МЕДИЦИНСКИ УНИВЕРСИТЕТ – СОФИЯ
МЕДИЦИНСКИ ФАКУЛТЕТ
КАТЕДРА ПО ФАРМАКОЛОГИЯ И ТОКСИКОЛОГИЯ

д-р Калина Николаева Колева

ЕКСПЕРИМЕНТАЛНИ И РЕГУЛАТОРНИ ПРОУЧВАНИЯ ВЪРХУ АНТИДЕПРЕСАНТИ И ОПИОИДИ, ПРЕДИЗВИКВАЩИ СЕРОТОНИНОВ СИНДРОМ

АВТОРЕФЕРАТ

на дисертационен труд за придобиване
на образователната и научна степен
“ДОКТОР”

Научен ръководител:
Доц. д-р Румен Павлов Николов, дм

Научен консултант:
Чл. кор. проф. д-р Мила Василева Власковска, дм, дмн

София, 2021

МЕДИЦИНСКИ УНИВЕРСИТЕТ – СОФИЯ
МЕДИЦИНСКИ ФАКУЛТЕТ
КАТЕДРА ПО ФАРМАКОЛОГИЯ И ТОКСИКОЛОГИЯ

д-р Калина Николаева Колева

ЕКСПЕРИМЕНТАЛНИ И РЕГУЛАТОРНИ ПРОУЧВАНИЯ ВЪРХУ АНТИДЕПРЕСАНТИ И ОПИОИДИ, ПРЕДИЗВИКВАЩИ СЕРОТОНИНОВ СИНДРОМ

АВТОРЕФЕРАТ

на дисертационен труд за придобиване
на образователната и научна степен
"ДОКТОР"

Област на висше образование: 7. Здравеопазване и спорт
Професионално направление: 7.1. Медицина
Научна специалност: Фармакология
(вкл. фармакокинетика и химиотерпаия)

Научен ръководител:
Доц. д-р Румен Павлов Николов, дм

Научен консултант:
Чл. кор. проф. д-р Мила Василева Власковска, дм, дмн

Официални рецензенти:
Проф. д-р Славина Кирилова Сурчева, дм
Проф. д-р Ирен Петкова Белчева, дм, дмн

София, 2021

Дисертационният труд е написан на 111 стандартни печатни страници и е онагледен с 11 фигури и 18 таблици. Библиографията включва 226 литературни източника.

Дисертационния труд е обсъден, одобрен и насочен за защита на заседние на Катедрения съвет на Катедра по фармакология и токсикология при Медицински факултет, Медицински университет – София, състояло се на 06.10.2020г.

Публичната защита ще се проведе на 22.01.2021г. от 11:30 часа в зала 326, етаж 3 на Катедра по фармакология и токсикология при Медицински факултет, Медицински университет – София, пред научно жури в състав:

Председател:

Проф. д-р Славина Кирилова Сурчева, дм

Членове:

Проф. д-р Красимира Симеонова Якимова, дм, дмн

Проф. д-р Ирен Петкова Белчева, дм, дмн

Проф. д-р Людмил Пейчев Пейчев, дм

Доц. д-р Делян Пенев Делев, дм

Резервни членове:

Доц. д-р Нина Юриева Белова, дм

Доц. д-р Илия Димитров Костадинов, дм

Материалите по защитата са на разположение в Катедрата по фармакология и токсикология, Медицински факултет, Медицински университет – София, ул. „Здраве“ №2 и на интернет страницата на Медицински университет – София.

Забележка: В автореферата номерата на таблиците съответстват на същите в дисертационния труд. Цитираните литературни източници съответстват на посочените в библиографската справка в дисертационния труд.

