sa bubrežnim oštećenjima. Metaboliti mogu izazvati konvulzije.

*Fentanil* je potentan opioid, koji se kao i morfin vezuje za  $\mu$  opioidne receptore. Ovaj analgetik je 75-100 puta jači od morfina. Intravenski preparati fentanila se široko primenjuju u dece za sedaciju u dijagnostičkim i terapijskim procedurama, i za kontrolu perioperativnog bola. Fentanil je veoma pogodan za ove svrhe jer ima brzo otpočinjanje dejstva, kratko dejstvo i ne dovodi do oslobođanja histamina. Transdermalna forma fentanila uvedena je 1991. godine radi kontrole hroničnog bola. Transdermalni fentanil primenjen u dece može izazvati manji stepen konstipacije nego morfin. Ne postoje, međutim, randomizirane ili kontrolisane kohortne studije o primeni transdermalnih terapijskih sistema fentanila u pedijatriji, tako da se na konačni sud o efikasnosti i bezbednosti ovog farmaceutskog oblika fentanila u dece još uvek čeka (2,8,9,10).

Hidromorfon je potentan opioid, sa sporim otpočinjanjem dejstva i dugim dejstvom, zbog čega nije pogodan za sedaciju u dijagnostičkim i terapijskim procedurama. Ovaj lek se pre svega koristi za kontrolu bola u pacijenata kod kojih je odgovor na morfin postao slab.

### **Adjuvantni analgetici**

Adjuvantni analgetici predstavljaju raznorodnu grupu lekova među kojima većina ima različite primarne indikacije. Najčešće se koriste u terapiji određenih hroničnih bolnih stanja (neuropatski bol) kada: 1. NSAIL i opioidi ne pokazuju zadovoljavajuću efikasnost, 2. NSAIL i opioidi ne mogu da se primene i 3. kombinovana primena sa standardnim analgeticima postiže bolje otklanjanje bola. U ovu grupu lekova ubrajaju se: antidepresivi, antiepileptici, lokalni anestetici, kortikosteroidi, miorelaksansi, radioterapija i radioizotopi, kalcitonin i bifosfonati.

### **Antidepresivi**

I pored toga što nema adekvatnih kontrolisanih studija o efikasnosti u dece, antidepresivi se rutinski koriste u kontroli hroničnog neuropatskog bola u dece. U lečenju neuroptskog bola (npr. vinkristinom izazvana neuropatija, invazivni tumor ili kompleksni regionalni bolni sindrom) od antidepresiva se najčešće koristi amitriptilin (deca iznad 16 godina). Zbog sedativnog dejstva, amitriptilin deluje povoljno na spavanje, dok su antiholinergički neželjeni efekti dozno ograničeni. Lek se mora sa oprezom primenjivati u dece sa povećanim kardiološkim rizikom – uraditi EKG pre otpočinjanja primene (2).

### **Antikonvulzivi**

U lečenju hroničnog neuropatskog bola u dece mogu se koristiti i antikonvulzivi. Dva najčešće korišćena leka su: karbamazepin i gabapentin, mada poslednjih godina gabapentin preuzima dominaciju nad karbamazepinom, pre svega zbog boljeg bezbednosnog profila. Osnovno neželjeno dejstvo gabapentina je sedacija, tako da se preporučuje pažljivo titriranje maksimalne terapijske doze. Obećavajuća zamena za gabapentin u dece trebalo bi da bude pregabalin (2).

### **Kortikosteroidi**

Prednizon, prednizolon i deksametazon koriste se u tretmanu glavobolje kao posledice povećanog intrakranijalnog pritiska usled cerebralnog tumora, zatim kod spinalne/nervne kompresije i u palijativnoj nezi terminalnog stadijuma neoplastičnih bolesti (2).

## **Ostali analgetici/sedativi**

Ketamin primarno deluje kao antagonist NMDA receptora i kao agonist  $\mu$  opioidnih receptora i uglavnom se koristi za anesteziju u pedijatriji u kratkim dijagnostičkim i medicinskim procedurama koje ne zahtevaju relaksaciju skeletne muskulature. Ovaj anestetik izaziva sedaciju, amneziju i disocijativnu analgeziju. Ketamin ima mali rizik od kardiorespiratorne depresije. Međutim, često može izazvati muku i povraćanje, ataksiju, kao i halucinacije, noćne more, konfuziju, agitiranost i nenormalno ponašanje. Ovi psihijatrijski poremećaji mogu se ublažiti diazepamom ili midazolom (2,10).

Midazolam je kratkodelujući benzodiazepin sa anksiolitičkim, amnestičkim, sedativnim, hipnotičkim, miorelaksantnim i antikonvulzivnim dejstvom, a bez direktnog analgetičkog dejstva. Zbog izostanka analgetičkog dejstva, midazolam se može davati sa lokalnim anesteticima u bolnim medicinskim procedurama. Zahvaljujući sedativnom dejstvu, može se koristiti u jedinicama intenzivne nege. Usled kardiorespiratorne depresije, osamdesetih godina prošlog veka, zabeleženi su smrtni slučajevi u starijih pacijenata zbog predoziranja midazolom, kada je lek primenjivan u indikaciji sedacije pri očuvanoj svesti. Zato dozu midazolama treba pažljivo podešavati/smanjiti posebno u dece, starih pacijenata, bolesnika sa kompromitovanom kardiorespiratornom funkcijom i renalnom/hepatičnom insuficijencijom i pri kombinaciji sa opioidima (fentanilom) (8,10).

Propofol je najšire korišćen intravenski anestetik, koji nema analgetičkih svojstava, i sve se više koristi u dece kao sedativ u dijagnostičkim procedurama. Sedativno dejstvo je posledica agonističkog dejstva propofola na nivou GABA receptora. Propofol je kontraindikovan za sedaciju u dece ispod 16 godina u jedinicama intenzivne nege zbog rizika od nastanka propofolskog infuzionog sindroma (potencijalno fatalan efekat povezan sa metaboličkom acidozom, srčanom insuficijencijom, rabdomiolizom, hiperlipidemijom i hepatomegalijom) (10).

## **Lokalna i regionalna analgezija**

Primena epiduralne i spinalne lokalne anestezije je integralni deo kontrole bola u dece. Postoperativna analgezija može se postići epiduralnim putem primene lokalnih anestetika sa ili bez kombinacije sa opioidima. U pedijatrijskoj praksi epiduralna anestezija je najčešće korišćena regionalna anestezija za intra- i postoperativni tretman pacijenata sa urološkim, ortopedskim i opštim hirurškim procedurama ispod 4. torakalnog pršljena. Kliničko iskustvo govori da je ova tehnika korisna za decu koja pate od uznapredovale bolesti, koju je teško kontrolisati konvencionalnim merama (2).

Nefarmakološke mere u lečenju bola sastoje se od postupaka i sredstava za prevenciju blagog bola i/ili bola u dijagnostičkim i terapijskim procedurama. Postoji

veliki broj nefarmakoloških mera u lečenju bola, što zavisi od uzrasta deteta i vrste bola. Tako, na primer, u novorođene dece mogu se primeniti: ljudištanje, postavljanje novorođenčeta u fleksioni položaj, flektiranje nogu prema trbuhi, upotreba cucle i primena saharoze (11).

## Zaključak

Bezbedna i efikasna kontrola bola i anksioznosti u dece važna je komponenta savremene medicinske prakse. Bol može da se kontroliše primenom različitih farmakoloških i nefarmakoloških mera. Dete koje pati od bola treba pregledati što pre, primeniti mu odgovarajuću terapiju i pratiti odgovor na datu terapiju. Efikasna kontrola bola je moguća kada se kao ciljevi terapije postave smanjenje ili blokada nociceptivne aktivnosti smanjivanjem odgovora u perifernim i centralnim nervnim putevima, aktivacija endogenog inhibitornog sistema prenosa bola i promena faktora okoline koji pojačavaju bol.

## Literatura

1. Atkinson P, Chesters A, Heinz P. Pain management and sedation for children in the emergency department. *BMJ* 2009; 339: 1074-79.
2. Beaulieu P, Lussier D, Porreca F, Dickenson A, eds. *Pharmacology of Pain*. IASP Press, Seattle, 2010.
3. Martindale: The Complete Drug Reference. 37th ed. The Pharmaceutical Press, London, 2011.
4. Grosser T, Smyth E, FitzGerald GA. Anti-Inflammatory, Antipyretic, and Analgesic Agents; Pharmacotherapy of Gout. U: Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics, 12<sup>th</sup> Ed, Brunton L, Chabner B, Knollman B (eds), McGrawHill, New York, 2011, 959-1004.
5. Len C, Hilario MO, Kawakami E, Terreri MT, Becker DJ, Goldenberg J, Fagundes Neto U. Gastroduodenal lesions in children with juvenile rheumatoid arthritis. *Hepatogastroenterology* 1999; 46: 991-6.
6. Belay ED, Bresee JS, Holman RC, Khan AS, Shahriari A, Schonberger LB. Reye's syndrome in the United States from 1981 through 1997. N Engl J Med 1999; 340: 1377-82.
7. Schröder K. Aspirin and Reye syndrome: a review of the evidence. *Paediatr Drugs* 2007; 9: 195-204.
8. British National Formulary (BNF), Number 63. British Medical Association and Royal Pharmaceutical Society of Great Britain. London; 2012.
9. Ivanović Lj. ur., Registar lekova 2012. BB Soft, Beograd, 2012.
10. Sahyoun C, Krauss B. Clinical implications of pharmacokinetics and pharmacodynamics of procedural sedation agents in children. *Curr Opin Pediatr* 2012; 24: 225-32.
11. Srouji R, Ratnapalan S, Schneeweiss S. Pain in children: assessment and nonpharmacological management. *Int J Pediatr* 2010; 2010. pii: 474838.

# **Analgesics and sedatives in pediatric practice**

**Radica Stepanović-Petrović, Maja Tomić**

University of Belgrade - Faculty of Pharmacy, Department of Pharmacology,  
Vojvode Stepe 450, P. O. Box 146, 11221 Belgrade, Serbia

E-mail: [racabbr@eunet.rs](mailto:racabbr@eunet.rs)

---

## **Summary**

Like adults, children can experience many different types of acute and chronic pain. Pain perception in children is complex, and is often difficult to assess. There are several scales for children pain assessment like as visual, numeric and visual-descriptive scales. Pain can be treated by a variety of pharmacological and non-pharmacological means. Non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) are used for children with pain of mild to moderate intensity, opioids for children with moderate to severe pain, and adjuvant analgesics for chronic neuropathic pain. Sedatives/analgesics are also used in pediatrics for relieving anxiety and pain associated with diagnostic and therapeutic procedures.

**Key words:** sedatives, nonopioids, opioids, adjuvants

---

# Bakterijska rezistencija i primena antibiotika u pedijatriji

Marina Milenković

Univerzitet u Beogradu – Farmaceutski fakultet, Katedra za mikrobiologiju i imunologiju, Vojvode Stepe 450, 11221 Beograd, Srbija

e-mail: marinama@pharmacy.bg.ac.rs

---

## Kratak sadržaj

U poslednjih nekoliko decenija kod većine patogenih mikroorganizama registrovan je razvoj rezistencije na standardne antibiotike. U pedijatrijskoj praksi porast broja rezistentnih sojeva *Streptococcus pneumoniae* i *Haemophilus influenzae* je zabrinjavajući, jer su ove bakterije česti uzročnici ozbiljnih infekcija kao što su meningitis i septikemija. Rezistencija gram-negativnih bakterija na antibiotike dostigla je kritičan nivo. Sojevi enterobakterija koji su rezistentni na karbapeneme istovremeno nose gene rezistencije na više različitih grupa antibiotika, što praktično znači da se radi o bakterijama koje su otporne na skoro sve trenutno dostupne antimikrobne lekove. Neopravdana primena antibiotika, naročito u slučajevima virusnih infekcija gornjih respiratornih puteva, jedan je od faktora koji su doprineli razvoju i širenju rezistentnih sojeva mikroorganizama.

**Ključne reči:** antibiotici, bakterijska rezistencija, multirezistentni sojevi

---

## **Uvod**

Otkriće antibiotika jedno je od najznačajnijih dostignuća iz oblasti medicine. Uvođenje penicilina u široku kliničku primenu (1946. godine) dovelo je do revolucionarnih promena u lečenju bakterijskih infekcija kod dece. U početku, penicilin je bio efikasan kod gotovo svih infekcija uzrokovanih gram-pozitivnim bakterijama (respiratorne infekcije, infekcije kože i rana, sepsa itd.) međutim, već nakon par godina, preko 85% sojeva *Staphylococcus aureus*-a ispoljilo je rezistenciju na penicilin. Ovo se moglo i očekivati, jer principi evolucije određuju da se organizmi tokom vremena adaptiraju na promene u svom okruženju (1-3).

Poslednjih godina rezistencija predstavlja globalni problem i nameće ozbiljna ograničenja u pogledu raspoloživih opcija za terapiju mnogih bakterijskih infekcija. Porast broja rezistentnih sojeva *Streptococcus pneumoniae* i *Haemophilus influenzae* je zabrinjavajući jer su ovi mikroorganizmi uzročnici ozbiljnih, invazivnih infekcija kod dece kao što su meningitis i sepsa. Jedan od razloga za nastanak bakterijske rezistencije je neracionalna primena antibiotika koja dovodi do brojnih neželjenih posledica i ogromnih materijalnih troškova. Antibiotici se najčešće neopravdano primenjuju pri lečenju virusnih infekcija, posebno kod dece. Sluznica respiratornog trakta dece, primarno nazofarinksa, često je kolonizovana bakterijama (*Streptococcus pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, *Haemophilus influenzae* i *Moraxella catarrhalis*) koje su etiološki agensi različitih bolesti, počev od blagih respiratornih do ozbiljnih invazivnih infekcija koje mogu ugroziti život deteta. Navedeni mikroorganizmi kolonizuju nazofarinks i zdrave dece kod koje klinički znaci infekcije nisu prisutni. Faktori koji pogoduju kolonizaciji respiratorne sluznice su: nezrelost imunskog sistema, veliki broj kontakata i razmena mikroflore između same dece, kao i izrazita sklonost ove populacije ka virusnim infekcijama. Sluznica nazofarinksa kod dece glavni je rezervoar specifičnih vrsta bakterija koje podležu kompleksnim interakcijama i evoluciji, kako u pogledu virulencije, tako i u ispoljavanju rezistencije na antimikrobne lekove (4-6, 9,10).

## **Poreklo i mehanizmi bakterijske rezistencije**

Genetička osnova i biohemski mehanizmi rezistencije su najvećim delom dobro poznati, ali kako je ovo dinamičan proces, stalno se otkrivaju nove činjenice i mehanizmi koji su značajni za razvoj, održavanje i širenje rezistencije (npr. integroni, hipermutageni sojevi, „multidrug efflux“ itd.). Bakterijska rezistencija nastaje usled: izmene ciljnog molekula na koji antibiotik deluje (enzima, strukture ribozoma); enzimske inaktivacije leka (destrukcija, modifikacija); smanjene koncentracije antibiotika u bakteriji (promena propustljivosti bakterijskih ovojnica, efluks antibiotika) ili usled izmene metaboličkog puta u bakteriji. Većina bakterija istovremeno poseduje više različitih mehanizama koji su odgovorni za rezistenciju na određenu grupu

antibiotika, a često se kod jedne bakterije razvija rezistencija na više različitih grupa antibiotika (1, 2, 7).

Prema poreklu, rezistencija može biti urođena (konstitutivna) ili stečena. Urođena otpornost je posledica nedostatka ciljne strukture u bakterijskoj ćeliji na koju antibiotik deluje. Tipičan primer za ovaj vid rezistencije su mikoplazme koje nemaju ćelijski zid i stoga su otporne na dejstvo beta-laktamskih antibiotika. Stečena rezistencija može biti negenetička ili genetička. Negenetička rezistencija je uslovljena metaboličkom aktivnošću i fazom rasta u kojoj se bakterije nalaze. Većina antimikrobnih agenasa deluje na bakterije u fazi intenzivne deobe. Mikroorganizmi koji metabolički nisu aktivni i ne dele se, ispoljavaju rezistenciju na antibakterijske lekove. Primer za ovaj tip stečene rezistencije su bacili tuberkuloze tzv. perzistori koji godinama opstaju u tkivima domaćina i rezistentni su na dejstvo antituberkulotika.

Genetička rezistencija je determinisana genima na hromozomu ili ekstrahromozomskim strukturama (plazmidi, transpozoni, kasete gena i integroni). Hromozomska rezistencija je rezultat spontanih mutacija u lokusu hromozoma koji kontroliše osetljivost na određene antibakterijske lekove. Spontane mutacije nezavisne od prisustva leka su retke u populaciji mikroorganizama, ali kada se aplikuje antimikrobni lek on deluje kao selektivni pritisak i favorizuje rezistentne sojeve. Poslednjih godina otkriveni su tzv. hipermutageni sojevi bakterija kod kojih su mutacije 200 puta češće u odnosu na ostale sojeve. Ekstrahromozomska rezistencija ima najveći značaj u širenju rezistencije jer se geni na ovim strukturama relativno lako prenose sa otpornih na osetljive sojeve, istih ili različitih vrsta bakterija. Rezistencija koja se prenosi plazmidima često je multipla i naziva se infektivna rezistencija. Prenos gena rezistencije vrši se procesima konjugacije, transdukcije i transformacije. Bakterije iz rođova *Neisseria*, *Haemophilus* i alfa-hemolitične streptokoke imaju sposobnost preuzimanja i integriranja ekstracelularnih DNK molekula, koje se oslobođaju iz liziranih bakterija, što dovodi do stvaranja tzv. mozaičnih gena. Stvaranje mozaičnih gena u kombinaciji sa mutacijama leži u osnovi rezistencije pneumokoka i *Haemophilus influenzae* na penicilin (1-3, 7).

## Problem bakterijske rezistencije kod respiratornih infekcija

Najčešći izazivači bakterijskih respiratornih infekcija su gram-pozitivne bakterije. Oko dve trećine svih vanbolničkih pneumonija izaziva *Streptococcus pneumoniae*, dok među ostalim uzročnicima značajno mesto zauzimaju: *Haemophilus influenzae*, *Moraxella catarrhalis*, *Mycoplasma pneumoniae*, respiratori virusi i *Staphylococcus aureus*. Poslednjih godina zabeležena je učestala rezistencija *Streptococcus pneumoniae* i *Haemophilus influenzae*, dva značajna patogena koji kod dece izazivaju infekcije respiratornog trakta (pneumonije, sinuzitise, upale srednjeg uha) ali i invazivne infekcije kao što su meningitis i septikemija. Sojevi *Streptococcus pneumoniae* rezistentni na

penicilin prvi put su izolovani osamdesetih godina dvadesetog veka u Japanu. Rezistencija pneumokoka na penicilin i druge beta-laktamske antibiotike danas predstavlja globalni problem. Ova rezistencija je posledica promene gena *pbp1a*, *pbp2b* i *pbp2x*, koji kodiraju penicilin-vezujuće proteine (PBPs). Razvoju rezistencije pneumokoka pogoduje učestala primena antibiotika. Brojne studije su potvrdile da je neopravdana primena oralnih cefalosporina kod dece sa virusnim respiratornim infekcijama odgovorna za promenu gena koji kodiraju PBP ne samo kod pneumokoka već i *Haemophilus influenzae*. Rezistencija *Haemophilus influenzae* na ampicilin nastaje usled produkcije beta-laktamaze i/ili mutacije gena *ftsI* koji kodira PBP3. Sojevi *H. influenzae* koji produkuju beta-laktamazu označavaju se kao BLPAR (engl. beta-lactamase-producing ampicillin-resistant), dok se sojevi koji ne produkuju beta-laktamazu označavaju kao BLNAR (engl. beta-lactamase-non-producing ampicillin-resistant). Prevalenca sojeva *Streptococcus pyogenes* i *Streptococcus pneumoniae* koji su rezistentni na makrolide u nekim zemljama veća je od 30% (npr. Italija). Glavni razlozi zbog kojih pedijatri propisuju antibiotike u slučajevima blagih virusnih infekcija, kao što je obična prehlada, jesu očekivanje i/ili pritisak od strane roditelja i dijagnoza bakterijske infekcije samo na osnovu kliničke slike bez laboratorijske potvrde. Danas su komercijalno dostupni brzi dijagnostički testovi kojima se može direktno u kliničkom uzorku dokazati virusni antigen (virusa influence, adenovirusa i RSV) i time isključiti bakterijska infekcija. U petogodišnjoj studiji koja je sprovedena na pedijatrijskoj klinici u Japanu potvrđeno je da smanjena primena antibiotika kod virusnih respiratornih infekcija dovodi do značajnog smanjenja prevalence rezistentnih sojeva pneumokoka i *Haemophilus influenzae*. Zaključak autora je da se brižljivim kliničkim pregledom i praćenjem pacijenta, u većini slučajeva respiratornih infekcija gornjih disajnih puteva, može izbeći upotreba antibiotika primenom tzv. strategije „wait-and-see“ (6).

## **Enterobakterije rezistentne na karbapeneme - novi izazov za pedijatre**

Godinama su u centru pažnje kliničara i drugih zdravstvenih radnika bili rezistentni sojevi Gram pozitivnih bakterija, kao što su meticilin rezistentan *Staphylococcus aureus* (MRSA), *Streptococcus pneumoniae* i *Enterococcus* spp, a nedavno su multirezistentni sojevi enterobakterija postali značajan terapijski problem, kako u bolničkoj tako i u vanbolničkoj sredini. Enterobakterije predstavljaju mikroorganizme koji se najčešće izoluju iz bolesničkog materijala (više od 70% kod infekcija urinarnog trakta, 60-70% kod bakterijskih enterokolitisa, oko 50% kod septikemije). Kod polovine pacijenata sa intrahospitalnim infekcijama uzročnici su koliformni bacili. Multirezistentne enterobakterije sintetišu beta-laktamaze proširenog spektra -ESBL (engl. extended-spectrum beta lactamase) usled čega su ovi sojevi otporni na dejstvo penicilina, cefalosporina i monobaktama. Asocijacija infektologa u Americi ukazala je na kliničko-terapijski problem koji se javlja kod infekcija izazvanih

multirezistentnim sojevima („Bad Bugs No Drugs”), koje predstavljaju bakterije sa akronimom „ESCAPE” (*Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* i *Enterobacter* spp.).

Karbapenemi su do nedavno predstavljali antibiotike izbora, a vrlo često i jedini izbor, u slučajevima ozbiljnih infekcija izazvanih ovim sojevima. Međutim, poslednjih godina izolovani su sojevi enterobakterija koji produkuju karbapenemaze koje su kodirane genima smeštenim na mobilnim genetskim strukturama, transpozonima i plazmidima, što olakšava brzo širenje rezistentnih sojeva unutar pedijatrijske populacije. Rezistencija gram-negativnih bakterija na karbapeneme nastaje usled produkcije karbapenemaza ili strukturnih promena porina udruženih sa produkциjom drugih beta-laktamaza. Karbapenemaze su enzimi koji pored karbapenema razgrađuju i druge beta-laktame, a mogu biti kodirane hromozomskim ili genima koji su smešteni na plazmidu. Na osnovu strukturnih razlika karbapenemaze su klasifikovane u klase A, B i D (Ambler /Jacoby Bush klasifikacija). Klasa A i D ima serin na aktivnom mestu, dok klasa B obuhvata metalo-beta-laktamaze (MBLs) čija aktivnost zavisi od prisustva cinka. U okviru porodice enterobakterija klasu A karbapenemaza najčešće produkuje *Klebsiella pneumoniae*, dok klasu D OXA karbapenemaza (koje hidrolizuju i oksacilin) produkuju *Pseudomonas aeruginosa* i *Acinetobacter* spp. Bakterije koje sintetišu ESBL i karbapenemaze često imaju i dodatne plazmide koji nose gene za rezistenciju na aminoglikozide, sulfonamide, a takođe ispoljavaju visok stepen rezistencije na fluorohinolone, tako da za takve sojeve zaista možemo reći da predstavljaju multirezistentne mikroorganizme (11-16).

U periodu od 2002. do 2010. godine, u okviru 6 studija koje su sprovedene u 5 zemalja i na 4 kontinenta, iz pedijatrijske populacije izolovano je 64 soja enterobakterija koji su bili rezistentni na karbapeneme (CRE). Populacija dece iz kojih su izolovani ovi sojevi bila je uzrasta od novorođene dece do tinejdžera (0-17 godina), i većina je bila hospitalizovana (87%) duže od 48 sati, što ukazuje na činjenicu da se radi o intrahospitalnoj infekciji. Izolovani CRE sojevi identifikovani su kao *Enterobacter* spp. (34%), *Klebsiella* spp. (31%) i *E. coli* (28%), *Citrobacter* spp. (3%), *Proteus* spp. (2%) i *Serratia* spp. (2%). Infekcija CRE sojevima dovela je do smrtnog ishoda kod 10% dece. Iako infekcije izazvane CRE sojevima nisu česte, one su ozbiljan problem jer se obično javljaju kod dece koja su hospitalizovana zbog različitih pridruženih bolesti (pluća, maligniteta, hirurških intervencija) ili su imunokompromitovana. Trenutno ne postoji veliki izbor antibiotika u ovakvim slučajevima. Klinička ispitivanja se sprovode sa tigeciklinom koji se pokazao efikasnim kod 82% pacijenata (11).

U zaključku, tokom decenija istraživanja utvrđeno je da bakterije pre ili kasnije razvijaju rezistenciju na svaki antibiotik kome su izložene. Zahvaljujući prisustvu mobilnih genetskih struktura rezistencija se brzo prenosi na osetljive sojeve unutar iste

ili različitih vrsta bakterija. Racionalnom primenom antibiotika sačuvaćemo efekat ovih dragocenih lekova i odložiti pojavu rezistentnih sojeva mikroorganizama.

## Literatura

1. Brooks GF, Carroll KC, Butel JS, Morse SA, Mietzner TA. Jawetz, Melnick, & Adelberg's Medical Microbiology. 25th ed. The McGraw-Hill Companies, 2010; 343-50.
2. Ryan KJ, Ray CG. Sherris Medical Microbiology. 5th ed. The McGraw-Hill Companies, 2010; 415-29.
3. Livermore DM. Bacterial resistance: origins, epidemiology, and impact. Clin Infect Dis. 2003; 36(Suppl 1): 11-23.
4. Velasquez PA, Parussolo L, Cardoso CL, Tognim MC, Garcia LB. High prevalence of children colonized with penicillin-resistant *Streptococcus pneumoniae* in public day-care centers. J Pediatr. 2009; 85 (6):516-22.
5. Ardanuy C, Rojo D, Fenoll A, Tarrago D, Calatayud L, Lifiñares J. Emergence of a multidrug-resistant clone (ST 320) among invasive serotype 19A pneumococci in Spain. J Antimicrob Chemother. 2009; 64(3):507-10.
6. Matsumoto A, Hashimoto K, Kawasaki Y, Hosoya M. A challenge to appropriate antibiotic use in children with respiratory infections: a 5-year single-institution experience. J Med Sci. 2011; 57(2): 33-42.
7. Denyer SP, Hodges N, Gorman SP, Gilmore BF. Hugo&Russell's pharmaceutical microbiology. 8th ed. Wiley-Blackwell, 2011; 217-258.
8. Jourdain S, Smeesters PR, Denis O, Dramaix M, Sputael V, Malaviolle X. et al. Differences in nasopharyngeal bacterial carriage in preschool children from different socio-economic origins. Clin Microbiol Infect. 2011; 17: 907-14.
9. Liu Y, Kong F, Zhang X, Brown M, Ma L, Yang Y. Antimicrobial susceptibility of *Staphylococcus aureus* isolated from children with impetigo in China from 2003 to 2007 shows community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* to be uncommon and heterogeneous. British Journal of Dermatology 2009; 161: 1347-50.
10. Lusini G, Lapi F, Sara B, Vannacci A, Mugelli A, Kragstrup J. et al. Antibiotic prescribing in paediatric populations: a comparison between Viareggio, Italy and Funen, Denmark. European Journal of Public Health 2009; 19(4): 434-8.
11. Logan LK. Carbapenem-resistant Enterobacteriaceae: an emerging problem in children. Clin Infect Dis. 2012; 55 : 852-9.
12. Villalobos HR, Bogaerts P, Berhin C, Bauraing C, Deplano A, Montesinos I. et al. Trends in production of extended-spectrum β-lactamases among Enterobacteriaceae of clinical interest: results of a nationwide survey in Belgian hospitals. J Antimicrob Chemother. 2011; 66:37-47.
13. Bush K, Jacoby GA. Updated functional classification of beta-lactamases. Antimicrob Agents Chemother 2010; 54: 969-76.
14. Palmer DA, Bauchner H. Parents and physicians views on antibiotics. Pediatrics 1997; 99: 1-5.
15. Škodrić-Trifunović V, Pilipović N, Stefanović B. Lečenje vanbolničkih pneumonija primenom savremenih terapijskih vodiča. Vojnosanit Pregl 2006; 63(11): 967-70.
16. Cox ED, Saluja S. Criteria-based diagnosis and antibiotic overuse for upper respiratory infections. Ambul Pediatr. 2008; 8(4): 250-4.

# **Bacterial resistance and the use of antibiotics in pediatrics**

**Marina Milenković**

University of Belgrade – Faculty of Pharmacy, Department of microbiology and immunology, Vojvode Stepe 450, 11221 Belgrade, Serbia

---

## **Summary**

In the past decades most infective microorganisms have shown increasing resistance to standard available antibiotics. In pediatrics, the increase in the rate of development of antibiotic resistance in *Streptococcus pneumoniae* and *Haemophilus influenzae* is of great concern, because these bacteria are the major etiologic agents causing serious pediatric infections such as meningitis and septicemia. Antibiotic resistance among Gram-negative bacteria has reached critical level. The rise of carbapenem resistance in *Enterobacteriaceae* carrying additional resistance genes to multiple antibiotic classes has created a generation of organisms nearly resistant to all available therapy. Inappropriate use of antibiotics, especially for viral respiratory infections, has favoured the development and spread of antibiotic-resistant microorganisms.

**Key words:** antibiotics, bacterial resistance, multiresistant strains.

---

# Farmakokinetički aspekti doziranja lekova u pedijatriji

Katarina Vučićević, Branislava Miljković

Univerzitet u Beogradu - Farmaceutski fakultet, Katedra za farmakokinetiku i kliničku farmaciju, Vojvode Stepe 450, 11000 Beograd, Srbija

---

## Kratak sadržaj

Određena praktična, etička i regulatorna ograničenja postoje kada su u pitanju kliničke studije koje uključuju pedijatrijsku populaciju pacijenata. Zbog toga se studije uobičajeno sprovode nakon ispitane farmakokinetike (FK) i efikasnosti/bezbednosti leka u odraslim uz razmatranje fizioloških karakteristika novorođenčadi, odojčadi, dece i/ili adolescenata u zavisnosti od podgrupe pacijenata kojoj je lek namenjen. Fiziološki procesi koji obuhvataju sazrevanje funkcionalnih organa utiču na FK procese i njihov uticaj može biti kvantitativno i kvalitativno različit u odnosu na odrasle, utičući tako na režim doziranja leka. Najveće razlike u FK procesima u odnosu na odrasle pacijente uočene su kod novorođenih beba i odojčadi, dok se kod dece FK procesi približavaju procesima kod adolescenata i odraslih, i lakše ih je predvideti. Specifičnosti u FK leka neophodno je uzeti u obzir prilikom definisanja optimalnog režima doziranja leka, uz razmatranje eventualnih specifičnosti u farmakodinamici leka kod pedijatrijskih pacijenata. Vrednosti FK parametara i režimi doziranja se najčešće definišu na osnovu godina, telesne mase ili površine tela. U kliničkoj praksi se pri definisanju početnih režima doziranja leka koriste godine i telesna masa. Međutim, prepoznata je potreba da se pacijent prati i da se režim doziranja individualno prilagodi svakom pacijentu prema njegovim fiziološkim i karakteristikama bolesti.

**Ključne reči:** farmakokinetika, varijabilnost, doziranje, pedijatrija

---

Autor za korespondenciju: doc. dr Katarina Vučićević  
Univerzitet u Beogradu - Farmaceutski fakultet,  
Katedra za farmakokinetiku i kliničku farmaciju, Vojvode Stepe 450,  
11000 Beograd, Srbija  
tel: 011-3951-373  
e-mail: [kacav@pharmacy.bg.ac.rs](mailto:kacav@pharmacy.bg.ac.rs)

## **Uvod**

Novorođenčad, odojčad, deca i adolescenti razlikuju se od odraslih sa socijalnog, psihosocijalnog, bihevioralnog i medicinskog aspekta. Doktor *Abraham Jacobi* je prepoznao osnovu farmakoterapije pedijatrijskih pacijenata u činjenici da ova populacija ne predstavlja minijaturne odrasle pacijente kojima se samo smanjuju doze lekova proporcionalno telesnoj masi, godinama ili površini tela na osnovu dobijenih podataka iz kliničkih studija u odraslih, već zahtevaju specifičan pristup (1).

Određena praktična, etička i regulatorna ograničenja postoje kada su u pitanju kliničke studije koje uključuju pedijatrijsku populaciju pacijenata (2-4). Zbog toga se studije uobičajeno sprovode nakon ispitane farmakokinetike (FK) i efikasnosti/bezbednosti leka u odraslih uz razmatranje fizioloških karakteristika podgrupe pedijatrijskih pacijenata (5).

## **Dispozicija lekova u pedijatriji**

Fiziološki procesi koji obuhvataju sazrevanje funkcionalnih organa od trenutka rođenja utiču na FK procese leka i njihov uticaj može biti kako kvantitativno tako i kvalitativno različit u odnosu na odrasle pacijente.

### ***Resorpcija***

Ekstravaskularni put primene leka u ovoj populaciji pacijenata pokazuje razlike u brzini i stepenu resorpcije ne samo u odnosu na odrasle već i unutar podgrupa pedijatrijske populacije. Brzina resorpcije ima značaja kada je u pitanju primena pojedinačne doze leka. U tom slučaju, ako se lek brže resorbuje preće se postići maksimalne koncentracije leka u krvi odgovorne za efikasnost, ali i bezbednost primene leka. Stepen resorpcije ukazuje na izloženost organizma leku. Ukoliko je stepen resorpcije smanjen, to je neophodno razmotriti primenu veće doze leka kako bi se obezbedila terapijska efikasnost leka (6-8).

***Per os primena.*** Promene u pH vrednostima različitih delova gastrointestinalnog trakta (GIT) mogu direktno uticati, kako na stabilnost, tako i na stepen ionizacije leka, što se odražava na relativnu količinu leka koja je dostupna za resorpciju. Prilikom rođenja želudačni pH je neutralan i tokom prvih 48 sati života padne na oko 1-3, a zatim se postepeno povećava do 8. dana života na neutralnu vrednost. Do 2-3 godine života vrednost pH želuca polako opada i tada dostiže vrednosti kao kod odrasle osobe. Tokom neonatalnog perioda želudačni pH dovodi do smanjenja bazalnog lučenja hlorovodonične kiseline i ukupne zapremine želudačnog soka (9). Tako, oralno primjenjeni lekovi koji su nestabilni u kiseloj sredini, npr. benzilpenicilin (penicilin G), ampicilin, amoksicilin, eritromicin, u novorođenčadi će pokazati veću biološku raspoloživost (BR) u odnosu na decu i odrasle. S druge strane, lekovi slabe kiseline,

npr. fenobarbiton, mogu zahtevati veće oralne doze kako bi se postigla terapijska koncentracija leka u plazmi (6, 9). Osim toga, na sposobnost solubilizacije, a tako i na resorpciju liposolubilnih lekova, može uticati bilijarna funkcija koja je različita zavisno od godina. Nedovoljno razvijena konjugacija i transport žučnih soli u intestinalni lumen dovodi do niskih intraduodenalnih nivoa leka uprkos prisustvu koncentracija leka u krvi koje premašuju vrednosti kod odraslih. Želudačno pražnjenje i intestinalna pokretljivost određuju brzinu kojom lekovi stižu do tankog creva. Po rođenju do prve nedelje života dolazi do produženog želudačnog pražnjenja, koje iznosi 6-8 h, što može uticati na brzinu resorpcije (vreme potrebno za postizanje maksimalne koncentracije i maksimalna koncentracija leka), dok ukupna izloženost organizma leku može ostati nepromenjena. Slično, motorika creva se povećava od rođenja do 2 godine života, povećavajući frekvencu, amplitudu i dužinu prenosnih kontrakcija (9). Pojedine studije su proučavale resorpciju lekova (npr. fenobarbiton, sulfonamidi, digoksin) i makromolekula (npr. arabinoza, ksiloza) kod pedijatrijske populacije i pokazale da su procesi pasivnog i aktivnog transporta potpuno razvijeni do 4. meseca života. Opšte govoreći, brzina resorpcije većine lekova je sporija kod novorođenčadi i mlade odojčadi, nego kod starije dece, što znači da je kod njih potrebno više vremena za postizanje maksimalne koncentracije leka u krvi. Osim toga, usled nedovoljno formiranog organizma, površina intestinuma je manja po rođenju. Aktivnost enzima prisutnih u GIT i P-glikoproteina značajno utiče na resorpciju pojedinih lekova. Akutne dijareje koje su česte u detinjstvu mogu značajno da smanje stepen resorpcije lekova usled skraćenog vremena koje lek provede u intestinumu. U Tabeli I predstavljene su promene u resorpciji lekova u zavisnosti od pedijatrijskih pacijenata.

**Tabela I** Specifičnosti procesa resorpcije iz gastrointestinalnog trakta (GIT) u pedijatriji (6, 7)

FIZIOLOŠKI PARAMETAR	novorođenčad	odojčad	deca	farmakokinetičke promene
Želudačni pH	↑	↑	normalno	↑BR lekova nestabilnih u kiseloj sredini (npr. penicilin G, ampicilin) ↓BR slabih organskih kiselina (fenobarbiton)
Želudačno i intestinalno vreme pražnjenja	↓, promenljivo	↑	↑	Moguća eliminacija putem fecesa značajnog udela doze teofilina iz preparata sa odloženim oslobođanjem lekovite supstance pre resorpcije leka
Bilijarna funkcija	nezrela	slično kao kod odraslih	kao kod odraslih	↑resorpcija masti i liposolubilnih vitamina D i E u odojčadi i dece u poređenju sa novorođenčadima
Pankreasna funkcija	nezrela	slično kao kod odraslih	kao kod odraslih	↑hidroliza i BR rastvora za oralnu primenu u obliku estara (klindamicin, hloramfenikol) kod odojčadi i dece u poređenju sa novorođenčadima
Mikroorganizmi u GIT	↓	slično kao kod odraslih	kao kod odraslih	↑BR digoksina kod novorođenčadi u poređenju sa odraslim

↑ - povećan; ↓ - smanjen

**Rektalnim putem** se lek primenjuje ukoliko usled nauzeje ili epileptičnih napada lek nije moguće primeniti *per os* putem. Proces sazrevanja ne menja značajno resorpciju leka unutar različitih podgrupa pedijatrijske populacije. Ovaj put primene ima mnogobrojna praktična ograničenja, koja se prvenstveno ogledaju u defekaciji koja je izuzetno česta tokom prvih meseci života (čak i do 7 puta na dan) posebno kod odojčadi koja doje. Takođe, kod novorođenčadi prisutan je veći broj visoko-amplitudnih kontrakcija na nivou rektuma nego kod odrasle osobe što može dovesti do izbacivanja čvrstih oblika lekova, smanjujući resorpciju npr. eritromicina i paracetamola. BR lekova koji se u visokom stepenu metabolizuju može biti značajno povećana pri rektalnoj primeni lekova u novorođenčadi i odojčadi. Razlog je nedovoljno sazrela aktivnost metaboličkih enzima.

**Perkutana resorpcija.** Odnos ukupne površine tela i telesne mase (TM) u odojčadi i mlađe dece premašuje vrednosti u odnosu na odrasle, a debljina epiderma i *stratum corneuma* je manja u dece, tako da sistemska izloženost transdermalnim preparatima (npr. kortikosteroidi, antihistaminici, antisepstici) može biti znatno veća nego kod odraslih, pri čemu postoji opasnost i od toksičnih efekata u pojedinim slučajevima.

**Intramuskularna primena.** Smanjen protok krvi kroz mišiće i nedovoljno razvijene muskulare kontrakcije mogu smanjiti brzinu intramuskularne resorpcije lekova kod novorođenčadi. Međutim, uticaj navedenih faktora može biti zanemaren relativno većom gustinom skeletno-muskularnih kapilara u odojčadi nego kod starije dece. Resorpciju leka je generalno teško predvideti, jer je vrlo varijabilna kod ovog načina primene leka.

**Inhalaciona primena** lekova je česta u odojčadi i dece. Iako je primarni cilj terapije postizanje lokalnog efekta, mnogi lekovi pokazuju i sistemski efekat (npr. primena kortikosteroida).

### **Raspodela**

Promene u raspodeli leka u pedijatrijskoj populaciji posledica su izmenjene permeabilnosti membrane, izmenjenog vezivanja lekova za proteine plazme, vezivanja lekova za proteine tkiva i zapremine ekstracelularne tečnosti u odnosu na ukupnu telesnu tečnost (Tabela II).

**Permeabilnost membrane** je visoka kod novorođenčadi. Krvno-moždana barijera takođe nije potpuno formirana (čemu doprinosi ekspresija i funkcija P-glikoproteina) i njena propustljivost može omogućiti prolaz leka do centralnog nervnog sistema rezultirajući tako njegovom toksičnošću. Tako prva generacija antihistaminika, koji su liposolubilni i prolaze krvno-moždanu barijeru mogu dovesti do umora, pospanosti, letargije i poremećaja kognitivnih funkcija.

Sa aspekta **vezivanja lekova za proteine plazme** uočeno je da je koncentracija slobodne frakcije većine lekova veća u pedijatrijskoj populaciji nego kod odraslih. Kod novorođenčadi ukupna koncentracija proteina je 59 g/L (kod odraslih iznosi 72 g/L) i osim niže koncentracije, proteini imaju i manji kapacitet za vezivanje lekova kod novorođenčadi (9). Po rođenju koncentracija albumina iznosi 35-37 g/L, a potom lagano raste tokom prve godine života, kada dostiže nivo kao kod odraslih od 45-48 g/L. Pojedine endogene supstance (npr. bilirubin, slobodne masne kiseline) takmiče se za mesta za vezivanje na albuminu sa pojedinim lekovima, te postoji veliki potencijal za pojavu viših nivoa bilirubina u novorođenčadi i odojčadi koje jetra ne može (usled malog metaboličkog kapaciteta) da konjuguje i on ostaje slobodan dovodeći do kernikterusa (oštećenje mozga). Koncentracija  $\alpha$ 1-kiselog glikoproteina je niska po rođenju i do prve godine života dostiže nivoe kao kod odrasle osobe (9).

Količina ukupne **telesne tečnosti** se od rođenja, kada iznosi 70-90 %, smanjuje, tako da u 12-13. godini života iznosi 60% TM (25% ekstracelularna i 35% intracelularna tečnost) kao kod odrasle osobe. Hidrofilni lekovi, kao što su aminoglikozidni antibiotici, raspodeljuju se u visokom stepenu u ekstracelularnu tečnost i samim tim imaju veće vrednosti volumena distribucije (Vd) kod novorođenčadi u odnosu na odojčad i decu, ali i odrasle osobe. To bi značilo da su potrebne veće doze leka izražene po kg TM sa ciljem postizanja preporučene terapijske koncentracije leka. Posebnu pažnju potrebno je obratiti u slučaju gojazne dece kada se TM ne sme koristiti za procenu režima doziranja aminoglikozidnih antibiotika.

Količina masnog tkiva raste od rođenja (10-15% TM) i do prve godine života iznosi 20-25% TM. Dalje se takođe povećava, a posebno veliki skok u procentu masnog tkiva uočava se kod devojčica u pubertetu. Shodno tome, liposolubilni lekovi (npr. diazepam, flunitrazepam) imaju više vrednosti Vd u odraslim i dece nego u novorođenčadi i odojčadi.

**Tabela II** Specifičnosti procesa raspodele lekova u pedijatriji (6, 7)

FIZIOLOŠKI PARAMETAR	novorođenčad	odojčad	deca	farmakokinetičke promene
<i>Ukupna telesna tečnost i ekstracelularna tečnost</i>	↑	↑	slično kao kod odraslih	↑Vd hidrosolubilnih lekova (npr. gentamicin) Vd <sub>(34-48nedelja)</sub> =0.52±0.1 L/kg Vd <sub>(1-4godine)</sub> =0.38±0.16 L/kg Vd <sub>(10-16godine)</sub> =0.31±0.12L/kg Vd <sub>(odrasli)</sub> =0.3 L/kg ↓Vd liposolubilnih lekova (npr. diazepam) Vd <sub>(odojčad)</sub> =1.3-2.6 L/kg Vd <sub>(odrasli)</sub> =1.6-3.2 L/kg
<i>Masno tkivo</i>	↓	↓	↑ od 5-10 god.	
<i>Proteini plazme</i>	↓	↓, slično kao kod odraslih	kao kod odraslih	↑Vd i koncentracije slobodne frakcije fenitoina u novorođenčadi i odojčadi

↑ - povećan; ↓ - smanjen; Vd – volumen distribucije

### **Metabolizam**

Protok krvi kroz jetru, aktivnost enzima i hepatičkih transportnih sistema određuje vrednost hepatičkog klirensa leka (10, 11). Aktivnost enzima I i II faze metabolizma je generalno smanjena po rođenju i postepeno se povećava, ali različitim trendom (Tabela

III i IV). Aktivnost enzima uključenih u oksidacione reakcije je znatno smanjena po rođenju, dovodeći do produžene eliminacije lekova kao što su fenitoin i diazepam.

Od **CYP450** izoenzima CYP3A7 je prisutan u najvećoj koncentraciji u fetalnoj jetri, a nešto manje CYP3A5, dok pojedini autori govore i o prisustvu CYP1A1 izoenzima, dok se CYP2E1 javlja tek u 8-9. nedelji života. Ostali izoenzimi CYP450 prisutni su ili u vrlo niskim koncentracijama ili su potpuno odsutni. CYP3A7 je izoenzim koji je vrlo aktivan i ima maksimalnu aktivnost tokom prvih nedelja života, a potom se njegov nivo smanjuje, dok s druge strane CYP3A4 koji je najvažniji izoenzim u metaboličkim reakcijama kod odrasle osobe, u 1. mesecu života poseduje 30-40% aktivnosti kao kod odrasle osobe .

Familija CYP2C izoenzima je prisutna u niskim nivoima i oni poseduju trećinu aktivnosti odrasle osobe od 1. meseca do godinu dana. Postoje podaci koji ukazuju da ovi izoenzimi mogu biti indukovani fenobarbitonom.