СЪДЪРЖАНИЕ

ИЗПОЛЗВАНИ СЪКРАЩЕНИЯ 5
I. ВЪВЕДЕНИЕ 7
II. ЦЕЛ И ЗАДАЧИ 10
Цел 10
Задачи 10
III. МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ 12
Материали 12
1. Експериментални животни 12
2. Фармакологични вещества 12
2.1. Вещества, използвани за моделиране на експериментален серотонинов синдром 12
2.2. Вещества използвани за повлияване на серотонинов синдром 12
Методи 13
1. *In vivo* методи 13
1.1. Експериментални модели на серотонинов синдром 13
1.2. Поведенчески и автономни прояви при серотонинов синдром 14
1.3. Мониториране на телесната температура 15
2. Определяне на концентрацията на серотонин в кръвен серум на мъжки плъхове Wistar с метод ELISA по методология, предложена от производителя на кита 15
3. Статистически анализ 15
4. Систематичен литературен преглед 16
IV. РЕЗУЛТАТИ 17
1. Резултати от *in vivo* опити 17
1.1. Поведенчески и автономни прояви при модели на експериментален серотонинов синдром 17
1.2. Промяна в телесната температура при експериментални модели на серотонинов синдром и нейното фармакологично повлияване 19
1.2.1. Хипертермия индуцирана от комбинираното приложение на антидепресанти и опиоиди със серотонинергичен механизъм на действие 19
1.2.2. Повлияване на хипертермичната реакция от ГАМК-ергични вещества. 23
Ефект на *diazepam*: 23
Ефект на *vigabatrin*: 24

1.2.3. Повлияване на хипертермичната реакция от 5-НТ-рецепторни антагонисти ... 25
Ефект на *cyproheptadine*: ... 25
Ефект на *propranolol*: ... 25
Ефект на *asenapine*: ... 26
Ефект на *olanzapine*: ... 27
Ефект на *risperidone*: ... 28
Сравнително изследване на ефектите на *asenapine* и *olanzapine* с ефекта на *cyproheptadine* върху хипертермията, наблюдавана при лекарствено индуциран серотонинов синдром: ... 29
2. Концентрацията на серотонин в кръвен серум на мъжки плъхове Wistar с метод ELISA ... 30
3. Регулаторни проблеми при някои антидепресанти и опиоиди предизвикващи серотонинов синдром ... 31
Антидепресанти ... 31
Опиоиди ... 33
V. ОБСЪЖДАНЕ НА РЕЗУЛТАТИТЕ ... 37
VI. ИЗВОДИ ... 50
VII. ПРИНОСИ ... 51
VIII. ПУБЛИКАЦИИ СВЪРЗАНИ С ДИСЕРТАЦИОННИЯ ТРУД ... 53
IX. УЧАСТИЯ В НАЦИОНАЛНИ И МЕЖДУНАРОДНИ КОНГРЕСИ, СВЪРЗАНИ С ДИСЕРТАЦИОННИЯ ТРУД ... 54

ИЗПОЛЗВАНИ СЪКРАЩЕНИЯ

БАБХ	Българска Агенция по Безопасност на Храните
ГАМК	гама-аминомаслена киселина
ГИТ	гастроинтестиналния тракт
ДД	диференциална диагноза
ДИК	дисеминирана интравазална коагулация
ДМС	дълбока мозъчна стимулация
ЕС	Европейски съюз
ИАЛ	Изпълнителна агенция по лекарствата
КЕНИМУС	Комисия по Етика на Научните изследвания при Медицински Университет
КК	клинична картина
КХП	Кратка характеристика на продукта
ЛП	Листовка за пациента
МАО	моноаминооксидаза
МНС	малигнен невролептичен синдром
МХ	малигнена хипертермия
НЛР	нежелана лекарствена реакция
ПДБ	периодични доклади за безопасност
ПРУ	Притежател на разрешение за употреба
РУ	Разрешение за употреба
САЩ	Съединени американски щати
СЗО	Световна здравна организация
ТЦА	трициклични антидепресанти
ФД	Фармакодинамика
ФК	Фармакокинетика

5-HT	5-hydroxytryptamine
5-HTP	5-hydroxytryptophan
CAPs	centrally authorised products
CYP 450	Cytochrome P_{450}
DCP	Decentralised procedure
DSC	Drug Safety Communication
EMA	European Medicines Agency
EV	EudraVigilance
FAERS	FDA Adverse Event Reporting System
FDA	Food and Drug Administration
MARTA	multi-acting receptor-targeted antipsychotics
NMDA	N-methyl-D-aspartate
OTC	Over-the-counter
PDCO	Paediatric Committee
P-gp	P-glycoprotein
PGWP	Pharmacogenomics Working Party
PRAC	Pharmacovigilance Risk Assessment Committee
PSUSA	Periodic Safety Update Report (PSUR) single assessment
SDA	serotonin-dopamine antagonist
SERT	serotonin transporter
SNRIs	Serotonin and norepinephrine reuptake inhibitors
SSRIs	Selective serotonin reuptake inhibitors
$t_{1/2}$	плазмен полуживот

I. ВЪВЕДЕНИЕ

Серотониновият синдром е лекарствено-индуцирано състояние, причинено от медикаменти и вещества, които повишават интрасинаптичните нива на серотонин (серотонинергични). Характеризира се с триада от симптоми, включващи промени менталния статус, автономна нестабилност и невромускулна хиперреактивност.

Oates и Sjostrand за първи път описват синдрома през 1960г. при пациенти на терапия с моноаминоокасидазни инхибитори (МАО-инхибитори), които развиват симптоми на серотонинов синдром след прием на триптофан – серотонинов прекурсор [1]. Оттогава броят на докладваните случаи на серотонинов синдром се увеличава.

Медикаменти и вещества, които повишават нивата на серотонин се наричат **серотонергични**, а механизмите, чрез които го осъществяват са следните:

- Повишен синтез на серотонин
- Повишено освобождаване на серотонин
- Активиране на серотонинергичните рецептори
- Инхибиране на обратното захващане на серотонин
- Инхибиране на разграждането на серотонин

Сред всички серотонинергични медикаменти, антидепресантите са най-честите причинители на серотонинов синдром. Анализ на регистрираните случаи на серотонинов синдром във френската база данни за проследяване на лекарствената безопасност показва, че най-често срещаните лекарствени комбинации асоциирани с развитието на серотонинов синдром са **SSRIs** – **опиоиден аналгетик** (предимно *paroxetine* + *tramadol*) и **SSRIs** – **МАО-инхибитор** (предимно *paroxetine* + *moclobemide*) и са посочени на Таблица 6. [2, 91–96].

Все по-често се коментира ролята на опиоидите за развитието на серотонинов синдром, а това се обяснява с действието на по-голямата част от тях като инхибитори на обратното захващане на серотонина [68–86]. Такива са *tramadol, pethidine (meperidine), tapentadol, levomethorphan, levorphanol, methadone, pentazocine, dextropropoxyphen, fentanyl и remifentanyl*. Сред всички докладвани опиоиди причиняващи серотонинов синдром, най-много данни има за участието на

tramadol. Предполага се, че той може да има и допълнителен механизъм на действие като стимулира освобождаването на серотонин.

Таблица 6. Най-често срещани лекарствени комбинации асоциирани с развитието на серотонинов синдром [2, 91–96]

Лекарствена комбинация	**Брой случаи (n)**	**Процент (%)**
SSRIs – опиоиден аналгетик	**15**	**20.3**
SSRIs – MAO-инхибитор	12	16.2
SSRIs – imipramine	4	5.4
Imipramine – lithium	4	5.4
MAO-инхибитор – опиоиден аналгетик	4	5.4
SSRIs – амфетамин	3	4.1
SSRIs – lithium	3	4.1

* Анализът не посочва данни за лекарствени комбинации срещащи се в по-малко от 3 случая

Клинично, серотониновият синдром често се описва като триада от симптоми вариращи по интензитет: нарушен ментален статус, автономна нестабилност и невромускулна хиперреактивност. Изявата е силно вариабилна – от леки до тежки и животозастрашаващи форми, което често е причина за недиагностицирането на синдрома [110, 111].