CYP1A2 izoenzim je identifikovan u beba 1-3 meseca života gde poseduje trećinu aktivnosti odrasle osobe, dok u 1. godini života aktivnost odgovara 50% aktivnosti odrasle osobe, a u 3. godini nivo i aktivnost odgovaraju odrasloj osobi. Ima značajnu ulogu u reakcijama demetilacije kofeina.

Kod dece u 5. godini života aktivnost CYP2D6 iznosi 2/3 aktivnosti kod odrasle osobe. Uočen je i genetički polimorfizam ovog izoenzima kod dece.

CYP2E1 je prisutan u niskim koncentracijama u jetri novorođenčadi i njegova aktivnost brzo raste, tako da 1-10. godine života ima aktivnost kao kod odrasle osobe.

Osim navedenih i drugi enzimi uključeni u reakcije I faze metabolizma, kao što su monoamino oksidaza, aldo-ketoreduktaze, esteraze, dehidrogenaze, epoksid hidrolaze, imaju uglavnom smanjenu aktivnosti po rođenju. Tako se potpuna aktivnost alkoholne dehidrogenaze postiže tek u 5. godini života.

**Tabela III** Specifičnosti aktivnosti izoenzima CYP450 uključenih u metabolizam lekova u pedijatriji (6, 7)

izoenzim CYP450	novorođenčad	odojčad	deca	adolescenti	farmakokinetičke promene
2D6	↓ (20% aktivnosti odrasle osobe)	↓	kao kod odraslih	kao kod odraslih	↓ O-demetilacija kodeina do morfina u novorođenčadi i odojčadi dovode do ↓ efikasnosti i loše kontrole bola ↑ $t_{1/2}$ diazepamu u novorođenčadi i odojčadi 25-100h u poređenju sa decom 7-37h u odraslima 20-50 h, usled ↓ oksidacije
2C19	↓	kao kod odraslih (u 6. mesecu)	↑ (maksimalna aktivnost 3-4. god.)	kao kod odraslih (tokom puberteta se ↓)	↑ $t_{1/2}$ diazepamu u novorođenčadi i odojčadi 25-100h u poređenju sa decom 7-37h u odraslima 20-50 h, usled ↓ oksidacije
2C9	↓	kao kod odraslih (u 1-6. mesecu)	↑ (maksimalna aktivnost 3-10. god.)	kao kod odraslih (tokom puberteta se ↓)	↓ $t_{1/2}$ fenitoina od 80h (0-2 dana po rođenju), preko 15h (3-14 dana) do 6h (14-150 dana po rođenju). ↑ metabolizam
3A4	↓ (30-40% aktivnosti odrasle osobe)	kao kod odraslih (u 6. mesecu)	↑ (maksimalna aktivnost 1-4. god.)	kao kod odraslih	karbamazepina u odojčadi i dece u poređenju sa novorođenčadima i odraslim pacijentima

↑ - povećan; ↓ - smanjen;  $t_{1/2}$  – poluvreme eliminacije

Aktivnost enzima uključenih u **reakcije konjugacije** takođe se menja od rođenja različitim trendom (Tabela 4). Aktivnost acetil transferaze u odraslih osoba u citozolu jetre, procenjena prema acetilovanju para-amino-benzojeve kiseline, oko 3 puta je veća nego u citozolu fetalne jetre. S druge strane, aktivnost metil transferaze je kod novorođenčadi povećana, a potom se smanjuje. Aktivnost glukuronil transferaze je smanjena u poređenju sa odraslošću osobom sve do oko 1-1.5 godine. Smatra se da ima ulogu u nastanku žutice kod novorođene dece (12). Reakcije sulfo konjugacije kod pedijatrijske populacije pacijenata preuzimanju ulogu konjugacije sa glukuronskom kiselinom, jer je aktivnost sulfotransferaze praktično već „zrela” po rođenju.

Konjugovanje sa glicinom može biti alternativni put konjugacije lekova umesto sa glukuroniskom kiselinom, kao npr. kod salicilata.

**Tabela IV** Specifičnosti aktivnosti enzima II faze metabolizma u pedijatriji (6, 7)

ENZIM TRANSFERAZA	novorođenčad	odojčad	deca	adolescenti	farmakokinetičke promene
<i>N-acetil</i>	↓	↓	kao kod odraslih (u 1-3 godini)	kao kod odraslih	↓acetilacija sulfapiridina (metabolit sulfasalazina) što dovodi do ↑ neželjenih reakcija (mučnina, glavobolja, abdominalni bolovi)
<i>metil</i>	↑(50% veća nego kod odraslih)	kao kod odraslih	kao kod odraslih	kao kod odraslih	odnos glukuronid i sulfo konjugata paracetamola se povećava sa godinama novorođenčad-0.34, deca-0.8, adolescenti-1.61, odrasli-1.8-2.3
<i>glukuronozil</i>	↓	kao kod odraslih (u 6-18. mesecu)	kao kod odraslih	kao kod odraslih	
<i>sulfo</i>	↓(10-20% aktivnosti odrasle osobe)	↑ (za pojedine supstrate)	↑ (za pojedine supstrate)	kao kod odraslih	

↑ - povećan; ↓ - smanjen

Osim kvantitativnih, kod pedijatrijske populacije pacijenata dolazi i do kvalitativnih promena u metabolizmu lekova. Tako je uočen različit metabolički put pojedinih lekova u pedijatrijskoj populaciji pacijenata u odnosu na metabolizam kod odrasle osobe. Kofein je jedan od metabolita koji nastaje kod dece, dok kod odraslih nije identifikovan kao metabolit biotransformacije teofilina. Smatra se da kofein doprinosi ukupnoj efikasnosti i toksičnosti teofilina kod dece i zbog toga se kod njih efekat teofilina javlja pri nižim koncentracijama. U metabolizmu paracetamola kod dece

primarno dolazi do reakcije sulfonovanja, dok se kod odraslih paracetamol primarno konjuguje sa glukuronskom kiselinom.

### Izlučivanje

Većina lekova i hidrofilnih metabolita izlučuje se putem bubrega. Funkcionalni kapacitet bubrega se povećava sa godinama. Glomerularna filtracija zavisi od kapaciteta glomerula, protoka krvi kroz bubrege i stepena vezivanja leka za proteine plazme. Aktivnost glomerularne filtracije se izjednačuje sa istom kod odrasle osobe u otprilike 3-5. mesecu života, kod novorođenčadi ona iznosi  $20-40 \text{ mL/min}/1.73\text{m}^2$  (9, 13). Nasuprot tome, kapacitet tubularne sekrecije ima malo sporiji trend rasta i tek oko 1. godine života postiže vrednosti kao kod odrasle osobe (Tabela 5). Kapacitet bubrega za proces sekrecije penicilina, sulfonamida i cefalosporina značajno je smanjen u neonatalnom periodu, smanjujući tako ukupnu eliminaciju lekova (9).

**Tabela V** Specifičnosti procesa renalnog izlučivanja lekova u pedijatriji (6, 7)

RENALNO IZLUČIVANJE	novorođenčad	odojčad	deca	farmakokinetičke promene
<i>Glomerularna filtracija</i>	↓	kao kod odraslih (u 1. god.)	kao kod odraslih	80% famotidina se izlučuje nepromenjeno urinom u starije dece i adolescenata $\uparrow t_{1/2}$ penicilina usled ↓izlučivanja putem glomerularne filtracije i tubularne sekrecije potreban produžen interval doziranja u novorođenčadi i odojčadi u odnosu na decu i adolescente
<i>Tubularna sekrecija</i>	↓	skoro kao kod odraslih	kao kod odraslih	
<i>Tubularna reapsorpcija</i>	↓	skoro kao kod odraslih	kao kod odraslih	

↑ - povećan; ↓ - smanjen;  $t_{1/2}$  – poluvreme eliminacije

Promene na nivou izlučivanja mogu imati velike posledice po režim doziranja lekova u pedijatrijskoj populaciji pacijenata. Tako npr. gentamicin čija eliminacija zavisi prevashodno od glomerularne filtracije, primenjuje se na 36-48 h kod prevremeno rođene novorođenčadi, dok se kod rođenih u terminu primenjuje na 24 h (14).

Poluvreme eliminacije ( $t_{1/2}$ ) leka zavisi od zapremine telesne tečnosti u kojoj je lek raspodeljen i kapaciteta eliminacionih organa (jetre i bubrega) da lek uklone iz organizma. S obzirom na razlike u vrednostima Vd mnogih lekova kod pedijatrijskih i odraslih pacijenata i razlike u procesima eliminacije, uobičajeno su vrednosti  $t_{1/2}$  manje

kod pedijatrijske populacije pacijenata, što utiče na potrebne ili niže doze ili produžen interval doziranja leka.

## **Odabir optimalnog režima doziranja za pedijatrijske pacijente**

Razmatranja režima doziranja lekova su neophodna kada je u pitanju primena lekova u pedijatrijskoj populaciji. U odabiru optimalnog režima doziranja lekova, treba koristiti preporuke date u relevantnim kliničkim vodičima za ovu populaciju pacijenata, a ne bazirati preporuku na osnovu doze i intervala doziranja leka za odrasle pacijente (15). Odabir optimalnog i provera adekvatnosti propisanog režima doziranja podrazumeva sledeće aspekte:

1. Razmatranje specifičnosti fizioloških karakteristika pacijenta i njihov uticaj na FK i FD leka. U prethodnom poglavlju su opisane FK specifičnosti leka koje se mogu očekivati kod novorođenčadi, odojčadi, dece i adolescenata, a koje je neophodno uzeti u obzir prilikom odabira optimalnog režima doziranja leka. Osim opisanih specifičnosti procesa resorpcije, raspodele, metabolizma i izlučivanja, u pedijatriji su moguće razlike u efikasnosti samog leka. Npr. kod dece je veća verovatnoća da dođe do ekstrapiramidalnih neželjenih efekata metoklopramida nego kod odraslih, jer su terapijske doze za lečenje nauzeje bliže onima koje dovode do neželjenih reakcija (1). Osim toga, često karakteristike same bolesti mogu doprineti promeni u navedenim FK procesima i efektima leka.
2. Procena adekvatnosti doziranja leka prema godinama, telesnoj masi i/ili površini tela. U referentnoj literaturi uobičajeno se režimi doziranja izražavaju prema godinama ili TM pacijenta. Zbog razlika u fiziološkom razvoju između novorođenčadi, odojčadi, dece i adolescenata potpuno je razumljivo zbog čega se režimi doziranja na ovaj način definišu. Međutim, *a priori* se prepostavlja da je sazrevanje organa koje doprinosi FK procesima leka konzistentno unutar svake od starosnih kategorija pedijatrijskih pacijenata. Kako su mnoge studije potvrdile da postoje značajne FK varijabilnosti unutar svake od pomenutih grupa pedijatrijskih pacijenata, to ne upućuje na adekvatnost definisanja režima doziranja leka samo prema starosnim kategorijama. Dodatno, doziranje leka prema godinama podrazumeva definisan jedan režim doziranja za standardnog pacijenta svake od podkategorija, što upućuje da taj režim doziranja ne bi bio adekvatan za pacijente čija npr. TM odstupa od očekivane za dati uzrast (15-17).

S druge strane, ni korišćenje samo TM kao jedinog parametra doziranja leka nije opravdano, jer se vrednosti FK parametara ne menjaju linearno od rođenja do adolescentnog perioda iako TM raste sa godinama. Iako su godine i TM u korelaciji,

uočeno je da vrednosti FK parametara prilagođene TM pacijenta ipak mogu varirati kao posledica godina (18). Zbog toga su uobičajeno vrednosti FK parametara i preporučeni režimi doziranja lekova definisani prema TM za svaku od grupa pedijatrijskih pacijenata. Korišćenje samo TM za preračunavanje doze lekova često dovodi do subdoziranja odojčadi i dece, a predoziranja novorođenčadi i gojaznije dece i adolescenata. Kod gojazne dece i adolescenata neophodno je uzeti u obzir karakteristike procesa raspodele i eliminacije leka i shodno tome, preračun optimalne doze izvršiti na osnovu ukupne TM, idealne TM, mišićne TM ili eventualno nekog drugog parametra koji opisuje veličinu organizma pacijenta (19). Dakle, neophodno je proceniti da li je TM odgovarajuća za uzrast deteta, što je vrlo jednostavno uz upotrebu nomograma u svakodnevnoj kliničkoj praksi. Posebno treba proveriti sa roditeljima kada je TM poslednji put izmerena, zbog relativno brzih promena u vrednostima TM kod dece.

Korišćenjem nomograma moguće je proceniti površinu tela iz podataka o telesnoj masi i visini pacijenta. Površina tela je u boljoj korelaciji sa minutnim volumenom srca, protokom krvi kroz bubrege, zapreminom ekstracelularne tečnosti i brzinom glomerularne filtracije od TM, te bi se moglo zaključiti da ima prioritet za preračunavanje doza leka. Međutim, određena ispitivanja ukazuju da bi definisanje doze leka na osnovu površine tela moglo dovesti do predoziranja pedijatrijskih pacijenata (7). Kako se ovaj parametar ne koristi tako često ni u odrasloj populaciji za doziranje lekova (osim za pojedine lekove u terapiji kancera), tako nije prepoznat njegov značaj ni u pedijatrijskoj populaciji (20, 21). Osim toga, ograničenja u korišćenju površine tela se ogledaju u korišćenju različitih obrazaca za procenu površine tela i mogućim greškama pri upotrebi nomograma.

1. Razmatranje mogućih interakcija između lekova ukoliko je u pitanju kombinovana terapija, kako na nivou svakog od FK procesa tako i na nivou farmakodinamike leka. Međutim, interakcije sa hranom mogu biti od većeg kliničkog značaja, posebno interakcije sa mlekom kod novorođenčadi i odojčadi. Imajući u vidu mogućnost ishrane i do 5-6 puta na dan, i eventualnu interakciju leka sa mlekom na nivou resorpcije, trebalo bi proceniti na koji način je moguće izbeći eventualnu interakciju (1).
2. Procena brzine primene leka koja predstavlja odnos doze i intervala doziranja, a koja je direktno proporcionalna klirensu leka i željenoj koncentraciji u plazmi. Prilikom definisanja optimalnog režima doziranja pored razmatranja uticaja bolesti i razvoja organa na FK i aspekte efikasnosti, treba posebno razmotriti dnevni ritam tj. period budnosti deteta, koji se često zanemari (22, 23). Ovaj period je znatno kraći nego kod odraslih pacijenata i može biti kraći od 12 h u toku dana. U pojedinim slučajevima moguće je korigovati interval doziranja leka, ali to sa sobom povlači i korekciju doze leka, tako da brzina primene tj.

ukupna dnevna doza leka bude nepromenjena. Osim toga, neophodno je naglasiti roditeljima da „tri puta na dan” ne podrazumeva „na svakih 8 h” već primenu leka u toku budnog perioda deteta tri puta. U slučajevima kada je neophodna primena u jednakim vremenskim intervalima koji podrazumevaju buđenje deteta, mogla bi se alternativno razmotriti primena preparata sa odloženim oslobađanjem, ukoliko postoje takve formulacije.

- Potreba za praćenjem koncentracije leka (TDM) razmatra se kada su nivoi leka u korelaciji sa efektom, kada lek ima varijabilnu FK, usku terapijsku širinu. Tako se u pedijatriji uobičajeno prate nivoi aminoglikozidnih antibiotika, antiepileptika. Iz izmerenih nivoa leka mogu se proceniti vrednosti FK parametara i uz tumačenje dobijenih nivoa leka i odstupanja vrednosti FK parametara od prosečnih, optimizirati režim doziranja (22, 24). Osim praćenja koncentracije leka, prate se i očekivani odgovor ili moguće neželjene reakcije (npr. uticaj terapije kortikosteroidima na rast).

U Tabeli VI prikazani su preporučeni režimi doziranja pojedinih lekova za pedijatrijske i odrasle pacijente, uz objašnjenje koji FK procesi doprinose razlici u režimu doziranja između različitih starosnih kategorija.

**Tabela VI** Preporučeni režimi doziranja pojedinih lekova u pedijatrijskoj populaciji pacijenata (6)

LEK	UBIČAJEN REŽIM DOZIRANJA				FARMAKOKINETIČKI PROCES KOJI DEFINIŠE RAZLIKE U REŽIMIMA DOZIRANJA
	novorođenčad	odojčad	deca	odrasli	
Gentamicin	2.5 mg/kg na 12h	2.5 mg/kg na 6-8h	2.5 mg/kg na 8h	1-2 mg/kg na 8h	raspodela i izlučivanje putem bubrega
Klindamicin	15 mg/kg na 8h	10 mg/kg na 6-8h	10 mg/kg na 6-8h	8-12 mg/kg na 8-12h	metabolizam
Karbamazepin	-	3-10 mg/kg na 8h	3-10 mg/kg na 8h	5-8 mg/kg na 12h	metabolizam
Fenitojn	2.5-4 mg/kg na 12h	2-3 mg/kg na 8h	2.3-2.6 mg/kg na 8h	2 mg/kg na 12h	metabolizam
Fenobarbiton	3-4 mg/kg na 24h	2.5-3 mg/kg na 12h	2-4 mg/kg na 12h	0.5-1 mg/kg na 12h	raspodela i metabolizam
Teofilin	0.5 mg/kg/h	0.6-0.7 mg/kg/h	1-1.2 mg/kg/h	0.5-0.7 mg/kg/h	metabolizam
Digoksin	4-8 µg/kg na 24h	7.5-12 µg/kg na 24h	3-8 µg/kg na 24h	1.4-4 µg/kg na 24h	raspodela i izlučivanje putem bubrega i farmakokinamički faktori

## Zaključak

Pedijatrijski pacijenti predstavljaju osjetljivu populaciju pacijenata. U cilju unapređenja farmakoterapije ovih pacijenata postoji jasna potreba za većim brojem kliničkih studija, ali postoje mnogobrojna ograničenja za sprovođenje ispitivanja u ovih pacijenata. Uobičajeno, režimi doziranja za pedijatrijske pacijente postavljaju se nakon dobijenih rezultatata farmakokinetičkih i studija o efikasnosti i bezbednosti leka u odraslih, i ekstrapolacije određenih podataka na pedijatrijske pacijente, uz razmatranje fizioloških karakteristika same podgrupe kojoj je lek namenjen. Vrednosti farmakokinetičkih parametara su uobičajeno u korelaciji sa godinama, telesnom masom ili površinom tela. Stoga se u referentnoj literaturi režimi doziranja definišu po kilogramu telesne mase za svaku od starosne kategorije pacijenta. Kako se i pored ovakvih preporuka o doziranju leka, uočava velika varijabilnost u farmakokineticima i farmakodinamičkom odgovoru, u kliničkoj praksi postoji jasna potreba da se pacijent prati i da se režim doziranja individualno prilagodi svakom pacijentu prema njegovim fiziološkim karakteristikama, karakteristikama bolesti i terapije.

## Literatura

1. Barker C, Nunn AJ, Turner S. Paediatrics. In: Walker R, 5th editor. Clinical Pharmacy and Therapeutics. London: Churchill Livingstone; 2011. p. 132-48.
2. Bellanti F, Della Pasqua O. Modelling and simulation as research tools in paediatric drug development. *Eur J Clin Pharmacol.* 2011;67(S1):75-86.
3. Kern SE. Challenges in conducting clinical trials in children: approaches for improving performance. *Expert Rev Clin Pharmacol.* 2009;2(6):609-17.
4. Le Guellec C, Autret-Leca E, Odoul F, Jonville Bera AP, Paintaud G. Pharmacokinetic studies in neonatology: regulatory and methodologic problems. *Therapie.* 2001;56(6):663-8.
5. Celli M, Knibbe C, de Wildt SN, Van Gerven J, Danhof M, Della Pasqua O. Scaling of pharmacokinetics across paediatric populations: the lack of interpolative power of allometric models. *Br J Clin Pharmacol.* 2012;74(3):525-35.
6. Kearns GL, Abdel-Rahman SM, Alander SW, Blowey DL, Leeder JS, Kauffman RE. Developmental pharmacology-drug disposition, action, and therapy in infants and children. *N Engl J Med.* 2003;349(12):1157-67.
7. Bartelink IH, Rademaker CM, Schobben AF, van den Anker JN. Guidelines on paediatric dosing on the basis of developmental physiology and pharmacokinetic considerations. *Clin Pharmacokinet.* 2006;45(11):1077-97.
8. Pokrajac M, Miljkovic B, Vučićević K, Petronijević M. Pregled farmakokinetike u razvoju leka i terapiji. In: Prostran M, Stanulović M, Marisavljević D, Đurić D, editors. Farmaceutska medicina - odabrana poglavlja. Beograd: Hemofarm AD, Vršac; 2009. p. 810.
9. Strolin Benedetti M, Baltes EL. Drug metabolism and disposition in children. *Fundam Clin Pharmacol.* 2003;17(3):281-99.
10. Kanamori M, Takahashi H, Echizen H. Developmental changes in the liver weight- and body weight-normalized clearance of theophylline, phenytoin and cyclosporine in children. *Int J Clin Pharmacol Ther.* 2002;40(11):485-92.

11. Blanco JG, Harrison PL, Evans WE, Relling MV. Human cytochrome P450 maximal activities in pediatric versus adult liver. *Drug Metab Dispos*. 2000;28(4):379-82.
12. de Wildt SN, Kearns GL, Leeder JS, van den Anker JN. Glucuronidation in humans. Pharmacogenetic and developmental aspects. *Clin Pharmacokinet*. 1999;36(6):439-52.
13. Pierrat A, Gravier E, Saunders C, Caira MV, Ait-Djafer Z, Legras B, et al. Predicting GFR in children and adults: a comparison of the Cockcroft-Gault, Schwartz, and modification of diet in renal disease formulas. *Kidney Int*. 2003;64(4):1425-36.
14. Pacifici GM. Clinical pharmacokinetics of aminoglycosides in the neonate: a review. *Eur J Clin Pharmacol*. 2009;65(4):419-27.
15. Holford N. Dosing in children. *Clin Pharmacol Ther*. 2010;87(3):367-70.
16. Anderson BJ, Holford NH. Tips and traps analyzing pediatric PK data. *Paediatr Anaesth*. 2011;21(3):222-37.
17. Baber N, Pritchard D. Dose estimation for children. *Br J Clin Pharmacol*. 2003;56(5):489-93.
18. Abernethy DR, Burkart GJ. Pediatric dose selection. *Clin Pharmacol Ther*. 2010;87(3):270-1.
19. Mulla H, Johnson TN. Dosing dilemmas in obese children. *Arch Dis Child Educ Pract Ed*. 2010;95(4):112-7.
20. Rogers PC, Meacham LR, Oeffinger KC, Henry DW, Lange BJ. Obesity in pediatric oncology. *Pediatr Blood Cancer*. 2005;45(7):881-91.
21. Sawyer M, Ratain MJ. Body surface area as a determinant of pharmacokinetics and drug dosing. *Invest New Drugs*. 2001;19(2):171-7.
22. Rowland M, Tozer T. Clinical pharmacokinetics. Concepts and applications. 4th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2010.
23. Bauer L. Applied clinical pharmacokinetics. 2nd ed. New York: McGraw-Hill; 2008.
24. Vučićević K, Miljković B, Rakonjac Z, Janković B, Prostran M. Određivanje serumske koncentracije aminoglikozidnih antibiotika u cilju individualizacije terapije kod novorođenčadi. In: Zdravković D, editor. Problemi u pedijatriji 2011. Beograd: Zavod za udžbenike; 2012. p. 73-88.

# **Pharmacokinetic aspects in dosing regimen in paediatrics**

**Katarina Vučićević, Branislava Miljković**

University of Belgrade - Faculty of Pharmacy, Department of Pharmacokinetics and Clinical Pharmacy, Vojvode Stepe 450, 11221 Belgrade, Serbia

---

## **Summary**

Clinical trials in paediatric patients are limited due to certain practical, ethical and regulatory aspects. Accordingly, after performing pharmacokinetic (PK) and efficacy/safety clinical trials in adults, clinical trials in paediatrics might be carried on by taking into consideration physiological characteristics of neonates, infants, children and adolescents. Physiological changes are reflected in maturation of functional organs and they change PK processes in quantitatively and/or qualitatively manner in comparison to adults that affect drug dosing regimen. The major differences in PK are observed in neonates and infants, while PK in children and adolescents are approaching those in adults and they are easier to predict. When defining dosing regimen both PK characteristics of drug and specific pharmacodynamic features has to be considered. Values of PK parameters, as well as doses are usually based on age, body weight and body surface area. In clinical practice it is recognised concomitant use of age and body weight based dosing regimens. However, clinical practice revealed an evidence for the need to individually adjust dosing regimen to each patient according to his physiological and disease characteristics.

**Key words:** pharmacokinetics, variability, dosing regimen, paediatrics

---

# Primena dijetetskih suplemenata u pedijatrijskoj populaciji

Brižita Đorđević\*, Sladana Šobajić

Univerziteta u Beogradu - Farmaceutski fakultet, Katedra za bromatologiju,  
Vojvode Stepe 450, 11221 Beograd, Srbija

## Kratak sadržaj

Najosetljivija populaciona grupa u pogledu deficitu nutrijenata su deca. Najčešće rasprostarnjeni deficit u pedijatrijskoj populaciji su deficit vitamina D i folne kiseline, ali i drugi mikronutrijenti mogu takođe nedostajati u ishrani dece (vitamin E, vitamin C, gvožđe, kalcijum, jod, cink). Dijetetski suplementi su namirnice koje dopunjaju normalnu ishranu i predstavljaju koncentrovane izvore nutrijenata (vitamina, minerala i drugih supstanci sa hranljivim ili fiziološkim efektom), a u prometu su u doziranim farmaceutskim oblicima, dizajnirane da se uzimaju u odmerenim pojedinačnim količinama (kapsule, tablete, kapi i slično). Dijetetski suplementi za decu su posebno pripremljeni u pogledu specifičnog sastava hranljivih sastojaka i u pogodnom farmaceutskom obliku prilagođenom uzrastu, da bi deca mogla lako da ih konzumiraju. Od posebnog značaja je pitanje bezbednosti dijetetskih suplemenata namenjenih osetljivom dečijem dobu. Racionalno primjenjeni dijetetski suplementi zauzimaju značajno mesto u prevenciji deficitu i promociji zdravlja dece, dok svaka zloupotreba u smislu neracionalne upotrebe nosi poseban zdravstveni rizik. Potrebno je da roditelji budu dovoljno edukovani i pravilno informisani o značaju suplementacije pojedinim nutrijentima, da bi uz pomoć farmaceuta u apoteci mogli da odaberu dijetetski suplement koji će najadekvatnije da zadovolji specifične potrebe deteta.

**Ključne reči:** dijetetski suplementi; vitamini; minerali; pedijatrijska populacija.

\* Korespondencija: Brižita Đorđević,  
Univerzitet u Beogradu - Farmaceutski fakultet, Katedra za bromatologiju  
email: [briz@pharmacy.bg.ac.rs](mailto:briz@pharmacy.bg.ac.rs)

## **Uvod**

Dijetetski suplementi su namirnice koje dopunjuju normalnu ishranu i predstavljaju koncentrovane izvore nutrijenata, a u prometu su u doziranim farmaceutskim oblicima. Ova kategorija namirnica je detaljno regulisana u SAD 1994. godine (1), a u EU harmonizacija propisa zemalja članica o dijetetskim suplementima još nije završena. U našoj regulativi postoji kategorija dijetetskih suplemenata (2). Dijetetski suplementi za odojčad i decu su posebno formulisani u pogledu specifičnog sastava hranljivih sastojaka i u pogodnom farmaceutskom obliku prilagođenom uzrastu, da bi deca mogla lako da ih konzumiraju.

Potrebno je da roditelji budu dovoljno edukovani i pravilno informisani o sastojcima preparata i značaju suplementacije pojedinih nutrijenata da bi sami ili uz pomoć farmaceuta mogli da odaberu dijetetske suplemente koji će najadekvatnije da zadovolje specifične potrebe njihovog deteta.

## **Dijetetski suplementi**

Prema Pravilniku o zdravstvenoj ispravnosti dijetetskih proizvoda (2), dijetetski suplementi (dodaci ishrani) su namirnice koje dopunjuju normalnu ishranu i predstavljaju koncentrovane izvore vitamina, minerala i drugih supstanci sa hranljivim ili fiziološkim efektima, pojedinačno ili u kombinaciji, a u prometu su u doziranim farmaceutskim oblicima, dizajnirane da se uzimaju u odmerenim pojedinačnim količinama (kapsule, pastile, tablete, pilule, kesice praška, ampule tečnosti, boćice za doziranje u kapima i sl.).

Zbog načina života i ostalih subjektivnih i objektivnih razloga nije uvek moguće da se samo hranom unesu svi potrebni nutrijenti u odgovarajućim količinama, pa je iz ovih razloga upotreba dijetetskih suplemenata opravdana. Upotreba dijetetskih suplemenata je veoma raširena, tako da više od polovine stanovnika SAD redovno koristi suplemente. Slična je situacija i u drugim zemljama. Veliki je broj dijetetskih suplemenata namenjenih upravo deci (3).

Ova kategorija namirnica prvi put je detaljno regulisana u SAD 1994. god. Dietary supplement Health and Educational Act (DSHEA) iz 1994. FDA (1) definiše suplemente kao proizvode koji treba da upotpune hranu koja se konzumira - proizvodi označeni kao dijetetski suplementi ne koriste se kao konvencionalna hrana i ne mogu da zamenjuju pojedinačne obroke.

U EU regulative zemalja članica o dijetetskim suplementima nisu u potpunosti harmonizovane, a najveće razlike su u maksimalno preporučenim dnevnim količinama vitamina i minerala. Direktiva 2002/46 EC o harmonizaciji propisa zemalja članica o dijetetskim suplementima (4) je okvirna direktiva kojom započinje harmonizacija propisa o dijetetskim suplementima u Evropi. Ovom direktivom utvrđuje se lista

dozvoljenih supstanci koje se mogu koristiti kao izvori vitamina i minerala (tako je izvor vitamina C: L-askorbinska kiselina, L-natrijum-askorbat, L-kalcijum-askorbat, L-kalijum-askorbat, L-askorbil-palmitat; kao izvor kalcijuma se koriste kalcijum-karbonat, kalcijum-hlorid, kalcijum-citrat, kalcijum-glukonat, kalcijum-glicerofosfat, kalcijum-laktat, kalcijum-ortofosfat, kalcijum-hidroksid, kalcijum-oksid), kao i merne jedinice za njihovo označavanje. Da bi se izbegla zabuna za označavanje količine vitamina i minerala u suplementima, u EU se ne koriste internacionalne jedinice IU, već masene jedinice (mg ili µg). U cilju informisanosti i zaštite potrošača svi proizvodi koji se nalaze u kategoriji dijetetskih suplemenata moraju biti pravilno obeleženi, prezentirani i marketinški adekvatno prikazani. Direktiva o nutritivnom deklarisanju namirnica (5) propisuje samo preporučeni dnevni unos (*engl. Recommended Dietary Allowances, RDA*), dok RDA vrednosti za odojčad i decu još uvek nisu harmonizovane, a nacionalne preporuke se donekle razlikuju.

U Tabeli I prikazane su preporučene dnevne količine za vitamine i minerale za odojčad, malu decu i tinejdžere u SAD (Food and Nutrition Board, National Academy of Sciences, USA).

**Tabela I** Preporučene dnevne količine vitamina i minerala za odojčad i decu

Vitamini i minerali	Starost (godine)								
	0,0-0,5	0,5-1,0	1-3	4-6	7-10	11-14 (M)	15-18 (M)	11-14 (Ž)	15-18 (Ž)
Vit. A (µg RE)	375	375	400	500	700	1000	1000	800	800
Vit. D (µg)	7,5	10	10	10	10	10	10	10	10
Vit. E (mg TE)	3	4	6	7	7	10	10	8	8
Vit. K (µg)	5	10	15	20	30	45	65	45	55
Vit. C (mg)	30	35	40	45	45	50	60	50	60
Tiamin (mg)	0,3	0,4	0,7	0,9	1,0	1,3	1,5	1,1	1,1
Riboflavin (mg)	0,4	0,5	0,8	1,1	1,2	1,5	1,8	1,3	1,3
Niacin (mg NE)	5	6	9	12	13	17	20	15	15
Vit. B <sub>6</sub> (mg)	0,3	0,6	1,0	1,1	1,4	1,7	2,0	1,4	1,5
Folat (µg)	25	35	50	75	100	150	200	150	180
Vit. B <sub>12</sub> (µg)	0,3	0,5	0,7	1,0	1,4	2,0	2,0	2,0	2,0
Kalcijum (mg)	400	600	800	800	800	1200	1200	1200	1200
Fosfor (mg)	300	500	800	800	800	1200	1200	1200	1200
Magnezijum (mg)	40	60	80	120	170	270	400	280	300
Gvožđe (mg)	6	10	10	10	10	12	12	15	15
Cink (mg)	5	5	10	10	10	5	15	12	12
Jod (µg)	40	50	70	90	120	150	150	150	150
Selen (µg)	10	15	20	20	30	40	50	45	50

(USA Food and Nutrition Board, National Academy of Sciences)

Suplementi mogu da poseduju i zdravstvenu izjavu (health claim, *engl*), ali ona ne sme da sadrži navode da oni mogu da leče ili preveniraju bolest (6). Tako je zdravstvena tvrdnja „obezbeđuje kalcijum koji je značajan za zdrave kosti” - dozvoljena, dok je izjava „obezbeđuje kalcijum koji sprečava osteoporozu” - medicinska tvrdnja i nije dozvoljena.

Dijjetetski suplementi u SAD mogu da imaju „structure-function” izjave koje ne moraju da budu odobrene od FDA pod sledećim uslovima: izjave moraju da budu istinite i da ne dovode u zabluđu potrošača, na deklaraciji mora biti istaknuto da izjava nije potvrđena od strane FDA, i da proizvod nije namenjen da leči, dijagnostikuje ili prevenira bilo koju bolest; o čemu FDA mora da bude obaveštена najmanje 30 dana pre puštanja u promet dijetetskog suplementa. Marketing dijetetskih suplemenata je legalan, i prilikom marketinškog promovisanja dijetetskog suplementa dozvoljeno je koristiti samo izjave koje pružaju informacije u smislu njegove uloge da asistira, poboljšava ili pojačava funkcije, ali ne i da prevenira ili leči bolest.

Na dijetetskim suplementima koji sadrže vitamine i mineralne materije potrebno je istaći informaciju o procentu koji zadovoljava preporučene dnevne količine (RDA) za vitamine i minerale, kao i uputstvo za upotrebu. Evropske RDA vrednosti za vitamine i minerale propisane su u direktivi o nutritivnom deklarisanju namirnica (90/496/EEC) i za neke od ovih nutrijenata su nešto niže od američkih (vitamin A), a vrednosti u našoj zemlji su definsane Pravilnikom (2).

Kao i ostali dijetetski suplementi, oni koji su namenjeni deci mogu biti monokomponentni, ili kombinacije vitamina i minerala, ali i biljni ili kombinovani. Biljni suplementi zahtevaju poseban oprez prilikom upotrebe, zbog mogućih reakcija preosetljivosti (propolis, ehinacea). Poseban značaj treba obratiti na moguće interakcije između suplemenatata i primenjene terapije. Ovo je posebno značajno za farmaceute u apotekama, jer su često jedini zdravstveni radnici koji imaju kompletan uvid u to šta pacijenti koriste.

Uslovi upotrebe aditiva u dijetetskim suplementima definisani su Pravilnikom o kvalitetu i uslovima upotrebe aditiva u namirnicama i o drugim zahtevima za aditive i njihove mešavine (7). S obzirom da se dijetetski suplementi unose u malim doziranim količinama, prema ovom Pravilniku, u njihovoj proizvodnji dozvoljena je upotreba velikog broja aditiva, često i u znatno većim količinama nego kod ostalih namirnica. U proizvodnji čvrstih dijetetskih suplemenata (tablete, dražeje i dr.) dozvoljena je upotreba aditiva koji se inače ne upotrebljavaju u proizvodnji drugih namirnica, ali se koriste u farmaceutskoj industriji (E 468, unakrsno vezana natrijumkarboksimetilceluloza, E 1201 polivinilpirolidon i E 1202 polivinilpolipirolidon).

Uslovi upotrebe aditiva u dijetetskim namirnicama za odojčad i malu decu, pa tako i za dijetetske suplemente namenjene deci, posebno su propisani posebnom

tabelom aktuelnog pravilnika o aditivima. Za suplemente za odojčad i malu decu treba koristiti samo najbezbednije aditive koji su dozvoljeni u proizvodnji formula mleka i dečije hrane.

## Ishrana dece

Optimalna dečja ishrana mora da sadrži energetske, gradivne i zaštitne hranljive sastojke u takvoj količini da na najbolji mogući način zadovolji njihove fiziološke potrebe. Specifične nutritivne potrebe dece proističu iz intenzivnog procesa rasta, malih nutritivnih rezervi, nedovoljne razvijenosti organa i tkiva, nedostatka zuba kod odojčadi, i nepotpune resorptivne sposobnosti, kao i promene u sastavu organizma i funkcionisanja pojedinih organa tokom intenzivnog rasta.

Energetske i nutritivne potrebe zavise od uzrasta dece, brzine rastenja, pola, telesne mase i genetskih faktora. Period od rođenja do navršene prve godine života deteta je *infancy* period. U periodu detinjstva, prema godinama starosti i potrebama u pojedinim nutrijentima, deca se dele u tri grupe: deca 1-3 godine, 3-6 godina i 6-10 godina. Period do 12 godina se smatra detinjstvom; od 12 do 20 je adolescencija. Adekvatana ishrana dece neophodna je za njihov pravilan rast i razvoj. Tek od pedesetih godina prošlog veka definisana je veza između loše ishrane u detinjstvu i određenih patoloških stanja, koja se ponekad mogu ispoljiti i decenijama kasnije.

Nažalost, i danas je svako četvrto dete u svetu ugroženo u pogledu odgovarajućeg unosa nutrijenata, tako da problem gladi dece ostaje i dalje goruci svetski problem. Smatra se da više od 10 miliona dece, uzrasta mlađeg od tri godine, umre svake godine u svetu od posledica gladi (8). Proteinsko-energetski deficit u nerazvijenom delu sveta je praćen deficitom mikronutrijenata.

Od posebnog značaja je problem nedovoljnog unosa vitamina A, koji pogoda veliki broj nerazvijenih zemalja, a nosi teške posledice u obliku oštećenja vida i trajnog slepila. Svetska zdravstvena organizacija je razvila i sprovodi programe sprečavanja slepila u pojedinim nerazvijenim regionima sveta. Programi uključuju profilaktičko davanje visokih doza vitamina A (9).

Zemlje u razvoju karakteriše deficit i pojedinih drugih mikronutrijenata, posebno gvožđa, cinka, joda i kalcijuma. Deficit gvožđa se javlja mnogo češće u nerazvijenim ili zemljama u razvoju, a prevalenca anemija u uzrastu do pet godina može obuhvatiti i do 50 % dece. Osnovni uzrok anemije je nedovoljan unos biološki raspoloživog –hem gvožđa, ali i pojedini infektivni agensi (malaria), mogu takođe uticati na njen nastanak. Mnogobrojne studije pokazale su jasnu vezu između anemije u dečjem uzrastu i potonjeg slabijeg razvoja kognitivnih i motornih funkcija, ali i lošijih rezultatata u školi i određenih problema u ponašanju. Od posebnog je značaja dužina trajanja anemije u dečjem uzrastu, ali i nivoi hemoglobina u krvi. Tako je pokazano u

studiji sprovedenoj u Zanzibaru da su nivoi hemoglobina niži od 8 g/dl u direktnoj vezi sa ometenošću u razvoju. Dijetarne inetrvencije koje se najčešće primenjuju profilaktičkog su tipa i obuhvataju svu decu, bez obzira na nivo hemoglobina. Rezultati su jasno ukazali da tokom trajanja suplementacije dolazi do poboljšanja motornih i kognitivnih funkcija (10). Pored suplementacije, fortifikacija namirnica gvožđem (cerealije), takođe predstavlja značajnu dijetarnu intervenciju u prevenciji anemije.

Deficit joda rezultuje lošijim mentalnim i motornim razvojem dece koja žive u jod-deficitarnim područjima. Jodiranje kuhinjske soli, ali i nekih drugih namirnica (ulje) je u visokom procentu smanjilo prevalencu deficit-a joda (11).

Deficit cinka je u vezi sa oslabljenim imunitetom i zaostajanjem u rastu, ali u određenom stepenu utiče i na kognitivne i motorne funkcije (12).

Ekonomsko-socijalni napredak je nakon Drugog svetskog rata u zapadnim zemljama doveo do sve veće rasprostranjenosti preterane uhranjenosti i gojaznosti među pedijatrijskom populacijom. Međutim, deficit mikronutrijenata nije zaobišao ni decu razvijenih zemalja. Deficit gvožđa, joda, kalcijuma, cinka, vitamina C, takođe je prisutan, u različitom stepenu.

## **Suplementi za odojčad i malu decu**

Prvu godinu života karakterišu brzi rast i razvoj, i promene telesnog sastava. U prva dva meseca dete raste brže nego u kasnjem detinjstvu. Zbog toga su energetske i nutritivne potrebe deteta u prvoj godini života veće nego u kasnjem detinjstvu. Preporuke o energetskim i nutritivnim potrebama u prvih 6 meseci života zasnivaju se na količini nutrijenata koje obezbeđuje referentni standard-majčino mleko.

Doktrinirano prva suplementacija u životu bebe je vitamin K, koji se daje odmah po rođenju, jer novorođenčad nemaju formiranu crevnu floru koja može da ga sintetiše.

Hrana koja se smatra najadekvatnijom i najboljim izvorom svih neophodnih nutrijenata je mleko majke, i prvih četiri do šest meseci nije potrebno u ishranu uvoditi druge namirnice. Prema literaturnim podacima (13) prosečan sadržaj vitamina D u majčinom mleku je oko  $4 \mu\text{g/L}$ , ali u zavisnosti od ishrane majke i drugih faktora može da varira u veoma širokom opsegu od 0,1 do  $1,2 \mu\text{g/L}$ . Kako majčino mleko ne sadrži dovoljne količine vitamina D koje su potrebne odojčetu, ovaj vitamin se suplementira najčešće u zimskom periodu, ali i kod dece tamnije puti, da bi se sprečila pojava rahitisa. Uobičajeno se vitamin D daje zajedno sa vitaminom A, najčešće u obliku kapi. U ovom periodu često se suplementira i vitamin C, a ukoliko postoji potreba, i gvožđe. Suplementacija fluorom je bila predmet dugogodišnjih polemika. Današnji stav Američke akademije za pedijatrijsku stomatologiju je da se ne preporučuje suplementacija fluorom do 6 meseci života, naknadana suplemenatacija je potrebna ukoliko voda za piće nije fluorisana. Novija doktrina preporučuje suplementaciju

prebioticima beba koje nisu na prirodnoj ishrani. Mnogobrojna istraživanja su potvrdila da bebe koje su na prirodnoj ishrani imaju mnogo bolju crevnu floru od beba koje nisu; naime, majčino mleko sadrži i do deset puta više laktuloze i drugih nelaktuloznih šećera koji predstavljaju faktore rasta korisnih bakterija. Međutim, ukoliko se pojavi problem (dijareja), dozvoljena je upotreba probiotika u ovom periodu (*lactobaillus, bifido vrsta*).

Preporuke su da sa uvođenjem druge vrste hrane treba početi negde između četvrtog i šestog meseca, jer mleko više nije u stanju da obezbedi energetske potrebe i potrebe za pojedinim nutrijentima (gvožđe, vitamin C). Kada se započne sa davanjem čvrste hrane, preporuka je postepeno uvođenje pojedinačnih namirnica, u cilju izbegavanja alergija na pojedine vrste hrane (poseban oprez: jaja, riba, jezgrasto voće, jagode, hrana koja sadrži gluten).

Pojedini sastojci hrane, kao što su vlakna, fitinska kiselina, mogu da smanje apsorpciju pojedinih mineralnih materija, a neki vitamini su veoma osetljivi na termički tretman, pa i to treba imati u vidu. U ovom periodu mogu se koristiti vitaminsko-mineralni suplementi. Novija istraživanja ukazuju na veliki značaj masnih kiselina  $\omega$ -3 serije za pravilan razvoj imunog i nervnog sistema (14). Deficit joda je na području Srbije veoma redak, zbog obaveze jodiranja kuhinjske soli.

Svi suplementi koji se daju deci ovog uzrasta moraju biti u odgovarajućoj formi prema njihovom uzrastu - sirupi, kapi, tablete za žvakanje, mikrokapsule, perlice, granule.

Posle navršene prve godine života rast deteta je usporeniji u odnosu na prethodni period. U ovom periodu dolazi do značajnih promena koje dovode i do drugačijeg telesnog izgleda. Postepeno dolazi do gubitka masnog tkiva, noge postaju duže, smanjuje se sadržaj vode u telu, a povećava u ćelijama. Dolazi do formiranja značajnih mišića, zuba, i pojačane mineralizacije skeletnih kostiju kojima je potrebna jačina da izdrže povećanu telesnu masu. Ovo je period značajnih fizičkih i psihičkih promena. Energetske potrebe u ovom periodu nisu tako visoke, kao u prethodnom, i rastu postepeno. Proteini, kao gradivne materije, čine značajan deo ukupnih energetskih potreba, od kojih polovina treba da bude animalnog porekla jer su to potpuni proteini koji imaju visoku biološku vrednost. Za mineralizaciju kostiju potrebna je odgovarajuća količina kalcijuma i fosfora.

Da bi se zadovoljile potrebe organizma u ovom životnom periodu, detetu treba ponuditi što širi assortiman namirnica i pažljivo formirati navike kad je hrana u pitanju, jer navike stečene u ovom periodu čine osnovu za pristup hrani i status uhranjenosti organizma.

## **Suplementi za decu predškolskog i školskog uzrasta**

U predškolskom i školskom uzrastu deca se hrane u svojoj kući (porodična ishrana) i u vrtiću ili školi (kolektivna ishrana). Obroke kolektivne ishrane formulišu nutricionisti, i smatra se da ova dva vida ishrane mogu u potpunosti da zadovolje nutritivne potrebe dece. Nažalost, to često nije tako, a među mnogobrojnim razlozima nalazi se i nepovoljna ekonomska situacija. U pojedinim slučajeviam suplementacija je poželjna (naročito u zimskom periodu). Sa druge strane, treba veoma voditi računa, jer liposolubilni vitamini i neki minerali mogu ispoljiti i toksične efekte ukoliko se uzimaju u količinama (količina uneta hranom i iz dijetetskog suplementa) većim od dnevnih potreba, jer je kod dece opseg između potrebnih i toksičnih količina uži nego kod odraslih.

Prilikom formulisanja dijetetskih suplemenata vrlo je važan oblik u kome se nalazi pojedini nutrijent; tako se kalcijim bolje apsorbuje iz organskih soli (citrat, glukonat, laktat) nego iz neorganskih (karbonat, fosfat).

Od desete godine, zbog razlike u telesnoj konstituciji, nutritivne potrebe dečaka i devojčica se razlikuju. Posebne potrebe imaju i deca koja se intenzivno bave sportom, i tada je potrebno veoma pažljivo proceniti njihove potrebe i odlučiti o davanju dijetetskih suplemenata, da bi se sprečila njihova nekontrolisana primena (15). U školskom uzrastu deca uče i o pravilnoj ishrani, pa i sami, izborom namirnica koje će konzumirati, pravilno utiču na zadovoljenje svojih nutritivnih potreba.

### **Zaključak**

Da bi se zadovoljile potrebe dečijeg organizma detetu treba ponuditi široki asortiman namirnica i uticati na blagovremeno formiranje pravilnih navika u vezi sa ishranom u detinjstvu. S obzirom na to da se radi o izuzetno osetljivoj populaciji, potrebno je angažovati zdravstvene radnike (farmacete, lekare, nutricioniste) u smislu organizovanja edukativnih programa namenjenih kako roditeljima, tako i deci.

Dijetetske suplemente treba primenjivati vrlo pažljivo u osjetljivom dečjem uzrastu. Iako je na tržištu prisutan veliki broj dijetetskih suplemenata, od kojih su mnogi namenjeni deci, treba ih primenjivati sa velikom rezervom i uz savet farmaceuta ili lekara. Najčešće se radi o vitaminsko-mineralnim formulacijama, ali su u apotekama sve više zastupljeni i biljni suplementi, koje treba primenjivati sa posebnom pažnjom.

## Literatura

1. Pravilnik o zdravstvenoj ispravnosti dijetetskih proizvoda, Službeni Glasnik RS br. 45/2010 i 27/2011.
2. Dietary Supplement Health and Education Act (DSHEA), Federal register 42 USC 287C-11; 1994
3. American Academy of Pediatrics. Where We Stand: Vitamins. Accessed June 10,2010.<http://www.healthychildren.org/English/healthyliving/nutrition/pages/Where-We-Stand-Vitamins.aspx>
4. Directive 2002/46/EC of the European Parliament and of the Council on the approximation of the laws of the Member States relating to food suplements, Official Journal of the European Communities L 183, 2002; 51
5. Council Directive on nutritional labelling for foodstuffs 90/466/EEC, OJ 1991/2, 1991; 1
6. Commission Regulation (EU) No 384/2010 on the authorisation and refusal of authorisation of certain health claims made on foods and referring to the reduction of disease risk and to children's development and health, 2010.
7. Pravilnik o kvalitetu i uslovima upotrebe aditiva u namirnicama i o drugim zahtevima za aditive i njihove mešavine, Sl. List SCG br. 56; 2003, 2.
8. Anon. (2006). A global famine. Lancet, 367, 876.
9. A. Sommer, „Nutritional Blindness: Xerophthalmia and Keratomalacia,” Oxford University Press, New York, 1982.
10. Frank A., Osaki M.D., (1993). Iron deficiency in Childhood and Infancy. The New England Journal of Medicine Vol 329, broj 3: 190-193.
11. Hetzel BS, Dunn JT. The iodine deficiency disorders: their nature and prevention. Annu Rev Nutr 1989;9:21-38.
12. Gibson RS. Zinc nutrition in developing countries. Nutr Res 1994;7: 151-173.
13. Reeve LE, Chesney RW, DeLuca HF (1982). Vitamin D of human milk: identification of biologically active forms. Am J Clin Nutr 36: 122-126.
14. Krause's Food & Nutrition Therapy, 12th Edition Authors: L. Kathleen Mahan & Sylvia Escott-Stump, Saunders/Elsevier, 2008.
15. Marion Willard Evans Jr.; Harrison Ndetan; Michael Perko; Ronald Williams; Clark Walker (2012). Dietary Supplement Use by Children and Adolescents in the United States to Enhance Sport Performance - Results of the National Health Interview Survey. J Prim Prev. 2012;33(1):3-12.

# **Use of dietary supplements among pediatric population**

**Brižita Đorđević\***, **Sladana Sobajić**

University of Belgrade - Faculty of Pharmacy, Department of Bromatology,  
Vojvode Stepe 450, 11221 Belgrade, Serbia

---

## **Summary**

Dietary supplements are foodstuffs the purpose of which is to supplement the normal diet and which are concentrated sources of nutrients or other substances with a nutritional or physiological effect, marketed in dose forms (capsules, tablets, drops of liquid, etc) designed to be taken in measured small unit quantities. This food category is well regulated in USA, while in EU harmonization of the laws on food supplements of member states is not finished yet.. Dietary supplements for children are specially prepared, concerning both specific composition and adequate pharmaceutical formulation.

Information and education of parents about constituents of these products, as well as of importance of supplementation of particular nutrients is very important that they can, alone or with the help of pharmacist, choose most adequate dietary supplements that can fulfill specific nutritional requirements of their child.

**Key words:** dietary supplements, vitamins, minerals, pediatric population.

---

## Karakteristike farmaceutskih oblika lekova za decu – aspekti individualizacije terapije

Jela Milić\*, Gordana Vuleta, Snežana Savić

Univerzitet u Beogradu - Farmaceutski fakultet, Katedra za farmaceutsku tehnologiju i kozmetologiju, Vojvode Stepe 450, 11221 Beograd, Srbija

---

### Kratak sadržaj

Oralni farmaceutski oblici za decu predstavljaju izazov za formulaciju, a sam izbor vrste oblika zavisi od fizičkohemijskih i organoleptičkih osobina lekovite supstance, kao i od predviđene doze.

Oralni farmaceutski oblici za pedijatrijske pacijente mogu biti dostupni u vidu formulacija spremnih za upotrebu - rastvori, sirupi, suspenzije, tablete i drugi, ili u vidu formulacija koje zahtevaju dodatnu pripremu pre primene – prašak za izradu suspenzije, tablete za izradu suspenzije, prašak za izradu rastvora, kapi za izradu rastvora i drugi. Takođe se, u nedostatku pogodnog komercijalnog oblika leka za primenu kod dece različitog uzrasta, izrađuju magistralni preparati da bi se omogućilo precizno doziranje. U svetu „personalizovane medicine“ smatra se da su individualizovana terapija i fleksibilni farmaceutski oblici budućnost.

**Ključne reči:** deca, farmaceutski oblici lekova, formulacija, individualna terapija

---

\* Autor za korespondenciju: jela.milic@pharmacy.bg.ac.rs

## Uvod

Primena lekova kod pedijatrijskih pacijenata udružena je sa brojnim izazovima kojih nema, ili su izraženi u daleko manjem stepenu, kada se lekovi primenjuju kod odraslih pacijenata.

Poznato je da ima mnogo manje raspoloživih informacija o upotrebi najvećeg broja lekova kod pedijatrijskih pacijenata (1,2). Prema nekim dostupnim podacima oko 11 % lekova koji se koriste za lečenje dece, u evropskim zemljama, nije registrovano za primenu kod ove populacije (eng. *off label use*) ili uopšte nemaju dozvolu za stavljanje leka u promet (eng. *unlicensed*) (3). Takođe je činjenica da neki lekovi koji se koriste za pedijatrijske pacijente nisu u dozama podesnim za decu (1) i/ili su na tržištu dostupni samo u obliku čvrstih farmaceutskih oblika, koje deca, u zavisnosti od uzrasta, ne mogu da progutaju. Nadalje, doza koja treba da se primeni predstavlja samo deo čvrstog lekovitog oblika, a proporcionalno smanjivanje je teško postići. Ograničenja koja se odnose na tržišnu dostupnost pedijatrijskih lekova vezana su za ekonomski i demografske faktore, pre svih ograničen povraćaj investicija farmaceutskih kompanija. Regulativa EU iz 2007. (Uredba EU broj 1901/2006, koja je stupila na snagu 1.1.2007. godine) za medicinske proizvode za primenu u pedijatrijskoj populaciji, ima za cilj da omogući razvoj, dostupnost i ispitivanja (visokog etičkog nivoa), ovih medicinskih proizvoda (4).

Propisivanje lekova i primena lekova u pedijatrijskoj populaciji povezana je sa brojnim pitanjima. Na primer, da li je lek odobren za primenu kod pedijatrijskih pacijenata i za koju starosnu grupu? Ako nije odobren, da li postoji naučna informacija koja omogućuje da se proceni bezbednost i efikasnost leka za pedijatrijske pacijente različitog uzrasta? Ako je lek komercijalno raspoloživ za pedijatrijsku primenu, koja doza treba da se propiše i sa kojom učestalošću? Koji put treba da se odabere za primenu leka i koja doza? Ako lek nije raspoloživ u dozi podesnoj za dečju upotrebu, može li se organizovati njegova priprema *ex tempore*? Da li postoje studije stabilnosti, testovi ukusa, klinički podaci za decu, itd. vezano za pripremu lekovitih preparata za decu *ex tempore*? Kako treba pratiti lek u pogledu njegove efektivnosti, kao i neželjenih dejstava (1)?

Pedijatrijska populacija obuhvata više podgrupa: prevremeno rođene bebe, novorođenčad, bebe, decu (predškolsku i školsku) i adolescente.

Lekovite supstance za pedijatrijske pacijente doziraju su na osnovu odnosa mg/kg telesne mase ili mg/m<sup>2</sup> površine, primenjujući raspoložive informacije vezane za starosne grupe, kao i podatke o funkciji bubrega i jetre kod pacijenta. Izbor puta primene leka određuje se na osnovu ozbiljnosti bolesti, raspoloživosti lekovitih preparata za pojedine puteve primene i mogućnosti/ sposobnosti pacijenta da uzima lek

oralno (1). Osobine lekovite supstance, doza, stanje pacijenta, uzrast i put primene određuju izbor farmaceutskog oblika leka za pedijatrijske pacijente.

## Faktori značajni za formulaciju lekovitih preparata za decu

U razvoju farmaceutskih oblika lekova za pedijatrijsku populaciju, pored ostalih faktora, razmatra se mogućnost modifikacije doze, lakoća primene/gutanja, maskiranje ukusa, hemijska stabilnost, fizička stabilnost, mogućnost formulacije višenamenskog preparata/proizvoda, adekvatnost pakovanja i pribora za odmeravanje/doziranje (5).

Za prihvatanje lekovitog preparata za (per)oralnu primenu od strane deteta veoma su bitni ukus, miris, boja i tekstura prepatata. Lekovite supstance mogu biti gorkog ukusa ili izazvati iritaciju usta i grla, a time i odbijanje primene leka, pa se korigovanje ukusa u tečnim farmaceutskim oblicima nameće kao neophodnost. Formulacioni pristupi za poboljšanje ukusa uključuju upotrebu šećera, zasladičivača i aroma (poboljšavaju ukus, miris i senzorne karakteristike farmaceutskih oblika lekova) (1,5). Nekada se vrše modifikacije aktivne supstance koje uključuju izbor slabo rastvorljive soli, polimornog oblika ili proleka, u cilju poboljšanja ukusa ili se čestice leka oblažu polimernim filmom (1,5).

Smatra se da prilikom izbora korigensa ukusa treba izbegavati neobične arome i kompleksne kombinacije ukusa i uzeti u obzir ciljnu populaciju pošto kulturološki i društveni faktori mogu imati velik uticaj na stavove deteta. Istraživanja tržišta pokazala su da su arome „gume za žvakanje” i „grožđa” omiljene u SAD, a „tropsko voće” i „crvene bobice” u evropskim državama, izuzimajući skandinavske zemlje gde je omiljena aroma „sladić” (5).

Slatkoča formulacije predstavlja ključni faktor pošto deca umeju da prepoznaju slatko od malih nogu i vole slade od odraslih. Od zasladičivača najčešće se koristi saharoza, a ponekad i natrijum-saharin, aspartam ili sukraloza (1,5). Saharoza se ne preporučuje u preparatima za dugoročnu terapiju pošto izaziva probleme sa zubima (5).

Boja lekovitog preparata, takođe ima važnu ulogu kod lekova za decu, jer deca više vole i bolje prihvataju preparate svetlijih boja, ali se u isto vreme primena boja mora ograničiti usled moguće povezanosti sa preosetljivošću i drugim neželjenim reakcijama (1,5). Boje se obično biraju tako da odgovaraju ukusu preparata (npr. žuta za ukus limuna i banane, a crvena za aromu jagode, maline i višnje).

Mnoge pedijatrijske formulacije zahtevaju dodatnu obradu pre primene, kao u slučaju preparata čvrste konzistencije, koji su formulisani tako da se konstituišu ili rekonstituišu u rastvor ili suspenziju pre primene. U slučaju potrebe za dodatnom pripremom („manipulisanjem”) preparatom, moraju se ispuniti zahtevi za hemijsku i fizičku stabilnost, kako preparata u čvrstom obliku (dugoročno čuvanje), tako i u tečnom obliku (pripremljenom neposredno pre primene) (5).

Pošto je većina pedijatrijskih formulacija pakovana u višedožnim pakovanjima, postoji potreba da sadrže konzervanse. Pri izboru konzervansa i drugih pomoćnih supstanci potrebno je razmotriti odnos korist/rizik odabranog ekscipijensa, odnosno proceniti bezbednost primene u preparatima za određenu pedijatrijsku grupu (npr. benzilalkohol se ne sme davati novorođenčadi, zbog njihove nerazvijene metaboličke funkcije) (5).

U procesu kreiranja lekovitih preparata za pedijatrijsku populaciju bira se formulacija pogodna za komercijalizaciju za određenu aktivnu supstancu/lek. Osnovno načelo pri formulaciji treba da bude: „od jednostavnog do kompleksnog”, što znači da broj pomoćnih supstanci treba svesti na minimum i odabrati najjednostavniju moguću formulaciju i proizvodni proces (5).

## Farmaceutski oblici lekova za pedijatrijsku primenu

Izbor farmaceutskog oblika leka za pedijatrijske pacijente zavisi od očekivanog terapijskog efekta i uzrasta deteta. Farmaceutski oblici leka prema prikladnosti za različite grupe pedijatrijske populacije su:

- supozitorije za novorođenčad (0-27 dana, prvih mesec dana života),
- rastvori ili sirupi za odojčad i malu decu (28 dana - 23 meseca, 1 mesec do 2 godine),
- rastvori, sirupi, suspenzije ili šumeće tablete za predškolsku decu (2 - 5 godina)
- tablete koje se disperguju u ustima, tablete za žvakanje za školsku decu (6 – 11 godina)
- tablete, kapsule, praškovi, tablete za žvakanje za adolescente (12-16 ili 18 godina) (5-7).

Čvrsti farmaceutski oblici lekova (npr. tablete, čvrste kapsule) nisu pogodni za bebe i decu mlađu od 5 godina starosti, zbog nemogućnosti gutanja. Takođe, čvrsti oblici koji sadrže fiksnu dozu leka (npr. 250 mg) ne bi bili praktični za upotrebu kod ovakvih pacijenata, zbog potrebe prilagođavanja doze na osnovu telesne mase (mg/kg) ili telesne površine ( $\text{mg}/\text{m}^2$ ) deteta. Stoga, tečni lekoviti preparati imaju prednost kod oralne primene kod odojčadi i dece mlađe od 5 godina u odnosu na čvrste farmaceutske oblike, jer se doza leka može prilagoditi pacijentima različitog uzrasta (8-10).

U slučaju tečnih preparata za (per)oralnu primenu postoji preporuka u vezi sa volumenom doze :  $\leq 5 \text{ ml}$  za decu mlađu od 5 godina i  $\leq 10 \text{ ml}$  za decu stariju od 5 godina. Ova preporuka nije obavezujuća, volumen doze može nekada biti povećan u cilju postizanja priyatnijeg ukusa preparata (5).

Farmaceutski oblici lekova za pedijatrijsku populaciju mogu biti formulisani za različite puteve primene: oralni, rektalni, nazalni, bukalni, sublingvalni, parenteralni, dermalni, transdermalni, okularni.

Preparati za oralnu primenu su najprihvatljiviji za dugotrajnu terapiju, a parenteralni preparati imaju značajnu ulogu u terapiji akutnih bolesti i stanja. Pri primeni parenteralnih preparata najbolje bi bilo primenjivati jednodozne preparate, jer se smanjuje rizik od kontaminacije i/ili pogrešnog doziranja, ali ovi preparati su skuplji i nekada nisu dostupni u odgovarajućim dozama za pedijatrijske pacijente.

## **Farmaceutski oblici lekova za (per)oralnu primenu za decu**

Farmaceutski oblici lekova za decu mogu biti formulacije spremne za upotrebu (*ready-to-use*) i formulacije koje zahtevaju dodatnu pripremu („manipulaciju“) pre primene (1, 5).

### ***Farmaceutski oblici lekova spremni za upotrebu***

Tečni farmaceutski oblici lekova spremni za upotrebu su:

- rastvori
- sirupi
- suspenzije

Čvrsti farmaceutski oblici lekova spremni za upotrebu su:

- tablete za žvakanje
- orodisperzibilne tablete
- tablete
- kapsule
- oralne trake /filmovi(oral strips)

## **Rastvori za (per)oralnu primenu**

Rastvori i sirupi su najzastupljeniji farmaceutski oblici lekova za primenu u pedijatriji (najveći broj komercijalno dostupnih preparata su rastvori ili sirupi), a raspon koncentracije lekovitih supstanci u njima kreće se od  $1\mu\text{g}/\text{ml}$  do  $500 \text{ mg}/\text{ml}$ . Volumen doze rastvora najčešće iznosi od  $0,1\text{ml}-5\text{ml}$ , ali može biti i veći (5).

Vehikulum u rastvorima može biti prečišćena voda, mešavina prečišćene vode i organskih rastvarača ili, retko, samo organski rastvarač. Većina oralnih rastvora na tržištu je stabilna u uslovima sobne temperature, a pojedini zahtevaju čuvanje u frižideru tokom roka upotrebe proizvoda i/ili tokom perioda upotrebe posle otvaranja. Formulacije oralnih rastvora mogu biti jednostavne kada sadrže npr. samo jedan

rastvarač i jedan pufer, aromu i konzervanse, a mogu biti i složene kada sadrže veći broj rastvarača, sredstva za solubilizaciju, pufere, zasladičice, arome, konzervanse i boje.

Ukoliko je aktivna supstanca rastvorljiva u vodi, u dovoljnoj količini da se postigne terapijska koncentracija leka i ako je dobijeni rastvor stabilan, a ukus moguće maskirati, onda se formuliše oralni rastvor ili sirup bez organskih rastvarača ili uz dodatak male količine organskog rastvarača (do 5%) (1,5). Za pedijatrijske pacijente treba odabrati proizvode koji ne sadrže etanol, ako postoji mogućnost izbora. Takođe, svi ekscipijensi koje sadrži oralni preparat treba da budu poznati i da se podaci o njima nalaze u dokumentaciji o proizvodu. Formulacija rastvora povezana je sa sledećim izazovima: rastvorljivost, hemijska stabilnost, maskiranje ukusa i efikasnost konzervansa. Za jonizovane lekovite supstance potrebno je otkriti pri kojoj pH-vrednosti rastvora je postignuta željena rastvorljivost i hemijska stabilnost. Vodeni rastvori obavezno sadrže konzervanse, a uglavnom u njihov sastav ulaze i zasladičci, arome i boje.

Interesantni primeri oralnih rastvora sa svetskog tržišta su preparati za terapiju HIV-a (5):

- Emtriva® (Gilead Sciences), rastvor za oralnu primenu emtricitabina (nukleozidni inhibitor reverzne transkriptaze). Pedijatrijska doza emtricitabina je 6 mg/kg do 240 mg/kg dnevno za populaciju od 3 meseca do 17 godina. Emtriva® oralni rastvor (10 mg/ml) sadrži vodu, propilenglikol, EDTA, metil-parahidroksibenzoat, propil-parahidroksibenzoat, natrijum-fosfat monobazni, ksilitol, boju i arome.
- Ziagen® (GlaxoSmithKline), rastvor za oralnu primenu abakavir-sulfata (nukleozidni inhibitor reverzne transkriptaze) u obliku oralnog vodenog rastvora. Pedijatrijska doza abakavir sulfata je 8mg/kg do 300 mg/kg 2 puta na dan za uzrast od 3 meseca do 17 godina. Ziagen® oralni rastvor (20 mg/ml) sadrži prečišćenu vodu, propilenglikol, limunsku kiselinu, natrijum-citrat, metil-parahidroksibenzoat, propil-parahidroksibenzoat, saharin-natrijum, sorbitol, boju i arome.
- Epivir® (GlaxoSmithKline), rastvor za oralnu primenu lamivudina (nukleozidni inhibitor reverzne transkriptaze) primenjuje se u terapiji HIV-a i hepatitisa B. U terapiji HIV-a pedijatrijska doza je 4 mg/kg do 150 mg/kg dva puta na dan za uzrast od 3 meseca do 16 godina. U terapiji hepatitisa B dnevna doza za pedijatrijske pacijente je 3 mg/kg do 100 mg/kg za uzrast od 2 do 17 godina. Oralni rastvori lamivudina sadrže prečišćenu vodu, propilenglikol, 200 mg/ml saharine, limunsku kiselinu, natrijum-citrat, metil-parahidroksibenzoat, propil-parahidroksibenzoat, saharin-natrijum i arome.

Primeri registrovanih oralnih rastvora lekova za decu u Srbiji (11) prikazani su u Tabeli I.

**Tabela I** Primeri oralnih rastvora za pedijatrijsku populaciju na tržištu u Srbiji (11)

**Table I** Examples of pediatric oral solutions on Serbian market (11)

Lekovita supstanca	Zaštićeno ime	Koncentracija lekovite supstance	Farmakoterapijska grupa
paracetamol	Efferalgan	30mg/ml	analgoantipiretik
ambroksol -hlorid	Flavamed	15mg/5ml	mukolitik
folkodin	Folkodin	5mg/5ml	antitusik
metoklopramid- hlorid	Klometol	5mg/5ml	antiemetik
gvožđe III proteinsukcinilat	Legofer	800mg/15ml (40 mg feri jona/15 ml)	antianemik
morfín- sulfat	Oramorph	10mg/5ml, 30mg/5ml i 100mg/5ml	opioidni analgetik
metoklopramid hlorid	Reglan	5mg/5ml	antiemetik
butamirat- citrat	Sinetus	4mg/5ml	antitusik
salbutamol	Spalmotil	2mg/5ml	bronhospazmolitik

## Sirupi

Za aktivne supstance rastvorljive u vodi i hemijski stabilne, koje imaju neprijatan ukus koji se ne može maskirati u vodenom rastvoru, pogodan farmaceutski oblik je sirup (5). Sirupi su viskozni rastvori visokih koncentracija šećera ili zamena za šećer, koji u svom sastavu mogu imati konzervanse i arome (12).

Zbog većeg viskoziteta i sadržaja, zasladičima i aromama moguće je prikruti/maskirati neprijatan ukus nekih lekovitih supstanci, pošto samo jedan deo leka dolazi u kontakt sa receptorima za ukus prilikom gutanja viskoznog sirupa (5).

Velika koncentracija šećera čini sirupe hipertoničnim, a manja koncentracija vode čini ih otpornim na porast broja mikroorganizama, pa u nekim slučajevima konzervansi nisu potrebni (npr. ukoliko se sirup upotrebljava/uzima u kratkom vremenskom intervalu nakon izrade). Ipak, konzervansi su neophodni u većini višedoznih preparata (5).

Izazovi kod formulacije sirupa slični su kao i kod formulacije oralnih rastvora i uključuju rastvorljivost aktivne supstance, hemijsku stabilnost, kompatibilnost sa ekscipijensima, maskiranje ukusa i odgovarajući viskozitet. Neki sirupi sadrže do 7,5%

etanola. Koncentracija aktivnih supstanci u sirupima kreće se od 0,5 do 15 mg/ml a volumen doze kreće se od 0,13 ml/kg kod novorođenčadi do 10 ml kod dece (5).

Na svetskom tržištu postoji više komercijalno dostupnih sirupa za pedijatrijsku primenu. Neki od primera komercijalnih sirupa su: Retrovir® (zidovudin), Zyrtec® (cetirizin) i Clarinex® (desloratadin) (5, 13).

Cetirizin sirup (Zyrtec®, Pfizer) koristi se u terapiji alergija, a sadrži: cetirizin (1mg/ml), prečišćenu vodu, saharozu, glicerol, propilenglikol, acetatni pufer (pH-4,5) metil-parahidroksibenzoat, propil-parahidroksibenzoat i arome. Preporučena doza cetirizin sirupa za decu uzrasta od 6 meseci do 2 godine je 2,5mg (do 2 puta dnevno), a za uzrast od 2 do 5 godina je 5mg (5ml sirupa) i za decu stariju od 6 godina 5mg-10mg dnevno.

Primeri registrovanih lekovitih sirupa, za pedijatrsku primenu, u Srbiji (11) prikazani su u Tabeli II.

**Tabela II** Primeri lekovitih sirupa za pedijatrijske pacijente na tržištu u Srbiji (11)

**Table II** Examples of pediatric oral syrups on Serbia market (11)

Lekovita supstanca	Zaštićeno ime	Koncentracija lekovite supstance/volumen	Farmakoterapijska grupa
desloratadin	Aerius	0,5mg/ml	antihistaminik
salbutamol	Aloprol	2mg/5ml	bronhospazmolitik
feniramin- maleat	Avil	15mg/5ml	antihistaminik
sulfametoksazol + trimetoprim	Bactrim	200mg + 40mg)/5ml	kombinovani sulfonamid
ibuprofen	Brufen	100mg/5ml	nesteroidni antireumatik
loratadin	Claritine	5mg/5ml	antihistaminik
paracetamol	Febricet	120mg/5ml	analgoantipiretik
etosuksimid	Suxinutin	250mg/5ml	antiepileptik

## Suspenzije za (per)oralnu primenu

Ukoliko je aktivna supstanca hemijski stabilna u vodenoj sredini, ali nerastvorljiva u vodi, pristupa se formulaciji suspenzije. Za formulisanje suspenzije kao dvofaznog disperznog sistema neophodno je postići ne samo hemijsku već i fizičku stabilnost.

Poznato je da su za fizičku stabilnost suspenzija najznačajniji faktori odgovarajuća veličina čestica aktivnih supstanci i viskozitet tečne faze suspenzije (vehikuluma). Odgovarajuća veličina čestica se može positi usitnjavanjem, a viskozitet

vehikuluma dodatkom pogodnog sredstva za modifikaciju viskoziteta, kao što su ksantan guma ili hidroksipropilceluloza. Izborom pH-vrednosti pri kojoj je minimalni deo lekovite supstance rastvoren može se, u nekim slučajevima, postići i priјatniji ukus preparata, ali je često potrebno da u sastavu suspenzije budu i zasladićivači i/ili arome.

Primer komercijalne suspenzije za pedijatrijsku primenu, zanimljivog tehnološkog pristupa je Zovirax® suspenzija (GlaxoSmithKline), koja sadrži: 40mg/ml aciklovira, prečišćenu vodu, glicerol, sorbitol, mikrokristalnu celulozu, karmelozu-natrijum, metil – parahidroksibenzoat, propil – parahidroksibenzoat i arome. Aciklovir poseduje dve ionizujuće grupe ( $pKa=9,2$ /slaba kiselina,  $pKa=2,3$ /slaba baza) i njegova rastvorljivost je pH-zavisna. Rastvorljivost aciklovira pri fiziološkom pH je 2,5 mg/ml, a povećava se usled ionizacije pri pH – vrednostima  $<2$  i  $>10$  na vrednost veću od 100 mg/ml (5).

Ponekad se u formulaciji suspenzija paralelno radi na maskiranju ukusa prevođenjem rastvorljive lekovite supstance u manje rastvorljive oblike soli i postizanju produženog oslobođanja lekovite supstance. Primer komercijalne suspenzije sa produženim oslobođanjem je Delsym® (Novartis) koja sadrži dekstrametorfant-polistireks, kompleks leka sa anjonskom smolom stiren – divinilbenzen sulfonatom. U gastrointestinalnom traktu odvija se jonska izmena i oslobođa aktivna supstanca iz kompleksa.

## Tablete za žvakanje

Tablete za žvakanje su farmaceutski oblik leka, koji ima veliki potencijal primene u slučaju lekovitih supstanci priјatnog ukusa ili onih kojima ukus može biti maskiran. Izazovi u formulaciji tableta za žvakanje su vezani za mogućnost postizanja odgovarajućih senzorijelnih karakteristika preparata (npr. osećaj „peska“ u ustima i ostaci čestica na zubima). Manitol se često koristi kao ekscipijens u ovom obliku, zbog svoje slatkoće i priјatnog osećaja u ustima. Takođe se koriste različiti tipovi celuloze (celuloza, prašak i celuloza mikrokristalna) poput Avicel-a® CE15, koji doprinosi osećaju glatkoće u ustima i eliminiše osećaj „peska“ u ustima.

Kontaktna ambalaža je izuzetno značajna u zaštiti ove vrste proizvoda od vlage.

Primer komercijalnog preparta su Singulair® tablete za žvakanje (Merck) koje sadrže aktivnu supstancu montelukast–natrijum (antiastmatik) i sledeće ekscipijense: manitol, mikrokristalna celuloza, hidroksipropilceluloza, kroskarmelozu-natrijum, gvožđe (II)oksid aromu, aspartan i magnezijum–stearat. Montelukast–natrijum je rastvorljiv u vodi i brzo se resorbuje nakon primene u ovom farmaceutskom obliku. Takođe, u komercijalni preparat ove vrste spadaju i Tegretol® tablete za žvakanje (Novartis), koje sadrže aktivnu supstancu karbamazepin i ekscipijense: saharozu, skrob, natrijum skrob glikolat, želatinu, glicerol, stearinsku kiselinu, magnezijum stearat, koloidni silicijum dioksid i arome.

## Orodisperzibilne tablete

Ovaj farmaceutski oblik je jedan iz grupe „oralno dezintegrišućih tableta” (engl. *Orally disintegrating tablet/ ODT*), koji je pogodan kod pedijatrijskih i gerijatrijskih pacijenata, jer rešava problem otežanog gutanja celih tableta (5,14). Orodisperzibilne tablete se u toku nekoliko sekundi po kontaktu sa malom količinom pljuvačke raspadaju na sitne čestice, a resorpcija aktivne supstance može da se dešava u ustima(bukalno) ili u gastrointestinalnom traktu, nakon gutanja. Formulacija ovog farmaceutskog oblika razmatra se za lako rastvorljive lekovite supstance (doza<20 mg), čiji je ukus moguće maskirati. Faktori koji su značajni u formulaciji ovog oblika su: maskiranje ukusa, brzo oslobađanje lekovite supstance, izbor proizvodnog procesa, postizanje odgovarajuće friabilnosti tableta i izbor kontaktne ambalaže (5,14). Ove tablete se mogu proizvoditi primenom sledećih tehnologija: tehnologija sušenja smrzavanjem (liofilizacija), direktna kompresija ili tehnologija izlivanja u kalupe (15). Uobičajni ekscipijensi u tabletama koje se izrađuju direktnom kompresijom su: krospovidon, koloidni silicijum-dioksid, manitol, aspartam i arome.

Primeri komercijalnih preparata orodisperzibilnih tableta su Prevacid® i Zofran® (GlaxoSmithKline) (5,13). Prevacid® sadrži lansoprazol, koji se koristi u terapiji gastreozofagusnog refluksa, a primenjuje se na sledeći način: tableta se stavi na jezik i rastopi u ustima u toku jednog minuta, bez žvakanja.

Zofran® (GlaxoSmithKline) sadrži antiemetik ondasteron u obliku tableta izrađenih metodom liofilizacije, a primenjuje se u pedijatriji za uzrast od 4 do 11 godina. Ekscipijensi u ovim tabletama su: aspartam, želatina, manitol, natrijum-metil-parahidroksibenzoat i propil-parahidroksibenzoat i aroma. Zofran® tablete se na jeziku rastope u toku nekoliko sekundi, a zatim se rastvor proguta.

## Tablete

Pri formulaciji tableta doza aktivne supstance mora biti dovoljno mala da omogući izradu tablete, koja može lako da se proguta (5). Ukoliko je ukus neprijatan, onda se pristupa izradi obloženih tableta.

Primer komercijalnih tableta za decu uzrasta 3-5 godina i preko 6 godina je Dextrostat®(Shire US Inc).

Dextrostat® (Shire) tablete, jačine 5 mg i 10 mg sadrže dekstroamfetamin-sulfat, a koriste se u terapiji narkolepsije i nedostatka pažnje. Dextrostat® tablete kao ekscipijense sadrže: arapsku gumu, kukuruzni skrob, laktuzu, magnezijum-stearat i saharozu. Doza u pedijatriji za uzrast od 3 do 5 godina iznosi 2,5 mg dnevno (1/2 tablete od 5mg ili 1/4 tablete od 10 mg), a za uzrast preko 6 godina 5 - 40 mg dnevno.

## Kapsule

Trvde i meke kapsule formulišu se za primenu kod dece uzrasta, preko 6 godina.

Sadržaj kapsule čini jedna ili više lekovitih supstanci i različiti ekscipijensi, u zavisnosti od vrste kapsule i osobina lekovite supstance. Konzistencija sadržaja kapsula može da bude čvrsta, tečna ili pastozna.

Primeri kapsula za pedijatrijsku upotrebu na svetskom tržištu su: Straterra® (Lilly) kapsule i Vyvanse ®TM (Bristol-Myers Squibb) kapsule.

Straterra®, tvrde kapsule (Lilly) koje sadrže aktivnu supstancu atomoksetin dostupne su u jačinama 10mg, 18mg, 25mg, 40mg i 60mg, a koriste se u terapiji nedostatka pažnje. Kao pomoćne supstance sadrže pregelirani skrob i dimetikon (5).

Vyvanse®TM (Bristol-Myers Squibb) kapsule, sadrže lizdeksamfetamin-dimesilat koji je lizin amid, koji je prolek primarnog amina dekstroamfetamina, a primenjuje se u terapiji nedostatka pažnje kod dece 6-12 godina (5).

## Oralne trake/oralni filmovi

Oralne trake (eng. *oral strips*) su tanke i prijatnog ukusa (aromatizovane), a mogu se jednostavno aplikovati u bilo kom delu usne duplje. Ovaj oblik u kontaktu sa pljuvačkom hidratise, „topi” se i zadržava na mestu aplikacije dovoljno dugo da se postigne očekivano delovanje (16). Film treba da bude fleksibilan, elastičan ali i dovoljno čvrst da se ne ošteti pri pokretanju vilice i jezika (16). Za stabilnost i primenu ove vrste proizvoda, veoma je važno odgovarajuće pakovanje.

Količina aktivne supstance po traci ograničena je na 25 mg (5). Primer ovog oblika preparata sa tržišta je Benadryl® (Pfizer) traka u čiji sastav ulazi 25 mg difenhidramina, acesulfan-kalijum, karagenan, glicerol, gliceriloleat, triglyceridi srednjih lanaca, polisorbat 80, povidon, natrijum-polistirensulfonat, sukraloza, ksantan guma, boje i aroma. Svaka traka je posebno upakovana, a 10 upakovanih tračica se pakuje u plastični kontejner, a 2 plastična kontejnera čine finalno pakovanje.

## Farmaceutski oblici lekova koji zahtevaju pripremu pre primene

U ovu grupu farmaceutskih oblika lekova spadaju praškovi i granule za izradu rastvora i suspenzije, efervescentne tablete ili oralni praškovi koji se primenjuju nakon dodavanja u hranu ili piće (5).

U slučaju lekovitih supstanci koje su slabo rastvorljive i nisu hemijski stabilne u vodenoj sredini tokom dužeg vremena i gde je potrebno obezbediti odmeravanje doze iz višedoznog pakovanja, formulišu se čvrsti oblici leka za rekonstituisanje suspenzije.

Za izradu oralnih suspenzija za pedijatrijsku primenu mogu se koristiti praškovi, tablete, granule i mikrokapsule, a pripremaju se neposredno pre upotrebe. Ukoliko se za

rekonstituisanje suspenzije ne koristi prečišćena voda, onda je neophodno da pakovanje lekovitog preparata sadrži posebnu bočicu sa sredstvom za rekonstituisanje. Za ovu grupu preparata potrebno je obezbediti hemijsku stabilnost tokom ukupnog roka upotrebe proizvoda, kao i tokom perioda upotrebe rekonstituisane suspenzije (dani/nedelje) (5). Očuvanje hemijske stabilnosti može usloviti potrebu za specifičnim uslovima čuvanja (npr, na 2-8°C) bilo preparata u čvrstom stanju i/ili rekonstituisane suspenzije. Osnovni/polazni preparat mora posedovati fizičku stabilnost kako bi zadržao svojstva koja omogućavaju da se suspenzija lako rekonstituiše i tokom dužeg čuvanja, kao i da dobijena suspenzija ispuni i sledeće zahteve: da ne peni, da čestice sporo sedimentiraju i da se lako redisperguju (5). Tokom vremena, čvrste komponente u preparatu mogu formirati aglomerate ili nepoželjne grudvice u konstituisanoj suspenziji, te je neophodno prisustvo supstanci koje sprečavaju stvaranje čvrstog taloga, kao što je na primer skrob (5). Da bi suspenzija imala odgovarajuću protočnost, dodaju se sredstva za klizanje npr. koloidni silicijum-dioksid. Simetikon se dodaje kako bi rekonstituisana suspenzija manje penila i bilo omogućeno precizno doziranje. Izazovi u razvoju formulacija čvrstih oblika za izradu suspenzija su: maskiranje ukusa, hemijska i fizička stabilnost čvrstog oblika, sposobnost rekonstituisanja suspenzije, veličina čestica u čvrstom obliku i u suspenziji, fizička stabilnost suspenzije, resuspendibilnost istaložene suspenzije, adekvatno doziranje i pakovanje, postizanje biološke ekvivalencije i izbor sredstva za rekonstituisanje.

Primeri farmaceutskih oblika lekova sa tržišta koji zahtevaju pripremu pre primene prikazani su u Tabeli III.

**Tabela III** Primeri farmaceutskih oblika lekova, komercijalnih preparata, koji zahtevaju dodatnu pripremu pre primene (5)

**Table III** Examples of pediatric oral dosage forms, commercial products, that require manipulation before use (5)

Lekovita supstanca	Farmaceutski oblik	Zaštićeno ime
amoksicilin/klavulanat	prašak za oralnu suspenziju	Augmentin®
oseltamivir- fosfat	prašak za oralnu suspenziju	Tamiflu®
mikofenolna kiselina	prašak za oralnu suspenziju	CellCept®
ciprofloksacin	prašak za oralni rastvor	Cipro®
cefuroksim aksetil	prašak za oralnu suspenziju	Ceftin®
klaritromicin	granule za oralnu suspenziju	Biaxin®
lansoprazol	prašak za oralnu suspenziju	Prevacid®
cefaklor	praškovi za oralnu suspenziju	Alfacet
deferasiroks	tableta za konstituisanje u suspenziju	Exjade
lamotrigin	tableta za konstituisanje u suspenziju	Lamictal
ibuprofen	tableta za konstituisanje u suspenziju	Nurofen Active
amoksicilin	tableta za konstituisanje u suspenziju	Ospamox DT
amoksicilin/ kalijum-klavulanat	kapi za oralnu suspenziju	Augmentin®
oksikodon-hidrohlorid	oralni koncentrat	Oxyfast®
ranitidin-hidrohlorid	sumeće tablete	EFFER-dose®

## Farmaceutski preparati izrađeni *ex tempore* za pedijatrijske pacijente

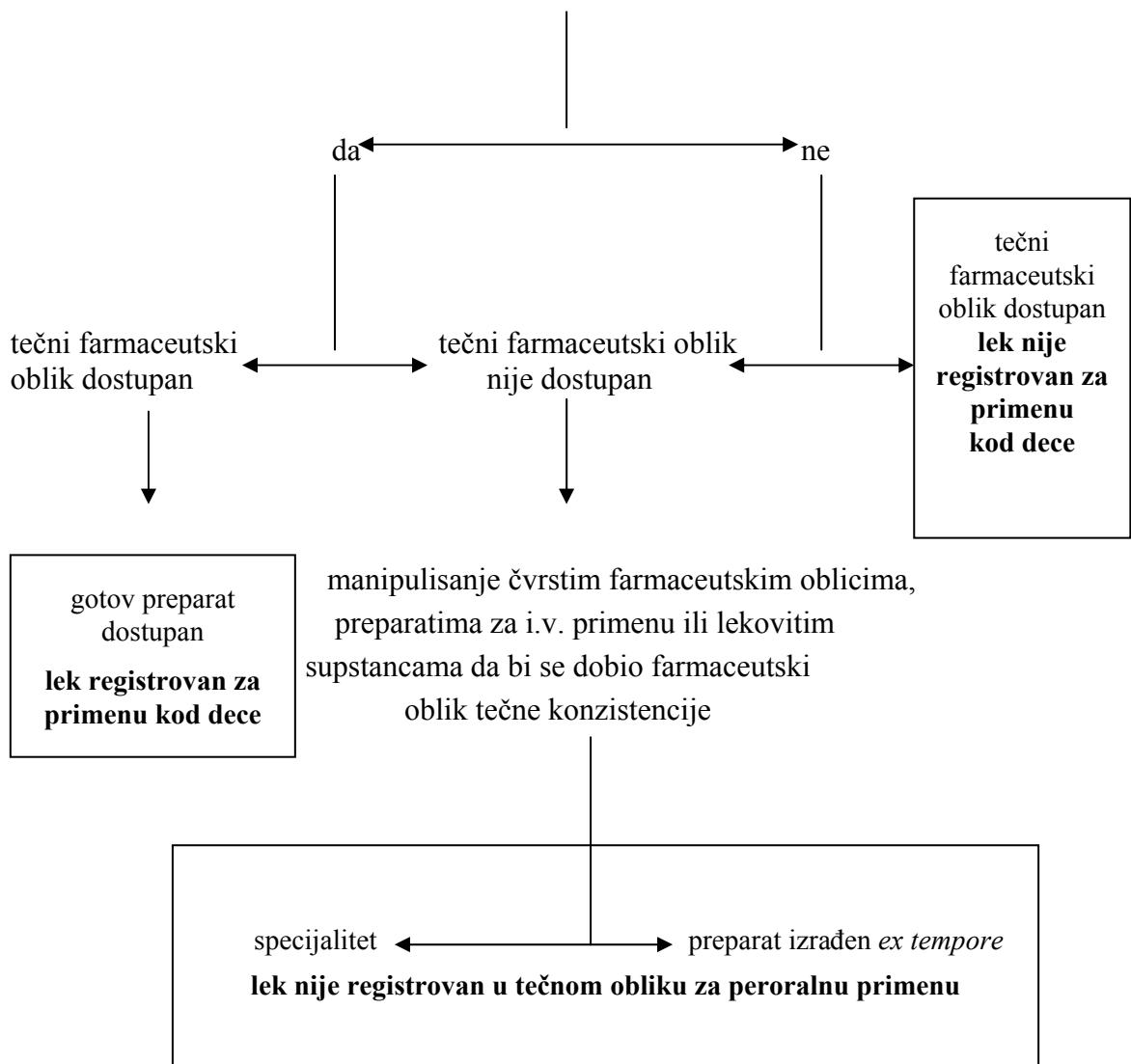
Pored brojnih registrovanih lekova na tržištu, pri lečenju je ponekad potrebno propisati i izraditi magistralni lek (eng. *compounded formulation for pediatric patients*) prilagođen potrebama pojedinačnog pacijenta. Zbog nedostatka farmakokinetičkih, farmakodinamskih i podataka o bezbednosti i efikasnosti nekih lekova u pedijatrijskoj populaciji, neki od njih nisu dostupni na tržištu sa oznakom za pedijatrijsku primenu, a potrebni su u terapiji pedijatrijskih pacijenata. U Tabeli IV prikazani su primeri lekova koji nisu dostupni na tržištu u obliku koji je pogodan za primenu kod beba i male dece (8-10).

**Tabela IV** Primeri nekih lekovitih supstanci koje na tržištu nisu dostupne u farmaceutskom obliku koji je pogodan za primenu kod beba i male dece (8,9)

**Table IV** Examples of medications not available in a suitable dosage form for infants and young children (8,9)

Lekovita supstanca	Farmakoterapijska grupa
amiodaron	antiaritmik
amitriptilin	antidepresiv
fenobarbiton	antikonvulziv
klindamicin	linkozamidni antibiotik
irbesartan	antihipertenziv
lanzoprazol	inhibitor protonske pumpe
lizinopril	antihipertenziv
enalapril	antihipertenziv
kaptopril	antihipertenziv
metotreksat	citostatik
meflokin	antimalarik
minoksidil	antihipertenziv
prokarbazin	antineoplastik
olanzapin	antipsihotik
propafenon	antiaritmik
sakvinavir	antivirotik
sertralin	antidepresiv
spironolakton	diuretik
tiagabin	antiepileptik

U nedostatku registrovanih lekova ili odgovarajućeg farmaceutskog oblika lekova za decu, na tržištu se pribegava izradi tečnih preparata za peroralnu primenu iz komercijalno dostupnih oblika lekova namenjenih za odrasle. Često se koriste tablete i tvrde kapsule kao izvor lekovite supstance. Na Slici 1 prikazane su smernice za obezbeđenje odgovarajućih peroralnih doza leka za decu, kod kojih primena tableta ili kapsula nije pogodna (10,17).



Slika 1. Smernice za obezbeđenje odgovarajućih peroralnih doza leka za decu kod kojih primena tableta ili kapsula nije pogodna (10,17)

Figure 1. Decision pathway for providing oral doses to children for whom whole tablets/capsules are unsuitable (10,17)

Peroralni farmaceutski oblici lekova za decu koji se najčešće izrađuju *ex tempore* su rastvori, sirupi i suspenzije (3). Za *ex tempore* izradu tečnih preparata iz tableta ili kapsula koriste se praškovi dobijeni usitnjavanjem/sprašivanjem tableta ili praznjenjem sadržaja kapsula i odgovarajući vehikulumi. Kao vehikulum može se koristiti smeša

koja se sastoji od: glicerola ili sirupa, metilceluloze i parabena (izrađuje se *ex tempore*) (10,18). Takođe, mogu se koristiti komercijalno dostupni vehikulumi za suspendovanje/„neutralne suspenzije” (npr. Ora-plus® i Ora-Sweet® SF, proizvođača Paddock Laboratories, Minneapolis, SAD) (10,18).

Formulacija tečnih preparata za peroralnu primenu kod dece zahteva pažljivo razmatranje mnogih faktora koji obezbeđuju izradu lekovitih preparata visokog kvaliteta i efikasnosti. Kada postoji mogućnost, ove preparate treba pripremati iz čistih aktivnih supstanci pouzdanim metodama, a izradu iz tableta primenjivati samo ako postoje adekvatni podaci o stabilnosti proizvoda (19).

Rizici povezani sa *ex tempore* izradom lekova, upotrebom gotovih proizvoda koji nisu registrovani za primenu kod dece, uključuju korišćenje pogrešnih proskripcija i proračuna, izbor neodgovarajućih ekscipijenasa, upotrebu neadekvatnih količina supstanci i formulisanje nestabilnih proizvoda. Problem koji postoji u vezi sa *ex tempore* izradom lekovitih preparata je ograničen broj podataka o njihovoj fizičkoj, hemijskoj i mikrobiološkoj stabilnosti (17).

Pri *ex tempore* izradi farmaceutskih preparata iz komercijano dostupnih lekova treba se rukovoditi onim proskripcijama za koje postoje podaci o ispitivanju stabilnosti preparata, izrađenog u skladu sa datom proskripcijom. Značajni podaci o stabilnosti nekih *ex tempore* izrađenih tečnih farmaceutskih preparata iz registrovanih/komercijalnih tableta navedeni su u radu, koji su Glass i Haywood objavili 2006 godine (20).

Primenu *ex tempore* izrađenih farmaceutskih preparata, iz komercijalno dostupnih lekova, treba pažljivo nadgledati i pratiti njihovu efikasnost i podnošljivost, s obzirom na nedostatak podataka o biološkoj raspoloživosti aktivne supstance iz ovih preparata (3).

## **Individualizacija terapije i „fleksibilni” farmaceutski oblici leka**

Personalizovana medicina (eng. *personalized medicines*), novi model zdravstvene zaštite, predviđa prilagođavanje terapije individualnim potrebama pacijenata - „individualizovana terapija” (eng. *individual therapy*) (21,22).

„Individualizacija terapije” podrazumeva odgovarajuću (pravu) dozu leka, odgovarajući farmaceutski oblik leka, odgovarajući učestalost doziranja i trajanje terapije, uzimajući u obzir posebne individualne faktore pojedinca (21,22). Očekuje se da će primenom ovog koncepta lekovi biti bezbedniji, efikasniji i sa manje neželjenih efekata jer će doza leka biti prilagođena potrebama pojedinačnog pacijenta.

Ovaj koncept podrazumeva farmaceutske oblike leka koji će biti više prilagođeni individualnim potrebama pacijenata, i pažljivija promišljanja o oslobođanju/„isporuci” lekovite supstance iz farmaceutskog oblika u organizmu.

Smatra se da se poboljšanje bezbednosti, kvaliteta i efikasnosti terapije može postići primenom novih lekova, novih pogleda na mehanizam dejstva, interakcije lekova i neželjena dejstva, ali i značajnim unapređenjem adherence. Obezbeđenje adherence/komplijanse je jedan od bitnih aspekta „individualizovane terapije”.

Individualizovan pristup terapiji je moguć za svakog pacijenta, ali prema podacima u stručnoj literaturi najširu mogućnost primene ima u sledećim grupama pacijenata:

- pacijenti kojima zbog godina (životna dob) treba posebno doziranje lekova – pedijatrijska i gerijatrijska populacija;
- pacijenti koji boljuju od određene bolesti (npr. kancer) ;
- pacijenti sa sličnim fiziološkim statusom (npr. gojazne osobe)
- pacijenti sa genetski determinisanom prihvatljivošću pojedinih lekova, koji mogu imati koristi od terapije, bez pojave neželjenih efekata.

Kod dece su prisutne značajne promene u metabolizmu i fiziološkim funkcijama, počevši od neonatalnog perioda, pa kroz period dojenja, do ranog i kasnog detinjstva. Iz navedenih razloga postoji potreba za razvojem farmaceutskih oblika leka i terapijskih sistema pogodnih za primenu kod dece i poboljšanjem bezbednosti doziranja u ovoj grupi pacijenata (22-24).

Smatra se da su formulacija sistema sa modifikovanim oslobođanjem leka i primena transmukoznim, intranasalnim i transdermalnim putem (prvenstveno kod novorođenčadi) neka od mogućih rešenja za budućnost. Takođe, od značaja je dalji rad na unapređenju izrade i kvaliteta magistralnih preparata, u apotekama, za obezbeđenje odgovarajuće terapije za decu, pošto veliki broj gotovih lekova na tržištu nije registrovan (nema dozvolu) za primenu u dece ili nije dostupan u odgovarajućem farmaceutskom obliku.

Koncept „individualizacije terapije” nameće potrebu razvoja fleksibilnijih farmaceutskih oblika doziranja. Fleksibilnost farmaceutskih oblika podrazumeva mogućnost podešavanja doze leka prema potrebama (22-24).

Prva strategija u realizaciji individualizacije lečenja bila je primena tečnih lekovitih preparata kod dece na osnovu telesne mase ili uzrasta. Kao sredstva/pribor za doziranje korištene su kašike, čaše, pipete, a odskoro se koriste i špricevi za oralnu primenu lekova (23). Kako tečni lekoviti preparati pokazuju neke nedostatke, poput manje stabilnosti aktivne supstance i viših troškova proizvodnje, u odnosu na čvrste oblike, intenzivno se radi na razvoju čvrstih farmaceutskih oblika pogodnih za primenu kod dece (22,24).

Svetska zdravstvena organizacija (WHO) je 2009. godine objavila koncept kojim se zahteva primena višečestičnih preparata za opštu pedijatrijsku terapiju (25).

Međutim, ovaj koncept ne daje predloge kako da se postigne i obezbedi pravilno doziranje ovih preparata shodno potrebama pedijatrijskih pacijenata. Esencijalni faktori za uspeh različitih pristupa „individualizovanoj terapiji“ su cene polaznih sirovina, proizvodni i transportni troškovi, značaj tog proizvoda za terapiju uopšte i korist za svakog pacijenta pojedinačno.



Slika 2. Klasifikacija farmaceutskih oblika doziranja prema fleksibilnosti doze i troškovima proizvodnje (22)

Figure 2. Classification of pharmaceutical dosage forms according to flexibility of a dose and manufacturing costs (22)

Prema literaturnim podacima mogući pristupi „individualizovanoj terapiji“ svrstani su u četiri osnovne grupe u zavisnosti od moguće fleksibilnosti doze i troškova za njegovu realizaciju (Slika 2). U najboljem slučaju sistem za individualno doziranje pripada klasi I (visoka fleksibilnost, niski troškovi), a u najlošijem klasi IV (niska fleksibilnost, visoki troškovi). Neke od pristupa mogu pratiti visoki troškovi razvoja ili proizvodnje, što može biti prihvatljivo samo ako je sistem visoko fleksibilan i rešava veliki problem u terapiji lekovima – klasa II. Neki drugi mogu biti laci za proizvodnju, ali pružaju manju fleksibilnost doza – klasa III, pa imaju manji značaj. Idealan princip doziranja bi trebalo da bude jednostavan i tačan u praksi, jeftin, robustan za dužu primenu i da u potpunosti odgovara velikom broju pacijenata (slika 2) (22).

## Literatura

1. Swarbrick J, Boylan JC, eds. Encyclopedia of Pharmaceutical Technology. 2nd ed. Marcel Dekker, Inc, New York, 2002.
2. Nahata MC. Pediatric Drug Formulations: Challenges and Potential Solutions. Ann. Pharmacother 1999; 33: 247-9.
3. Nunn AJ. Making medicines that children can take. Arch Dis Child 2003; 88: 369-71.
4. Regulation No 1901/2006 of the European Parliament and of the Council on medicinal products for paediatric use, Strasbourg, 12. decembar 2006.
5. Strickley RG, Iwata Q, Wu S, Dahl TC. Pediatric Drugs - A Review of Commercially Available Oral Formulations. J Pharm Sci. 2008; 97: 1731-74.
6. European Medicines Agency. Reflection paper: Formulations of choice for the paediatric population. London 2006. [http://www.ema.europa.eu/docs/en\\_GB/document\\_library/Scientific\\_guideline/2009/09/WC500003782.pdf](http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2009/09/WC500003782.pdf)
7. International Conference on Harmonisation. The guideline on clinical investigation of medicinal products in the paediatric population. CPMP/ICH/2711/99. [http://www.ich.org/fileadmin/Public\\_Web\\_Site/ICH\\_Products/Guidelines/Efficacy/E11/Step4/E11\\_Guideline.pdf](http://www.ich.org/fileadmin/Public_Web_Site/ICH_Products/Guidelines/Efficacy/E11/Step4/E11_Guideline.pdf)
8. Nahata MC, Allen LV. Extemporaneous Drug Formulations. Clin Ther 2008; 30: 2112-9.
9. Patel VP, Desai TR, Chavda BG, Katira RM. Extemporaneous dosage form for oral liquids. Pharmacophore 2011; 2:86-103.
10. Bubić-Pajić N, Pantelić I, Savić S, Vučeta G. Tečni farmaceutski preparati za primenu u pedijatriji izrađeni ex tempore. Arh Farm 2012; 62: 252-66
11. Nacionalni registar lekova 2012. Agencija za lekove i medicinska sredstva Srbije. Beograd, 2012.
12. Allen LV, Popovich NG, Ansel HC. Ansel's Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems, Lippincot Williams & Wilkins, Philadelphia, 2005.
13. Martindale : The Complete Drug Reference. 35th ed. London: Pharmaceutical Press, 2011.
14. Pfister WR, Ghosh TK. Orally disintegrating tablet: Products, technologies, and development issues. Pharmaceutical Technol 2005; 29: 136-50.
15. Sandi G, Bonferoni MC, Ferrari F, Rossi S, Caramella C. Differentiating factors between oral fast-dissolving technologies. Am J Drug Deliv 2006; 4:249-62.
16. Dixit RP, Puthli SP. Oral strip technology: Overview and future potential. J Control Release 2009; 139: 94-107.
17. Standing JF, Tuleu C. Pediatric formulations – Getting to the heart of the problem. Int J Pharm 2005; 300:56-66.
18. Woods DJ. Extemporaneous formulations of oral liquids - a guide <http://www.pharminfotech.co.nz/manual/Formulation/extemprep.pdf> (poslednji pristup 29.08.2012.)
19. Jakševac Mikša M, ed. Magistralni pripravci. Zagreb: Hrvatsko farmaceutsko društvo, 2008.
20. Glass BD, Haywood A. Stability considerations in liquid dosage forms extemporaneously prepared from commercially available products. J Pharm Pharmaceut Sci. 2006; 9:398-426.
21. Lee VH, Florence AT. Personalized medicines. Int J Pharm. 2011; 415: 1-2.
22. Wening K, Bretikreutz J. Oral drug delivery in personalized medicine : unmet needs and novel approaches. Int J Pharm. 2011; 404: 1-9

24. Walsh J, Bickmann D, Breitkreutz J, Chariot-Goulet M; European Paediatric Formulation Initiative (EuPFI). Delivery devices for the administration of paediatric formulations: overview of current practice, challenges and recent developments. *Int J Pharm.* 2011;415(1-2):221-31
25. Sam T, Ernest TB, Walsh J, Williams JL; on behalf of the European Paediatric Formulation Initiative (EuPFI). A benefit/risk approach towards selecting appropriate pharmaceutical dosage forms - An application for paediatric dosage form selection *Int J Pharm.* 2012 Oct 5;435(2):115-123. Epub 2012 May 22.
26. World Health Organization (WHO), Report of the Informal Expert Meeting on Dosage Forms of Medicines for Children. WHO Headquarter Geneva , 2009.

## **Characteristics of pediatric pharmaceutical dosage forms – aspects of individual therapy**

**Jela Milić \*, Gordana Vuleta, Snežana Savić**

University of Belgrade – Faculty of Pharmacy, Department of Pharmaceutical Technology and Cosmetology, Vojvode Stepe 450, 11221 Belgrade, Serbia

---

### **Summary**

Pediatric oral drug dosage forms can be scientifically challenging to develop, and the choice of which formulation type to develop is often dictated by the physicochemical properties and the taste of the active drug substance, along with the intended dose.

The physicochemical and organoleptic properties of the active drug substance such as solubility, chemical stability, and taste along with the intended dose can determine which formulations are feasible to develop. Oral pediatric formulation are available in different varieties and can be either a ready-to-use formulation such as a solution, syrup, suspension, tablet, or can also be a formulation that requires manipulation such as a powder for constitution to a suspension, tablet for constitution to a suspension, powder for constitution to a solution, drops for reconstitution to a suspension et al.

Increasing knowledge into personalized medicine has demonstrated the need for individual dosing and pharmaceutical dosage forms enabling a flexible.

**Key words:** pediatric, oral dosage forms; formulation, individual therapy

---

## Biološki lekovi: tri decenije razvoja

Miroslav M. Savić

Univerzitet u Beogradu - Farmaceutski fakultet, Katedra za farmakologiju,  
Vojvode Stepe 450, 11221 Beograd, Srbija

---

### Kratak sadržaj

Svaki lek čija je aktivna supstanca nastala u živom organizmu ili je izvedena iz živog organizma može da se smatra biološkim lekom. Vakcine, derivati i proizvodi od krvi ili hormoni izolovani iz tkiva životinja ili čoveka proizvode se tradicionalnim biotehnološkim postupcima i imaju dugu tradiciju primene kao biološki lekovi. Sa uvođenjem rekombinantnog humanog insulinu, 1982. godine, započela je era „visoko-tehnoloških“ bioloških lekova, koji se često označavaju terminom biofarmaceutici. Većinu biofarmaceutika čine rekombinantni proteini, koji se dobijaju tehnologijom rekombinantne DNK, i monoklonska antitela, čiji se razvoj bazirao na hibridoma tehnologiji. Sa regulatornog aspekta, ključna osobina bioloških lekova jeste neophodnost primene bioloških metoda za njihovu punu karakterizaciju, što je posledica kompleksnosti i heterogenosti njihove strukture. Otuda je klasifikacija nekog proizvoda kao biološkog leka podložna promenama. Na primer, danas se antibiotici ne smatraju biološkim lekovima, s obzirom na to da se u potpunosti mogu okarakterisati fizičkim i hemijskim metodama. Paradoksalno, moguće je i da se lek koji se dobija sintezom smatra biološkim lekom i takav je slučaj sa pegaptanibom, pegilovanim modifikovanim oligonukleotidom, koji se klasificuje kao biofarmaceutik. Otuda, uočava se potreba da se u klasifikaciju uvede i kategorija graničnih proizvoda, koji pored osobina bioloških lekova imaju i osobine konvencionalnih hemijskih lekova.

**Ključne reči:** biofarmaceutici; biotehnološki lekovi; biološki metodi

---

Savremena regulativa u oblasti lekova razlikuje dve kategorije ovih proizvoda: „hemijske” i „biološke” lekove. Dok pojam hemijskog leka ukazuje na hemijsku sintezu kao izvor aktivne supstance, kao biološki lek mogao bi se posmatrati svaki proizvod čija je aktivna supstanca nastala u životinjskom organizmu ili je izvedena iz živog organizma. Danas, većina bioloških lekova dobija se savremenim metodama biotehnologije, a pre svega tehnikom rekombinantne DNK (1-3).

Dosledna primena podele zasnovane na poreklu svrstala bi većinu antibiotika u biološke lekove, što se danas regulatorno ne smatra ispravnim. Naime, pored potrebe da aktivna supstanca bude proizvedena ili izvedena iz biološkog izvora, definicija biološkog leka u užem smislu reči uključuje i drugi uslov, koji podrazumeva da su za karakterizaciju i kontrolu kvaliteta neophodna i biološka, pored fizičko-hemijskih ispitivanja (2, 4).

## **Biološka ispitivanja bioloških lekova**

Biološka ispitivanja koriste biološke eseje, koji prate biološki odgovor koji ispitivani lek izaziva na životinjama, organima ili ćelijama. Istorijski primer takvog ispitivanja jeste izražavanje potentnosti preparata digitalisa u tzv. žabljim jedinicama, kao količini preparata potrebnoj da se, nominalno, ubije 1 g žabe (odnosno, žaba čija je masa „normalizovana” na 1 g). Jasno je da ovakva nestandardizovana ispitivanja odlikuje nepouzdanost dobijenih rezultata (4).

Savremeni biološki eseji kvantifikuju efekat u poređenju sa intenzitetom efekta eksternog standarda i na taj način se izbegava korišćenje „žabljih” ili drugih izrazito varijabilnih jedinica. U praksi, određuje se potentnost biološkog leka kao odnos aktivnosti testirane šarže i odgovarajućeg standarda, koji se označava kao međunarodni standard. Na taj način se postiže „biološka standardizacija” biološkog leka, koju fizičko-hemijska ispitivanja ne mogu da obezbede. Aktivnost biološkog leka izražava se u međunarodnim jedinicama, a ne u apsolutnim jedinicama mase ili količine materije međunarodnog sistema jedinica. Svetska zdravstvena organizacija utvrđuje listu ustanova koje pripremaju i širom sveta distribuiraju međunarodne standarde. Za više od 95% svih međunarodnih standarda odgovoran je britanski Nacionalni institut za biološke standarde i kontrolu (2).

## **Strukturna kompleksnost i heterogenost bioloških lekova**

Dva su razloga zbog kojih biološki lekovi ne mogu u potpunosti da se karakterišu metodama fizičko-hemijskih ispitivanja: njihova strukturna kompleksnost s jedne, i heterogenost s druge strane. **Strukturna kompleksnost** bioloških lekova je posledica njihove hemijske prirode. Sa aspekta prirode aktivne supstance, ovi lekovi se mogu sastojati od celih mikroorganizama ili sisarskih ćelija ili od nukleinsko-kiselinskih, proteinskih ili polisaharidnih komponenti poreklom iz mikrobiološkog, životinjskog,

humanog ili biljnog izvora. Ogromna većina postojećih bioloških lekova ima proteinsku prirodu, sa raznovrsnim biološkim ulogama hormona, citokina, enzima, antitela i drugih regulatornih molekula. Stoga, dok su hemijski lekovi najčešće relativno male molekulske mase, reda veličine nekoliko stotina do oko hiljadu daltona, biološki lekovi imaju mnogostruko veće molekulske mase. Kao primer, faktor koagulacije VIII, korišćen u tretmanu hemofilije, ima primarnu strukturu koju formira 2361 aminokiselina, sa ukupnom molekulskom masom od 268000. Brojni drugi terapijski važni proteini imaju sličan stepen kompleksnosti, tako da je molekulska masa monoklonskih antitela oko 150000 (3-5).

Napredak u oblasti tehnologija fizičko-hemijske analitike sve više savladava izazove strukturne kompleksnosti bioloških lekova. Tako **rekombinantni humani insulin**, sa 51 aminokiselinom i molekulskom masom od 5800, kao i **rekombinantni humani hormon rasta**, sa 191 aminokiselinom i molekulskom masom od 22000, danas dolaze u promet bez potrebe prethodnog sprovođenja bioloških eseja. Zato se sa regulatornog aspekta u nekim zemljama (npr. SAD) insulin i hormon rasta tretiraju kao hemijski, a ne biološki lekovi (2, 4).

S druge strane, **heterogenost** brojnih bioloških lekova predstavlja izazov koji je još uvek često nerešiv. Nekada je heterogenost terapijski neophodna i stoga namerna, kao što je slučaj kod primene složenih mešavina mikrobnih antigena, koji treba da oponašaju infekciju patogenim organizmom i izazovu zaštitni imunski odgovor širokog spektra. U drugim slučajevima, heterogenost je povezana sa prirodnom biosinteze, koja rezultuje formiranjem više srodnih, ali hemijski različitih molekulskih struktura. Najčešće pominjani i istraživani izvor molekulske heterogenosti bioloških lekova jeste glikozilacija, kao oblik post-translacijske modifikacije. Glikozilacija je proces u kome se odvija vezivanje ugljenohidratnih grupa za specifična mesta proteina i, za razliku od sinteze proteina, ne zavisi od genskog obrasca (2, 4).

Kod eritropoetina na primer, glikozilacija dovodi do formiranja bi-, tri- i tetra-antenarnih struktura i u zavisnosti od broja terminalnih rezidua sijalinske kiseline gel-izoelektrično fokusiranje eritropoetina može da otkrije prisustvo do šest glavnih izoformi. Humani eritropoetin sastoji se od 165 aminokiselina, sa jednim mestom O-glikozilacije na serinu 126 i tri mesta N-glikozilacije na asparaginu 24, 38 i 83. Teorijska masa proteina iznosi 18240 Da, a stvarna masa dobijena elektroforezom iznosi 34 do 36 kDa, što ukazuje da je prosečan ugljenohidratni sadržaj eritropoetina približno 40%. Iako je u ovakvim slučajevima često tehnički ostvarljivo da se kvantifikuje bazična proteinska struktura, takav pristup nije optimalan. Kod eritropoetina na primer, pokazano je da biološka aktivnost *in vivo* u znatnoj meri zavisi od glikozilacije, što znači da proizvod koji sadrži eritropoetin ne može da bude biološki relevantno kvantifikovan merenjem količine proteina koji sadrži. Usled razlika u glikozilaciji, danas postoji pet bioloških lekova dobijenih rekombinantnom

tehnologijom koji imaju istovetnu primarnu strukturu eritropoetina, a označavaju se kao **epoetin alfa**, **epoetin beta**, **epoetin kapa**, **epoetin teta** i **epoetin zeta**; dodatno, postoji oblik u kome je izvršena izmena četiri aminokiseline prirodnog eritropoetina i koje se označava kao **darbepoetin alfa** (6).

Konačno, ilustrativan je spisak modifikacija kojima mogu da se podvrgnu monoklonska antitela, a koje predstavljaju nepregledan izvor heterogenosti ovih proteina: nekompletno formiranje disulfidnih veza, glikozilacija, piroglutaminska ciklizacija na N-terminalu, obrada lizina na C-terminalu, deamidacija, izomerizacija, oksidacija, amidacija aminokiseline na C-terminalu, modifikacija aminokiselina N-kraja maleuričnom kiselinom, nekovalentno asociranje sa drugim molekulima, konformacijski diverzitet, agregiranje. Zapravo, moguća je koegzistencija desetina hiljada varijanti sa istom primarnom sekvencom (5).

## Nomenklatura i klasifikacija bioloških lekova

Često se navodi da era bioloških lekova počinje 1982. godine, kada je uveden rekombinantni humani insulin proizведен u bakteriji *Escherichia coli*. S druge strane, jasno je da lekovi kao što su **heparin ili streptokinaza**, uvedeni znatno pre humanog insulina, zadovoljavaju dva osnovna kriterijuma za biološke lekove: potiču iz biološkog izvora, a za njihovu karakterizaciju i kontrolu kvaliteta neophodna su i biološka, pored fizičko-hemijskih ispitivanja. Sa stručnog aspekta, ponekada se za jedan proizvod mogu istovremeno naći čvrsti argumenti i za svrstavanje i za nesvrstavanje u grupu bioloških lekova. Zbog toga je celishodno da se, pored hemijskih i bioloških lekova, uvede i grupa „graničnih proizvoda”, u koje bi spadali peptidi, polinukleozidi, proizvodi fermentacije, semisintetski proizvodi; ova lista se ne može smatrati potpunom (1, 2, 4).

Primer grupe lekova koja se regulatorno neujednačeno tretira jesu niskomolekularni heparini. Oni se dobijaju depolimerizacijom visoko prečišćenog nefrakcionisanog heparina, čija je molekulska masa oko 16000 Da. Vezivanjem za antitrombin ubrzavaju inaktivaciju faktora Xa i IIa, što dovodi do inhibicije kaskade koagulacije, s time da ispoljavaju veću inhibitornu aktivnost na faktor Xa nego na faktor IIa; za heparin, ovaj odnos je jediničan. U kliničkoj primeni u svetu nalazi se osam originalnih predstavnika ove grupe (molekulske mase su navedene u zagradi): **enoksaparin** (4500), **dalteparin** (6000), **tinzaparin** (6500), **certoparin** (5400), **parnaparin** (5000), **nadroparin** (4300), **reviparin** (4400), **bemiparin** (3600). Što se tiče farmakodinamskog profila, heterogenost ovih lekova mogu da ilustruju odnosi anti-Xa: anti-IIa aktivnosti, koji, prema nalazima dva posebna eksperimenta, za enoksaparin iznose 3,8 i 3,9; za dalteparin 2,7 i 2,5; za tinzaparin, 2,2 i 1,6; za certoparin, 3,2 i 2,4; za nadroparin, 3,6 i 3,3; za reviparin, 4,1 i 4,2. Regulatorno, u Evropskoj uniji je odlučeno da se predstavnici ove grupe tretiraju kao biološki lekovi i proizvodi koji se razvijaju po isteku patentne zaštite originalnih proizvoda treba da zadovolje kriterijume

biološki sličnih lekova. S druge strane, u SAD se takvi niskomolekularni heparini tretiraju kao generički lekovi i tako je 2010. i 2011. odobren po jedan generički enoksaparin. Za potvrdu tvrdnje da generički enoksaprin sadrži isti aktivni princip kao originator, primjenjeni su kriterijumi ekvivalentnosti u 1. izvoru heparina i načinu depolimerizacije; 2. fizičko-hemijskim osobinama; 3. disaharidnim gradivnim blokovima, mapiranju fragmenata i sekvenci oligosaharidnih vrsta; 4. biološkim i biohemijskim testovima; 5. *in vivo* farmakodinamskom profilu kod zdravih dobrovoljaca. Iz ovoga se može zaključiti da kriterijumi koji se postavljaju pred generičke niskomolekularne heparine u SAD daleko prevazilaze zahteve koji se odnose na standardne generičke lekove i da u tom smislu formalno drugačija regulatorna rešenja ne znače nužno da su i kriterijumi suštinski manje zahtevni (7).

Drugi primer leka koji se može smatrati graničnim proizvodom jeste **pegaptanib**. U pitanju je sintetski pegilovani modifikovani oligonukleotid i za sada jedini klinički primjenjeni predstavnik tzv. aptamera. Naziv ovog terapijskog koncepta potiče od latinskog *aptus*, „uklapati se“. U biološkoj sredini, lanac nukleotida kao aptamera stupa u intramolekulske interakcije koje savijaju molekul u kompleksan trodimenzionalni oblik. Nastali oblik aptamera omogućuje čvrsto vezivanje za površinu ciljnog molekula, koji se nalazi ekstracelularno, što znači da ovi lekovi, iako oligonukleotidne prirode, ne stupaju u interakciju sa genetskim materijalom. Aptameri imaju veliku moć razlikovanja srodnih struktura, odnosno, poseduju velike afinitete za endogene molekule za čije prepoznavanje su razvijeni, a relativno male za strukturno slične molekule. Pegaptanib se sa velikim afinitetom i izuzetnom selektivnošću veže za vaskularni faktor rasta endotela i indikovan je u tretmanu neovaskularne (vlažne) senilne degeneracije makule, na svakih 6 nedelja intravitrealno (9 injekcija godišnje). Pored neuobičajene strukture, karakteristika ovog leka je sintetski put dobijanja, što čini paradoksalnim njegovo svrstavanje u biološke lekove; ipak, hemijska priroda leka i složenost njegove karakterizacije opravdavaju, velikim delom, ovakav pristup (8, 9).

## Biotehnološki lekovi i biofarmaceutici

Termin *biotehnološki lek*, kada se koristi, odnosi se na ogromnu većinu bioloških lekova koji se proizvode korišćenjem metoda biotehnologije. Kada se govori o biotehnološkim lekovima, od praktične je koristi da se razlikuju, uslovno rečeno, „nisko-tehnološki“ i „visoko-tehnološki“ proizvodi. „Nisko-tehnološki“ proizvodi se pripremaju tradicionalnim biotehnološkim postupcima, kao što su izolovanje i ekstrakcija, a među njima dugu tradiciju proizvodnje i primene imaju vakcine, proizvodi krvi, toksini, antiserumi; lista ni ovoga puta nije potpuna. S druge strane, „visoko-tehnološki“ proizvodi predstavljaju onu grupu lekova (čiji je rodonačelnik humani insulin), koji se dobijaju modernim biotehnološkim postupcima, a koji imaju tri decenije razvoja iza sebe (1).

„Visoko-tehnološki” proizvodi izvedeni iz savremenih biotehnoloških postupaka predstavljaju najveći deo *biofarmaceutika*. Pod pojmom biofarmaceutika podrazumevaju se svi proizvodi koji sadrže proteine ili nukleinske kiseline, a koji su proizvedeni svim onim tehnikama koje isključuju direktnu ekstrakciju iz nativnog biološkog izvora. Tu su obuhvaćene sofisticirane metode biotehnologije, kao što su tehnologija rekombinantne DNK, hibridoma tehnologija za monoklonska antitela ili blokada nukleotida i antisens tehnologija, ali tu spadaju i hemijska sinteza (primer pegaptaniba), kao i procedure genske terapije, somatske ćelijske terapije ili bioinženjeringu tkiva, od kojih se očekuje da u budućnosti obezbede lekove za naprednu terapiju. Ova terapija, još uvek u domenu neizvesnih velikih očekivanja, treba da bude zasnovana na tehnologiji transfera gena i trajne biološke modifikacije – reprogramiranja – somatskih ćelija, što znači da bi pojam leka doživeo suštinsku transformaciju (1, 3).

Savremeni biofarmaceutici najčešće uključuju tehnologiju rekombinantne DNK. U pitanju je postupak genetskog inženjeringu odgovarajuće ćelijske linije kojim se formira DNK molekul koji u datoj ekspresionoj ćeliji ne postoji prirodno. Nastali ekspresioni sistem se amplificiše u ćelijskoj kulturi, najčešće ćelija sisara ili mikroorganizama, a 2012. godine odobren je za promet i prvi biotehnološki lek koji se proizvodi u biljnim ćelijama. U pitanju je taligluceraza alfa, modifikovani humani enzim  $\beta$ -glukocerebrozidaza, koji se dobija u bioreaktorima sa genetski inženjerizovanim ćelijama šargarepe, a indikovan je kao supstitucionu terapiju kod Gaucher-ove bolesti (3, 5).

U okviru „visoko-tehnoloških” bioloških lekova proteinske prirode od praktičnog je značaja razdvajanje na biofarmaceutike prve i druge generacije. Prvu generaciju biofarmaceutika čine „jednostavnii supstitucioni proteini”, koji predstavljaju molekule istovetne endogenim proteinima, kao što su insulin, hormon rasta, tkivni aktivator plazminogena, tiroidostimulirajući hormon, folikulostimulirajući hormon, luteinizirajući hormon, glukagon, faktor stimulacije kolonije granulocita,  $\alpha$  galaktozidaza, interferoni  $\alpha$  i  $\beta$  ili faktor koagulacije VIII. U nekim slučajevima, rekombinantni humani molekuli dobijaju novo ime koje predstavlja međunarodni nezaštićeni naziv (INN); tako je **somatropin** naziv za hormon rasta, **alteplaza** označava „visoko-tehnološki” biološki lek koji je strukturno istovetan kao tkivni aktivator plazminogena, **filgrastim** je istovetan faktoru stimulacije kolonije granulocita, a **sargramostim** je istovetan faktoru stimulacije kolonija granulocita i makrofaga (3, 9).

U drugu generaciju biofarmaceutika spadaju lekovi dobijeni „proteinskim inženeringom”, koji se primenjuje s jednim ili više od sledećih ciljeva: a) dobijanje proizvoda sa bržim ili sporijim nastupom dejstva; b) izmena poluvremena eliminacije proteina; c) izmena imunogenosti proizvoda; d) formiranje novih fuzionisanih (hibridnih) terapijskih proteina. Radi se o tehnikama izmene sekvence aminokiselina, izmene šećerne komponente glikozilovanog proteina, ili kovalentnog vezivanja

hemijskih struktura kao što je polietilenglikol. Najpoznatiji primeri izmene primarne sekvene aminokiselina su insulin druge generacije: **insulin aspart**, **insulin detemir**, **insulin glargin**, **insulin glulizin** i **insulin lispro**. **Pegfilgrastim** je pegilovani oblik filgrastima, a **peginterferon α-2a** pegilovani oblik **interferona α-2a**. Konačno, epoetin alfa, epoetin beta, epoetin kapa, epoetin teta i epoetin zeta predstavljaju proteine iste primarne strukture, sa suptilnim razlikama u šećernim komponentama (5, 9).

## Monoklonska antitela: klasa lekova sa najbržim rastom

Konvencionalni antiserumi koji se decenijama dobijaju iz krvi imunizovanih ljudi ili životinja sadrže poliklonska antitela, odnosno, mešavinu antitela koja potiču iz svih klonova plazmatskih ćelija koje su reagovale na određeni antigen. Danas, najveću grupu biofarmaceutika predstavljaju monoklonska antitela, koja su se prvo bitno zasnivala na otkriću iz 1975. godine, za koje su Milstein i Köhler dobili Nobelovu nagradu: dobijanja iz imunizovanih miševa imortalizovanog *hybridoma*. U pitanju je linija tumorskih ćelija u koju je fuzionisan određeni klon B-limfocita iz slezine miša, koji *in vitro* proizvodi određeno, *monoklonsko*, antitelo u velikoj količini (10).

**Muromonab-CD3**, prvi biološki lek iz grupe monoklonskih antitela, dobijen je hibridoma tehnologijom i registrovan je 1986. u SAD za tretman akutnog odbacivanja transplantata. Lek je specifičan za CD3 kompleks na površini T limfocita, koji je uključen u prepoznavanje antiga i stimulaciju ćelija; neposredno nakon primene monoklonskog antitela, CD3 pozitivni limfociti se naglo uklanjaju iz cirkulacije. U pitanju je mišje antitelo, na šta ukazuje i infiks „mo”. S obzirom na to da je pokazano da između 50 i 80% pacijenata koji primaju mišja monoklonska antitela razvije humana antimišja antitela (HAMA) nakon prve aplikacije, vremenom može doći do tahifilaksije i neutralizacije monoklonskog antitela. Posledično, terapijska efikasnost takvih proizvoda često je ograničena na prvu i, eventualno, drugu dozu (5, 10).

Napori da se ovi proteini „humanizuju” doveli su do uvođenja monoklonskih antitela druge generacije: prvo himernih monoklonskih antitela sa 30% mišje sekvene aminokiselina (primer **abciksimab**, infiks „ksi”), zatim humanizovanih antitela sa 5% mišje sekvene (primer **trastuzumab**, infiks „zu”) i konačno, kompletno humanih antitela (primer **adalimumab**, infiks „u”). Kod himernih antitela, konstruišu se himerni geni koji kodiraju varijabilne regije mišjeg i konstantne regije lakih i teških lanaca humanog porekla. Kod humanizovanih antitela, mišjeg porekla su samo hipervarijabilni regoni, koji sadrže mesta vezivanja antiga. Postupci ovakvog inženjerizovanja proteina, a posebno dobijanja potpuno humanih antitela, zahtevaju primenu još sofisticiranijih tehnika u odnosu na početnu hibridoma tehnologiju, kao što su transgeni miševi ili „phage display” tehnologija, koja podrazumeva ispoljavanje delova antitela u bakterijama i njihovo prikazivanje na virusima – bakteriofagima (10).

Prema podacima od marta 2012. godine, u EU ili SAD se u prometu nalazi 28 monoklonskih antitela: abciksimab, rituksimab, baziliksimab, palivizumab, infliksimab,

trastuzumab, alemtuzumab, adalimumab, tositumomab-I131, cetuximab, ibrituximab tiuksetan, omalizumab, bevacizumab, natalizumab, ranibizumab, panitumumab, eculizumab, certolizumab pegol, golimumab, canakinumab, catumaxsomab, ustekinumab, totilizumab, ofatumumab, denosumab, belimumab, ipilimumab i brentuximab. Šest predstavnika koji su bili u prometu više nije registrovano: muromonab-CD3, nebacumab, edrekolomab, daktlizumab, gemituzumab ozogamicin i efalizumab. Dodatno, nimotuzumab, humanizovano monoklonsko antitelo usmereno na receptor za epidermalni faktor rasta, registrovan je na Kubi kao domicilnoj zemlji i u još 20-ak država, ali ne i u EU ili SAD (11).

Većina (75%; 21 od 28) ima „kanonsku strukturu” pune dužine antitela. Od sedam „nekanonskih antitela”, tri (abciximab, ranibizumab, certolizumab pegol) predstavljaju Fab fragmente, od kojih je jedan (certolizumab pegol) pegilovan; dva (tositumomab-J<sup>131</sup>, ibrituximab tiuksetan) nose radioizotope; po jedno su konjugat antitelo-lek (brentuximab vedotin) i bispecifično antitelo (catumaxsomab) (11).

Prema stanju iz 2010. godine (5), svetski promet monoklonskih antitela iznosi 52 milijarde dolara, što je gotovo polovina ukupnog prometa proteinskih bioloških lekova od 108 milijardi dolara. Među deset bioloških lekova sa najvećim prometom, šest su monoklonska antitela: bevacizumab, rituksimab, adalimumab, infliksimab, trastuzumab i ranibizumab. Pored njih, među najkorišćenijim lekovima je i jedan predstavnik fuzionih proteina sa delimičnom strukturom antitela, etanercept. Preostala tri biološka leka na ovoj listi su insulin glargin, epoetin alfa i pegfilgrastim (Tabela I).

## Fuzioni proteini

Proteinsko inženjerstvo omogućilo je stvaranje nove klase tzv. „fuzionih” ili „hibridnih” biofarmaceutika. Takvi proizvodi sastoje se od dva ili potencijalno više prirodnih proteina/polipeptida (ili, češće, njihovih fragmenata), koji su povezani bilo direktno, bilo preko kratke vezne sekvene aminokiselina. Uopšteno, jedan deo fuzionog proizvoda ima funkciju molekulskog prepoznavanja, dok drugi segment ima efektornu funkciju (12).

Postoje dve osnovne grupe fuzionih proteina. U prvoj grupi, efektorni molekuli su fuzionisani sa Fc domenima antitela, albuminom ili transferinom, pre svega u cilju produženja poluvremena eliminacije fuzionog proizvoda. Najpoznatiji predstavnik je **etanercept**, koji se sastoji od ekstracelularnog, ligand-vezujućeg dela receptora za humani faktor nekroze tumora (TNF), povezanog sa Fc regionom humanog IgG antitela. Fuzioni proizvod je eksprimiran u ćelijskoj liniji ovarijalnih ćelija kineskog hrčka. U drugoj grupi se nalaze fuzioni proteini koji ispoljavaju toksični efekat nakon specifičnog vezivanja za ciljno mesto. Primer je **denileukin diftitoks**, koji se sastoji od aminokiselinskih ostataka 1-386 i 484-485 toksina difterije i rezidua 2-133 interleukina 2. Indikovan je kod kožnog limfoma T ćelija, čije maligne ćelije na površini

eksprimiraju CD25 komponentu receptora za interleukin-2 i zbog toga pojačano vezuju toksični fuzioni protein (9).

## Specifičnosti bezbednosnog profila bioloških lekova

Iako generalizacije sa tako velikom i heterogenom grupom lekova nisu poželjne, može se očekivati da biološki lekovi, koji obično imaju jasno izdvojeno ciljno mesto vezivanja i fokusiran profil farmakoloških dejstava, ispoljavaju sužen spektar neželjenih dejstava u poređenju sa hemijskim lekovima. Ipak, sa aspekta bezbednosti, opšta je preporuka pri primeni bioloških lekova da je potrebna spremnost na neočekivane događaje, posebno u ranim fazama kliničkih ispitivanja (13).

U poređenju sa konvencionalnim hemijskim lekovima, biološki lekovi mogu da nose karakteristične rizike primene koji su povezani sa specifičnim delovanjem na važne regulatorne mehanizme i puteve. Tako je sa inhibitorima faktora nekroze tumora α, kao što je infliksimab, zapažena povećana učestalost tuberkuloze, dok je sa jednom formulacijom rekombinantnog humanog eritropoetina utvrđeno dramatično povećanje javljanja čiste aplazije eritrocita. U istoriji bezbednosnih pitanja bioloških lekova ostao je kao posebno dramatičan slučaj iz 2006. godine, kada je šest zdravih dobrovoljaca primilo pojedinačnu dozu monoklonskog antitela TGN1412, za koje su prethodna ispitivanja pokazala da predstavlju tzv. superagonistu CD28 receptora na T ćelijama. Primljena doza je bila 500 puta manja od one koja se pokazala bezbednom u ispitivanju na majmunima. Uprkos svim procenama, monoklonsko antitelo je precipitiralo tzv. „citokinsku oluju“ kod svih ispitanika, sa zakazivanjem više organa, a najteži ishodi su sprečeni samo zahvaljujući brzom i energičnom tretmanu. U ovom slučaju je samo potvrđeno da prediktibilnost rezultata prekliničkih ispitivanja potencijalnih bioloških lekova nije dovoljno pouzdana. Dva su osnovna razloga za takav zaključak: postojanje specijes-specifičnih farmakoloških dejstava, kao i imunogenost humanih proteina – koji predstavljaju većinu bioloških lekova – kod životinja (5, 13).

Neželjena imunogenost prepoznata je i od strane razvojnih kompanija i od strane regulatornih ustanova kao centralno zajedničko istraživačko pitanje bioloških lekova. Imunološki odgovor, najčešće u obliku stvaranja antitela na biološki lek, može da bude praćen različitim ishodima, kao što su anafilaksia, reakcija na infuziju, ukrštena reaktivnost na endogene proteine, blaže neželjene reakcije, izmenjena farmakokinetika, gubitak efikasnosti, a moguće je i da očekivani klinički efekat izostane. Iako regulatorne ustanove čine napore da se na nivou vodiča utvrde opšte smernice za procenu imunogenosti bioloških lekova, oni ne predstavljaju standardne molekule koji se mogu staviti u fiksirane i čvrste smernice. Istovremeno, ovo nalaže od zdravstvenih radnika da budu stalno spremni na neočekivane događaje, kako u istraživanju, tako i u postmarketinškom praćenju bioloških lekova (13).

**Tabela I** Biološki lekovi sa najvećim prometom u svetu u toku 2010. godine. Promet je izražen u milijardama USD. Modifikovano prema referenci 5.

	Nezaštićeno ime	Cilj/mehanizam	Tip	Kompanija	Indikacije (glavne)	Promet
1	etanercept	TNF $\alpha$ (faktor nekroze tumora a)	fuzija Fc i receptora za TNF	Amgen Wyeth	reumatoidni artritis; juvenilni idiopatski artritis; psorijatički artritis; ankirozirajući spondilitis	7,287
2	bevacizumab	VEGF (vaskularni faktor rasta endotela)	humanizovan i IgG	Genentech Roche Chugai	metastatski karcinom kolona ili rektuma; metastatski kancer dojke; neoperabilan ne-sitnoćelijski kancer pluća	6,973
3	rituksimab	CD20	himerni IgG	Genentech Biogen-IDEK Roche	non-Hodgkin-ov limfom; hronična limfocitna leukemija; reumatoidni artritis	6,859
4	adalimumab	TNF $\alpha$	humani IgG	Abbott Eisai	reumatoidni artritis; poliartikularni juvenilni idiopatski artritis; ankirozirajući spondilitis; psorijatički artritis; psorijaza; Crohn-ova bolest; ulcerativni kolitis	6,548
5	infliksimab	TNF $\alpha$	himerni IgG	Centocor (J&J) Schering-Plough	reumatoidni artritis; Crohn-ova bolest kod odraslih i dece; ankirozirajući spondilitis, psorijatički artritis; psorijaza	6,520
6	trastuzumab	Her2 receptor	humanizovan i IgG	Genentech Chugai Roche	metastatski kancer dojke, rani kancer dojke; metastatski kancer želuca	5,859
7	insulin glargin	receptor za insulin	modifikovani insulin	Sanofi-Aventis	dijabetes melitus kod odraslih, adolescenata i dece starije od 2 godine	4,834
8	epoetin alfa	receptor za eritropoetin	humani rekombinantni i eritropoetin	Amgen Ortho Biotech Kyowa Hakko Kirin	simptomatska anemija povezana sa hroničnom bubrežnom insuficijencijom; tretman anemije i smanjenje zahteva za transfuzijom kod odraslih pacijenata koji primaju hemoterapiju	4,590
9	pegfilgrastim	receptor za G-CSF (faktor stimulacije kolonija granulocita)	pegilovani rekombinantni i humani G-CSF	Amgen	smanjenje trajanja neutropenije i učestalosti febrilne neutropenije kod pacijenata sa malignitetom lečenim citotoksičnom hemoterapijom	3,558
10	ranibizumab	VEGF	humanizovan i Fab	Genentech Novartis	neovaskularna (vlažna) senilna degeneracija makule; oštećenje vida usled dijabetičkog edema makule; oštećenje vida usled edema makule uzrokovanog okluzijom vene mrežnjače	3,106

## Literatura

1. Walsh G. Biopharmaceuticals and biotechnology medicines: an issue of nomenclature. *Eur J Pharm Sci* 2002; 15: 135-8.
2. Longstaff C, Whitton CM, Stebbings R, Gray E. How do we assure the quality of biological medicines? *Drug Discov Today* 2009; 14: 50-5.
3. Walsh G. Biopharmaceutical benchmarks 2010. *Nat Biotechnol* 2010; 28: 917-24.
4. Bristow AF. Assignment of quantities to biological medicines: an old problem re-discovered. *Philos Transact A Math Phys Eng Sci.* 2011; 369: 4004-13.
5. Dimitrov DS. Therapeutic proteins. *Methods Mol Biol* 2012; 899: 1-26.
6. Lee JS, Ha TK, Lee SJ, Lee GM. Current state and perspectives on erythropoietin production. *Appl Microbiol Biotechnol* 2012; 95: 1405-16.
7. Ofosu FA. A review of the two major regulatory pathways for non-proprietary low-molecular-weight heparins. *Thromb Haemost* 2012; 107: 201-14.
8. Chong V. Biological, preclinical and clinical characteristics of inhibitors of vascular endothelial growth factors. *Ophthalmologica* 2012; 227 Suppl 1: 2-10.
9. Walsh G. Second-generation biopharmaceuticals. *Eur J Pharm Biopharm* 2004; 58: 185-96.
10. Nelson AL, Dhimolea E, Reichert JM. Development trends for human monoclonal antibody therapeutics. *Nat Rev Drug Discov* 2010; 9: 767-74.
11. Reichert JM. Marketed therapeutic antibodies compendium. *MAbs* 2012; 4: 413-415.
12. Schmidt SR. Fusion-proteins as biopharmaceuticals--applications and challenges. *Curr Opin Drug Discov Devel* 2009; 12: 284-95.
13. Giezen TJ, Mantel-Teeuwisse AK, Leufkens HG. Pharmacovigilance of biopharmaceuticals: challenges remain. *Drug Saf* 2009; 32: 811-7.

# **Biological medicines: three decades of progress**

**Miroslav M. Savić**

University of Belgrade - Faculty of Pharmacy, Department of Pharmacology,  
Vojvode Stepe 450, 11221 Belgrade, Serbia

---

## **Summary**

Any medicine whose active substance is present in living organisms, or derived from living organisms, may be considered as a biological product. Vaccines, blood derivatives and products, or hormones isolated from animal or human tissues are produced by traditional biotechnological means and have a long history of use as biologics. With introduction of the recombinant human insulin in 1982, there started an era of 'high-tech' biological medicines, also known as biopharmaceuticals. Recombinant proteins, produced by recombinant DNA technology, and monoclonal antibodies, whose development was based on hybridoma technology, comprise the majority of biopharmaceuticals. The necessity of using biological methods for full characterization is considered by the drug regulation authorities as the key property of biologics, related to complexity and heterogeneity of their structure. Hence, classification of a product as a biological can change over time. For example, the full characterization of antibiotics by physical and chemical methods is feasible nowadays, and hence these drugs are not regarded as biologics any more. Paradoxically, it is possible that a synthetic product be regarded as a biological medicine, and this is the case with pegaptanib, a pegylated modified oligonucleotide, classified into biopharmaceuticals. Hence, the need of introducing a category of borderline products into classification of medicines is noticeable; these products possess some properties of conventional chemical medicines, in addition to those of biologics.

**Keywords:** biopharmaceuticals; biotechnological medicines; biological methods

---

## Regulatorni aspekti bioloških lekova

Branka Brzaković

Agencija za lekove i medicinska sredstva Srbije, Sektor za procenu dokumentacije o leku, Vojvode Stepe 458, Beograd, Srbija

---

### Kratak sadržaj

Biološki lek je lek čiju aktivnu supstancu čini biološka supstanca pod kojom se podrazumeva supstanca proizvedena ili ekstrahovana iz biološkog izvora za čiju su kategorizaciju i kontrolu kvaliteta neophodna fizičko-hemijsko-biološka ispitivanja, kao i opis proizvodnog procesa i njegova kontrola. Biološki sličan lek je lek biološkog porekla sličan referentnom leku biološkog porekla koji ne ispunjava uslove za generički lek u odnosu na razlike u sirovinama i razlike u procesima izrade tog biološki sličnog leka i referentnog leka biološkog porekla.

Regulatorne smernice EMA, zasnovane na naučnim saznanjima i terapijskom iskustvu, definišu važna pitanja vezana za kvalitet, bezbednost i efikasnost biotehnoloških i biološki sličnih lekova. Naša nacionalna regulativa nastoji da sledi regulativu EU.

Koncept biološki sličnog leka zasniva se na pokazanoj komparabilnosti sa referentnim lekom u pogledu kvaliteta, efikasnosti i bezbednosti. Pokazana komparabilnost na nivou kvaliteta omogućava redukciju kliničkih i pretkliničkih podataka u poređenju sa potpunom procedurom. Ključna pitanja razvoja biološki sličnog leka su komparativna bezbednost i imunogenost.

**Ključne reči:** biosimilar, smernice, kvalitet, efikasnost, bezbednost

---

## **1. Uvod**

Biološki lek je lek čiju aktivnu supstancu čini biološka supstanca pod kojom se podrazumeva supstanca proizvedena ili ekstrahovana iz biološkog izvora za čiju su kategorizaciju i kontrolu kvaliteta neophodna fizičko-hemijsko-biološka ispitivanja, kao i opis proizvodnog procesa i njegova kontrola. Ovako biološki lek definiše Zakon o lekovima i medicinskim sredstvima iz 2010. godine (1). Nacionalni regulatorni zahtevi u ovoj oblasti prvenstveno su zasnovani na aktuelnoj regulativi Evropske unije (EU) (2).

Biološki lekovi čine veliku i veoma heterogenu grupu lekova u koju spadaju biotehnološki proizvodi ili lekovi izvedeni iz drugih novih tehnologija, imunološki lekovi, kao što su serumi i vakcine, lekovi proizvedeni iz krvi i plazme, kao i ostali prozvodi dobijeni iz nativnih bioloških izvora (insulin, heparin, aminokiseline, antibiotici dobijeni fermentacijom, hijaluronska kiselina). Biotehnološki lekovi su lekovi proizvedeni korišćenjem biotehnoloških procesa: rekombinantnom DNK tehnologijom, kontrolisanom ekspresijom gena koji kodiraju biološki aktivne proteine u prokariotama i eukariotama, uključujući transformisane ćelije sisara, kao i metodama za dobijanje hibridnih i monoklonskih antitela (hormoni, citokini, monoklonska antitela, faktori koagulacije, itd.).

Zakon o lekovima i medicinskim sredstvima razlikuje imunološke lekove, lekove iz krvi i krvne plazme i lekove za naprednu terapiju, u koje svrstava lekove za gensku terapiju, lekove za somatsku ćelijsku terapiju i lekove dobijene iz tkiva bioinžinjeringom (3).

Veliki broj biotehnoloških lekova (više od 150) koristi se za tretman kancera, reumatoidnog artritisa, dijabetesa, multiple skleroze (Tabela I), još veći broj (oko 400) je u fazi razvoja, uglavnom u cilju lečenja teških oboljenja. Oko 35% novih aktivnih supstanci u 2000. godini činili su biološki lekovi i taj trend se nastavlja (4).

**Tabela I** Primeri važnih bioloških lekova (♦ odobren u Srbiji)

Ime leka	INN	Indikacija
Enbrel ♦	etanercept	artritis, psorijaza
Humira ♦	adalimubab	artritis
Rebif ♦	interferon beta	multipla skleroza
Avastin ♦	bevasizumab	kolorektalni kancer
Epogen	epoetin alfa	anemija
Lantus ♦	insulin glargin	dijabetes
Rituxan	rituksimab	Non-Hodgkin-ov limfom
Remicade ♦	infliksimab	artritis, Chron-ova bolest, ulcerozni kolitis, psorijaza
Herceptin ♦	trastuzumab	kancer dojke i želuca
Glivec ♦	imatinib	hronična mijeloidna leukemija

## 2. Regulatorni pristupi u odobravanju biotehnoloških lekova

### 2.1. Lek sa potpunom dokumentacijom

Biološki lek može se odobriti na osnovu potpunih podataka o kvalitetu, efikasnosti i bezbednosti, i tada se radi o originalnom leku. Sadržaj zahteva za dobijanje dozvole za stavljanje u promet ovakvog leka definiše Zakon o lekovima i medicinskim sredstvima (5), dok Pravilnik o sadržaju zahteva i dokumentacije, kao i načinu dobijanja dozvole za stavljanje leka u promet iz 2012. godine detaljnije propisuje sadržaj zahteva i dokumentacije, kao i način dobijanja i obnove dozvole (6).

Pored administrativnih podataka, potrebno je da dokumentacija o leku sadrži farmaceutsko-hemijsko-biološke podatke o lekovima sa aktivnom supstancom biološkog porekla, kao i rezultate pretkliničkih i kliničkih ispitivanja. Ključne reči u procesu odobravanja biološkog leka su kvalitet, efikasnost i bezbednost, kao i kod leka hemijskog porekla, ali razlike među njima uslovljaju specifičnosti u pristupu proceni dokumentacije.

## **2.2. Biološki sličan lek**

Biološki sličan lek (*biosimilar*) je sličan već odobrenom biološkom leku. Biološki sličan lek je u Zakonu o lekovima i medicinskim sredstvima definisan kao lek biološkog porekla sličan referentnom leku biološkog porekla koji ne ispunjava uslove za generički lek u odnosu na razlike u sirovinama i razlike u procesima izrade tog biološki sličnog leka i referentnog leka biološkog porekla (7). Pojam *biosimilara* takođe potiče iz evropske regulative, iz osnovne smernice Evropske agencije za lekove za ovu grupu lekova, koja daje bazične postulate i uvodi koncept biološki sličnog leka (8).

Biološki slični lekovi se ponekad pojednostavljeno nazivaju biološkim genericima. Međutim, za njih generički pristup ne važi, ili, tačnije rečeno, pokazana biološka ekvivalentnost u studiji biološke raspoloživosti sa referentnim lekom nije dovoljna da bi se u potpunosti pokazala biološka sličnost.

Generički lek se registruje na osnovu skraćene dokumentacije, bez sopstvenih farmakološko-toksikoloških i kliničkih podataka, a sa studijom biološke ekvivalentnosti sprovedenom u odnosu na originalni lek. Generički lek je suštinski sličan originalnom, ima isti kvalitativan i kvantitativan sastav u pogledu aktivne supstance, isti farmaceutski oblik doziranja i biološki je ekvivalentan originalnom leku. Biološki lekovi su relativno veliki i kompleksni molekuli i utvrđivanje identičnosti svojstava nije jednostavno, a sam proizvodni proces nije lako iskopirati. Biološki sličan lek nije identičan originalnom biološkom leku, već je sličan. Od proizvođača *biosimilara* zahteva se da pokaže sličnost sa referentnim lekom na svim nivoima, u pogledu kvaliteta, efikasnosti i bezbednosti.

U EU biološki slični lekovi registruju se od 2006. godine, i to tzv. centralizovanom procedurom, što znači da se procenjuju i odobravaju u svim zemljama članicama istovremeno. U Republici Srbiji ovi lekovi dobijaju dozvolu za stavljanje u promet u nacionalnoj proceduri, ali se prilikom podnošenja zahteva traži i dokaz da je predloženi lek dobio dozvolu u EU po centralizovanom postupku (9).

Broj odobrenih biološki sličnih lekova raste. Patent za neke originalne biotehnološke lekove je istekao (somatropin, epoetin alfa, epoetin zeta, filgastrim) ili je na putu da istekne (TNF-alfa inhibitori). Biotehnološki lekovi su uglavnom namenjeni za lečenje ozbiljnih bolesti i njihov razvoj ima veliki uticaj na produženje i poboljšanje kvaliteta života mnogih teško obolelih ljudi, a niže cene biološki sličnih lekova omogućavaju značajne uštede.

### 3. Procena dokumentacije o biološki sličnom leku

EMA daje niz smernica za procenu kvaliteta, efikasnosti i bezbednosti biološki sličnih lekova, kako opštih, tako i prilagođenih specifičnim grupama lekova, kao što su intereferon alfa, somatropin, insulin, heparini male molekulske mase, epoetin, monoklonska antitela, itd (Slika 1). Zahtevi su fleksibilni u zavisnosti od naučnih saznanja i kliničkih iskustava. Pokazivanje biološke sličnosti sprovodi se od slučaja do slučaja, a opšti principi nalaze se u smernicama.



Slika 1. Pregled smernica Evropske agencije za lekove za biološki slične lekove

Preporuke date za biološki sličan lek mogu se proširiti i na druge biološke lekove, ali ih je lakše primeniti na visoko pročišćene proizvode, koji se mogu u zadovoljavajućoj meri okarakterisati (8). Sam koncept se zasniva na pokazanoj komparabilnosti sa referentnim lekom, koji mora biti registrovan u EU na osnovu potpune dokumentacije. Isti referentni lek koristi se u ispitivanju komparabilnosti za sva tri dela dokumentacije: kvalitet, efikasnost i bezbednost. Ovaj proces je olakšan ako biosimilar ima isti farmaceutski oblik, jačinu, formulaciju itd, kao i referentni lek, u suprotnom, dodatna pretklinička i klinička ispitivanja mogu biti potrebna.

#### 3.1. Procena kvaliteta biološki sličnog leka

U poređenju sa konvencionalnim lekovima koji imaju dobro definisanu, relativno jednostavnu strukturu i fizičko-hemijske karakteristike, biološki lekovi su složeni makromolekuli sa sofisticiranom trodimenzionalnom strukturom, imaju slabije

definisane fizičko-hemijske karakteristike, osetljivi su na toplotu i mehanički stres. Banka ćelija i uslovi u kulturi ćelija su jedinstveni, a procesi purifikacije su kompleksni i utiču na sastav leka. Inovatorske kuće lansirale su slogan „the process is the product”, kojim se naglašava da jedan proizvodni proces daje jedan lek, i da ga je zbog složenosti teško iskopirati.

Komparabilnost na nivou kvaliteta definiše se karakteristikama aktivne supstance, karakteristikama procesa proizvodnje, karakteristikama sistema prečišćavanja i specifikacijom proizvodne serije. Za kategorizaciju i kontrolu kvaliteta *biosimilara* zbog kompleksnosti strukture i uticaja proizvodnog procesa nije dovoljno ispitati samo gotov proizvod, a njegova potpuna karakterizacija nije ni moguća. Ipak, jasna identifikacija je neophodna zbog postmarketinškog praćenja leka. Aktivna supstanca treba da bude slična, u molekularnom i u biološkom pogledu. Osim toga, potrebno je pokazati konzistentnost i robustnost sopstvenog proizvodnog procesa, jer je molekulska struktura biološkog leka veoma osetljiva na fluktuacije u procesu proizvodnje (pH vrednost, temperatura, kultura ćelija), što za posledicu ima nekonzistentnost proizvodne serije. Iako se ove promene mogu činiti malim ili neznatnim, one dovode do izmena u trodimenzionalnoj strukturi i post-translacionih modifikacija, kao što je profil glikolizacije, što može značajno da utiče na efikasnost i bezbednost leka (10).

Iako se ne može očekivati da parametri kvaliteta budi isti kod *biosimilara* i referentnog leka, postojeće razlike uvek treba obrazložiti, jer one utiču na zahteve za (pret)kliničkim ispitivanjima. Pokazana komparabilnost na nivou kvaliteta omogućava redukciju kliničkih i pretkliničkih podataka u poređenju sa potpunom procedurom.

### **3.2. Procena pretkliničkih i kliničkih podataka o biološki sličnom leku**

Cilj razvoja biološki sličnog leka nije da se pokaže korist (benefit) od leka, jer je to već urađeno u procesu razvoja originalnog leka, već da se razvije lek komparabilan sa referentnim lekom.

Preporučena *pretklinička* ispitivanja predstavljaju kombinaciju in vitro studija vezivanja za receptore i in vivo ispitivanja na jednoj ili više životinjskih vrsta, poželjno na onoj vrsti na kojoj je ispitivan referentni lek, u cilju praćenja promena u farmakodinamičkim parametrima (traganje efekta), toksičnosti i toksikokinetike posle primene ponovljenih doza, ili oblasti od posebnog interesa u pogledu bezbednosti leka (11). Akcenat je na dobro zasnovanom naučnom pristupu od slučaja do slučaja.

Lek korišćen u *komparativnim kliničkim ispitivanjima* treba da bude proizveden proizvodnim procesom koji će se koristiti za proizvodnju leka za tržište. Klinička ispitivanja obuhvataju farmakokinetička, farmakodinamička ispitivanja i studije efikasnosti. Farmakokinetička ispitivanja su veoma osetljiva na eventualne razlike među preparatima. Kod malih molekula najvažnije je praćenje resorpcije i biološke raspoloživosti, a kod *biosimilara* i eliminacija (klirens, poluvreme eliminacije).

Dozvoljena odstupanja u studiji ekvivalencije određuju se na osnovu kliničkog iskustva i mogu se razlikovati od uobičajenih granica prihvatljivosti (12). U farmakodinamičkim ispitivanjima izbor parametara zavisi od indikacije, i mogu se kombinovati sa farmakokinetičkim studijama. U izvesnim slučajevima kombinacija farmakokinetičkih i farmakodinamičkih ispitivanja može biti dovoljna da se pokaže komparabilnost sa referentnim lekom. U studijama efikasnosti treba pokazati kliničku ekvivalentnost upoređivanih lekova, pa nije uobičajeno da se sprovode sa dizajnom „*non-inferiority*“. Dozvoljena odstupanja i izbor farmakodinamičkih parametara treba da se definišu unapred (13).

Kliničko ispitivanje se planira prema tome da se eventualne razlike mogu uočiti tako što se bira model najosetljiviji na razlike (za eritropeotin pacijenti sa renalnom anemijom, za somatropin deca sa nedostatkom hormona rasta). Po pravilu se svaka indikacija poredi zasebno, ali moguća je i ekstrapolacija efikasnosti i bezbednosti na drugu indikaciju, u zavisnosti od literurnih podataka, kliničke prakse i ako se radi o istom sistemu receptora.

### **3.3. Procena dokumentacije o bezbednosti i imunogenosti biološki sličnog leka**

Centralno pitanje kliničkog razvoja biološki sličnog leka svakako je komparativna bezbednost. Efikasnost može biti slična u poređenju sa već odobrenim biološkim lekom, a da se bezbednost razlikuje. Pre odobravanja leka zahtevaju se podaci o uobičajenim neželjenim dejstvima, a posle registracije mogu biti potrebne i dodatne studije. Dozvola za stavljanje u promet dobija se na osnovu limitiranih podataka, a neke razlike uoče se tek pri većoj izloženosti pacijenata leku, što stavlja u prvi plan potrebu postmarketinškog praćenja leka i redovno podnošenje periodičnih izveštaja o bezbednosti leka (PSUR) regulatornim telima.

Ključni problemi u bezbednosti biotehnoloških lekova jesu svi ozbiljni rizici usled imunogenosti, koji su identifikovani još u toku pretkliničkih i kliničkih ispitivanja i svi potencijalni rizici usled imunogenosti, koji se mogu predvideti na osnovu postojećeg iskustva sa sličnim lekovima dobijenim sličnim procesom proizvodnje. Posledice imunogenosti mogu biti veoma ozbiljne: povećanje, smanjenje ili gubitak efikasnosti leka, neutralizacija prirodnih proteina (izolovana aplazija crvene loze – PRCA), trombotički vaskularni događaji (kardiovaskularne komplikacije), alergijske reakcije (anafilaksia, serumska bolest), pojava maligniteta i progresija rasta tumora.

Pretklinička ispitivanja pružaju samo uvid u antigeni potencijal „biosimilara“, pa na osnovu njih nije moguće u potpunosti predvideti imunogenost takvog leka. Pre dobijanja dozvole potrebne su kliničke studije imunogenosti, a u postmarketinškom životu leka najvažnije je sprovođenje mera i aktivnosti farmakovigilance. Sastavni deo Plana upravljanja rizikom – *Risk management Plan (RMP)* obavezno je imunogenost (14). *RMP* je deo registracione dokumentacije i daje detaljan prikaz sistema za

regulisanje rizika, koji nosilac dozvole uvodi posle stavljanja leka u promet. *RMP* treba da sadrži podatke koji opisuju način identifikacije i karakterizacije rizika, praćenja i procene rizika, minimizacije (sprečavanja) rizika i komunikacije u vezi sa sprečavanjem rizika (15). Za većinu biološki sličnih lekova ne zahteva se da *RMP* bude obiman i kompleksan, već pragmatičan i dinamičan. Takođe je važno naglasiti da je imunogenost zajednički bezbednosni problem svih biotehnoloških lekova, tako da i originalni i biološki slični lekovi imaju sličan potencijal za indukovanje neželjenih imunogenih reakcija (14).

### **3.4. Zamenjivost biološki sličnih lekova u terapiji**

Kada se razmatra mogućnost zamene bioloških lekova u terapiji, potrebno je ponoviti da biološki slični lekovi nisu generici, već lekovi slični biološkom leku koji je ranije odobren. Smernice EMA naglašavaju da oni nisu identični, daju osnove za procenu njihove komparabilnosti sa referentnim lekom, dok u pogledu supstitucije u terapiji važi nacionalna ili regionalna regulativa. U mnogim zemaljama za biološki slične lekove nije prihvatljiva zamena jednog leka drugim bez terapijskog opravdanja. Automatska zamena u apoteci, poput generičke supstitucije, se ne primenjuje, i jedino lekar može da odluči da li se jedan lek kod određenog pacijenta može zameniti drugim, biološki sličnim lekom.

## **4. Zaključak**

Biološki/biotehnološki lekovi su kompleksna grupa lekova, pre svega sa aspekta proizvodnje (karakterizacije i konzistentnosti procesa), kontrole kvaliteta, čuvanja i rukovanja. Poseban problem u kliničkoj praksi predstavlja imunogenost.

Širok spektar regulatornih smernica, zasnovanih na naučnim saznanjima i terapijskom iskustvu, definiše važna pitanja vezana za kvalitet, bezbednost i efikasnost biotehnoloških i biološki sličnih lekova. Naša nacionalna regulativa zasnovana je na regulativi EU.

Biološki slični lekovi nisu generici, oni su biološki lekovi slični biološkom leku koji je ranije odobren. Koncept biološki sličnog leka zasniva se na pokazanoj komparabilnosti sa referentnim lekom. Biološka sličnost sa referentnim lekom treba da bude pokazana na svim nivoima: kvalitet, efikasnost i bezbednost.

## Literatura

1. Zakon o lekovima i medicinskim sredstvima. Službeni glasnik RS 30/2010:6
2. Directive 2001/83/EC of the European Parliament and of the Council of November 2001 on the Community Code Relating to Medicinal Products for Human Use. Official Journal L – 311, 28/11/2004: 67 – 128.
3. Zakon o lekovima i medicinskim sredstvima. Službeni glasnik RS 30/2010: 6-7.
4. Biotechnology Industry Organization. Dostupno na: [www.bio.org](http://www.bio.org) (pristup avgust 2012)
5. Zakon o lekovima i medicinskim sredstvima. Službeni glasnik RS 30/2010: 10
6. Pravilnik o sadržaju zahteva i dokumentacije, kao i načinu dobijanja dozvole za stavljanje leka u promet. Službeni glasnik RS 30/2010: 3-14.
7. Zakon o lekovima i medicinskim sredstvima. Službeni glasnik RS 30/2010: 2.
8. EMA/CHMP/437/04 Guideline on Similar Biological medicinal products (CHMP adopted September 2005). Dostupno na: [www.ema.eu.int](http://www.ema.eu.int) (pristup septembar 2012)
9. Pravilnik o sadržaju zahteva i dokumentacije, kao i načinu dobijanja dozvole za stavljanje leka u promet. Službeni glasnik RS 30/2010: 22-23.
10. EMA/CHMP/BWP/49348/2005 Guideline on Similar Biological Medicinal Products Containing Biotechnology-derived Proteins as Active Substance: Quality Issues (CHMP adopted February 2006). Dostupno na: [www.ema.eu.int](http://www.ema.eu.int) (pristup septembar 2012)
11. EMA/CHMP/42832/2005 Guideline on Similar Biological Medicinal Products Containing Biotechnology-derived Proteins as Active Substance: Non-clinical and Clinical Issues (CHMP adopted February 2006). Dostupno na: [www.ema.eu.int](http://www.ema.eu.int) (pristup septembar 2012)
12. EMA/CHMP/EWP/89249/2004 Guideline on the Clinical Investigation on the Pharmacokinetics of Therapeutic Proteins (CHMP adopted January 2007). Dostupno na: [www.ema.eu.int](http://www.ema.eu.int) (pristup septembar 2012)
13. EMA/CHMP/3097/02 Guideline on Comparability of Medicinal Products Containing Biotechnology-derived Proteins as Active Substance: Non-clinical and Clinical Issues (CHMP adopted December 2003). Dostupno na: [www.ema.eu.int](http://www.ema.eu.int) (pristup septembar 2012)
14. Miljković M. Bezbednost biološki sličnih lekova – osnovni zahtev i vodeći princip. Simpozijum o biološki sličnim lekovima. ALIMS, Beograd, novembar 2008.
15. EMA/CHMP/3097/02 Guideline on Immunogenicity Assessment of Biotechnology-derived Therapeutic (CHMP adopted December 2007). Dostupno na: [www.ema.eu.int](http://www.ema.eu.int) (pristup septembar 2012)

# **Biological medicinal products: regulatory perspective**

**Branka Brzaković**

---

## **Summary**

A biological medicinal product is a product, the active substance of which is a biological substance. A biological substance is a substance that is produced by or extracted from a biological source and that needs for its characterization and the determination of its quality a combination of physicochemical-biological testing, together with the production process and its control. Biosimilar biological medicinal product is a medicinal product which is similar to a reference biological product and does not meet the conditions in the definition of generic medicinal products, owing to, in particular, differences relating to raw materials or differences in manufacturing processes of the biological medicinal product and the reference biological medicinal product.

EMA guidelines based on scientific grounds and therapeutic experience specify recommendations for the quality, efficacy and safety for biotechnology-derived and biosimilar medicinal products. Our national regulation follows these requirements in general.

The „similar biological medicinal products” approach is based on a comparability exercise in terms of quality, efficacy and safety. Comparability exercise at the quality level may allow a reduction of the nonclinical and clinical data requirements. The key questions of biosimilar medicinal product development are clinical safety and immunogenicity.

**Key words:** biosimilar, guidelines, quality, safety, efficacy

---

## **Biološki lekovi: farmaceutsko-tehnološke specifičnosti**

**Snežana Savić\*, Jela Milić**

Univerzitet u Beogradu - Farmaceutski fakultet, Katedra za farmaceutsku tehnologiju i kozmetologiju, Vojvode Stepe 450, 11000 Beograd, Srbija

---

### **Kratak sadržaj**

Polje farmaceutske biotehnologije razvija se izuzetno velikom brzinom. Za one koji rade u oblasti farmacije i farmaceutskih nauka potpuno nove tehnike i proizvodi kontinuirano dospevaju na tržište ili se nalaze u fazi razvoja, uz gotovo imperativni zahtev za dodatnim obrazovanjem, budući da biofarmaceutici nastaju kao plod multidisciplinarnog nastupa više nauka: molekularne biologije, molekularne genetike, bioinženjeringa, hemije proteina, kao i niza farmaceutskih nauka, među kojima u razvoju formulacije i proizvodnji važno mesto pripada farmaceutskoj tehnologiji. Najveći broj biofarmaceutika primenjuje se u obliku parenteralnih preparata zbog velike osetljivosti proteina (rastvori za injekcije, koncentrati za infuzije, liofilizirani praškovi koje treba rekonstituisati). Kako njihova stabilnost, biološka aktivnost i farmakološki efekti zavise od primarne, sekundarne, tercijarne i kvaternerne strukture, cilj razvoja formulacije parenteralnih proizvoda jeste da se dodatkom pogodnih ekscipijensasa i izborom pravilnog postupka proizvodnje (sterilizacija) očuvaju struktura, stabilnost i time aktivnost leka. Izuzetno je važno znati pod kojim uslovima treba čuvati ovu osetljivu grupu lekova i kako rukovati njima.

**Ključne reči:** biofarmaceutik, proizvodi rDNK tehnologije, monoklonska antitela, formulacija, ekscipijens, liofilizat, hladni lanac.

---

\* Autor za korespondenciju: snexs@pharmacy.bg.ac.rs

## Uvod

Termin *biotehnologija* odnosi se na bilo koju tehniku koja koristi žive organizme (npr. mikroorganizme) u proizvodnji ili modifikaciji proizvoda. Klasičan primer biotehnoloških lekova su proteini dobijeni tehnologijom rekombinantne DNK (**rDNK tehnologija**). Međutim, biotehnologija danas obuhvata i upotrebu kultura tkiva, živih ćelija, ili ćelijskih enzima koji se koriste pri izradi/proizvodnji definisanog proizvoda. Tehnologija rDNK i tehnologija dobijanja monoklonskih antitela - Mabs (**hibridoma tehnologija**) obezbedile su u prethodne tri decenije velike mogućnosti u razvoju novih lekova (biofarmaceutika, biotehnoloških odnosno bioloških lekova), kao i inovativne pristupe u dijagnozi, tretmanu i prevenciji teških oboljenja.

Danas, biotehnološki proizvodi/biofarmaceutici nastavljaju da ostvaruju sve veći ideo na tržištu lekova i vrše izražen uticaj na farmaceutsku praksu (1, 2). Na međunarodnom kongresu,

*8<sup>th</sup> World Meeting on Pharmaceutics, Biopharmaceutics and Pharmaceutical Technology*, održanom marta 2012. jedan od vodećih istraživača u oblasti farmaceutske biotehnologije, dr Garry Walsh, saopštio je sledeće podatke, koji se, s obzirom na brzinu razvoja novih biofarmaceutika, mogu prihvati kao novi: na globalnom nivou ukupno je 215 biofarmaceutika odobreno za humanu primenu; godišnja zarada koja se ostvaruje od prodaje ovih lekova, prema informaciji iz 2010. godine, iznosi 107 mld. dolara; u opticaju je 210 novih aktivnih farmaceutskih supstanci (*active pharmaceutical ingredient, API*) iz ove grupe; neki podaci ukazuju na činjenicu da se oko 2000 novih biofarmaceutika nalazi u različitim fazama razvoja; 50 Mabs (28 potpuno novih molekula) i 30 proteinskih lekova nalazi se u fazi III kliničkih ispitivanja; u periodu 2006-2011. godine odobreno je 14 biološki sličnih lekova (eng. *biosimilars*), i 32 nova biofarmaceutika, od čega 14 reformulisanih proizvoda (3). Ove brojke mogu se smatrati respektivnim, a u prilog potvrdi da postoji potreba za poznavanjem svih aspekata biofarmaceutika od strane farmaceuta ide i činjenica da su još u Šestoj evropskoj farmakopeji (2008. godine) svoje mesto našle opšte monografije dve najveće grupe biofarmaceutika: proizvodi dobijeni rDNK tehnologijom i monoklonska antitela. Ove monografije su proširene u novom sedmom izdanju Ph. Eur. (2011. godine) (4, 5).

## Farmakopejski status biofarmaceutika: definicije, zahtevi za kvalitet i smernice za proizvodnju

Opšta monografija **Proizvoda rekombinantne DNK tehnologije** data u Ph. Eur. 7 (5) (lat. *Producta ab arte ADN recombinandorum*) daje generalne smernice i postavlja zahteve za razvoj i proizvodnju ovih proizvoda. U uvodnom delu naglašava se da se monografija ne odnosi na modifikovane žive organizme koji se primenjuju direktno kod

ljudi ili životinja, kao što su npr. žive vakcine (koje u širem smislu spadaju u biotehnološke proizvode). Prema monografiji, proizvodi rDNK tehnologije definišu se kao proizvodi dobijeni genetskom modifikacijom u kojoj se DNK kodirana za dati proizvod uvodi posredstvom bakterijskog plazmida ili viralnog vektora u pogodan mikroorganizam ili ćelijsku liniju, u kojoj potom dolazi do ekspresije kodirane DNK i prevođenja odgovarajuće šifre (translacija) u željeni protein. Sledi složeni postupci ekstrakcije i prečišćavanja, kojima se protein izdvaja u oblik koji se može koristiti za formulaciju/dobijanje finalnog biofarmaceutika/biotehnološkog farmaceutskog proizvoda. Ćelijska linija ili mikroorganizam u koji se insertuje vektor sa šifrom za protein od interesa, označava se kao ćelija-domaćin, a stabilna veza ovo dvoje u proizvodnom procesu kao **domaćin-vektor sistem**. Proizvodnja rekombinantnih proteina bazirana je na primeni validiranih „seed-lot” sistema (matična šarža) primenom domaćin-vektor kombinacije, za koju se pokazalo da ispunjava zahteve regulatornih tela. „Seed-lot” sistem koristi tzv. **banku matičnih ćelija** (eng. *master cell bank*) i tzv. **banku radnih ćelija** (eng. *working cell bank*) koje su dobijene iz matične kombinacije domaćin-vektor. Za svaki određeni proizvod (rekombinantni peptid ili protein) neophodno je dati detaljan opis pojedinih koraka kultivacije, ekstrakcije i prečišćavanja, odnosno neophodno je sprovesti niz ispitivanja koja bi što bolje definisala svaku proizvodnu šaržu.

Određivanje pogodnosti kombinacije domaćin-vektor i validacija „seed-lot” sistema uključuje niz elemenata od kojih su neki:

- vezano za **fazu kloniranja i ekspresije** - karakterizacija ćelije domaćina, uključujući izvor dobijanja, fenotip i genotip i procenu medijuma za kultivaciju ćelija; neophodno je dokumentovanje strategije kloniranja gena i karakterizacija rekombinantnog vektora, uključujući poreklo i karakterizaciju gena, analizu nukleotidne sekvene kloniranog gena, kontrolu bočnih regiona ekspresionog vektora...
- u sklopu karakterizacije domaćin-vektor sistema potrebno je definisati mehanizme transfera vektora u ćelije domaćina, broj kopija, fizičko stanje i stabilnost vektora unutar ćelije domaćina, kao i mere koje se koriste da promovišu i kontrolišu ekspresiju.

Kada su u pitanju sistemi banaka ćelija, „*master cell bank*” je homogena suspenzija originalnih ćelija koje su već transformisane ekspresionim vektorom koji sadrži željeni gen, distribuirane u jednakim zapreminama u pojedinačna pakovanja (najčešće ampule/boćice od stakla visokog kvaliteta) u tečnom azotu. U nekim slučajevima može biti neophodno da se ustanove odvojene *master* banke ćelija za ekspresioni vektor i ćelije domaćina. „*Working cell bank*” je takođe homogena suspenzija ćelijskog materijala koji se dobija iz banke matičnih ćelija i distribuira u jednakim volumenima u pojedinačna pakovanja u tečnom azotu. Kod oba tipa banaka ćelija, svi kontejneri tretiraju se na identičan način tokom čuvanja i kada se jednom

otvore, kontejneri se više ne vraćaju u skladište. Ovakva banka ćelija može se koristiti za proizvodnju kultura ćelija u ograničenom broju koraka, odnosno udvajanja populacija ćelija, i taj broj se tokom proizvodnog procesa ne sme prekoračiti, ili za kontinuirani/neprekidni proizvodni proces, kod koga broj koraka, odnosno udvajanja populacija ćelija nije ograničen. Kriterijum za određivanje momenta ubiranja/žetve (eng. *harvesting*) proizvoda, odnosno okončanje proizvodnog procesa, treba da bude definisan od strane porizvođača.

Nepohodno je konstantno praćenje kvaliteta kulture ćelija: informacije o molekularnom integritetu gena, koje se izražavaju kroz karakteristike fenotipa i genotipa ćelija domaćina. **Validacija banaka ćelija** uključuje: praćenje stabilnosti merenjem vijabilnosti i vremena zadržavanja vektora; identifikaciju ćelija preko fenotipskih karakteristika; kada je pogodno, pružanje dokaza da su banke ćelija čiste - bez prisustva potencijalno onkogenih ili infektivnih agenasa (viralni, bakterijski, plesni, mikoplazme); posebna pažnja posvećuje se virusnoj kontaminaciji, npr. neke ćelijske linije sadrže endogene viruse (retroviruse), koji se ne mogu lako eliminisati...

Kada je u pitanju kontrola ćelija, Ph. Eur. 7 (5) naglašava potrebu za potpunim dokumentovanjem porekla, oblika, uslova čuvanja, upotrebe i stabilnosti pri predviđenoj brzini upotrebe za sve banke ćelija.

Proizvodni proces mora biti validiran, naročito **koraci ekstrakcije i prečiščavanja** u kojima se uklanjuju i/ili inaktiviraju kontaminirajuće supstance poreklom iz ćelija domaćina ili medijuma za kultivaciju, uključujući virusne čestice, proteine, nukleinske kiseline i ekscipijense. Validacione studije sprovode se u cilju potvrde da dati proizvodni proces rutinski zadovoljava sledeće kriterijume:

- isključivanje spoljnih agenasa iz proizvoda, npr. virusa, sa utvrđenim fizičko-hemijskim procedurama koje treba sprovesti, uz utvrđivanje kapaciteta za smanjenje nivoa kontaminiranosti proizvoda pri svakom koraku prečiščavanja;
- adekvatno uklanjanje vektora, ćelija-domaćina, medijuma za kultivaciju i kontaminanata iz proizvoda;
- smanjenje sadržaja proteina animalnog porekla koji se mogu odrediti imunohemijskim metodama;
- održavanje unutar zadatih granica prinosa proizvoda iz kulture (specifikacija proizvoda)...

Karakterizacija supstance sprovodi se procenom čistoće, potentnosti, stabilnosti finalnog „bulk” proizvoda primenom niza hemijskih, fizičkih, imunohemijskih i bioloških testova. Pre puštanja u promet, svaka šarža proizvoda ispituje se od strane proizvođača u pogledu identiteta i stepena čistoće primenom pogodnih metoda. Takođe, sprovode se pogodni testovi za potvrdu konzistentnosti proizvodnje, posebno faze prečiščavanja. U cilju međuprocesne kontrole i testiranja finalnog proizvoda potrebno je

proceniti brojne parametre: aminokiselinski sastav, molekulsku masu, analizu hibridizacije DNK, tehnike za procenu sekvenci...

Kada su u pitanju **Monoklonska antitela za humanu upotrebu** (lat. *Anticorpora monoclonalia ad usumhumanum*) Ph. Eur. 7 (5) ih definiše kao imunoglobuline ili fragmente imunoglobulina, npr. F(ab')2, sa definisanim specifičnošću, proizvedene iz jednog kloga ćelija. Oni mogu biti konjugovani sa drugim supstancama, uključujući radiobeleživače. Mogu se dobijati iz imortalizovanih B limfocita koji su klonirani i produkovani kao kontinuirane ćelijske linije ili iz ćelijskih linija koje su dobijene rDNK tehnologijom. Trenutno raspoloživa rDNK-inženjerizovana antitela uključuju sledeće grupe:

- **himerna monoklonska antitela** – varijabilni domeni teškog i lakog lanca humanog antitela zamenjeni su onim od nehumanih vrsta (npr. mišjeg porekla), koja poseduju željene antigene specifičnosti;
- **humanizovana monoklonska antitela** - tri kratke hipervarijabilne sekvence (komplement određujući regioni, CDR regioni) nehumanih varijabilnih domena za svaki lanac inženjerizovani su u varijabilni domen humanog antitela; druge promene na sekvenci mogu se načiniti da bi se poboljšala svojstva vezivanja antiga;
- **rekombinantna humana monoklonska antitela** –varijabilni domeni teškog i lakog lanca humanog antitela kombinuju se sa konstantnim regionom humanog antitela. Monoklonska antitela dobijena iz ćelijskih linija modifikovanih rDNK tehnologijom treba da su u saglasnosti sa zahtevima iz monografije proizvoda rDNK tehnologije. Ova monografija primenjuje se na monoklonska antitela za terapijsku i profilaktičku upotrebu i za primenu kao *in vivo* dijagnostika; ne odnosi se na monoklonska antitela koja se koriste kao reagensi u proizvodnji medicinskih proizvoda.

Kao i u slučaju proizvoda rDNK tehnologije i u ovoj monografiji daje se prikaz generalnih zahteva za proizvodnju Mabs i validaciju procesa proizvodnje, sa posebnim osvrtom na metode i kriterijume za ekstrakciju, fazu prečišćavanja i ubiranje (žetvu) finalnog proizvoda (aktivne supstance – monoklonskog antitela), te njegovu karakterizaciju. Proizvod se karakteriše u cilju dobijanja potpunih informacija o strukturnom integritetu, izotipu, aminokiselinskoj sekvenci, sekundarnoj strukturi, ugljenohidratnim jedinicama, disulfidnim vezama, konformaciji, specifičnosti, afinitetu, specifičnoj biološkoj aktivnosti i heterogenosti (karakterizacija izoformi). U ovom cilju koristi se baterija pogodnih analitičkih tehnika uključujući hemijske, fizičke, imunohemijske i biološke testove (npr. mapiranje peptida, sekpcioniranje aminokiselina na N- i C-terminalu, masena spektrometrija, hromatografija, elektroforetske i spektroskopske tehnike). Izvode se i dodatni testovi da bi se dobole informacije o unakrsnoj reaktivnosti sa humanim tkivima.

U ovoj monografiji daju se i zahtevi za kvalitet finalnog „bulk” proizvoda pripremljenog iz jedne ili više šarži prečišćenog monoklonskog antitela. Pogodni stabilizatori i drugi ekscipijensi mogu se dodati tokom izrade finalnog „bulk” proizvoda. Samo finalni „bulk” koji odgovara sledećim zahtevima za kvalitet može da posluži za pripremu finalne šarže proizvoda koji se može koristiti u formulaciji finalnog biofarmaceutika namenjenog terapiji ili profilaksi određenih oboljenja:

- sterilnost, odnosno ispitivanje sterilnosti;
- odustvo bakterijskih endotoksina (treba da odgovara limitima ustanovljenim za svaki pojedinačni proizvod);
- prisustvo nečistoća koje potiču od proizvodnog procesa.

Finalna šarža distribuira se pod aseptičnim uslovima u sterilne kontejnere, koji se potom zatvaraju da se spreči kontaminacija. Obično su u obliku bistrih do slabo opalescentnih, bezbojnih ili slabo žućkastih tečnosti bez prisustva vidljivih čestica. Liofilizovani proizvodi dobijeni sušenjem smrzavanjem (eng. *freeze-dried*) najčešće su beli do slabo žuti praškovi ili su u obliku čvrste friabilne mase. Po rekonstituciji oni pokazuju iste karakteristike kao tečni preparati.

Identifikacija se obavlja pogodnim validiranim metodama poređenjem proizvoda sa referentnim preparatom. Testovi koji se sprovode ispituju izgled, rastvorljivost, pH proizvoda, osmolalnost, volumen punjenja, sadržaj ukupnih proteina, distribuciju molekula po veličini, identitet molekula i integritet strukture, stepen čistoće, sadržaj stabilizatora, sadržaj vode/vlage u liofilizovanim proizvodima, sterilnost, odsustvo/prisustvo bakterijskih endotoksina...

Naglašava se da se proizvod mora čuvati u skladu sa deklaracijom, a rok upotrebe se računa od datuma sterilne filtracije, datuma punjenja (za tečne preparate) ili datuma sušenja smrzavanjem/liofilizacije (gde je primenjivo).

Proizvod se obeležava na sledeći način:

- navodi se broj internacionalnih jedinica po mililitru, gde je primenjivo;
- sadržaj proteina po kontejneru;
- sadržaj monoklonskog antitela u kontejneru;
- kod tečnih preparata, volumen preparata u kontejneru;
- kod liofilizovanog proizvoda, navodi se naziv i zapremina vehikuluma za rekonstituciju;
- vreme za koje se monoklonsko antitelo može upotrebiti nakon rekonstitucije;
- i razblaženje koje se mora primeniti pre upotrebe proizvoda, gde je primenjivo (5).

## Formulacija biofarmaceutika

Prema nekim autorima, a posebno kada se razmatra aspekt formulacije, biofarmaceutici se definišu kao farmaceutski proizvodi koji sadrže (gliko)proteine i/ili nukleinske kiseline (6, 7). Stoga su stabilnost, biološka i farmakološka aktivnost proteina i peptida, odnosno njihovo očuvanje, jedan od ključnih ciljeva formulacije biofarmaceutika. Proteini i peptidi se mogu lako modifikovati različitim fizičkim i hemijskim agensima. Tabela I daje pregled glavnih puteva degradacije proteina i peptida, onih čije se razmatranje mora uzeti u obzir prilikom razvoja formulacije biofarmaceutika (8).

Efekti degradacije mogu biti veoma kompleksni: gubitak biološke aktivnosti, promene u farmakokineticu leka, njegovoj farmakodinamiji, toksičnosti, biodistribuciji, putevima eliminacije, antigenosti, imunogenosti... (8). Realno je broj puteva i mogućnosti za degradaciju proteina/peptida daleko veći, pošto su neki u cilju postizanja biološke aktivnosti hemijski modifikovani, odnosno glikozilovani ili fosforilovani, na primer. Ove neproteinske modifikacije mogu takođe značajno da utiču na karakteristike leka, npr. glikozilacija često kontroliše cirkulišuće polu-vreme, mehanizam eliminacije leka i imunogenost, dok fosforilacija u mnogim slučajevima doprinosi biološkoj aktivnosti i specifičnom delovanju, te bi formulacija trebalo da štiti i ove modifikacije. Ne postoje opšte smernice za rutinsko predviđanje efekata pojedinih degradacionih promena; uticaj sličnih promena je široko varijabilan u odnosu na karakteristike različitih proteinskih lekova. Sa regulatornog aspekta, degradacioni proizvodi se generalno razmatraju kao nečistoće i sadržani su u specifikaciji proizvoda. One bi trebalo da reflektuju klinički sigurne nivoe nečistoća, što treba da bude propraćeno pouzdanim analitičkim tehnikama ili čak kliničkim studijama (8, 9).

**Tabela I** Glavi putevi degradacije proteina i peptida (8)

**Table I** Main degradation pathways of proteins and peptids (8)

Putevi degradacije	
Fizički	Hemijski
Denaturacija ( $\delta T$ , pH)	Oksidacija ( $O_2$ , h * v), npr. Met, Cys, His, Trp, Deamidacija ( $\delta T$ , pH), npr. Asn, Gin
Nekovalentno agregiranje	Cepanje peptida ( $\delta T$ ), npr. Asp-X Disulfidne izmene (pH), Cys
Precipitacija	Beta-eliminacija (pH), npr. Ser, Thr, Cys, Lys
Adsorpcija	Formiranje disulfida (pH, $O_2$ ) Cys Kovalentno agregiranje Ciklizacija (pH), npr. Asp, Glu

Kao što je navedeno u Tabeli I, nekoliko je ključnih inicijatora nestabilnosti proteina/peptida, npr. prisustvo kiseonika, velike promene pH vrednosti formulacije, povišena temperatura... Mada su neki pristupi češći od drugih, npr. primena površinski aktivnih materija (PAM)/surfaktanata da se smanji agregacija molekula, ili primena antioksidanasa (askorbinska kiselina) da se uspori oksidacija proteina, nema generalne strategije za stabilizaciju koja bi bila model za formulaciju svakog biofarmaceutika. Proizvođači, takođe, moraju da dokumentuju da proizvodni proces može da rezultuje reproduktivnim kvalitetom primenom adekvatne validacije, uz niz visokospecifičnih analitičkih tehnika (8, 10).

## Putevi primene proteina i peptida

Od samog početka terapijske primene proteina i peptida, parenteralne formulacije su bile od ključne važnosti, kao npr. supkutana (*sc*) primena insulina. Ovo je posledica niza aspekata koji se mogu svrstati u tri različite grupe (8):

- suboptimalne fizičkohemiske karakteristike ovih lekova za apsorpciju kroz biološke membrane;
- nestabilnost lekova tokom neparenteralne primene;
- specifični terapijski zahtevi u odnosu na početak nastupa i trajanje dejstva biofarmaceutika.

Specifične fizičkohemiske karakteristike proteina, kao što su velika molekulska masa (često preko 500 kDa), u mnogim slučajevima visoka hidrofilnost, veliko nanelektrisanje, uslovljavaju nemogućnost ovih lekova da lako permeiraju biološke membrane i na taj način umanjuju njihovu biološku raspoloživost. Aspekti stabilnosti mogu da igraju značajnu ulogu tokom primene, a takođe i apsorpcije. Osetljivost većine proteina na ekstremne vrednosti pH, u prvom redu jako kiseli pH u želucu, i enzimsku aktivnost u GIT-u ograničava mogućnost formulacije oralnih farmaceutskih oblika. Visoko specifični terapijski zahtevi, na primer brz nastup dejstva leka (primena insulina u kontekstu uzimanja hrane) takođe direktno utiču na izbor parenteralnog puta primene proteina/peptida kao optimalnog terapijskog rešenja. Kod nekih indikacija, s druge strane, očekuje se kontinuirana isporuka leka (npr. održavanje bazalnog nivoa insulina ili primena β-interferona u tretmanu multiple skleroze). Međutim, godinama unazad raste pritisak i sprovode se brojna istraživanja u sklopu razvoja alternativnih neparenteralnih puteva primene biofarmaceutika (proteina/peptida); u prilog tome ide mogućnost poboljšane komplijanse (pogodnosti neinvazivne primene). U to smislu, da bi se obezbedila pouzdana i bezbedna primena proteina potrebno je razviti specijalne formulacije i sisteme za isporuku leka, sa jedne strane, a takođe, u cilju kompenzacije značajno niže iskoristljivosti leka (niža biološka raspoloživost) nakon neparenteralne primene, proizvodni procesi za dobijanje proteina treba da se optimizuju što može dovesti do smanjenja troškova, i terapiju učiniti dostupnom većem broju pacijenata. Kao

najviše obećavajuće alternativne rute za neparenteralnu primenu, sa najviše rezultata u dosadašnjim istraživanjima, u literaturi se pominju oralni, pulmonarni i intranazalni putevi isporuke biofarmaceutika (11). U ovom radu, s obzirom na predviđeni obim i aktuelno stanje na tržištu, biće date specifičnosti formulacija namenjenih parenteralnoj primeni biofarmaceutika.

## Parentralna primena biofarmaceutika

Naješće korišćeni vidovi parenteralne primene su intravenska (i.v.), intramuskularna (i.m.) i supkutana (s.c.). Primena proteinskog leka različitim putevima može imati izražen uticaj na njegovo farmakološko dejstvo; kada se lek primeni i.v., odmah je na raspolaganju u cirkulaciji za ispoljavanje efekta, dok je nakon i.m. i s.c. primene potrebno više vremena za postizanje odgovarajućeg nivoa u krvi (depo efekat), a usled toga, farmakokinetički profili mogu biti različiti. Takođe, mogu se javiti i razlike u antigenosti i imunogenosti leka. Trajanje i tok terapije takođe određuju preferirajuću opciju parenteralne primene leka (2, 8).

## Parentralne formulacije biofarmaceutika

### *Mikrobiološka razmatranja – sterilnost, viralna dekontaminacija i uklanjanje pirogена*

Jasno je da parenteralne formulacije biofarmaceutika treba da budu sterilne. Generalno, proteini su osetljivi na toplotu i na druge uobičajeno primenjive metode sterilizacije; ne mogu da podnesu sterilizaciju vlažnom topotom (autoklaviranje), gasnu sterilizaciju, ili sterilizaciju jonizujućim zračenjem, odnosno sterilizacija finalnog proizvoda nije moguća nekom od ovih metoda. Usled toga, proteinski biofarmaceutik treba da se izradi pod aseptičnim uslovima u skladu sa dobrom praksom za proizvodnju parenteralnih proizvoda pod aseptičnim uslovima (FDA dokument *Guidance for industry for Sterile Drug Products Produced by Aseptic Processing – Current Good Manufacturing Practice* (11)). Ekscipijensi i oprema tretiraju se odvojeno, autoklaviranjem ili suvom topotom (sterilizacija suvim vrućim vazduhom na temperaturama  $> 160^{\circ}\text{C}$ ), hemijskim tretmanom ili gama zračenjem da bi se smanjio „*bioburden*” (opterećenje biološkim materijalom). Filtracione tehnike se koriste za uklanjanje mikrobioloških kontaminanata, najpre prefiltracija koja uklanja mehaničke čestice i smanjuje „*bioburden*”, a potom finalna sterilizacija kroz membranske filtre promera pora (0,20-0,22  $\mu\text{m}$ ). Proizvodnja se sprovodi u čistim sobama klase čistoće A (maksimalno 100 čestica  $> 0,5 \mu\text{m}$  po kubnoj stopi vazduha), sa laminarnim protokom vazduha, koji prolazi kroz HEPA (eng. *high efficiency particulate air*) filtre (2). Podrazumeva se poštovanje svih pravila dobre proizvođačke prakse za proizvodnju parenteralnih proizvoda (11).

Kako se proizvodi rDNK tehnologije dobijaju u živim ćelijama (npr. mikroorganizama), trebalo bi testirati ove organizme na prisustvo viralnih kontaminanata i preduzeti pogodne mere da se ne dogodi viralna kontaminacija (npr. ekscipijensi humanog porekla, kao što je humani serum albumin).

U cilju uklanjanja pirogена (bakterijskih endotoksina) opremu i kontejnere treba tretirati toplotnim metodama sterilizacije (temperature iznad 160°C u toku produženog perioda, npr. 30 min suva toplota na 250°C). Uklanjanje pirogena iz rDNK proizvoda poreklom iz bakterijskih izvora treba da bude integralni deo procesa proizvodnje. Jon-izmenjivačka hromatografska procedura (primena negativnog naelektrisanja pirogena) može efikasno da smanji nivo endotoksina u rastvoru. Ekscipijensi koji se koriste u formulacijama proteina trebalo bi da su bez endotoksina (eng. *endotoxin-free*). Kada se izrađuju rastvori *Voda za injekcije* (Ph. Eur. 7) treba da je sveže destilisana ili dobijena reversnom osmozom. Uklanjanje endotoksina pre punjenja u finalno pakovanje/kontejner može se postići i primenom adsorbujućih materijala sa velikom površinom i sposobnošću hidrofobnog interagovanja (2).

### ***Ekscipijensi koji se koriste u parenteralnim formulacijama biofarmaceutika***

U Tabeli II dat je pregled najčešće korišćenih grupa farmaceutskih ekscipijenasa u formulacijama parenteralnih biofarmaceutika (2).

**Tabela II** Komponente koje ulaze u sastav parenteralnih formulacija biofarmaceutika

**Table II** Components found in parenteral formulations of biopharmaceutics

Aktivna supstanca
Sredstva za poboljšanje rastvorljivosti (eng. <i>solvability enhancers</i> )
Antiagregirajuća sredstva i antiadsorbensi
Puferi
Konzervansi i antioksidansi
Lioprotektanti/sredstva za formiranje lio-kolača
Sredstva za izotonizaciju
Sistemi nosača (napredni sistemi za isporuku biofarmaceutika)

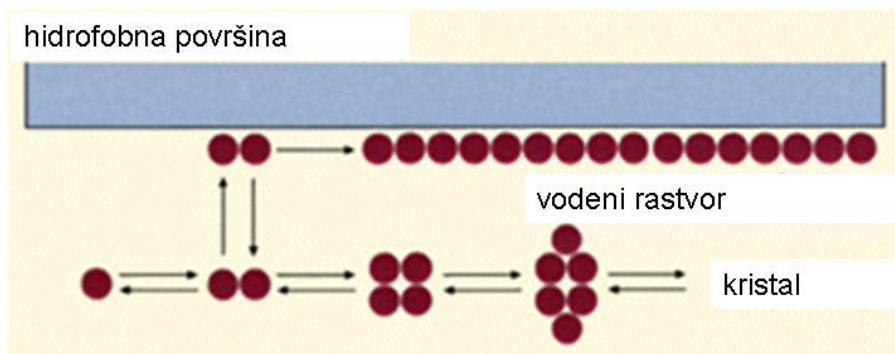
### ***Sredstva za poboljšanje rastvorljivosti/ Solubilizatori***

Proteini, posebno oni koji nisu glikozilovani, imaju tendenciju da agregiraju i precipitiraju. Pristupi kojima može da se poboljša rastvorljivost uključuju izbor odgovarajuće pH vrednosti i jonske jačine rastvora, dodatak aminokiselina (npr. arginin

ili lizin u solubilizaciji tkivnog plazminogen aktivatora, t-PA), ili surfaktanata, npr. primena natrijum-laurilsulfata u solubilizaciji glikozilovanog interleukina-2 (IL-2). Mehanizmi delovanja ovih sredstava za poboljšanje rastvorljivosti zavise od tipa inhensera (eng. *solubility enhancers*) i datog proteina i nisu potpuno razjašnjeni (2).

### ***Anti-adsorbensi i anti-agregirajući agensi***

Dodaju se da smanje adsorpciju aktivnih proteina u međufazi. Neki proteini imaju tendenciju da izlože svoja hidrofobna mesta, normalno prisutna u središtu strukture nativnog proteina, kada se nađu u međufazi (na granici dve faze) (2).



**Slika 1. Reverzibilno samo-asociranje insulina, njegova adsorpcija na hidrofobnoj međufazi i ireverzibilna agregacija u adsorbovani proteinjski film.**

**Figure 1. Reversible self-association of insulin, its adsorption to the hydrophobic interface and irreversible aggregation in the adsorbed protein film.**

Ovo može biti međufaza voda/vazduh, voda/zid kontejnera, ili međufaza formirana između vodene faze i uređaja koji se koriste za primenu leka (npr. kateter, injekciona igla..).

Ovi adsorbovani, parcijalno odmotani proteinjski molekuli obrazuju agregate i precipitiraju. Na Slici 1 prikazan je, kao primer, predloženi mehanizam agregacije insulina u vodenom medijumu kroz kontakt sa hidrofobnom površinom (ili voda-vazduh međufazom). Nativni insulin u rastvoru prisutan je u ravnotežnom stanju između monomernog, dimernog, tetramernog i heksamernog oblika. Relativno obilje različitih agregacionih stanja zavisi od pH, koncentracije insulina, jonske jačine i specifičnih ekscipijenasa (npr. jona  $Zn^{2+}$  i fenola). Smatra se da dimerna forma insulina adsorbuje u hidrofobnoj međufazi i postepeno nastaju veći agregati na međupovršini. Ova

adsorpcija objašnjava zašto anti-adhezivi mogu istovremeno igrati ulogu anti-agregacionih sredstava. Albumin ima jaku tendenciju da adsorbuje na određene površine i zbog toga se dodaje u relativno visokim koncentracijama (npr. 1%) u proteinske formulacije kao anti-adheziv. Albumin se kompetitivno vezuje za vezna mesta na koja bi se inače adsorbovali proteini i usled toga sprečava njihovu adheziju kombinacijom visokog afiniteta za vezivanje i visoke koncentracije (2).

Pored toga, insulin je jedan od mnogih proteina koji može da formira fibrilarne precipitate (duge štapićaste strukture prečnika 0,1 μm). Niske koncentracije fosfolipida i surfaktanata mogu da inhibiraju ovu pojavu. Izbor pogodnog pH takođe može da spreči ovaj neželjeni fenomen. Pored albumina, surfaktanti/PAM mogu takođe da spreče adheziju proteina u međufazi i precipitaciju. Molekuli PAM lako adsorbuju u hidrofobnoj međufazi preko svojih hidrofobnih/lipofilnih grupa i tako međufazu hidrofiluju izlažući svoje hidrofilne grupe ka vodenoj fazi.

### ***Puferi***

Izbor pufera smatra se važnim tokom formulacije biofarmaceutika, budući da pH jako utiče na rastvorljivost i fizičkohemijsku stabilnost proteina. Uobičajeno se koriste fosfatni, citratni i acetatni pufer. Važno je istaći da čak i kratkotrajne promene pH rastvora mogu da dovedu do agregacije proteina (npr. tokom faze smrzavanja u postupku sušenja smrzavanjem/liofilizacije kada jedna od komponenti pufera kristališe, a druga ne). Kod fosfatnog pufera, natrijum-hidrogenfosfat kristališe brže od natrijum-dihidrogenfosfata. Ovo uzrokuje izražen pad pH tokom faze smrzavanja formulacije biofarmaceutika, što se značajno odražava na stabilnost proizvoda. Neke druge puferske komponente ne kristališu, ali obrazuju amorfne sisteme i tada su promene pH rastvora značajno manje (2).

### ***Konzervansi, anti-oksidansi i sredstva za izotonizaciju***

Metionin, cistein, triptofan, tirozin i histidin su aminokiseline koje se lako oskidišu. Proteini sa visokim sadržajem ovih aminokiselina podložni su oksidativnoj degradaciji. Zamena kiseonika primenom inertnog gasa u kontejnerima i primena antioksidanasa (npr. askorbinska kiselina) pomažu smanjenju oksidativnog stresa.

Kada su u pitanju konzervansi, oni se mogu dodavati u višedozna pakovanja određenih proteinskih formulacija (npr. benzil alkohol, fenol...).

I kod proteinskih formulacija primenjuju se generalna pravila za izotonizaciju parenteralnih preparata. Najčešće se koriste soli i rastvori mono- i disaharida. Međutim, ponekad mogu stupiti u interakcije, što se mora pažljivo razmotriti.

## Stabilnost formulacija biofarmaceutika i rukovanje

Proteini se čuvaju kao 1) vodeni rastvori; 2) u liofilizovani praškovi u 3) kompaktni oblikovani liofilizati (tablete). Stabilnost rastvora proteina jako zavisi od pH, jonske jačine, temperature i prisustva stabilizatora. Veoma često rastvori proteina ne mogu da zadovolje zahteve za stabilnošću industrijski proizvedenih farmaceutskih proizvoda ( $> 2$  godine), i pored permanentnog čuvanja u uslovima frižidera (hladni lanac). Velika količina vode promoviše procese hemijske i fizičke degradacije proteina. Ove formulacije su jeftinije, što je prihvatljivije i za industriju i za pacijente. S druge strane, čuvanje i rukovanje tečnim formulacijama je zahtevnije: potreban je hladni lanac tokom transporta, i velika pažnja zbog izraženog penjenja rastvora proteina. Proizvođač mora da osigura integritet sistema kontejner-zatvarač (bočice, napunjeni špricevi, različiti tipovi injektora...) (2, 8, 12).

S druge strane, postupak liofilizacije (sušenje smrzavanjem) formulacije proteina, mada veoma skup, može da obezbedi zadovoljavajuću stabilnost. Tokom liofilizacije iz proizvoda se uklanja voda sublimacijom, kroz sledeće tri faze: 1) faza smrzavanja; 2) korak primarnog sušenja; 3) korak sekundarnog sušenja. Međutim, sam proces može dovesti do irreverzibilnih oštećenja proteina, ukoliko se ne koriste odgovarajući ekscipijensi (Tabela III) (2).

**Tabela III**

Ekscipijensi koji se često koriste u liofilizovanim formulacijama biofarmaceutika

**Table III**

Typical excipients in a freeze-dried protein formulations

Sredstva za dopunjavanje: manitol/glukoza	Razlog: elegancija/prevencija gubitka proteina prilikom isparavanja formulacije (* <i>blowout prevention</i> )
Modifikatori t-kolapsa: dekstran, albumin/gelatina	Razlog: porast temperature kolapsa
Lioprotektanti: šećeri i albumini	Razlog: zaštita fizičke strukture proteina**

\*Dešava se kada je u bočici prisutna mala količina čvrste faze.

\*\*Mehanizam delovanja lioprotetanata nije potpuno jasan. Od značaja su:

1. Lioprotektanti zamenjuju vodu kao stabilišući agens.
2. Povećavaju Tg (temperaturu ostakljivanja) smeše kolač/zamrznuti sistem.
3. Lioprotektanti će apsorbovati vlagu iz zatvarača.
4. Lioprotektanti će usporiti proces sekundarnog sušenja i smanjiti mogućnost za presušenje proteina (sadržaj rezidualne vode jako nizak).

Preporuke za čuvanje i rukovanje biofarmaceuticima u kliničkim uslovima (namenjene su i farmaceutima) predstavljene su još 2003. godine (13). Njima se naglašava da neadekvatno čuvanje i rukovanje jako utiču na integritet biofarmaceutika. Regularno čuvanje i rukovanje uključuje ne samo održavanje hladnog lanca, već i izbegavanje mučkanja i izlaganja sunčevoj svetlosti i korišćenje odgovarajućih tehnika sterilizacije. Istiće se velika odgovornost bolničkog farmaceuta u održavanju, odnosno upravljanju hladnim lancem u kliničkim uslovima. Kada je u pitanju distribucija biofarmaceutika, vreme koje lek ostaje van frižidera mora da bude što je moguće kraće. Biofarmaceutici osetljivi na temperaturne promene treba da se transportuju od bolničke apoteke do odeljenja u izolatorskim tranzitnim pakovanjima. Validirana, izolatorska pakovanja treba da su na raspolaganju i pacijentima koji su na terapiji biofarmaceuticima, koje dodatno treba štititi od mučkanja i svetlosti. Pre injektovanja dati biofarmaceutik treba dovesti na sobnu temperaturu postepeno u toku vremenskog intervala specifičnog za određeni lek. Sve biofarmaceutike prisutne u apoteci treba čuvati u frižideru sa dvadesetčetvoročasovnim praćenjem temperature i alarmnim sistemom. Potrebna su jasna uputstva čije će sprovođenje osigurati održavanje hladnog lanca u čitavom sistemu transporta/prenosa leka od skladišta do pacijenta. Sva postrojenja i transportni sistemi moraju biti validirani sa istim ciljem – osiguranje integriteta hladnog lanca.

## Primeri nekih biofarmaceutika

Na domaćem tržištu (14) prisutan je veći broj biofarmaceutika, bilo kao rekombinantni proteini/peptidi (biofarmaceutici I ili II generacije), ili monoklonska antitela. Neki od njih su: iz grupe eritropoetina – epoetin alfa, epoetin beta, darbepoetin alfa, epoetin zeta, metoksipolietilenglikol-epoetin beta; iz grupe faktora stimulisanja kolonija (citokini) - filgrastim; iz grupe faktora koagulacije – humani faktor IX, humani faktor VIII; iz grupe interferona – interferon beta-1a i 1b, interferon alfa-2a i 2b, peginterferon alfa-2a, peginterferon alfa-2b, veliki broj različitih tipova insulina, veći broj monoklonskih antitela – omalizumab, palivizumab, tocilizumab, ustekinumab, bevacizumab, cetuximab, adalimumab, alemtuzumab, rituksimab, infliximab, baziliximab, daklizumab...

**Eritropoetin (EPO)** (1) je glikoprotein koji sadrži sijalinsku kiselinu i poboljšava eritropoezu stimulisanjem formiranja proeritroblasta i oslobođanjem retikulocita iz kostne srži. Sekretuju ga bubrezi u odgovoru na hipoksiju i transportuju do kostne srži u plazmu. Više nego bilo koji drugi citokin liči na endokrini hormon. *Anemija* (deficit crvenih krvnih zrnaca) je česta komplikacija kod hroničnog oštećenja bubrega, kancera, ili se javlja kao rezultat terapije kancera. Iako se takva stanja mogu rešiti transfuzijom krvi, eritropoetini mogu da tretiraju najteže oblike anemije, budući da ne održavaju masu eritrocita na nivou potrebnom za normalnu aktivnost i dobro stanje organizma.

Kako anemični pacijenti sa solidnim tumorima često imaju snižene serumske nivoe eritropoetina, korigovanje deficit-a eritropoetina primenom odgovarajuće terapije može biti korisno za pacijente sa kancerogenim oboljenjima, kao i kod pacijenata sa uremijom. Imajući u vidu potencijalne probleme sa transfuzijom krvi (izloženost infektivnim agensima kao što su HIV i virus hepatitisa) u svrhu terapije pomenutih oblika anemije danas se koriste genetski inženjerizovani eritropoetini, npr. epoetin alfa ili darbepoetin alfa (15, 16). **Epoetin alfa**, glikoprotein proizведен rDNK tehnologijom, sadrži 165 aminokiselina u identičnom redosledu (sekvenci) kao endogeni humani EPO. Indikacije za primenu su (14): anemija kao posledica hronične insuficijencije bubrega (bolesnici na hemodializi, peritonealni dijalizi, ili pred dijalizom), lečenje sekundarnih anemija kod obolelih od AIDS-a, lečenje anemije kod onkoloških bolesnika na hemioterapiji preparatima platine, za prikupljanje autologne krvi za hirurške zahvate, kao i za prevenciju anemije kod novorođenčeta male telesne mase. Na tržištu je prisutan u obliku rastvora za injekciju (boćice) u jačinama: 1000 i.j./0,5 ml; 2000 i.j./0,5 ml; 10000 i.j./0,5 ml; 4000 i.j./0,4 ml i 3000 i.j./0,3 ml, ili u obliku napunjene šprica u različitim volumenima: 0,3; 0,4; 0,5 i 1 ml. Preporuka je da se čuva u toku 18 meseci na temperaturi od 2-8°C.

EPO alfa se primenjuje intravenski ili supkutano u dozi od 50 do 100 i.j./kg telesne mase tri puta nedeljno. Naglašava se da formulacija epoetina alfa nije konzervisana, a da u njen sastav ulazi humani albumin da bi se sprečili gubici adsorbovanjem. Proizvod se ne sme zamrzavati, niti mučkati, budući da ovo denaturiše glikoprotein, koji postaje biološki neaktiv. Svaka boćica leka se primenjuje kao pojedinačna doza, i bilo koja neupotrebljena količina rastvora mora biti odbačena. Na svetskom tržištu postoje i višedozna pakovanja, koja su konzervisana benzil alkoholom i takođe sadrže humani albumin kao anti-adheziv. Rok upotrebe nakon prvog otvaranja (prve primenjene doze) je 21 dan. Epoetin alfa ne treba primenjivati u kombinaciji sa drugim rastvorima. Međutim, neposredno pre supkutane primene, rastvor se može mešati u špricu u odnosu 1:1 sa izotoničnim 0,9% rastvorom natrijum-hlorida, koji sadrži i 0,9% benzil alkohola kao lokalnog anestetika (smanjenje bola pri aplikaciji) (1).

**Darbepoetin alfa** (dobijen rDNK tehnologijom u liniji ćelija ovarijuma kineskog hrčka) najpre je bio odobren za tretman anemije povezane sa hroničnim oštećenjem bubrega, a potom i za tretman hemoterapijom-indukovane anemije kod pacijenata sa nemijeloidnim malignim tumorima. Lek je na raspolaganju kao rastvor za injekciju; formulacija je bez konzervanasa, sa humanim albuminom, natrijum-dihidrogenfosfatom, dinatrijum- hidrogenfosfatom i natrijum-hloridom. Na tržištu je bio prisutan proizvod sa polisorbatom 80 i glicinom, ali je nakon primene ove formulacije dolazilo do pojave teškog neželjenog dejstva **eritroblastopenije** (eng. *pure red-cell aplasia (PRCA)*) kod pacijenata sa hroničnom bubrežnom insuficijencijom koji su više meseci/godina pod terapijom epoetinom alfa ili darbepoetinom alfa (*s.c.*), sa incidentom

~ 20 na 100 000 pacijenata godišnje. Promena formulacije (zamena albumina sa glicinom i polisorbatom 80) i puta primene (supkutana umesto intravenska primena) dovela je do ovog teškog neželjenog dejstva. Zapravo, reformulisani proizvod pokazao se kao imunogen, što je kasnije objašnjeno asocijacijom više molekula EPO na površine micela nastalih prisustvom polisorbata 80, a dodatno pospešeno produženim kontaktom sa ćelijama imunog sistema (supkutana primena); usled toga Evropska agencija za lekove (EMA) ograničila je upotrebu ove formulacije kod obolelih od bubrežne insuficijencije na *i.v.* aplikaciju (15). Pre primene darbepoetina alfa bočicu treba proveriti na prisustvo čestica mehaničkih onečišćenja ili promenu boje (takve proizvode ne treba koristiti). Bočicu ne treba mučkati, niti rastvor razblaživati ili primenjivati sa rastvorima drugih lekova. Ukoliko neki deo proizvoda ostane neupotrebljen, treba ga odbaciti. Proizvod se ne sme zamrzavati, čuva se u frižideru na temperaturi od 2-8°C (1).

**Interferon beta-1b (IFNB)** je tip I interferon koji je dobijen u kulturi *E.coli* primenom rDNK tehnologije; razlikuje se od endogenog interferona beta po promeni rezidue serina cisteinom na poziciji 17. Ova manipulacija poboljšava stabilnost leka, dok se specifična aktivnost prirodnog interferona beta zadržava. IFNB je efikasan u tretmanu relapsne i reminitentne multiple skleroze u dozi od 0,25 mg (8 Mi.j.) injektovanih supkutano svakog drugog dana. Liofilizovani IFNB 0,3 mg (9,6 Mi.j.) rekonstituiše se primenom sterilnog šprica i igle za injektovanje 1,2 ml diluensa (rastvor 0,54% natrijum-hlorida) direktno u bočicu. Diluens treba dodati niz zid boćice, a potom bočicu blago zavrteti između palca i kažiprsta, ali ne mučkati dok se lek u potpunosti ne rastvori. U formulaciji proizvoda prisutni su dekstroza i albumin (da spreči adsorpciju na zidove boćice, ili šprica). Budući da proizvod nije konzervisan, sadržaj boćice može se koristiti samo za jednokratnu upotrebu. Pre i nakon rekonstitucije proizvod se mora čuvati u frižideru, a ne duže od 3 sata nakon rekonstitucije mora se primeniti (1).

**Rituksimab** je bio prvo monoklonsko antitelo odobreno u SAD 1997. za tretman kancera. U pitanju je himerno (humano-mišje antitelo) usmereno protiv CD20 antiga na koji se nalazi na površini normalnih i malignih B limfocita. Fab domen rituksimaba vezuje se za CD20 antigen na B limfocitima, a Fc domen pokreće imunološke efektorske funkcije koje posreduju lizu B limfocita. Lek je indikovan kod recidivantnog ili hemiorezistentnog indolentnog B ćelijskog non-Hodgin limfoma ili kod agresivnog non-Hodgin limfoma. Druga indikacija je reumatoidni artritis, sa specifičnim tokom terapije. Lek je na raspolaganju u obliku: 1) koncentrata za rastvor za infuziju 500 mg/50 ml, bočica, 1x50 ml (rok upotrebe 30 meseci, čuva se na temperaturi frižidera (2-8°C)), odnosno u obliku 2) koncentrata za rastvor za infuziju, 100 mg/10 ml, bočica, 2x10 ml; rok upotrebe 30 meseci, čuva se na temperaturi frižidera (2-8°C)) (1).

Kod non-Hodgin limfoma primenjuje se 50 mg/h leka. Ukoliko dođe do hipersenzitivnosti ili reakcije povezane sa primenom infuzije (npr. groznica, jeza,

mučnina, urtikarija, slabost, glavobolja, bronhospazam) infuzija se prekida ili usporava. Ove reakcije su generalno prisutne u toku 30 min do 2 sata prve infuzije. Infuzije koje slede mogu se primeniti i većom brzinom (100 mg/h) i povećavati (po 100 mg/h) do maksimalno 400 mg/h. Premedikacija sa paracetamolom i difenhidraminom može da smanji neželjene događaje vezane za primenu infuzije. Takođe, savetuje se da se ne uzimaju antihipertenzivi 12 sati pre infuzije rituksimaba. Razblaživanje koncentrata za infuziju vrši se 0,9% rastvorom natrijum-hlorida ili injekcijom 5% rastvora glukoze direktno u infuzionoj kesi koja se lagano izokrene da bi se promešali rastvori. Neupotrebljena količina infuzije se odbacuje (1).

## Literatura

1. Allen VL, Popovich GN, Ansel CH, eds. *Ansel's Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems*. 9th ed. Walters Kluwer i Lippincott Williams&Wilkins, 2011.
2. Crommelin DJA, Sindelar RD, eds. *Pharmaceutical Biotechnology*. 3rd ed. Taylor & Francis Group, London and New York, 2007.
3. Walsh G. Posttranslational modifications of protein biopharmaceuticals. *8<sup>th</sup> World Meeting on Pharmaceutics, Biopharmaceutics and Pharmaceutical Technology*, 2012.
4. European Pharmacopoeia 6.0, 6th Edition, Council of Europe, Strasbourg, 2008.
5. European Pharmacopoeia 7.0, 7th Edition, Council of Europe, Strasbourg, 2011.
6. Crommelin DJA, Storm G, Verrijck R, de Leede L, Jiskoot W, Hennink W. Shifting paradigms: biopharmaceuticals versus low molecular weight drugs. *Int J Pharm.* 2003; 266: 3-16.
7. Schellekens H. Bioequivalence and the immunogenicity of biopharmaceuticals. *Nature Rev Drug Disc.* 2002; 1:457-462.
8. Kayser O, Müller RH, eds. *Pharmaceutical Biotechnology. Drug Discovery and Clinical Applications*, Wiley-VCH Verlag GmbH, Weinheim, 2004.
9. Groves MJ, ed. *Pharmaceutical Biotechnology*, 2nd ed., Taylor&Francis Group, Boca Raton, 2006.
10. Walsh G. *Pharmaceutical Biotechnology – Concepts and Applications*, John Wiley & Sons, Ltd, Chichester, England, 2007.
11. Guidance for industry for Sterile Drug Products Produced by Aseptic Processing – Current Good Manufacturing Practice, U.S. Department of Health and Human Services Food and Drug Administration, 2003.
12. Jiskoot W, Randolph TW, Volkin DB, Middaugh CR, Schöneich C, Winter G, Friess W, Crommelin DJA, Carpenter JF. Protein instability and immunogenicity. Roadblocks to clinical application of injectable protein delivery systems for sustained release. *J Pharm Sci* 2012; 101(3): 946-954.
13. Cromellin D. Recommendation for storage and handling of biopharmaceuticals in hospitals. *EJHP* 1/2003.
14. Nacionalni registar lekova 2011, Agencija za lekove i medicinska sredstva, Beograd, 2011.
15. Wang ZY, Zhao KK, Zhao PQ. Erythropoietin therapy for early diabetic retinopathy through its protective effects on retinal pricytes. *Medical Hypotheses* 2011; 76: 266-68.
16. Wang YJ, Hao SJ, Liu YD, Hu T, Zhang GF, Zhang X, et al. PEGylation markedly enhances the in vivo potency of recombinant human non-glycosylated erythropoietin: A comparison with glycosylated erythropoietin. *J Control Release* 2010; 145: 306–313.

# **Biologics: pharmaceutical-technological specificities**

**Snezana Savić\*, Jela Milić**

University of Belgrade - Faculty of Pharmacy, Department of Pharmaceutical Technology and Cosmetology, Vojvode Stepe 450, 11 000 Belgrade, Serbia

---

## **Summary**

The field of pharmaceutical biotechnology is developing rapidly. For those working in the field of pharmacy and pharmaceutical sciences, completely new and novel techniques and product appear at a rapid pace, with an almost imperative request for an additional/continual education, since the biopharmaceuticals are result of the interplay between a number of different disciplines; among those must be mentioned: molecular biotechnology, molecular genetics, (bio-)engineering, chemistry of proteins, and, last but not least, pharmaceutical sciences with pharmaceutical technology as well. The huge number of biopharmaceuticals belongs to the group of parenteral preparations for the reason of great protein sensitivity (solutions for injections, concentrate for infusions, lyophilized products (freeze-dried powders which need reconstitution). As the stability, biological activity, and pharmacological activity of proteins and peptides are largely dependent on their intact primary, secondary, tertiary, and quaternary structure, the aim of paranterals' development is to keep their structure, stability, and therefore the activity using the proper excipients and choosing an optimal production procedure (sterilization steps are crucial). It is of utmost importance also to learn about biopharmaceuticals storage and handling from the moment of their production to the patient administration.

**Key words:** biopharmaceutical, rDNA products, monoclonal antibodies, formulation, excipients, lyophilized product, the cold chain.

---

# Biološki lekovi u lečenju reumatskih bolesti

Goran Radunović\*, Nemanja Damjanov

Univerziteta u Beogradu - Medicinski fakultet, Institut za reumatologiju,  
Resavska 69, 11000 Beograd, Srbija

## Kratak sadržaj

Biološki lekovi su proteini dobijeni genetskim inžinjeringom koji imaju sposobnost direktnе regulacije imunskog odgovora. Grupa bioloških lekova koji su danas odobreni za kliničku upotrebu se, po mehanizmu svog delovanja, deli na: 1) anti-TNF lekove (infliksimab, etanercept, adalimumab, golimumab i certolizumab); 2) blokatore IL-1 (anakinra); 3) blokatore receptora za IL-6 (tocilizumab); 4) blokatore kostimulatornih signala (abatacept); 5) lekove koji vrše depleciju CD 20+ ćelija (rituksimab) i 6) lekove koji smanjuju aktivnost B limfocita (belimumab). Novi koncept lečenja zapaljenskih reumatskih bolesti podrazumeva ranu dijagnozu i rano agresivno lečenje lekovima koji menjaju tok bolesti – LMTB (metotreksat, leflunomid, sulfasalazin, hlorokin). Ukoliko LMTB ne smire aktivnost bolesti posle šest meseci lečenja, uz njih se u lečenje uključuje biološki lek. Kao biološki lekovi prve linije najčešće se upotrebljavaju anti-TNF agensi, a u slučaju neuspela, kod bolesnika sa reumatoidnim artritisom (RA), u terapiju se mogu uvesti rituksimab, tocilizumab ili abatacept. Novija saopštenja ukazuju da bi se, kod bolesnika sa izuzetno aktivnim RA i sa pokazateljima loše prognoze bolesti, mogli odmah uključiti biološki lekovi (anti-TNF ili tocilizumab). Primena bioloških lekova kod više stotina hiljada bolesnika u svetu pokazala je veliku terapijsku efikasnost i zadovoljavajuću bezbednost. Oni značajno smiruju aktivnost artritisa i usporavaju strukturalna oštećenja uz poboljšanje kvaliteta života i funkcije sistema za kretanje.

Biološki lekovi mogu se primeniti i za lečenje sistemskih bolesti vezivnog tkiva. Kod bolesnika sa sistemskim eritemskim lupusom belimumab je pokazao zadovoljavajuću efikasnost. Tocilizumab je registrovan za lečenje sistemskog oblika juvenilnog idiopatskog artritisa, gde pokazuje značajno bolju efikasnost od anti-TNF lekova. Rituksimab i njemu slični lekovi mogu se upotrebiti i u lečenju sistemskih nekrotizirajućih vaskulitisa, posebno Wegenerove granulomatoze.

**Ključne reči:** zapaljenske reumatske bolesti, sistemske bolesti vezivnog tkiva, biološki lekovi

\* Korespondencija: ass dr Goran Radunović  
Univerziteta u Beogradu - Medicinski fakultet, Institut za reumatologiju  
11000 Beograd, Resavska 69.  
E mail: [goranradunovic@open.telekom.rs](mailto:goranradunovic@open.telekom.rs)  
Tel: +381 11 36 00 801; FAX: +381 11 36 123 76.

## Uvod

U poslednjih 20 godina napravljen je veliki napredak u lečenju zapaljenskih reumatskih bolesti. Napravljen je niz složenih proteinskih lekova čije su funkcije snažno inhibitorno dejstvo prema proinflamatornim citokinima (do danas je većina nacionalnih agencija za lekove odobrila za upotrebu 5 molekula sa aktivnošću protiv faktora nekroze tumora  $\alpha$ , po jedan molekul usmeren protiv IL-1 i IL-6, molekul koji sprečava stimulaciju T limfocita, molekul koji uništava B limfocite i jedan koji sprečava stimulaciju i diferencijaciju B limfocita). Takvi lekovi nazvani su „biološki lekovi”, jer predstavljaju proteine ili glikoproteine koje poizvode živi organizmi, ćelijske ili bakterijske kulture. Zbog toga se radi o veoma skupim lekovima. Biološki lekovi su raznorodni proteini koji pokazuju sposobnost imunomodulacije tj. direktnе regulacije imunskog odgovora. Biološki lekovi mogu sprečiti ili stimulisati stvaranje i funkciju ćelija i molekula koji nastaju u biološkim procesima regulacije imunskog odgovora, a po svojoj prirodi su antitela, solubilni receptori za citokine ili drugi veliki organski molekuli [1].

U današnje vreme ciljevi lečenja zapaljenskih reumatskih bolesti usmereni su na što je moguće brže i potpunije zaustavljanje neadekvatne hronične zapaljenske reakcije [2, 3, 4], delovanjem na glavne patogenetske mehanizme (pretežno efektorske citokine koji imaju ključnu ulogu u prirodnom imunitetu i u ranim fazama zapaljenja) [5, 6]. Time se obezbeđuje specifičnije delovanje lekova, koje nosi potencijal za znatno snažnija farmakološka dejstva sa manje neželjenih pojava nego što ih pokazuju antimetaboliti i drugi antizapaljenski lekovi. Sa farmakodinamskog aspekta sve zapaljenske reumatske bolesti mogu se lečiti „biološkim lekovima”, a zaustavljanjem dejstva pojedinih enzima, faktora rasta i drugih ključnih proteina biološkim lekovima, može se delovati i na sve ostale bolesti – kao što je danas slučaj sa osteoporozom [7, 8], a u budućnosti to može biti i sa osteoartrozom.

I pored činjenice da u patogenezi zapaljenskih reumatskih bolesti (kao što su reumatoidni artritis, psorijazni artritis, ankilozirajući spondilitis i juvenilni idiopatski artritis) učestvuje široka mreža proinflamatornih citokina, odgovarajuća kontrola bolesti može se uspostaviti zaustavljanjem delovanja samo jednog od njih, kod najmanje polovine obolelih. Odlični primeri za takav efekat su antagonisti TNF- $\alpha$  i IL-6, koji se primenjuju u klinici [5, 6].

## Mehanizmi delovanja bioloških lekova

Faktor nekroze tumora – TNF- $\alpha$  je centralni proinflamatori citokin u većini zapaljenskih reumatskih bolesti (posebno u reumatoidnom artrisu – RA), koji se proizvodi kao membranski protein, odakle se oslobađa nakon proteolitičkog isecanja pomoću enzima membranske metaloproteinaze – TNF konvertaze (TACE). On pripada

velikoj grupi sličnih citokina poznatoj kao TNF superfamilija, koji svi potiču od jednog ancestralnog gena, koja broji najmanje 19 članova i u koju se ubrajaju mnogi citokini koji se nalaze u reumatoидnoj sinoviji. Neki od pripadnika familije TNF, kao što su limfotoksini i LIGHT, učestvuju u regulatornim procesima u vezivnom tkivu sinovije, dok drugi zauzimaju važno mesto u procesima apoptoze i preživljavanja (TRAIL, Fas ligand) ili aktivacije osteoklasta (RANKL – aktivator receptora za ligand NF-κB). TNF- $\alpha$  i IL-1 obično deluju sinergistički i imaju slične uloge: povećavaju sintezu drugih citokina, ekspresiju adhezivnih molekula, izazivaju proliferaciju sinoviocita tipa B (FLS), fibroblasta i produkciju metaloproteinaza matriksa. Iako dele mnoge funkcije, njihovi receptori i putevi za prenošenje signala sa membrane do jedra su potpuno različiti [5, 6, 9].

Tokom RA TNF- $\alpha$  se uglavnom proizvodi u sinovijskim makrofagima. Neposredni signali koji omogućavaju sintezu TNF- $\alpha$  nisu identifikovani, ali mogu obuhvatiti stimulaciju receptora za promet antigena (TLR) ili biti posledica dejstva drugih citokina, kao što je IL-15 [5, 6, 9]. TNF blokada dovodi do smanjenja stvaranja drugih citokina i različitih bioloških molekula bitnih za održavanje zapaljenske reakcije [10]. Zaustavljanjem delovanja TNF- $\alpha$  smanjuje se razaranje hrskavice, bujanje sinovije i njena aktivnost u razaranju zglobova, kao i aktivnost osteoklasta u razaranju kosti [11]. Inhibitori TNF- $\alpha$ , pored popravljanja simptoma i znakova RA, smanjuju napredovanje erozivnih promena zahvaljujući svom efektu na druge citokine i osteoklaste. Inhibicija TNF kod obolelih od RA smanjuje oštećenja vanćelijske sredine, što se zapaža kao usporavanje ili zaustavljanje radiografske progresije [12-14]. Mehanizmi na koji blokada TNF utiče na sinovitis su potpuno različiti od ostalih raspoloživih bioloških lekova, tako da nije iznenadenje što bolesnici sa nedovoljnim efektom anti-TNF agenasa mogu povoljno reagovati na rituksimab ili abatacept [6]. To nam samo govori koliko je složena patogeneza RA i koliko su njeni putevi isprepletani i različiti kod pojedinaca. Dobar klinički odgovor na biološke lekove ne mora biti proporcionalan stepenu zaštite zglobne hrskavice i okrajaka kostiju. Tako se viđaju bolesnici kod kojih nije postignuto poboljšanje simptoma anti-TNF lekovima, ali je došlo do značajnog usporavanja destruktivnih promena [12-14]. Na taj način došlo se do zaključka da proces zapaljenja i destrukcije u RA mogu imati različite patogenetske mehanizme [5, 6].

Bez obzira na svoju glavnu ulogu u mnogim patološkim procesima, TNF- $\alpha$  je veoma važan molekul, čija je glavna uloga odbrana od određenih infektivnih agenasa, pretežno intracelularnih. Zbog toga su glavni neželjeni događaji tokom anti-TNF terapije oprtunističke infekcije, reaktivacija latentne tuberkuloze i oslabljen nadzor nad pojavom tumora [6, 9].

Aktivnost TNF $\alpha$  danas se može smanjiti vezivanjem monoklonskih anti-TNF antitela (infliksimab, adlimumab, golimumab, certolizumab) za cirkulišući TNF $\alpha$ , ili

upotrebom solubilnih TNF receptora (etanercept) koji vežu cirkulišući TNF $\alpha$ , kao i sprečavanjem stvaranja TNF dejstvom na TNF konvertazu (TACE) [10]. Infliksimab je himerično monoklonsko anti-TNF antitelo IgG1 klase mišjeg i humanog porekla. Adalimumab i golimumab predstavljaju potpuna humana IgG1 monoklonska anti-TNF antitela. Etanercept je fuzioni protein koji se sastoji od vanćelijskog domena receptora za TNF (TNF-R2) i Fc regiona IgG1. Certolizumab pegol je konjugat polietilen-glikola i Fab' fragmenta humanizovanog monoklonskog anti-TNF antitela [15].

Familija IL-1 obuhvata široko rasprostranjene strukturno slične polipeptide sa različitim biološkim ulogama: IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-18 i IL-1Ra, koji je prirodni inhibitor IL-1. IL-1 aktivira neutrofile i makrofage, stimuliše rast i diferencijaciju T i B limfocita. On takođe pokreće proteolitičke enzime, podstiče razaranje hrskavice i razgradnju kostiju [16]. U pretkliničkim ispitivanjima kod životinja IL-1 pokazao se kao najvažniji faktor tokom razvoja eksperimentalnog artritisa. U tom slučaju njegova uloga je značajnija nego u RA i tada obično prevazilazi ulogu TNF- $\alpha$ . IL-1 blokada kod eksperimentalnih životinja utiče na aktivnost bolesti, ali upadljivo smanjuje oštećenja hrskavice i kostiju [6, 9]. U reumatoidnoj sinoviji koncentracije prirodnog inhibitora IL-1 (IL-1Ra) su nedovoljne da se suprotstave povećanoj aktivnosti IL-1. To može biti posledica kratkog poluživota IL-1Ra ili veoma visokih potreba. Kod obolelih od autoimunskih bolesti u čijoj patogenezi dominira IL-1, kao što su sistemski oblik JIA, Stillova bolest odraslih i porodični autoinflamatorni sindromi, IL-1Ra pokazuje snažne terapijske efekte [6, 9]. Kod bolesnika sa RA terapijski efekat rekombinantnog IL-1Ra (Anakinra) znatno je slabiji, može se reći osrednji [17]. Slične efekte imaju i druge metode lečenja koje pogadaju IL-1, među kojima su inhibitori kaspaze-1 i različiti proteini koji vezuju IL-1, dobijeni genetskim inžinjeringom [18]. Tokom kliničkog ispitivanja Anakinre umereno poboljšanje zapaženo je kod 40-45% bolesnika [17, 19]. Kombinovana terapija anti-TNF i anti-IL-1 lekovima nije donela dodatnu korist bolesnicima, iako je zapažen dalji pad CRP u skladu sa biološkim efektima antagonista IL-1, jer je izazivala značajan porast učestalosti infekcija [20]. Zbog toga se smatra da IL-1 u patogenezi RA nije toliko značajan činilac, kao što su TNF- $\alpha$  i IL-6. Intenzitet njegovog uticaja na razgradnju hrskavice i kostiju ostaje i dalje nedovoljno poznat [6].

IL-6 je protein koji se stvara u mnogim ćelijama, kao što su T limfociti, monociti i FLS [6, 9, 21, 22]. Kada je otkriven, smatralo se da je njegova najvažnija funkcija pomaganje sinteze imunoglobulina u B limfocitima, a potom je zapaženo da je uključen u diferencijaciju citotoksičnih T limfocita. Danas se ubraja u proinflamatorne citokine koji imaju najviše sistemskih efekata, jer pored ćelija imunskog sistema, deluje i na veliki broj različitih ćelija koje mogu biti van njega, kao što su hepatociti i ćelije hematopoeze. Smatra se da je IL-6 glavni pokretač sinteze proteina akutne faze. On pokreće sintezu CRP,  $\alpha$ 1-antitripsina, fibrinogena i haptoglobina u jetri [6, 21]. Koncentracije IL-6 su veoma visoke u sinovijskoj tečnosti bolesnika sa RA i on

uglavnom potiče iz FLS [21, 22, 23]. U RA postoji snažna korelacija koncentracije IL-6 sa koncentracijom proteina akutne faze. Ostale važne funkcije IL-6 odnose se na aktivaciju endotela krvnih sudova i stimulaciju sazrevanja osteoklasta, čime IL-6 značajno utiče na pojavu erozivnih promena. Koncentracija IL-6 u sinovijskoj tečnosti dramatično opada nakon lečenja antagonistima TNF [6].

Receptor za IL-6 sastoji se iz dva dela: zajedničkog dela (gp130) koji koriste i drugi članovi IL-6 familije i specifičnog lanca za IL-6 (IL-6R). Specifični deo receptora može da se odvoji sa površine ćelije i u svom solubilnom obliku da se veže za IL-6. U tom slučaju IL-6 u kompleksu sa receptorom biva sačuvan od razlaganja i može da deluje na ćelije koje na svojoj membrani nemaju IL-6R, već imaju samo zajednički deo [6, 21].

Kod bolesnika sa RA ispitano je nekoliko monoklonskih antitela protiv specifičnog lanca receptora za IL-6 i većina je pokazala terapijsku efikasnost u pogledu smanjenja simptoma i progresije bolesti, sličnog intenziteta kao kod upotrebe anti-TNF lekova [24, 25].

Tocilizumab je humanizovano monoklonsko antitelo protiv receptora za IL-6 dobijeno genetskim inžinjeringom. Tocilizumab prepoznaje i membransku i solubilnu formu receptora za IL-6 (IL-6R) i specifično blokira dejstvo ovog interleukina. Tocilizumab se koristi u lečenju autoimunskih bolesti kod kojih se javlja velika produkcija IL-6, kao što su RA, sistemski oblik juvenilnog idiopatskog artritisa (sJIA) i Crohnova bolest. Tocilizumab pokazuje snažnu efikasnost u smanjivanju aktivnosti RA, kao i u sprečavanju oštećenja zglobova u ovoj bolesti.

Kada se T limfocit svojim receptorom za antigen spoji sa antigenom na membrani ćelije koje prikazuju antigene (skraćeno nazvane APC po eng. nazivu „*antigen presenting cells*”), on dobije samo jedan od signala koji mu je potreban da bi došlo do njegove aktivacije. Uz ovaj signal, neophodan je barem još jedan nezavisni signal da bi aktivacija bila delotvorna. Taj drugi signal nazvan je prateći podsticaj (eng. „*costimulatory signal*”). Prateći stimulus T limfocita uglavnom se ostvaruje vezivanjem membranskog CTLA4 molekula na T limfocitu, koji se veoma lako veže za receptor CD80/86 na APC [26]. Kada se CTLA4 veže za CD80/86, on pruža taj prateći podsticaj. Krajem osamdesetih godina prošlog veka otkriveno je da fuzioni protein sastavljen od kostimulatonog molekula CTLA4 iFc regiona IgG1 sprečava aktivaciju T limfocita. On to radi ukidanjem neophodnog II signala za proliferaciju i aktivaciju [27]. Rekombinantni humani fuzioni protein CTLA4-Ig kasnije je nazvan abatacept i odobren za lečenje RA od strane FDA (eng. Food and Drug Administration) tek 2008. godine [28, 29].

Jedna od meta za intervenciju u sistemskim bolestima vezivnog tkiva (SBVT) je CD20 membranski antigen specifičan za B limfocite (prisutan kod pre-B ćelija, zrelih,

aktivisanih i memorijskih B limfocita, a ne na membranama stem, pre B ćelija i ćelija plazmocitne loze). Vezivanje funkcionalnog antitela za membranski CD20 B limfocita izaziva njegovu smrt aktivacijom fagocitoze i komplementa. Funkcije B limfocita u normalnom imunskom odgovoru i autoimunskim procesima uglavnom su prikazivanje stranih i sopstvenih antigena, stvaranje efektorskih molekula – antitela i proizvodnja niza proinflamatornih citokina: TNF- $\alpha$ , IL-1 i IL-6. Imunski kompleksi su signal za produženo preživljavanje ćelija B koje su ih proizvele [30]. Ovakvo produženo preživljavanje i aktivacija B limfocita bitno je za stvaranje viška imunskih kompleksa, stvaranje TNF- $\alpha$ , drugih proinflamatornih molekula i održavanje hroničnog zapaljenja. Smanjenje broja i funkcije B limfocita, upotrebom anti-CD20 (himerična monoklonska antitela) jedan je od pogodnih načina za lečenje poremećaja imunske regulacije u RA [6].

## Primena bioloških lekova

### Blokatori TNF $\alpha$

Različiti anti-TNF lekovi nalaze se već duži niz godina u širokoj kliničkoj praksi za lečenje RA, psorijaznog artritisa (PsA) i ankilozirajućeg spondilitisa (AS) i njihova upotreba odobrena je od strane FDA („Food and Drug Administration“) i EMEA (evropske agencije za lekove). Najznačajniji u ovoj grupi lekova su infliksimab [12, 31], etanercept [13, 32, 33], adalimumab [14] i od nedavno golimumab [34-38] i certolizumab [39, 40] (koji je za sada registrovan samo za lečenje RA)[41]. Kod većine bolesnika anti-TNF lekovi se koriste u kombinaciji sa drugim lekovima koji menjaju tok bolesti (LMTB), obično sa metotreksatom (MTX), ali ima rezultata i u kombinaciji sa sulfosalazinom (SSZ) i leflunomidom (LEF). Anti-TNF lekovi (etanercept, adalimumab) mogu se koristiti i kao monoterapija, dok se infliksimab može isključivo davati u kombinaciji sa MTX. Ipak, rezultati nekoliko studija pokazuju da kombinovana terapija biološkog leka i LMTB ima značajno veću terapijsku efikasnost [42]. Većina studija pokazala je da anti-TNF lekovi, dati u punoj dozi, za lečenje RA, PsA i AS dovode do značajnog poboljšanja stanja i smirivanja kliničkih i laboratorijskih znakova bolesti, ali nijedna studija nije pokazala prednost ili bolju efikasnost jednog u odnosu na drugi anti-TNF preparat. Studije pokušaja prebacivanja sa jednog na drugi anti-TNF preparat, ukoliko terapijski odgovor nije bio zadovoljavajući u toku lečenja prvim anti-TNF preparatom, pokazale su da pacijenti koji primarno ne odgovore na jedan anti-TNF preparat verovatno neće odgovoriti ni na drugu vrstu ovog leka. Pozitivan terapijski efekat na primenu anti-TNF leka očekuje se u okviru tri do šest meseci te ukoliko do njega dođe, anti-TNF terapiju započetim lekom treba nastaviti do postizanja potpune remisije bolesti [43].

U našoj zemlji, etanercept i adalimumab odobreni su za lečenje RA, PsA, AS i JIA, a infliximab i golimumab za lečenje RA, PsA i AS.

Nekoliko manjih nekontrolisanih ispitivanja pokazalo je uspešnu primenu anti-TNF lekova za lečenje Takayasu arteritisa (TA) [44-49]. Najveće od ovih ispitivanja pokazalo je da anti-TNF lekovi mogu održavati remisiju ovog vaskulitisa velikih krvnih sudova i više godina, u čemu se najviše isticao infliximab. Nažalost, pokušaji lečenja ostalih formi sistemskih vaskulitisa anti-TNF agensima, kao i SLE, SSc i idiopatskih inflamatornih miopatija (IIM) nisu pokazali značajno bolje rezultate od lečenja placebom.

Primena anti-TNF lekova može dovesti do pojave neželjenih efekata i bezbednost primene ove terapije pod stalnom je lupom biomedicinske stručne javnosti [50]. Najčešći opisani neželjeni efekti su reakcije, uglavnom blage i umerene, na mestu aplikacije leka. Kod subkutane primene etanercepta i certolizumaba to su kožne reakcije, ali infliximab, adalimumab i golimumab mogu dovesti do teških infuzionih reakcija zbog čega se uz njihovu primenu savetuje premedikacija kortikosteroidima i antihistaminicima. Primećena je i češća pojava infekcija kod pacijenata na ovoj terapiji, a dosadašnji rezultati pokazali su da bolesnici na ovoj terapiji imaju umereno povećan relativni rizik za razvoj uobičajenih infekcija. Teške infekcije i oportunističke infekcije takođe se češće javljaju u poređenju sa bolesnicima koji uzimaju samo LMTB [51]. Posebno postoji povećan rizik od razvoja tuberkuloze (TB) i to kako primarne, tako i reaktivacije ranijih latentnih infekcija. Povećana incidencija TB beleži se i kod monoterapije LMTB. Veći rizik za TB prisutan je kod terapije infliximabom, adalimumabom, golimumabom i certolizumabom u odnosu na etanercept. Klinička slika TB kod ovih bolesnika može biti vrlo atipična te se pre započinjanja terapije savetuje skrining na prisustvo TB i preventivna primena izonijazida, mesec dana pre anti-TNF terapije, kod sumnjivih slučajeva [52]. Pojava maligniteta, posebno limfoma i karcinoma kože, češća je u populaciji RA bolesnika (2 do 5 puta) u odnosu na opštu populaciju, verovatno zbog izmenjenog imunskog sistema i poremećaja nadzora nad pojmom tumora. Isti stepen rizika uočen je i kod RA bolesnika na anti-TNF terapiji. Ostali podaci vezani za rizik od pojave karcinoma su kontradiktorni. Jedna studija nije pokazala povećan rizik, ali je druga studija praćenja neželjenih efekata infliximaba i adalimumaba pokazala da možda postoji umereno povećan rizik za pojavu limfoma, solidnih tumora i tumora kože [53].

## Blokatori IL-1

Do sada je u svetu za kliničku upotrebu odobren samo jedan blokator IL-1, anakinra. Lek se može koristiti za terapiju RA kao monoterapija ili u kombinaciji sa MTX, u dozi od 100 mg na dan subkutano, ukoliko je postojao neadekvatan terapijski odgovor na BML (obično MTX). Ipak, rezultati studija su pokazali su da primena ovog

biološkog leka daje značajno bolje rezultate u lečenju autoinflamatornih sindroma (naslednih sindroma periodične febrilnosti), u lečenju sistemske forme JIA, kao i Stillove bolesti odraslih [16-19]. Zbog čestih reakcija na mestu aplikacije (kod skoro 70% bolesnika), slabog pozitivnog terapijskog efekta u RA, uz čestu pojavu infekcija neophodna su dalja ispitivanja primene ovog leka u različitim autoimunskim bolestima. U našoj zemlji ovaj lek do danas nije registrovan [54].

### **Blokatori kostimulatornih signala**

Abatacept je odobren za lečenje RA kao monoterapija ili u kombinaciji sa drugim LMTB. Dozira se kao intravenska infuzija do 10 mg/kg (500 mg za težinu do 60 kg ili 750 mg za težinu do 100 kg) nulte, druge i četvrte nedelje terapije, a zatim jedanput mesečno. Lek se može primenjivati samo ukoliko je sproveden prethodni pokušaj lečenja LMTB i nekim anti-TNF lekom bez uspeha [28, 29]. Neželjeni efekti su slični anti-TNF lekovima, uz nešto češće zabeleženu pojavu karcinoma pluća i teških infekcija. U našoj zemlji, do sada, ovaj lek nije registrovan za kliničku upotrebu [55].

### **Blokatori IL-6**

Tocilizumab je biološki lek koji je registrovan za lečenje RA, sJIA i Stillove bolesti odraslih. U RA se primenjuje kao intravenska infuzija u dozi od 4-8 mg/kg jedanput mesečno [24, 25]. Inicijalna klinička istraživanja obuhvatila su 625 bolesnika sa RA i pokazala su da se posle 6 nedelja lečenja postiže ACR 20 poboljšanje kod 59% bolesnika na dozi od 8 mg/kg i 48% bolesnika na dozi od 4 mg/kg, za razliku od placebo grupe (26%). Najčešći neželjeni efekti primene tocilizumaba bile su infekcije, umereni porast vrednosti transaminaza i serumskih lipida, ali bez pogoršanja aterogenog indeksa.

Postoje nagoveštaji u vidu objavljenih prikaza slučajeva da će anti-IL-6 lekovi imati ulogu u lečenju SBVT (SLE, IIM) [56, 57].

### **Anti CD 20 monoklonska antitela**

Rituksimab je odobren za lečenje umerenog i teškog RA kod bolesnika kod kojih prethodna anti-TNF terapija nije imala uspeha. Lek se daje u vidu intravenske infuzije u dozi od 1000 mg nulte i druge nedelje terapije, a ista doza leka može se ponoviti nakon šest meseci ukoliko dođe do ponovne pojave simptoma bolesti. Zbog moguće pojave anafilaktičke reakcije tokom primene u vidu spore intravenske infuzije, preporučuje se adekvatna premedikacija steroidima i antihistaminicima.

Najznačajnije dve studije sa rituksimabom su: a) DANCER studija kod 465 bolesnika i koja je pokazala da kombinacija rituksimaba i MTX postiže bolji ACR 20,50 i 70 odgovor nego monoterapija MTX-om i b) REFLEX studija kod 520 RA bolesnika koji nisu adekvatno odgovorili na anti-TNF terapiju i koja je pokazala da

terapija ovim lekom postiže poboljšanje ACR 20 kod 51% bolesnika i ACR 50 kod 27% posle 6 meseci [58]. Ove i druge dosadašnje studije pokazale su da je rituksimab posebno efikasan kod RF pozitivnih bolesnika, dok su različiti rezultati dobijeni kod bolesnika koji su imali neadekvatan terapijski odgovor na BML, anti-TNF lekove ili su bili RF negativni. Kombinovana terapija sa MTX, slično kao kod anti-TNF lekova, pokazala je bolje rezultate, a ponovljene infuzije kod bolesnika koji su prethodno imali dobar terapijski odgovor na rituksimab omogućavaju održavanje poboljšanja bolesti. Neke studije pokazale su da rituksimab može usporiti radiološku progresiju bolesti kod RA bolesnika koji predhodno nisu imali pozitivan terapijski efekat tokom primene jednog ili više anti-TNF lekova [59].

Jedino publikованo nacionalno iskustvo u primeni ovog leka je MATADOR otvoreno kliničko ispitivanje, koje je kod 15 bolesnika sa RA koji su prethodno lečeni MTXom pokazalo dobru efikasnost kombinacije lekova u vidu smanjenja DAS28 skora za 2,98 posle 6 meseci od početka terapije [60].

Poslednjih godina postalo je jasno da se rituksimab može koristiti za lečenje tvrdokorne forme Wegenerove granulomatoze (WG), kao i relapsa ove bolesti. U literaturi je prikazan veći broj slučajeva, nekoliko serija bolesnika i prospektivnih otvorenih ispitivanja. Rituksimab je efikasan i u lečenju najtežih manifestacija bolesti: plućnih vaskulitisa promena i nekrotizirajućeg glomerulonefritisa. Iako je rituksimab jednak efikasan u lečenju nekrotizirajućih granulomske promene, kao što su pseudotumori orbite i stenoze disajnih puteva, ishod lečenja najviše zavisi od momenta započinjanja terapije, jer se ožiljne promene ne mogu popraviti [61-71]. U pojedinim slučajevima doze rituksimaba koje se primenjuju za lečenje WG mogu biti veće od preporučenih. Rituksimab se može primeniti i za lečenje refraktarnih IIM sa promenljivim uspehom (kada pokazuje efekte u vidu smanjenja neophodne doze kokrtikosteroida, slično kao i anti-TNF lekovi), dok dobru efikasnost pokazuje u lečenju mešovite krioglobulinemije (koja je najčešće komplikacija hepatitisa C) u kombinaciji sa interferonom i ribavarinom [72, 73].

Najčešći neželjeni događaj tokom primene rituksimaba je blaga infuziona reakcija, češća kod prve aplikacije leka (35%) a ređa kod narednih (10%). Ove se reakcije mogu prevenirati korekcijom brzine infuzije i adekvatnom premedikacijom. Učestalost ozbiljnih infekcija tokom lečenja rituksimabom slična je kao kod anti-TNF lekova, uz značajno manji rizik za pojavu tuberkuloze [74].

## **Anti CD22 monoklonska antitela**

Epratuzumab je himerično monoklonsko antitelo protiv CD22 koje u kontaktu sa svojim antigenom na membrani B limfocita utiče na njihovu migraciju i prikazivanje adhezivnih molekula na plazmatskoj membrani [75]. Molekul je do sada ispitivan u lečenju SLE, gde nije pokazao superiornost u odnosu na placebo [76].

## **Specifični inhibitori BLyS**

Belimumab je monoklonsko antitelo koje se vezuje i inaktivira faktor preživljavanja B limfocita (eng. „B-cell survival factor” – BLyS; B cell activating factor – BAFF), sprečavajući ga da se poveže sa svojim receptorima na membrani B ćelija. Na taj način belimumab izaziva apoptozu B limfocita, uključujući autoreaktivne klonove i smanjuje diferencijaciju B ćelija do plazmocita. Od 2011. godine belimumab je registrovan u SAD za lečenje aktivnog SLE u kombinaciji sa kortikosteroidima, antimalaricima i po potrebi imunosupresivnom terapijom (azatioprin, mikofenolat). Lek nije odobren za lečenje teških neuropsihijatrijskih manifestacija i lupusnog nefritisa i ne preporučuje se njegovo konkomitatno davanje sa ciklofosfamidom. Belimumab nije registrovan u Srbiji. Kod bolesnika sa SLE belimumab smanjuje neophodne doze kortikosteroida na vrednosti ispod 7,5 mg Pronisona na dan, povećava kvalitet života, smanjuje učestalost pogoršanja bolesti, osećaj malakslosti, smanjuje plazmatske koncentracije patogenih anti-dsDNA antitela i povećava koncentracije komponenti komplementa [77, 78].

## **Antitela protiv RANKL**

Denosumab je humano monoklonsko antitelo koje se vezuje za RANKL i sprečava diferencijaciju i aktivaciju osteoklasta, smanjujući njihovo preživljavanje. Lek je nedavno (2011. godine) registrovan u SAD za lečenje postmenopausalne osteoporoze sa visokim rizikom za pojavu frakturna, jer je u kliničkim ispitivanjima pokazao superiornost u odnosu na lečenje alendronatom. Pored toga, u toku su klinička ispitivanja efikasnosti i bezbednosti ovog leka za lečenje RA [7, 8].

## **Zaključak**

Uvođenje bioloških lekova u reumatologiju dovelo je do značajnog poboljšanja rezultata lečenja zapaljenskih reumatskih bolesti, koje se ogleda u znatnom smanjenju posledica evolutivnog RA i PsA, kao i u efikasnom lečenju i zaustavljanju progresije AS, što nije bilo moguće pre ere bioloških lekova. Biološki lekovi su znatno smanjili sekvele i jatrogene pojave kod dece sa težim oblicima JIA, izmenili lošu prognozu kod najtežih sistemskih bolesti vezivnog tkiva, kao što su sistemska nekrotizirajući vaskulitisi. U godinama koje dolaze treba očekivati pojavu bioloških lekova sa novim mehanizmima delovanja, kao i sumiranje rezultata terapijskog i bezbednosnog profila već postojećih lekova.

## Literatura

1. Foxwell B, Andreakos E, Brennan F, Feldmann M, Smith C. Prospects for the development of small molecular weight compounds to replace anti-tumor necrosis factor biological agents. *Ann Rheum Dis* 2003; 62 (suppl II): ii90-ii93.
2. Korpela M, Lassonen L, Hannonen P, et al. Retardation of joint damage in patients with early rheumatoid arthritis by initial aggressive treatment with disease modifying anti-rheumatic drugs. *Arthritis Rheum* 2004; 50(7): 2072-2081.
3. Kremer JM, Kil Lee J. The Safety and Efficacy of the Use of Methotrexate in Long-term therapy in Rheumatoid Arthritis. *Arthritis Rheum* 1986; 29: 822-831.
4. de Vries-Bouwstra JK, Goekoop-Ruiterman YPM, Verpoort KN, et al. Progression of joint damage in early rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 2008; 58: 1293-1298.
5. Waldburger GM, Firestein GS. Rheumatoid Arthritis: Epidemiology, Pathology, and Pathogenesis. In Klippen JH, Stone JH, Crofford LJ, White PH (eds). *Primer on the Rheumatic Diseases*, 13th ed. Springer, New York 2008: 122-132.
6. Firestein GS. Etiology and Pathogenesis of Rheumatoid Arthritis. In Firestein GS, Budd RC, Harris ED Jr, McInnes IB, Ruddy S, Sergent JS (eds). *Kelley's Textbook of Rheumatology*, 8th ed. Elsevier Inc, Philadelphia 2008: 1035-1086.
7. Pageau SC. Denosumab. *mAbs* 2009; 1 (3): 210-215.
8. McClung MR, Lewiecki EM, Cohen SB, et al. Denosumab in Postmenopausal Women with Low Bone Mineral Density. *N Engl J Med* 2006; 354: 821-31.
9. Hueber AJ and McInnes IB. Pathogenesis in rheumatoid arthritis: Cytokines. In Hochberg MC, Silman AJ, Smolen JS, Weinblatt ME, Weisman MH (eds). *Rheumatoid Arthritis*, 1st ed. Mosby Inc, Philadelphia 2009: 200-208.
10. Kalden J. Emerging role of anti-tumor necrosis factor therapy in rheumatic diseases. *Arthritis Res* 2002; 4 (suppl 2): S34-S40.
11. Sfikakis PP, Kollias G. Tumor necrosis factor biology in experimental and clinical arthritis. *Curr Opin Rheumatol* 2003; 15: 380-386.
12. Lipsky PE, van der Heijde DM, St Clair EW, et al. Infliximab and methotrexate in the treatment of rheumatoid arthritis: Anti-tumor necrosis factor trial in rheumatoid arthritis with concomitant therapy study group. *N Engl J Med* 2000; 343: 1594-1602.
13. Emery P, Breedveld FC, Hall S, et al. Comparison of methotrexate monotherapy with a combination of methotrexate and etanercept in active, early, moderate to severe rheumatoid arthritis (COMET): a randomised, double-blind, parallel treatment trial. *Lancet* 2008 ; 372: 375-382.
14. Breedveld FC, Weisman MH, Kavanaugh AF, et al. The PREMIER study: A multicenter, randomized, double-blind clinical trial of combination therapy with adalimumab plus methotrexate versus methotrexate alone or adalimumab alone in patients with early, aggressive rheumatoid arthritis who had not had previous methotrexate treatment. *Arthritis Rheum* 2006; 54: 26-37.
15. Horuchi T, Mitoma H, Harashima S, et al. Transmembrane TNF- $\alpha$ : structure, function and interaction with anti-TNF agents. *Rheumatology* 2010; 49: 1215-1228.
16. Dayer JM, Feige U, Edwards III CK, Burger D. Anti-Interleukin -1 therapy in rheumatic diseases. *Curr Opin Rheumatol* 2001; 13(3):170-6.
17. Thaler K, Chandiramani DV, Hansen RA, Gartlehner G. Efficacy and safety of anakinra for the treatment of rheumatoid arthritis: an update of the Oregon Drug Effectiveness Review Project. *Biologics: Targets & Therapy* 2009; 3: 485-498.

18. Braddock M and Quinn A. Targeting IL-1 in inflammatory disease: new opportunities for therapeutic intervention. *Nature Reviews Drug Discovery* 2004; 3: 330-340.
19. Dayer JM and Bresnihan B. Targeting interleukin-1 in the treatment of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 2002; 46: 574-578.
20. Genovese MC, Cohen S, Moreland L, et al. Combination therapy with etanercept and anakinra in the treatment of patients with rheumatoid arthritis who have been treated unsuccessfully with methotrexate. *Arthritis Rheum* 2004; 50: 1412-1419.
21. Malemud CJ and Reddy SK. Targeting cytokines, chemokines and adhesion molecules in rheumatoid arthritis. *Current Rheumatology Reviews* 2008; 4: 219-234.
22. Guerne PA, Zuraw BL, Vaughan JH, et al. Synovium as a source of interleukin 6 in vitro: Contribution to local and systemic manifestations of arthritis. *J Clin Invest* 1989; 83: 585-592.
23. Field M, Chu C, Feldman M, et al Interleukin-6 localisation in the synovial membrane in rheumatoid arthritis. *Rheumatol Int* 1991; 11: 45-50.
24. Nishimoto N, Yoshizaki K, Miyasaka N, et al. Treatment of rheumatoid arthritis with humanized anti-interleukin-6 receptor antibody: A multicenter, double-blind, placebo-controlled trial. *Arthritis Rheum* 2004; 50: 1761-1769.
25. Miura M, Ohsugi Y, Kishimoto T. Tocilizumab, a humanized anti-interleukin-6 receptor antibody, for treatment of rheumatoid arthritis. *Open Access Rheumatology: Research and Reviews* 2011; 3: 19-29.
26. Manzotti C, Tipping H, Perry LC, Mead KI, Blair PJ, Zheng Y, et al. Inhibition of human T cell proliferation by CTLA-4 utilizes CD80 and requires CD25+ regulatory cells. *Eur J Immunol* 2002;32:2888-96.
27. Fleming TE, Mirando WS, Trefzer U, Tubesing KA, Elmets CA. In Situ Expression of a B7-Like Adhesion Molecule on Keratinocytes from Human Epidermis. *Journal of Investigative Dermatology* 1993; 101: 754-758.
28. Genant HK, Peterfy CG, Westhovens R, et al. Abatacept inhibits progression of structural damage in rheumatoid arthritis: results from the long-term extension of the AIM trial. *Ann Rheum Dis* 2008; 67: 1084-1089.
29. Schiff M, and Bessette L. Evaluation of abatacept in biologic-naïve patients with active rheumatoid arthritis. *Clin Rheumatol* 2010; 29: 583-591.
30. Edwards JCW, Cambridge G, Abrahams VM. Do self-perpetuating B lymphocytes drive human autoimmune disease? *Immunology* 1999; 97: 1868-76.
31. Vander Cruyssen B, De Keyser F, Kruithof E, Mielants H, Van den Bosch F. Comparison of different outcome measures for psoriatic arthritis in patients treated with infliximab or placebo. *Ann Rheum Dis* 2007; 66: 138-140.
32. Weinblatt ME, Kremer JM, Bankhurst AD, et al. A trial of etanercept, a recombinant tumor necrosis factor receptor: Fc fusion protein, in patients with rheumatoid arthritis receiving methotrexate. *N Engl J Med* 1999; 340: 253-259.
33. Klareskog L, van der Heijde D, de Jager JP, et al. Therapeutic effect of the combination of etanercept and methotrexate compared with each treatment alone in patients with rheumatoid arthritis: double-blind randomised controlled trial. *Lancet* 2004; 363: 675-681.
34. Keystone C, Genovese MC, Klareskog L, et al. Golimumab, a human antibody to tumour necrosis factor  $\alpha$  given by monthly subcutaneous injections, in active rheumatoid arthritis despite methotrexate therapy: the GO-FORWARD Study. *Ann Rheum Dis* 2009; 68: 789-796.

35. Smolen JS, Kay J, Doyle MK, et al; for the GO-AFTER study investigators. Golimumab in patients with active rheumatoid arthritis after treatment with tumour necrosis factor  $\alpha$  inhibitors (GO-AFTER study): a multicentre, randomised, double-blind, placebo-controlled, phase III trial. Lancet 2009; 374: 210-221.
36. Emery P, Fleischmann RM, Moreland LW, et al. Golimumab, a human anti-tumor necrosis factor alpha monoclonal antibody, injected subcutaneously every four weeks in methotrexate-naive patients with active rheumatoid arthritis. Arthritis Rheum 2009; 60:2272-2283.
37. Kavanaugh A, McInnes I, Mease P, et al. Golimumab, a new human tumor necrosis factor alpha antibody, administered every four weeks as a subcutaneous injection in psoriatic arthritis. Arthritis Rheum 2009; 60: 976-986.
38. Inman RD, Davis JC Jr, van der Heijde D, et al. Efficacy and safety of golimumab in patients with ankylosing spondylitis. Arthritis Rheum 2008; 58: 3402-3412.
39. Goel N, Stephens S. Certolizumab pegol. mAbs 2010; 2(2): 137-147.
40. [Kaushik V](#), [Moots RJ](#). CDP-870 (certolizumab) in rheumatoid arthritis. Expert Opinion on Biological Therapy 2005; 5(4): 601-606.
41. Furst DE, Breedveld J, Kalden J, et al. Updated consensus statement on biological agents for the treatment of rheumatic diseases, 2007. Ann Rheum Dis 2007; 66 (Suppl III): iii2-iii22.
42. Weinblatt ME, Kremer JM, Bankhurst AD, Bulpitt KJ, Fleischmann RM, Fox RI, et al. A trial of etanercept, a recombinant tumor necrosis factor receptor:Fc fusion protein, in patients with rheumatoid arthritis receiving methotrexate. N Engl J Med 1999; 340(4): 253-9.
43. Weaver AL, Lautzenheiser RL, Schiff MH, et al. Real world effectiveness of select biologic and DMARD monotherapy and combination therapy in the treatment of rheumatoid arthritis: result from the RADIUS observational registry. Curr Med Res Opin 2006; 22: 185-198.
44. Karageorgaki ZT, Mavragani CP, Papathanasiou MA, Skopouli FN. Infliximab in Takayasu arteritis: a safe alternative? Clin Rheumatol 2007; 26: 984-987.
45. Della Rossa A, Tavoni A, Merlini G, et al. Two Takayasu arteritis patients successfully treated with infliximab: a potential disease-modifying agent? Rheumatology (Oxford) 2005; 44: 1074-1075.
46. Jolly M, Curran JJ. Infliximab-responsive uveitis and vasculitis in a patient with Takayasu arteritis. J Clin Rheumatol 2005; 11: 213-215.
47. Tanaka F, Kawakami A, Iwanaga N, et al. Infliximab is effective for Takayasu arteritis refractory to glucocorticoid and methotrexate. Intern Med 2006; 45: 313-316.
48. Tato F, Rieger J, Hoffmann U. Refractory Takayasu's arteritis successfully treated with the human, monoclonal antitumor necrosis factor antibody adalimumab. Int Angiol 2005; 24: 304-307.
49. Hoffman GS, Merkel PA, Brasington RD, et al. Antitumor necrosis factor therapy in patients with difficult to treat Takayasu arteritis. Arthritis Rheum 2004; 50: 2296-2304.
50. Keystone EC. Safety of biologic therapies: an update. J Rheumatol 2005; 74 (Suppl): 8-12.
51. Listing J, Strangefeld A, Rau R, et al. Infections in RA patients treated with infliximab or etanercept. Ann Rheum Dis 2005; 54: 433-440.
52. Furst DE, Wallis R, Broder M, Beenhouwer DO. Tumor necrosis antagonists: different kinetics and/or mechanisms of action may explain differences in the risk for developing granulomatous infection. Semin Arthritis Rheum 2006; 36: 159-167.
53. Askling J, Fored CM, Brandt L, et al. Risk of solid cancers in patients with rheumatoid arthritis and after treatment with tumor necrosis factor antagonist. Ann Rheum Dis 2005; 64: 1421-1426.
54. Fleischman R, Stern R, Iqbal I. Anakinra: an inhibitor of IL-1 for the treatment of rheumatoid arthritis. Expert Opin Biol Ther 2004; 4: 1333-1344.

55. Kremer JM, Genant HK, Moreland LW, et al. Effects of abatacept in patients with methotrexate-resistant active rheumatoid arthritis: a randomized trial. *Ann Intern Med*. 2006;144:865-876.
56. Illei GG, Shirota Y, Yarboro CH, et al. Tocilizumab in Systemic Lupus Erythematosus: Data on Safety, Preliminary Efficacy, and Impact on Circulating Plasma Cells From an Open-Label Phase I Dosage-Escalation Study. *Arthritis Rheum* 2010; 62(2): 542-552.
57. [Murakami M, Nishimoto N](#). The value of blocking IL-6 outside of rheumatoid arthritis: current perspective. *Curr Opin Rheumatol* 2011; 23(3): 273-7.
58. Finckh A, Ciurea A, Brulhart L, et al. B cell depletion may be more effective than switching to an alternative anti-tumor necrosis factor agent in rheumatoid arthritis patients with inadequate response to anti-tumor necrosis factor agents. *Arthritis Rheum* 2007;56:1417-1423.
59. Cohen SB, Emery P, Greenwald MW, et al. Rituximab for rheumatoid arthritis refractory to anti-tumor necrosis factor therapy: results of a multicenter, randomized, double-blind, placebo-controlled, phase III trial evaluating primary efficacy and safety at twenty-four weeks. *Arthritis Rheum*. 2006;54:2793-2806.
60. Damjanov N, Stefanović D, Ilić T i sar. Rituksimab u lečenju reumatoidnog artritisa -kliničko ispitivanje kod 12 bolesnika sa aktivnim RA koji prethodno nisu reagovali na lekove koji modifikuju tok bolesti. *Acta Rheumatologica Belgradensia* 2007; 37(Supl 1): 72
61. Omdal R, Wildhagen K, Hansen T, et al. Anti-CD20 therapy of treatment-resistant Wegener's granulomatosis: favourable but temporary response. *Scand J Rheumatol* 2005; 34:229-232.
62. Gottenberg JE, Guillevin L, Lambotte O, et al. Tolerance and short term efficacy of rituximab in 43 patients with systemic autoimmune diseases. *Ann Rheum Dis* 2005; 64: 913-920.
63. Keogh KA, Wylam ME, Stone JH, Specks U. Induction of remission by B lymphocyte depletion in eleven patients with refractory antineutrophil cytoplasmic antibody-associated vasculitis. *Arthritis Rheum* 2005; 52: 262-268.
64. Eriksson P. Nine patients with antineutrophil cytoplasmic antibody-positive vasculitis successfully treated with rituximab. *J Intern Med* 2005; 257: 540-548.
65. Tamura N, Matsudaira R, Hirashima M, et al. Two cases of refractory Wegener's granulomatosis successfully treated with rituximab. *Intern Med* 2007; 46: 409-414.
66. Brihaye B, Aouba A, Pagnoux C, et al. Adjunction of rituximab to steroids and immunosuppressants for refractory/relapsing Wegener's granulomatosis: a study on 8 patients. *Clin Exp Rheumatol* 2007; 25(1 Suppl 44): S23-S27.
67. Seo P, Specks U, Keogh KA. Efficacy of rituximab in limited Wegener's granulomatosis with refractory granulomatous manifestations. *J Rheumatol* 2008; 35: 2017-2023.
68. Keogh KA, Ytterberg SR, Fervenza FC, et al. Rituximab for refractory Wegener's granulomatosis: report of a prospective, open-label pilot trial. *Am J Respir Crit Care Med* 2006; 173: 180-187.
69. Aries PM, Hellmich B, Voswinkel J, et al. Lack of efficacy of rituximab in Wegener's granulomatosis with refractory granulomatous manifestations. *Ann Rheum Dis* 2006; 65: 853-858.
70. Stasi R, Stipa E, Del Poeta G, et al. Long-term observation of patients with antineutrophil cytoplasmic antibody-associated vasculitis treated with rituximab. *Rheumatology (Oxford)* 2006; 45: 1432-1436.
71. Smith KG, Jones RB, Burns SM, Jayne DR. Long-term comparison of rituximab treatment for refractory systemic lupus erythematosus and vasculitis: Remission, relapse, and re-treatment. *Arthritis Rheum* 2006; 54: 2970-2982.
72. Saadoun D, Resche-Rigon M, Sene D, et al. Rituximab combined with peg-interferon-ribavirin in refractory HCV-associated cryoglobulinemia vasculitis. *Ann Rheum Dis* 2008; 67: 1431-1436.
73. Cacoub P, Delluc A, Saadoun D, et al. Anti-CD20 monoclonal antibody (rituximab) treatment for cryoglobulinemic vasculitis: where do we stand? *Ann Rheum Dis* 2008; 67: 283-287.

74. van Vollenhoven R, Emery P, Fleischmann RM et al. Safety and tolerability of rituximab in patients with moderate and severe rheumatoid arthritis (RA): results from Dose-ranging Assessment iNternational Clinical Evaluation of Rituximab (DANCER) study. *Ann Rheum Dis* 2005; 64 (Suppl 3): 432-440.
75. [Carnahan J](#), Wang P, Kendall R, et al. Epratuzumab, a Humanized Monoclonal Antibody Targeting CD22. Characterization of in Vitro Properties<sup>1</sup>. *Clin Cancer Res* 2003; 9: s3982.
76. Dörner T, Kaufmann J, Wegener WA, Teoh N, Goldenberg DM and Burmester GR. Initial clinical trial of epratuzumab (humanized anti-CD22 antibody) for immunotherapy of systemic lupus erythematosus. *Arthritis Research & Therapy* 2006, 8:R74
77. Thanou-Stavraki A, Sawalha AH. An update on belimumab for the treatment of lupus. *Biologics: Targets and Therapy* 2011; 5: 33-43.
78. [Dennis GJ](#). Belimumab: a BLyS-specific inhibitor for the treatment of systemic lupus erythematosus. *Clin Pharmacol Ther* 2012; 91(1): 143-9.

# **Biological agents in the treatment of rheumatic diseases**

**Goran Radunović, Nemanja Damjanov**

University of Belgrade - School of Medicine, Institute of Rheumatology,  
Resavska 69, 11000 Belgrade, Serbia

---

## **Summary**

Biological drugs are genetically engineered proteins that have the ability to enhance regulation of immune responses. According to their mechanism of action, biological drugs that are currently approved for clinical use, can be divided into: 1) anti-TNF drugs (infliximab, etanercept, adalimumab, golimumab and certolizumab), 2) blockers of IL-1 (anakinra), 3) blockers of IL-6 (tocilizumab), 4) blockers of co-stimulatory signal for T cells (abatacept), 5) drugs which perform depletion of CD20 + cells (rituximab) and 6) drugs that reduce the survival and activity of B lymphocytes (belimumab). A new concept of treatment of inflammatory rheumatic diseases includes early diagnosis and early aggressive treatment with Disease Modifying Antirheumatic Drugs that alter the course of disease - DMARDs (methotrexate, leflunomide, sulfasalazine, and chloroquine). If disease activity persists after six months of DMARD treatment, one of the biological drugs should be introduced.

Anti-TNF agents are most commonly used as a first-line biologic drug. In the case of their treatment failure in patients with rheumatoid arthritis (RA), the treatment can be continued with rituximab, abatacept, or tocilizumab. Recent reports indicate that, in patients with highly active RA and indicators of poor prognosis, we should include biologics from the very beginning of treatment (anti-TNF or tocilizumab).

Use of biological drugs in hundreds of thousands of patients all around the world has shown great therapeutic efficacy and favorable safety. These drugs significantly reduce the activity of inflammatory arthritis, diminish structural damage and improve quality of life and physical status of the musculoskeletal system.

Biological agents can be also applied for the treatment of systemic connective tissue diseases. In patients with systemic lupus erythematosus belimumab showed efficacy which was satisfactory. Tocilizumab has been registered for the treatment of systemic-onset juvenile idiopathic arthritis in children, and demonstrated significantly superior efficacy than anti-TNF drugs. Rituximab and other similar drugs may be used for the treatment of systemic necrotizing vasculitis, especially Wegener's granulomatosis.

**Key words:** inflammatory rheumatic diseases, connective tissue diseases, biological agents

---

# Monoklonska antitela u terapiji raka dojke

Nenad Ugrešić

Univerzitet u Beogradu - Farmaceutski fakultet, Katedra za farmakologiju,  
Vojvode Stepe 450, 11221 Beograd, Srbija

## Kratak sadržaj

Preko 20% karcinoma dojke amplifikuje HER2 gen koji kodira HER2 receptor (Human Epidermal growth factor Receptor, receptor za humani epidermalni faktor rasta). Prekomerna ekspresija HER2 receptora uzrokuje agresivniji tip maligniteta i lošiju prognozu. Kombinovana terapija koja uključuje anti-HER2 humanizovano monoklonsko antitelo trastuzumab i klasične citostatike značajno produžava period bez progresije bolesti, kao i ukupno preživljavanje. Trastuzumab se vezuje za ekstracelularni domen IV HER2 receptora i deluje antitimorski blokadom mitogenog signala, kao i stimulacijom antitelo-zavisne, ćelijski-posredovane citotoksičnosti. Nažalost, kod većine HER2 pozitivnih metastatskih karcinoma bolest napreduje, što zahteva dodatne terapijske modalitete.

Pertuzumab je humanizovano monoklonsko antitelo koje se specifično vezuje za ekstracelularni domen II HER2 receptora. Pertuzumab blokira ligand-zavisnu dimerizaciju HER2 sa ostalim članovima familije HER receptora, a od posebnog je značaja blokada nastanka HER2:HER3, najpotentnijeg onkogenog para. Pošto se trastuzumab vezuje za ekstracelularni domen IV, a pertuzumab za domen II HER2 receptora, ova dva leka su komplementarna u blokadi HER signalnih puteva. Kombinovana terapija ima snažniji antitumorski efekt u odnosu na pojedinačne agense.

Rast tumora zahteva razvoj novih krvnih sudova – neoangiogenezu. Tumor produkuje faktor rasta vaskularnog endotela (Vascular Endothelial Growth Factor, VEGF) koji stimuliše proliferaciju endotela. Bevacizumab je humanizovano monoklonsko antitelo koje direktno blokira VEGF i tako sprečava njegovo vezivanje za receptore na površini endotelnih ćelija. Inicijalna terapija metastatskog karcinoma dojke kombinacijom paklitaksel + bevacizumab, u odnosu na monoterapiju paklitakselom, produžava period bez progresije bolesti, ali ne utiče na ukupno vreme preživljavanja.

**Ključne reči:** monoklonska antitela, trastuzumab, pertuzumab, bevacizumab, karcinom dojke

## **Maligna bolest**

Rak je bolest kod koje, u telu obolelog, dolazi do nekontrolisanog rasta i širenja nenormalnih formi vlastitih ćelija.

U nastanku raka ključne su genetske promene: aktivacija protoonkogena u onkogene i inaktivacija tumor-supresorskih gena.

Malignu ćeluju karakterišu: anaplasija, nekontrolisana proliferacija, invazivnost i metastaziranje.

Lečenje maligne bolesti: hirurška eksicija, zračenje i hemoterapija.

Hemoterapija se koristi samostalno ili kao dodatak drugim oblicima lečenja.

Kancerske i normalne ćelije su slične, pa je teško pronaći specifična ciljna mesta za delovanje lekova.

Karcinom dojke je najzastupljenija maligna bolest kod žena; svaka osma žena oboli od raka dojke.

## **Biološki lekovi**

Biološki lek proizvodi živi organizam ili pojedini tipovi ćelija.

Većina postojećih bioloških lekova ima proteinsku strukturu.

Za sada, pre svega, biološki lekovi predstavljaju važan segment u terapiji pojedinih tipova kancera.

## **Monoklonska antitela**

Primenom antitela stvaramo pasivni imunitet.

Serumi se dobijaju iz krvi imunizovanih ljudi ili životinja. Sadrže visoki nivo specifičnih antitela koja neutrališu patogene ili toksine (napr. antitetanusni serum). Serumi sadrže mešavinu poliklonskih antitela, koja su proizvod više klonova ćelija, koje reaguju na određeni antigen. Zbog toga su sastav i efikasnost seruma varijabilni.

Milstein i Kohler (dobjitnici Nobelove nagrade) pronalaze metodu za dobijanje monoklonskih antitela fuzijom jednog klena limfocita sa besmrtnim ćelijama tumora.

Monoklonska antitela prve generacije imala su niz nedostataka, koji su većinom otklonjeni u drugoj generaciji himernih ili humanizovanih antitela.

Antitelo ima oblik slova Y i sastoji se od dva domena: konstantnog Fc fragmenta i Fab fragmenta na čijem se vrhu nalazi hipervarijabilni region koji prepoznaje i vezuje antigen.

Inženjeringom su dobijena antitela sa humanim Fc i mišjim Fab fragmentom (humanizovana antitela). (U narednom koraku treba zameniti i mišji Fab fragment sa humanim, a ostaviti samo hipervarijabilni region).

U praksi koristimo humanizovana monoklonska antitela, genetski projektovane i inženjeringom modulirane imunoglobuline, koji reaguju sa poznatim molekulskim metama. Visoko specifično se vezuju za ciljne strukture koje eksprimiraju ćelije kancera.

## Trastuzumab

Preko 20% karcinoma dojke amplificuje HER2 gen koji kodira HER2 receptor (Human Epidermal growth factor Receptor, receptor za humani epidermalni faktor rasta). Prekomerna ekspresija HER2 receptora uzrokuje agresivniji tip maligniteta i lošiju prognozu.

HER familiju čine 4 tipa bliskih receptora: HER1, HER2, HER3 i HER4. Generalno HER receptor se sastoji od ekstracelularnog domena za koji se vezuje ligand, transmembranskog prenosnog domena i intracelularnog domena sa aktivnošću tirozin kinaze. Razlike unutar familije: aktivnost HER2 signalnog puta nije ligand-zavisna, a HER3 nema intracelularnu aktivnost tirozin konaze.

Dimerizacija receptora je esencijali zahtev za HER funkciju, a dešava se između istih (homodimerizacija) ili različitih (heterodimerizacija) receptora. Dimerizacija je transaktivacija domena tirozin kinaze, pri čemu se partneri unakrsno fosforilišu.

HER2 receptor aktivira mitogen-zavisnu protein kinazu (MAPK) koja indukuje proliferaciju ćelije. Ekstenzivna dimerizacija receptora snažno pojačava signal, što ima za posledicu rast tumora.

Trastuzumab je humanizovano monoklonsko antitelo koje se selektivno vezuje za ekstracelularni domen IV HER2 receptora. Antitelo se vezuje preko Fab fragmenta, ostavljajući Fc fragment da strči na površini maligne ćelije. Ovo markira malignu ćeliju i aktivira imunske snage domaćina, koje pokreću ćelije ubice da napadnu i uniše ćelije kancera (antitelo-zavisna, ćelijski-posredovana citotoksičnost). Direktno, trastuzumab inhibira prenošenje proliferativnog signala.

Zbog potencijalne kardiotoksičnosti (u kardiomiocitima postoji HER2 signalni put) potreban je oprez kod bolesnika sa srčanom insuficijencijom, koronarnom bolešću srca ili hipertenzijom. Rizik od razvoja kardiotoksičnosti nije veliki, ali zahteva praćenje srčane funkcije. Kardiotoksičnost povezana sa primenom trastuzumaba uglavnom je reverzibilna. Znatan broj bolesnica kojima je, zbog kardiotoksičnosti, prethodno obustavljena terapija, u mogućnosti je da kasnije nastavi lečenje trastuzumabom. Rizik od kardiotoksičnosti se povećava ukoliko se trastuzumab kombinuje sa citostaticima koji takođe ispoljavaju ovaj efekt, pa tako kombinacija antraciklin + ciklofostamid + trastuzumab ispoljava kardiotoksičnost kod 27% pacijenata. Zbog toga ove lekove ne treba davati istovremeno, nego prvo AC, a zatim trastuzumab.

Nažalost, kod većine HER2 pozitivnih metastatskih karcinoma bolest napreduje, što zahteva dodatne terapijske modalitete.

### Studija HERA (HERceptin Adjuvant), Gianni i saradnici, 2011.

Ispitanje je obuhvatilo 5090 žena sa HER2 pozitivnim rakom dojke, koje su završile hirurško lečenje, radioterapiju i najmanje 4 ciklusa hemoterapije. Studija je otvorena, randomizovana, multicentrična. Ispitanice su randomizacijom podeljene u 3 grupe:

- trastuzumab, jednom u tri nedelje, tokom godinu dana,
- trastuzumab, jednom u tri nedelje, tokom dve godine
- kontrola (opervacija).

Zbog pozitivnih rezultata posle jednogodišnjeg lečenja trastuzumabom, iz etičkih razloga, bolesnicama iz kontrolne grupe takođe je omogućeno lečenje trastuzumabom. Ovim manevrom, 65% bolesnica iz kontrolne grupe prešlo je na jednogodišnje lečenje trastuzumabom.

Do sada postoje podaci za grupu koja je primala trastuzumab jednu godinu, četiri godine posle završetka terapije. Dve godine posle jednogodišnjeg lečenja trastuzumabom za 36% je smanjen rizik za ponovnu pojavu bolesti, a rizik od smrtnog ishoda je smanjen za jednu trećinu. Četiri godine posle završetka jednogodišnje terapije trastuzumabom rizik za ponovnu pojavu bolesti smanjen je za 24%. Selektivni prelazak bolesnica sa opervacije na trastuzumab ograničava interpretaciju rezultata u HERA studiji.

Korist od primene trastuzumaba neosporno je pokazana u prethodnim i potvrđena u ovoj studiji. Za sada nije definitivno određena optimalna dužina terapije. Proizvođač leka Herceptin firma Roche preporučuje da lek treba primenjivati 1 godinu (18 ciklusa u tronodeljnom režimu).

Neželjena dejstva registrovana u studiji HERA uglavnom su bila blaga i reverzibilna. Ozbiljniji neželjeni efekti sa incidencijom većom od 1% bili su: reakcija na infuziju, kongesativna srčana bolest, hipertenzija, artralgija, bol u leđima, infekcije, talasi vrućine, glavobolja i dijareja.

Srčana insuficijencija NYHA klase III-IV registrovana je kod 0.6% pacijentkinja, a značajan pad ejekcione frakcije leve komore zabeležen je kod 3% bolesnica koje su godinu dana lečene trastuzumabom.

### **Pertuzumab**

HER2 receptor se može dimerizovati sa bilo kojim HER receptorom, ali je receptorski par HER2:HER3 naročito aktiviran u slanju proliferativnog signala, odnosno to je najpotentniji onkogeni receptorski par.

Kada se ligand veže za ekstracelularni domen HER3 receptora nastaju konformacijske promene receptora koje omogućavaju dimerizaciju sa HER2 receptorom. HER2 receptor aktivira mitogen-zavisnu protein kinazu (MAPK) koja stimuliše ćelijsku proliferaciju. HER3 receptor direktno utiče na fosfatidilinozitol 3-kinazu (PI3K), koja blokira apoptozu.

Kumulativno, sprečavanjem HER2:HER3 dimerizacije koči se proliferacija posredovana preko MAPK, a oslobađa apoptозу koju inhibira PI3K.

Pertuzumab je humanizovano monoklonsko antitelo koje se specifično vezuje za ekstracelularni domen II HER2 receptora. Pertuzumab blokira ligand-zavisnu dimerizaciju HER2 sa ostalim članovima familije HER receptora, a od posebnog je značaja blokada nastanka HER2:HER3, najpotentnijeg onkogenog para.

Preveniranjem HER2 dimerizacije konsekventno se inhibira aktivnost signalnih HER puteva.

Kao i trastuzumab, pertuzumab stimuliše antitelo-zavisnu, ćelijski-posredovanu citotoksičnost.

Pošto se trastuzumab vezuje za ekstracelularni domen IV, a pertuzumab za domen II HER2 receptora, ova dva leka su komplementarna u blokadi HER signalnih puteva.

Studija CLEOPATRA (Clinical Evaluation Of Pertuzumab And TRAstuzumab), Baselga i saradnici 2012.

Randomizovana, dvostruko-slepa, placebo-kontrolisana, multicentrična studija pertuzumaba u pacijentkinja sa HER2 pozitivnim, metastatskim karcinomom dojke.

U studiju je uključeno 808 žena koje su randomizacijom podeljene u grupe:

- pertuzumab + trastuzumab + docetaksel (pertuzumab grupa),
- placebo + trastuzumab + docetaksel (kontrolna grupa).

Terapija je primenjivana u 3-nedeljnim ciklusima sve dok je bolest bila u progresiji ili do pojave neprihvatljivih neželjenih efekata.

Prosečna starost ispitanica iznosila je 54 godine, u 48% slučajeva pored HER2 postojala je i prekomerna ekspresija estrogenih receptora (ER+), a 47% pacijentkinja prethodno je primalo adjuvantnu ili neoadjuvantnu terapiju.

U pacijentkinja iz pertuzumab grupe, u odnosu na kontrolnu grupu, produženo je vreme bez progresije bolesti za 6.1 mesec (sa 12.4 na 18.5 meseci) što je statistički visoko značajno.

U pertuzumab grupi najčešće neželjene reakcije svih stepena težine bile su: neutropenija, alopecija, mučnina, zamor raš i periferna neuropatija. Najčešće (više od 2%) teže (stepena 3 ili 3+) neželjene reakcije bile su: neutropenija, febrilna neutropenija, leukopenija, dijareja, periferna neuropatija, anemija, astenija i zamor. Ostale značajne neželjene reakcije: disfunkcija levog ventrikula, infuziona reakcija,

reakcije preosetljivosti uključujući anafilaksiju. Ukupna incidenca svih neželjenih efekata kod kombinacije sa pertuzumabom, u odnosu na kontrolu, povećana je za 5%, a učestalost febrilne neutropenije i dijareje za 2%. Nasuprot tome, sistolna disfunkcija je, u odnosu na kontrolu, smanjena sa 2.8% na 1.2%.

Za sada, nema brojčanih podataka o uticaju terapije na ukupno vreme preživljavanja, ali postoji snažan trend produženja života kod dodatne primene pertuzumaba.

Sumarno, kod metastatskog raka dojke kombinovana terapija sa pertuzumabom značajno produžava vreme bez progresije bolesti, a bez povećanja kardiotoksičnosti. Dosadašnje praćenje ukazuje na snažan trend produženja ukupnog vremena preživljavanja.

## **Bevacizumab**

Tumori prečnika 1-2 mm ishranjuju se direktnim preuzimanjem (difuzijom) hranljivih sastojaka iz neposredne okoline. Dalji rast tumora zahteva razvoj novih krvnih sudova – neoangiogenezu.

Tumor produkuje faktor rasta vaskularnog endotela (Vascular Endothelial Growth Factor, VEGF) koji:

- stimuliše proliferaciju i migraciju endotela,
- inhibira apoptozu endotela,
- indukuje proteinaze koje remodeluju ekstracelularni matriks,
- izaziva vazodilataciju i povećava permeabilitet krvnih sudova,
- inhibira aktivnost antigen-prezentujućih dendritskih ćelija.

Kombinacijom navedenih efekata obezbeđuju se uslovi za bujanje novih krvnih sudova, a ometa imuni sistem u njihovom prepoznavanju.

Izoforma VEGF-C prevashodno učestvuje u limfoangiogenezi, a VEGF-A u patološkoj hemoangiogenezi.

Bevacizumab je humanizovano monoklonsko antitelo koje direktno blokira VEGF-A i tako sprečava njegovo vezivanje za receptore na površini endotelnih ćelija.

Studija E2100 (proizvođač je obezbedio lek, a studiju je organizovao Nacionalni institut za rak SAD, bez uticaja proizvođača), Miller i saradnici 2007.

U otvorenoj, randomizovanoj studiji (n=722) poređen je efekt paklitaksela u odnosu na kombinovanu terapiju palkitaksel + bevacizumab u inicijalnom lečenju (većinom HER2 negativnog) metastatskog raka dojke.

Kombinovana terapija, u odnosu na monoterapiju, signifikantno produžava period bez progresije bolesti (11.8 vs 5.9 meseci) i povećava odgovor na terapiju (36.9% vs 21.2%), ali ukupna dužina preživljavanja nije značajno produžena (26.7 vs 25.2 meseca).

Kombinovana terapija bila je skopčana sa povećanom učestalošću (14.8-1.9%) neželjenih efekata: hipertenzija, proteinurija, glavobolja i cerebrovaskularna ishemija, respektivno. Kod kombinovane terapije povećana je i učestalost infekcija (9.3% vs 2.9%), a veoma retko je registrovana febrilna neutropenija (manje od 1%). Povećana učestalost neželjenih efekata nije značajno umanjila kvalitet života.

Sumarno, inicijalna terapija metastatskog karcinoma dojke kombinacijom paklitaksel + bevacizumab, u odnosu na monoterapiju paklitakselom:

- produžava period bez progresije bolesti,
- povećava odgovor na terapiju,
- ne utiče na ukupno vreme preživljavanja,
- skopčana je sa nešto većom incidencicom neželjenih efekata, a što nije značajno umanjilo kvalitet života.

Nalaz da bevacizumab produžava period bez progresije bolesti, ali ne i ukupno vreme preživljavanja, u saglasnosti je sa činjenicom da je razvoj metastaza VEGF-zavisan, pa je klinički očekivan snažniji uticaj inhibitora angiogeneze na mikrometastatsku bolest.

Nezavisna grupa istraživača ponovo je 2009. godine procenila rezultate studije Millera i saradnika (2007). Na osnovu konzistentnih podataka i zaključaka u izvornoj studiji i njenoj naknadnoj analizi, originalni podaci i zaključci Millera i saradnika potvrđeni su u celini.

## Zaključak

Monoklonska antitela trastuzumab, pertuzumab i bevacizumab predstavljaju značajan napredak u personalizovanoj hemoterapiji raka dojke.

## Literatura

1. Baselga J et al (2012) Pertuzumab plus trastuzumab plus docetaxel for metastatic breast cancer. N Engl J Med 366, 109-19
2. Gianni L et al (2011) Treatment with trastuzumab for 1 year after adjuvant chemotherapy in patients with HER2 positive early breast cancer: a 4 year follow-up of a randomised controlled trial. Lancet Oncology 12, 236-44
3. Miller K et al (2007) Paclitaxel plus bevacizumab versus paclitaxel alone for metastatic breast cancer. N Engl J Med 357, 2666-76

# **Monoclonal antibody in treatment of breast cancer**

**Nenad Ugrešić**

University of Belgrade - Faculty of Pharmacy, Department of Pharmacology,  
Vojvode Stepe 450, 11 221 Belgrade, Serbia

---

## **Summary**

Approximately 20% of all breast cancers have gene amplification and overexpression HER2 receptors, resulting in more aggressive phenotype and a poor prognosis. Treatment with the anti-HER2 humanized monoclonal antibody trastuzumab in addition with chemotherapy, significantly improves progression-free and overall survival. Trastuzumab binds to subdomain IV of the HER2 extracellular domain, and exerts its antitumor effects by blocking mitogenic signaling and stimulating antibody-dependent, cell-mediated cytotoxicity. However, in most patients with HER2 positive metastatic breast cancer, the disease progresses, highlighting the need for new targeted therapies for advanced disease.

Pertuzumab is a humanized monoclonal antibody that binds HER2 at a different epitope of the HER2 extracellular domain II, than that at which trastuzumab binds. Pertuzumab prevents HER2 from dimerizing with other ligand-activated HER receptors, most notably HER3. Because pertuzumab and trastuzumab bind to different HER2 epitopes and have complementary mechanism of action, these two agents, when given together, provide a more comprehensive blockade of HER2 signaling and result in greater antitumor activity than either agents alone.

The evidence supports the central role of angiogenesis in the progression of breast cancer. Multiple angiogenic factors are commonly expressed by invasive breast cancer; vascular endothelial growth factor (VEGF) predominates. Bevacizumab is a humanized monoclonal antibody directed against VEGF. Initial therapy of metastatic breast cancer with paclitaxel plus bevacizumab prolongs progression-free survival, but not overall survival, as compared with paclitaxel alone.

**Key words:** monoclonal antibody, trastuzumab, pertuzumab, bevacizumab, breast cancer

---

## Biološki lekovi u endokrinologiji

Miloš Žarković

Univerzitet u Beogradu - Medicinski fakultet, Klinika za endokrinologiju, dijabetes i bolesti metabolizma, Klinički centar Srbije,  
Dr Subotića 13, 11000 Beograd, Srbija

---

### Kratak sadržaj

Primena rekombinantne tehnologije omogućila je dovoljne količine bezbednih hormona, kao i njihove potpuno nove kliničke primene. Najbolji primer za to je hormon rastenja čija je prva primena bila u terapiji niskog rasta kod dece, kao posledica nedostatka hormona rasta. Kasnije se indikaciono polje proširilo na supsticiju hormona rasta kod odraslih, terapiju Tarnerovog sindroma i nekih drugih urođenih stanja, terapiju dece male za gestaciono doba, kao i terapiju idiopatskog niskog rasta. Ali, indikacije su se proširile i na stanja koja nemaju veze sa rastom, kao što su sindrom kratkih creva i AIDS. Nova tehnologija je omogućila i sintetisanje rekombinantnog TSH koji se koristi u dijagnostici i terapiji dobro diferentovanog karcinoma štitaste žlezde. Međutim, proširivanje indikacionog područja otvorilo je i nove medicinske i etičke dileme. Neke od ovih dilema mogu se rešiti dobro sprovedenim istraživanjima, ali druge zahtevaju etički i socijalni konsenzus.

**Ključne reči:** Biološki lekovi, Hormon rasta, IGF1, Tirotropin

---

Adresa za korespondenciju: Prof. Miloš Žarković  
Medicinski fakultet, Univerzitet u Beogradu, Klinika za endokrinologiju,  
KC Srbije Dr Subotića 13, 11000 Beograd  
PAK 112113  
Tel: 011 3639 724  
Fax 011 3639 776  
mobilni: 063 202 925  
email: [mzarkov@med.bg.ac.rs](mailto:mzarkov@med.bg.ac.rs), [milos.zarkovic@gmail.com](mailto:milos.zarkovic@gmail.com)

## **Uvod**

The New England Journal of Medicine je 19. septembra 1985. godine objavio nekoliko radova koji su pokazali povezanost Creutzfeldt-Jakobove bolesti i primene kadaveričnog hormona rasta (1-3). Iste godine, 18. oktobra, FDA je odobrio primenu prvog rekombinantnog hormona rastenja (Protropin, Genentech). Iako je rekombinantni insulin odobren još 1982. (Humulin R i Humulin N, Eli Lilly), ova dva dogadaja predstavljaju ključni trenutak u primeni bioloških lekova u endokrinologiji. Nova tehnologija je omogućila dovoljne količine bezbednog hormona rastenja, kao i potpuno nove kliničke primene ovog hormona, što se kasnije proširilo i na druge rekombinantne hormone.

## **Hormon rasta**

Hormon rasta se sastoji od 191 aminokiseline. U cirkulaciji se nalazi u nekoliko različitih formi, a dominantna forma je peptid od 22 kd(4).

Pojava rekombinantne tehnologije omogućila je veliko proširenje indikacija za primenu hormona rasta. Primena hormona rasta u mnogim novim indikacijama pokazala se opravdanom i prihvaćena je u većini zemalja. Mnoge nove indikacije imale su dobru teorijsku osnovu, ali u kliničkoj primeni nisu dale očekivane rezultate, te stoga nisu prihvaćene. I napokon, hormon rasta primenjuje se i u situacijama koje nisu medicinski opravdane.

### **Prihvaćene terapijske indikacije**

#### ***Nizak rast kao posledica nedostatka hormona rasta u dečijem uzrastu***

Nizak rast kao posledica nedostatka hormona rasta u dečijem uzrastu je klasična indikacija za terapiju. Pre pojave rekombinantnog hormona rasta ovo je bila jedina indikacija za primenu ovog leka. Uobičajena doza je 0.024 do 0.034 mg/kg/dan, ali ima autora koji predlažu povećanje doze tokom puberteta do 0.05 do 0.1 mg/kg/dan, mada je veća doza verovatno suprafiziološka (5, 6). Drugi pristup je određivanje IGF1 i korekcija doze na osnovu njegovog nivoa (7, 8).

Republički fond za zdravstveno osiguranje Srbije pokriva troškove lečenja za ovu indikaciju.

#### ***Nadoknada hormona rasta kod odraslih***

Dugogodišnje praćenje odraslih osoba sa nedostatkom hormona rasta pokazalo je da supstitucija hormonom rasta dovodi do trajnog poboljšanja telesnog sastava, fizičke sposobnosti i metaboličkih parametara (9, 10). Kod ovih osoba supstitucija hormonom rasta dovodi do povećanja mišićne mase i smanjenja količine masti, kao i do povećanja

mineralne gustine kosti (BMD, bone mineral density) (11, 12). Za dijagnozu deficit-a hormona rasta kod odraslih postoje jasni kriterijumi i preporuke(13).

Republički fond za zdravstveno osiguranje Srbije pokriva troškove lečenja za ovu indikaciju za osobe stare do 35 godina. Doze za odrasle su manje nego doze za decu i kreću se između 0.004 do 0.016 mg/kg/dan.

### ***Turner-ov sindrom***

Kod osoba sa Tarnerovim sindromom postignuta adultna visina je za oko 20 cm niža od očekivane. Ove osobe imaju snižene koncentracije IGF1, ali imaju normalne nivoe hormona rasta (14, 15). Međutim, primena hormona rasta kod ovih osoba dovodi do značajnog povećanje završne visine od preko 7 cm (16). Kao i kod odraslih osoba, primena hormona rasta ima povoljne efekte na telesni sastav i metaboličke parametre(17).

Republički fond za zdravstveno osiguranje Srbije pokriva troškove lečenja za ovu indikaciju za osobe stare do 18 godina. Doze za osobe sa Tarnerovim sindromom veće su nego doze za decu, ali ne treba da prelaze 0.067 mg/kg/dan.

### ***Deca mala za gestaciono doba (Small for gestational age, SGA)***

Deca mala za gestaciono doba (MGD) predstavljaju heterogenu populaciju koja uključuje i zdravu decu, ali i decu čiji je rast usporen različitim prenatalnim faktorima. Definicija MGD nije sasvim jasna, ali se deca sa težinom manjom od 2500 g mogu smatrati MGD(18). Većina ove dece će dostići svoje vršnjake do četvrte godine, ali će oko deset procenata ove dece imati trajan zastoj u rastu. Ukoliko ova deca ne dostignu vršnjake u četvrtoj godini života indikovano je lečenje hormonom rasta(19). Lečena deca postižu porast visina za oko 1.5 SDS iznad očekivane(20).

Republički fond za zdravstveno osiguranje Srbije pokriva troškove lečenja za ovu indikaciju. Doze za decu malu za gestaciono doba su između 0.035 i 0.067 mg/kg/dan(21).

### ***Sindrom Prader-Vili i neka druga urodena stanja***

Terapija hormonom rasta delimično normalizuje telesni sastav osoba sa sindromom Prader-Vili. Kontrola ponašanja i unosa hrane je i dalje potrebna. Ovu indikaciju ne pokriva Republički fond za zdravstveno osiguranje Srbije, mada je prihvaćena u brojnim zemljama. U Velikoj Britaniji 4.6% potrošnje hormona rasta koristi se za lečenje sindroma Prader-Vili. Primjenjuju se doze do 0.035 mg/kg/dan(19, 22).

U Sjedinjenim Američkim Državama hormon rasta je registrovan za lečenje Nunanovog sindroma, a u Japanu za lečenje hondrodisplazije.

## **Deficijencija SHOX gena**

SHOX gen (short stature homeobox-containing gene) nalazi se na samom kraju X i Y hromozoma i veoma je značajan za rast dugih kostiju. Prevalenca mutacije SHOX gena u dece sa niskim rastom je 2 do 15%. Sve osobe sa Tarnerovim sindromom imaju deficit SHOX gena zbog numeričkih ili strukturnih promena X hromozoma. Koriste se doze do 0.067 mg/kg/dan(19, 23).

Ovu indikaciju ne pokriva Republički fond za zdravstveno osiguranje Srbije.

## **Nizak rast u hroničnoj bubrežnoj insuficijenciji**

Etiologija niskog rasta u hroničnoj bubrežnoj insuficijenciji je multifaktorijalna. Terapija hormonom rastenja dece sa hroničnom bubrežnom insuficijencijom dovodi do povećanja brzine rasta za 3.8 cm godišnje(24).

Ovu indikaciju ne pokriva Republički fond za zdravstveno osiguranje Srbije.

## **Idiopatski nizak rast**

Po definiciji, deca sa idiopatskim niskim rastom nemaju jasno definisan uzrok zastoja u rastu. Ovo je heterogena grupa koja obuhvata zakasneli rast, genetski nizak rast, ali i decu sa suptilnim poremećajima. Konsenzus o konstitutivnom niskom rastu postignut je tek 2008. godine i tada je idiopatski nizak rast prihvaćena indikacija za terapiju. Idiopatski nizak rast je definisan kao stanje u kome je visina osobe ispod dve standardne devijacije srednje visine za starost, pol i populacionu grupu, u odsustvu sistemskih, endokrinih nutritivnih ili hormonskih poremećaja(25). Najveći problem u terapiji je identifikovanje osoba kod kojih će terapija dati efekat, jer lečenje hormonom rasta nema efekta u nekim podgrupama (na primer konstitutivno zaostajanje u rastu), dok se u drugim podgrupama postiže povećanje finalne visine i do 7.5 cm(26).

U Sjedinjenim Američkim Državama hormon rasta je registrovan za ovu indikaciju, dok kod nas ovu indikaciju ne pokriva Republički fond za zdravstveno osiguranje Srbije.

## **Gubitak telesne mase udružen sa AIDS-om (HIV-associated wasting)**

Gubitak telesne mase udružen sa AIDS-om je multifaktorijalan i posledica je kombinacije neadekvatnog unosa hrane i izmenjenog metabolizma(27). Efikasnost hormona rasta u lečenju ovog poremećaja dokazana je ključnom studijom još 1996. Primena hormona rasta dovela je do povećanja mišićne mase, povećanja aerobnog kapaciteta i smanjenja količine telesne masti (28). Od 1996. godine u Sjedinjenim Američkim Državama hormon rasta je registrovan za ovu indikaciju. Preparat Serostim (EMD Serono, Meck KGaA, Darmstadt, Nemačka) registrovan je samo za ovu primenu(29).

Ovu indikaciju ne pokriva Republički fond za zdravstveno osiguranje Srbije.

### ***Sindrom kratkih creva***

Sindrom kratkih creva je težak poremećaj apsorpcionog kapaciteta gastrointestinalnog trakta. Najčešće nastaje kao posledica ishemije creva zbog traume, tromboze, malrotacije ili volvulusa ili kao posledica inflamatornih bolesti gastrointestinalnog trakta (najčešće Crohn-ova bolest). Sindrom kratkih creva može da bude posledica radijacionog enteritisa ili maligne bolesti(30). Primena hormona rasta dovodi do proliferacije crevnih resica (vilusa) i povećanja mase mukoze, poboljšava transport vode, elektrolita i nutritienata(31). Skorašnja meta analiza pokazala je pozitivne efekte hormona rasta na telesnu težinu i apsorpciju nutritienata. Nažalost dejstvo hormona rasta traje samo tokom njegove primene(32). Od 2003. godine u Sjedinjenim Američkim Državama hormon rasta je registrovan za ovu indikaciju. Preparat Zorbitive (EMD Serono, Meck KGaA, Darmstadt, Nemačka) registrovan je samo za ovu primenu(29).

Ovu indikaciju ne pokriva Republički fond za zdravstveno osiguranje Srbije.

### **Druge indikacije**

#### ***Teška bolest***

Katabolizam uzrokovani teškim bolestima, kao što su opeketine, politrama i sepsa teorijski je odlična indikacija za primenu hormona rasta. Jukka Takala i Esko Ruokonen su 1999. sproveli krucijalno istraživanje o primeni hormona rasta kod ovih pacijenata. Uprkos povećanju nivoa IGF1 i poboljšanju balansa azota, primena hormona rasta je značajno povećala mortalitet kod ovih bolesnika. Relativni rizik umiranja kod pacijenata lečenih hormonom sata u odnosu na placebo bio je oko 2(33). Interesantno je da primena hormona rasta kod pacijenata sa opsežnim opeketinama ima povoljne efekte, i da ne povećava mortalitet kod dece(34, 35). Neophodna su dalja istraživanja da bi se videlo mesto hormona rasta u terapiji teško bolesnih osoba. Za sada, mesto hormona rasta je samo u okviru kliničkih istraživanja.

#### ***Starenje***

Hormon rasta se često navodi kao jedan od lekova protiv starenja. Primena hormona rasta kod starih dovodi do povećanja mišične mase i smanjenja količine masti, ali i do značajnih neželjenih efekata, kao što su artralgije i edemi(36). Metaanaliza koja je uključila 31 studiju pokazala je da primena hormona rasta kod starih dovodi do relativno malih promena u telesnom sastavu i do neželjenih efekata, i da hormon rasta nije odgovarajuća terapija za stare osobe(37).

## **Neželjeni efekti**

### ***Diabetes mellitus***

Učestalost dijabetesa mellitusa tip 2 kod dece lećene hormonom rastenja je 14 do 22 obolela na 100.000 lečenih, što predstavlja značajno veću učestalost nego kod dece koja nisu lečena (0.8, 8.1 i 11.8 na 10.000 u starosnim grupama 5 do 9, 10 do 14 i 15 do 19 godina)(38). Međutim, učestalost dijabetesa tip 1 nije promenjena u odnosu na nelečenu populaciju(39).

### ***Maligne bolesti***

Dosadašnji podaci su umirujući kada je u pitanju nastanak malignih bolesti kod dece i odraslih lečenih supstitionim dozama hormona rasta. Nije nađena povećana učestalost maligniteta niti veza između primene hormona rasta i nastanka maligniteta(38, 40).

### ***Dugotrajno lečenje hormonom rasta i ukupni mortalitet***

Hormon rasta se primenjuje već nekoliko dekada. Pojava rekombinantnog hormona rasta 1985, omogućila je proširivanje indikacija i povećavanje doza ovog leka. Različiti registri pacijenta lečenih hormonom rasta uspostavljeni su da bi se procenila bezbednost dugotrajne primene hormona rasta. Jedan od takvih registara uspostavljen je u osam evropskih zemalja pod imenom Safety and Appropriateness of Growth hormone treatments in Europe (SAGhE – Bezbednost i odgovarajuća primena hormona rasta u Evropi). Prvi rezultati ovog registra su sa teritorije Francuske i izazvali su zabrinutost jer je pokazano povećanje mortaliteta u odnosu na nelečenu populaciju. Tokom praćenja pacijenata u trajanju od skoro osam godina, 93 od 6.928 lečenih osoba je umrlo, što predstavlja povećanje mortaliteta od 33% (standardizovani mortalitet 1.33, 95% CI 1.08–1.64). Mortalitet je bio značajno povećan kod tumora kosti (3 vs. 0.6 očekivanih), ali ne i kod drugih malignih bolesti. Mortalitet je takođe bio povećan i zbog intrakranijalnih krvarenja (4 vs. 0.6 očekivanih). Mortalitet je bio veći kod dece koja su imala veće odstupanje u visini na početku terapije. Osim toga, postojala je linearna veza između doze hormona rasta i mortaliteta, ali se značajno povećanje mortaliteta javljalo tek pri dozama većim od 0.050 mg/kg/dan. (41).

Osnovni problem ove studije je neadekvatna kontrolna grupa, jer je korišćena zdrava populacija. Međutim, adekvatna kontrolna grupa, odnosno populacija dece sa istim poremećajima, koja nisu lečena hormonom rasta ne postoji (etički razlozi prvenstveno). Osim toga, broj pacijenata je relativno mali, kao i broj praćenja. Ipak se sa velikim stepenom sigurnosti mogu doneti neki zaključci. Prvo - da učestalost maligniteta, sa izuzetkom kosti, nije povećana (standardizovani mortalitet za maligne bolesti 0.41, 95%CI 0.05–1.46), drugo - da se povećanje mortaliteta javlja pri primeni

velikih doza hormona rasta i treće - da je povećanje mortaliteta najizraženije kod najniže dece (najozbiljniji poremećaj?).

### ***Drugi neželjeni efekti***

Najčešći, manje značajni, neželjeni efekti kod dece su prepubertalna ginekomastija, porast nevusa (ali ne i maligna transformacija), benigna intrakranijalna hipertenzija i iskliznuće proksimalnih epifiza femura(38, 40).

Kod odraslih najčešći neželjeni efekti su edemi, ukočenost zglobova i sindrom karpalnog tunela(42).

## **IGF1**

IGF1 (insulin-like growth factor-1) je neophodan za longitudinalni rast. On se sintetiše u jetri, kostima, vezivnom tkivu, reproduktivnom traktu, kao i u drugim tkivima pod dejstvom hormona rasta. Glavni izvor cirkulišućeg IGF1 je jetra(43). Rekombinantni humani IGF1 sintetisan je još 1980, a upotreba je odobrena 2005. za lečenje dece sa primarnim deficitom IGF1 i dece koja su razvila neutrališuća antitela na GH(44). Međutim, terapijski efekat nije tako dobar kao kod hormona rasta. Brzina rasta se značajno uvećava prve godine terapije, a zatim opada, tako da je posle osam godina brzina rasta samo nešto veća od incijalne brzine rasta. Najčešći neželjeni efekti su hipoglikemija, lipohipertrofija na mestu injekcije i hipertrofija tonsila i adenoida(45).

Jedini preparat registrovan za ovu indikaciju je Increlex (Ipsen).

## **Tirotropin (TSH)**

Dok su drugi rekombinantni hormoni sintetisani u terapijske svrhe, rekombinantni tirotropin je sintetisan za dijagnostičku upotrebu. Primena tirotropina u dijagnostici ne bi bila moguća bez rekombinantne tehnologije. Primena rekombinantnog tirotropina u Sjedinjenim Američkim Državama odobrena je 1998. godine. Komercijalno ime je Thyrogen, a proizvođač je Genzyme Corporation(46).

### ***Indikacije***

Rekombinantni TSH koristi se zajedno sa radioaktivnim jodom u dijagnostici i terapiji dobro diferentovanog karcinoma štitaste žlezde. Dobro diferentovani tiroidni karcinom je hormon zavisan tumor, i TSH ga stimuliše. Standardna terapija ove bolesti je totalna tiroidektomija, praćena ablativnom dozom radioaktivnog joda i dugotrajna supresija sekrecije TSH primenom relativno velikih doza tiroksina. Kod pacijenata kod kojih je urađena totalna tiroidektomija i koji su primili ablativnu dozu joda, tireoglobulin predstavlja marker prisustva dobro diferentovanog karcinoma štitaste žlezde. Međutim, za njegovu adekvatnu procenu neophodno je da koncentracija TSH u krvi ne bude niska. Pošto dobro diferentovani tiroidni karcinom akumulira jod,

radioaktivni jod se koristi za vizualizaciju i lečenje ovih pacijenata, ali je potrebno da TSH bude visok. Pre pojave rTSH ovo se postizalo višenedeljnim prekidanjem terapije tiroksinom(47). Primena rekombinantnog TSH omogućava da se tireoglobulin i radioaktivni jod koriste i bez prekida ili sa kratkim prekidima supresione terapije tiroksinom. Primena rTSH u poređenju sa prekidanjem supstitucione terapije smanjuje senzitivnost tiroglobulina u detekciji rezidualnog karcinoma sa 96 na 93%(48). I proizvođač u uputstvu za upotrebu tvrdi da je prekidanje terapije levotiroksinom standard u dijagnostici dobro diferentovanog karcinoma štitaste žlezde(49).

Mesto rTSH tokom terapije ablativnom dozom joda još uvek nije jasno. Iako većina istraživanja ne nalazi razliku između prekidanja terapije i primene rTSH, rTSH se uglavnom koristi kod pacijenta koji ne tolerišu prekid terapije ili pacijenata koji nemaju dovoljno TSH (oboljenja hipofize i hipotalamus)(50). Međutim, izgleda da kombinacija rTSH i manje doze radioaktivnog joda ima istu efikasnost u lečenju dobro diferentovanog karcinoma štitaste žlezde kao i prekidanje terapije tiroksinom i uobičajene doze radioaktivnog joda(51).

U ovom trenutku visoka cena i ograničene količine rTSH ograničavaju njegovu širu primenu, iako su efekti rTSH u terapiji benignih bolesti štitaste žlezde ohrabrujući(52).

### ***Neželjeni efekti***

Najčešći neželjeni efekti rTSH su nauzea i glavobolja. Povremeno posle primene leka može da se javi sindrom koji liči na influencu (groznica i povišena temperatura)(49).

### **Drugi hormoni**

Rekombinantna tehnologija omogućava sintezu bilo kog peptidnog hormona u dovoljnim količinama, ukoliko za to postoji interes. Humani insulini su prvi sintetisani, a kasnije i novi insulini (analozi). Sintetisani su i rekombinantni hormoni gonadne osovine. Ovo je omogućilo da se obezbede dovoljne količine ovih lekova (made ne uvek) i da se proširi indikaciono područje i povećaju doze. Međutim, proširivanje indikacionog područja otvorilo je i nove medicinske i etičke dileme. Neke od ovih dilema se mogu rešiti dobro sprovedenim istraživanjima, ali zahtevaju etički i socijalni konsenzus.

### **Zahvalnica**

Ovaj rad podržan je projektima Ministarstva prosvete, nauke i tehnološkog razvoja broj 175036 i 175067.

## Literatura

1. Brown P, Gajdusek DC, Gibbs CJ, Jr., Asher DM. Potential epidemic of Creutzfeldt-Jakob disease from human growth hormone therapy. *The New England journal of medicine.* 1985;313(12):728-31. Epub 1985/09/19.
2. Gibbs CJ, Jr., Joy A, Heffner R, Franko M, Miyazaki M, Asher DM, et al. Clinical and pathological features and laboratory confirmation of Creutzfeldt-Jakob disease in a recipient of pituitary-derived human growth hormone. *The New England journal of medicine.* 1985;313(12):734-8. Epub 1985/09/19.
3. Koch TK, Berg BO, De Armond SJ, Gravina RF. Creutzfeldt-Jakob disease in a young adult with idiopathic hypopituitarism. Possible relation to the administration of cadaveric human growth hormone. *The New England journal of medicine.* 1985;313(12):731-3. Epub 1985/09/19.
4. Melmed S, Kleinberg D, Ho K. Pituitary Physiology and Diagnostic Evaluation. In: Melmed S, Polonsky KS, Larsen PR, Kronenberg HM, editors. *Williams Textbook of Endocrinology.* 12 ed. Boston, Massachusetts: Elsevier Saunders; 2011. p. 175-225.
5. Mauras N, Attie KM, Reiter EO, Saenger P, Baptista J. High dose recombinant human growth hormone (GH) treatment of GH-deficient patients in puberty increases near-final height: a randomized, multicenter trial. Genentech, Inc., Cooperative Study Group. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism.* 2000;85(10):3653-60. Epub 2000/11/04.
6. Coelho R, Brook CG, Preece MA, Stanhope RG, Dattani MT, Hindmarsh PC. A randomised study of two doses of biosynthetic human growth hormone on final height of pubertal children with growth hormone deficiency. *Hormone research.* 2008;70(2):85-8. Epub 2008/06/13.
7. Cohen P, Rogol AD, Howard CP, Bright GM, Kappelgaard AM, Rosenfeld RG. Insulin growth factor-based dosing of growth hormone therapy in children: a randomized, controlled study. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism.* 2007;92(7):2480-6. Epub 2007/03/16.
8. Cohen P, Germak J, Rogol AD, Weng W, Kappelgaard AM, Rosenfeld RG. Variable degree of growth hormone (GH) and insulin-like growth factor (IGF) sensitivity in children with idiopathic short stature compared with GH-deficient patients: evidence from an IGF-based dosing study of short children. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism.* 2010;95(5):2089-98. Epub 2010/03/09.
9. Gibney J, Wallace JD, Spinks T, Schnorr L, Ranicar A, Cuneo RC, et al. The effects of 10 years of recombinant human growth hormone (GH) in adult GH-deficient patients. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism.* 1999;84(8):2596-602. Epub 1999/08/12.
10. Gotherstrom G, Bengtsson BA, Bosaeus I, Johannsson G, Svensson J. A 10-year, prospective study of the metabolic effects of growth hormone replacement in adults. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism.* 2007;92(4):1442-5. Epub 2007/02/08.
11. Salomon F, Cuneo RC, Hesp R, Sonksen PH. The effects of treatment with recombinant human growth hormone on body composition and metabolism in adults with growth hormone deficiency. *The New England journal of medicine.* 1989;321(26):1797-803. Epub 1989/12/28.
12. Baum HB, Biller BM, Finkelstein JS, Cannistraro KB, Oppenheim DS, Schoenfeld DA, et al. Effects of physiologic growth hormone therapy on bone density and body composition in patients with adult-onset growth hormone deficiency. A randomized, placebo-controlled trial. *Annals of internal medicine.* 1996;125(11):883-90. Epub 1996/12/01.
13. Molitch ME, Clemons DR, Malozowski S, Merriam GR, Vance ML. Evaluation and treatment of adult growth hormone deficiency: an Endocrine Society clinical practice guideline. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism.* 2011;96(6):1587-609. Epub 2011/05/24.

14. Gravholt CH, Chen JW, Oxvig C, Overgaard MT, Christiansen JS, Frystyk J, et al. The GH-IGF-IGFBP axis is changed in Turner syndrome: partial normalization by HRT. *Growth hormone & IGF research : official journal of the Growth Hormone Research Society and the International IGF Research Society*. 2006;16(5-6):332-9. Epub 2006/10/28.
15. Gravholt CH, Frystyk J, Flyvbjerg A, Orskov H, Christiansen JS. Reduced free IGF-I and increased IGFBP-3 proteolysis in Turner syndrome: modulation by female sex steroids. *American journal of physiology Endocrinology and metabolism*. 2001;280(2):E308-14. Epub 2001/02/13.
16. Stephure DK. Impact of growth hormone supplementation on adult height in turner syndrome: results of the Canadian randomized controlled trial. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 2005;90(6):3360-6. Epub 2005/03/24.
17. Pinsker JE. Clinical review: Turner syndrome: updating the paradigm of clinical care. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 2012;97(6):E994-1003. Epub 2012/04/05.
18. World Health Organization. Intrauterine growth retardation in newborn children. [01.09.2012]; Available from: <http://www.who.int/ceh/indicators/iugrnewborn.pdf>.
19. Kirk J. Indications for growth hormone therapy in children. *Archives of disease in childhood*. 2012;97(1):63-8. Epub 2011/05/05.
20. Maiorana A, Cianfarani S. Impact of growth hormone therapy on adult height of children born small for gestational age. *Pediatrics*. 2009;124(3):e519-31. Epub 2009/08/27.
21. Boguszewski MC, Mericq V, Bergada I, Damiani D, Belgorosky A, Gunczler P, et al. Latin American consensus: children born small for gestational age. *BMC pediatrics*. 2011;11:66. Epub 2011/07/21.
22. Carrel AL, Myers SE, Whitman BY, Eickhoff J, Allen DB. Long-term growth hormone therapy changes the natural history of body composition and motor function in children with prader-willi syndrome. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 2010;95(3):1131-6. Epub 2010/01/12.
23. Binder G. Growth hormone deficiency: new approaches to the diagnosis. *Pediatric endocrinology reviews : PER*. 2011;9 Suppl 1:535-7. Epub 2012/03/20.
24. Vimalachandra D, Hodson EM, Willis NS, Craig JC, Cowell C, Knight JF. Growth hormone for children with chronic kidney disease. *Cochrane database of systematic reviews (Online)*. 2006(3):CD003264. Epub 2006/07/21.
25. Cohen P, Rogol AD, Deal CL, Saenger P, Reiter EO, Ross JL, et al. Consensus statement on the diagnosis and treatment of children with idiopathic short stature: a summary of the Growth Hormone Research Society, the Lawson Wilkins Pediatric Endocrine Society, and the European Society for Paediatric Endocrinology Workshop. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 2008;93(11):4210-7. Epub 2008/09/11.
26. Collett-Solberg PF. Update in growth hormone therapy of children. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 2011;96(3):573-9. Epub 2011/03/08.
27. Morley JE, Thomas DR, Wilson MM. Cachexia: pathophysiology and clinical relevance. *Am J Clin Nutr*. 2006;83(4):735-43. Epub 2006/04/08.
28. Schambelan M, Mulligan K, Grunfeld C, Daar ES, LaMarca A, Kotler DP, et al. Recombinant human growth hormone in patients with HIV-associated wasting. A randomized, placebo-controlled trial. *Serostim Study Group*. *Annals of internal medicine*. 1996;125(11):873-82. Epub 1996/12/01.
29. Franklin SL, Geffner ME. Growth hormone: the expansion of available products and indications. *Pediatric clinics of North America*. 2011;58(5):1141-65, x. Epub 2011/10/11.  
Thompson JS, Rochling FA, Weseman RA, Mercer DF. Current management of short bowel syndrome. *Curr Probl Surg*. 2012;49(2):52-115. Epub 2012/01/17.

30. Lund PK, Ulshen MH, Rountree DB, Selub SE, Buchan AM. Molecular biology of gastrointestinal peptides and growth factors: relevance to intestinal adaptation. *Digestion*. 1990;46 Suppl 2:66-73. Epub 1990/01/01.
31. Wales PW, Nasr A, de Silva N, Yamada J. Human growth hormone and glutamine for patients with short bowel syndrome. *Cochrane database of systematic reviews (Online)*. 2010(6):CD006321. Epub 2010/06/18.
32. Takala J, Ruokonen E, Webster NR, Nielsen MS, Zandstra DF, Vundelinckx G, et al. Increased mortality associated with growth hormone treatment in critically ill adults. *The New England journal of medicine*. 1999;341(11):785-92. Epub 1999/09/09.
33. Elijah IE, Branski LK, Finnerty CC, Herndon DN. The GH/IGF-1 system in critical illness. *Best practice & research Clinical endocrinology & metabolism*. 2011;25(5):759-67. Epub 2011/09/20.
34. Gauglitz GG, Williams FN, Herndon DN, Jeschke MG. Burns: where are we standing with propranolol, oxandrolone, recombinant human growth hormone, and the new incretin analogs? *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*. 2011;14(2):176-81. Epub 2010/12/16.
35. Giordano R, Bonelli L, Marinazzo E, Ghigo E, Arvat E. Growth hormone treatment in human ageing: benefits and risks. *Hormones (Athens)*. 2008;7(2):133-9. Epub 2008/05/15.
36. Liu H, Bravata DM, Olkin I, Nayak S, Roberts B, Garber AM, et al. Systematic review: the safety and efficacy of growth hormone in the healthy elderly. *Annals of internal medicine*. 2007;146(2):104-15. Epub 2007/01/18.
37. Cooke DW, Divall SA, Radovick S. Normal and Aberrant Growth. In: Melmed S, Polonsky KS, Larsen PR, Kronenberg HM, editors. *Williams Textbook of Endocrinology*. 12 ed. Philadelphia: Elsevier Saunders; 2011. p. 935-1053.
38. Cutfield WS, Wilton P, Bennmarker H, Albertsson-Wikland K, Chatelain P, Ranke MB, et al. Incidence of diabetes mellitus and impaired glucose tolerance in children and adolescents receiving growth-hormone treatment. *Lancet*. 2000;355(9204):610-3. Epub 2000/03/04.
39. Souza FM, Collett-Solberg PF. Adverse effects of growth hormone replacement therapy in children. *Arquivos brasileiros de endocrinologia e metabologia*. 2011;55(8):559-65. Epub 2012/01/06.
40. Carel JC, Ecosse E, Landier F, Meguellati-Hakkas D, Kaguelidou F, Rey G, et al. Long-term mortality after recombinant growth hormone treatment for isolated growth hormone deficiency or childhood short stature: preliminary report of the French SAGhE study. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 2012;97(2):416-25. Epub 2012/01/13.
41. Hazem A, Elamin MB, Bancos I, Malaga G, Prutsky G, Domecq JP, et al. Body composition and quality of life in adults treated with GH therapy: a systematic review and meta-analysis. *European journal of endocrinology / European Federation of Endocrine Societies*. 2012;166(1):13-20. Epub 2011/08/26.
42. Clemmons DR. Insulin-Like Growth Factor-1 and Its Binding Proteins. In: Jameson JL, De Groot LJ, editors. *Endocrinology, Adult and Pediatric*. 6 ed. Philadelphia: Saunders Elsevier; 2010.
43. Collett-Solberg PF, Misra M. The role of recombinant human insulin-like growth factor-I in treating children with short stature. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 2008;93(1):10-8. Epub 2008/01/01.
44. Chernausek SD, Backeljauw PF, Frane J, Kuntze J, Underwood LE. Long-term treatment with recombinant insulin-like growth factor (IGF)-I in children with severe IGF-I deficiency due to growth hormone insensitivity. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 2007;92(3):902-10. Epub 2006/12/29.
45. FDA. Drug Approval Package Thyrogen (Thyrotropin Alfa) Injection. [05.09.2012]; Available from: [http://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda\\_docs/nda/98/20898\\_Thyrogen.cfm](http://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/nda/98/20898_Thyrogen.cfm).

46. Cooper DS, Doherty GM, Haugen BR, Kloos RT, Lee SL, Mandel SJ, et al. Revised American Thyroid Association management guidelines for patients with thyroid nodules and differentiated thyroid cancer. *Thyroid : official journal of the American Thyroid Association*. 2009;19(11):1167-214. Epub 2009/10/29.
47. Eustatia-Rutten CF, Smit JW, Romijn JA, van der Kleij-Corssmit EP, Pereira AM, Stokkel MP, et al. Diagnostic value of serum thyroglobulin measurements in the follow-up of differentiated thyroid carcinoma, a structured meta-analysis. *Clinical endocrinology*. 2004;61(1):61-74. Epub 2004/06/24.
48. Genzyme Corporation. Thyrogen Product Information. [05.09.2012]; Available from: <http://www.thyrogen.com/pdfs/pi.pdf>.
49. Sabet A, Kim M. Postoperative management of differentiated thyroid cancer. *Otolaryngologic clinics of North America*. 2010;43(2):329-51, viii-ix. Epub 2010/06/01.
50. Mallick U, Harmer C, Yap B, Wadsley J, Clarke S, Moss L, et al. Ablation with low-dose radioiodine and thyrotropin alfa in thyroid cancer. *The New England journal of medicine*. 2012;366(18):1674-85. Epub 2012/05/04.
51. Fast S, Nielsen VE, Grupe P, Boel-Jorgensen H, Bastholt L, Andersen PB, et al. Prestimulation with Recombinant Human Thyrotropin (rhTSH) Improves the Long-Term Outcome of Radioiodine Therapy for Multinodular Nontoxic Goiter. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 2012;97(8):2653-60. Epub 2012/05/12.

# **Use of the biological drugs in endocrinology**

**Miloš Žarković**

University of Belgrade - School of Medicine, Clinic of Endocrinology, diabetes and diseases of metabolism, Clinical centre of Serbia, Dr Subotića 13, 11000 Beograd

---

## **Summary**

Use of recombinant technology has enabled adequate quantities of safe hormones as well as their innovative clinical use. Best example is the growth hormone whose initial use was only to treat short stature in children caused by the growth hormone deficiency. Later, indications for growth hormone use were expanded to encompass substitution in therapy in adults, treatment of the Turner syndrome and other congenital conditions, treatment of children small for gestation age and treatment of idiopathic short stature. However, indications encompassed conditions that have no connection with the growth, such as short bowel syndrome and AIDS. New technology has enabled the synthesis of recombinant TSH that is used in the diagnosis and therapy of differentiated thyroid cancer. However, indication expansion has opened up new medical and ethical dilemmas. Some of these dilemmas can be solved by well-conducted clinical trials, but others will require ethical and social consensus.

**Key words:** Biological drugs, Growth hormone, IGF1, Thyrotropin

---

**Correspondence:** Prof. Miloš Žarković

School of Medicine, University of Belgrade Clinic of Endocrinology, Clinical centre of Serbia, Dr Subotića 13, 11000 Beograd, Serbia

PAK 112113

*Tel* +381 11 3639 724

*Fax* +381 11 3639 776

*cell* +381 63 202 925

*email* [mzarkov@med.bg.ac.rs](mailto:mzarkov@med.bg.ac.rs), [milos.zarkovic@gmail.com](mailto:milos.zarkovic@gmail.com)