Макар и не задължителна клинична находка, **хипертермията** и неадекватното ѝ третиране са най-честата причина за настъпващите усложнения при животозастрашаващите форми на проявен серотонинов синдром. Такива компликации са гърчове, рабдомиолиза, миоглобинурия, метаболитна ацидоза, бъбречна недостатъчност, остър респираторен дистрес синдром, дихатена недостатъчност, дисеминирана интравазална коагулация (ДИК-синдром), кома и смърт [6].

Проучвания посочват ролята на 5-HT_{2A}-рецепторите в развитието на хипертермичен отговор, както и ефектът на 5-HT_{2A}-антагонистите в повлияването на хипертермията при експериментални животински модели на серотонинов синдром.

Превенцията на серотонинов синдром заема централно място в намаляването на разпространението и смъртността от това състояние. Избягването на политерапията е от решаващо значение за предотвратяването на синдрома, имайки предвид широката употреба на антидепресантите и опиоиди и многобройните лекарствени комбинации асоциирани с развитието на серотонинов синдром.

По правило, генеричните лекарства, които са обект на национална процедура за разрешаване за употреба би следвало в информацията си да отразяват почти огледално оригиналните продукти. Това изискване се прилага в България със започване на пред-просъединителни процеси, поради което старите продукти много често не съответстват или съответстват частично.

Издаването на разрешение за употреба на всеки лекарствен продукт създава предпоставки за появата на сигнали за нови нежелани лекасртвени реакции (НЛР), дължащие се както на лекарствени взаимодействия, така и на взаимодействия лекарство – заболяване/съпътстващи заболявания, които не са били известни в периода преди разрешаването за употреба.

Събирането на пост-маркетингова информация за НЛР би могло да оптимизира информацията за продуктите, с акцент върху добаването на рискови лекарствени взаимодействия, непосочени преди това в Кратката характеристика на продуктите (КХП)

II. ЦЕЛ И ЗАДАЧИ

Цел

Основна цел на експерименталното проучване е да се изследват проявите на серотонинов синдром у плъхове, предизвикан от комбинирано прилагане на антидепресанти и опиоиди и фармакологичното му повлияване от ГАМК-ергични лекарства или 5-HT_2-рецепторни антагонисти. Цел на дисертационния труд, свързана с лекарствената регулация е оценка на актуалното състояние на някои от разрешените за употреба в страната антидепресанти и опиоиди, предизвикващи серотонинов синдром.

Задачи

1. Изследване на проявите на серотонинов синдром при плъхове, предизвикан от прилагането на антидепресанти и опиоиди със серотонинергичен механизъм на действие.
2. Изследване на ефектите на ГАМК-ергични лекарства (*diazepam, vigabatrin*) и 5-НТ-рецепторни антагонисти (*olanzapine, risperidone, asenapine, propranolol, cyproheptadine*) върху поведенчески и автономните прояви при експериментален модел на серотонинов синдром.
3. Изследване на ефектите на ГАМК-ергични лекарства (*diazepam, vigabatrin*) и 5-НТ-рецепторни антагонисти (*olanzapine, risperidone, asenapine, propranolol, cyproheptadine*) върху хипертермичната реакция при експериментален модел на серотонинов синдром.
4. Сравнително изследване на ефектите на *asenapine* и *olanzapine* с ефекта на *cyproheptadine* върху хипертермичната реакция, наблюдавана при лекарствено индуциран серотонинов синдром.
5. Разглеждане на последните постъпили съобщения на Комитета за оценка на риска в проследяването на лекарствената безопасност (PRAC) за необходимостта от актуализиране на информацията (КХП; ЛП) за някои антидепресанти и опиоиди предизвикващи серотонинов синдром.
6. Да се предложи нанасянето на промени в КХП касаещи противопоказания (т.4.3.), специални предупреждения и предпазни мерки за употреба (т.4.4.), лекарствени и други взаимодействия (т.4.5.), нежелани лекарствени реакции

(т.4.8.) и предозиране (т.4.9.) на разгледаните антидепресанти и опиоиди включени в съответните точки от КХП

7. Идентифициране на потенциалните регулаторни пропуски и предлагане на мерки за преодоляването им.

III. МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ

Материали

1. Експериментални животни

Експерименталните изследвания бяха проведени на мъжки плъхове от порода Wistar с тегло 200-220 g. Общият брой на използваните животни в проучването е 150 плъха. Животните се доставиха от централен вивариум при спазване на стандартни условия за отглеждане, храна и вода. Стриктно бяха спазвани Международните Насоки и Принципи за Експерименти с Животни (International Guiding Principles for Animal Research), както и етичните принципи при планиране и провеждане на експериментите според КЕНИМУС (Комисия по Етика на Научните изследвания при Медицински Университет) и БАБХ с разрешително за използване на животни в опити с регистрационен номер № 250 валидно до 22.11.2024 г.

2. Фармакологични вещества

2.1. Вещества, използвани за моделиране на експериментален серотонинов синдром

Веществата използвани при моделирането на експериментален серотонинов синдром са:

- ***5-hydroxy-L-tryptophan*** (Sigma-Aldrich) – 100 mg/kg (i.p.)
- ***fluoxetine*** (Sigma-Aldrich) – 10 mg/kg (i.p.)
- ***clorgyline*** (Sigma-Aldrich) – 2 mg/kg (i.p.)
- ***tranylcypromine*** (Sigma-Aldrich) – 3.5 mg/kg (i.p.)
- ***tramadol*** (Grünenthal) **–** 20 mg/kg (i.p.)

2.2. Вещества използвани за повлияване на серотонинов синдром

Изследван беше ефектът на следните вещества:

ГАМК-ергични лекарства: ***diazepam*** (Sopharma Pharmaceuticals) и ***vigabatrin*** (Sigma-Aldrich). ГАМК-ергичните лекарства бяха прилагани 10 min преди въвеждането на серотонинергичните вещества в следните дози: ***diazepam*** – 5 mg/kg (i.p.); ***vigabatrin*** – 300 mg/kg (i.p.)

5-HT-рецепторни антагонисти: ***olanzapine*** (Sigma-Aldrich), ***risperidone*** (Sigma-Aldrich), ***asenapine*** (Sigma-Aldrich), ***propranolol*** (Sigma-Aldrich), ***cyproheptadine***

(Sigma-Aldrich). Серотониновите антагонисти бяха прилагани 10 min преди въвеждането на серотонин-ергичните вещества в следните дози: ***olanzapine*** – 5 mg/kg (i.p.); ***risperidone*** – 1 mg/kg (i.p.); ***asenapine*** – 0,6 mg/kg (i.p.); ***cyproheptadine*** – 10 mg/kg (i.p.); ***propranolol*** – 10 mg/kg (i.p.).

При експериментите със системно въвеждане, изследваните вещества бяха прилагани интраперитонеално на мъжки плъхове (200-220 g) в равни инжекционни обеми – по 0,2 ml/100 g. При контролните групи инжектирахме физиологичен разтвор в обем по 0,2 ml/100 g.

Фармакологично-активните вещества бяха въвеждани системно (i.p.) на мъжки плъхове Wistar, разпределени в групи по 6 животни. Дозите на изследваните вещества се подбираха на базата на литературни данни и въз основа на предварителни собствени експерименти.

Методи

1. *In vivo* методи

Експериментите бяха проведени върху мъжки плъхове от порода Wistar с тегло 200-220 g. Плъховете бяха разпределени по 6 в група. Всички експерименти в проучването се провеждаха между 10 – 14h цел да се избегнат промените, дължащи се на денонощните ритми на животните (при циркаден ритъм 12h светло/12h тъмно). Животните се адаптираха предварително в продължение на 24h в условията и при температурата на експеримента. Температурата на околната среда по време на експериментите се поддържаше 22 ± 1° C. Всяко животно се използваше само веднъж.

1.1. Експериментални модели на серотонинов синдром

В проучването бяха използвани модели на серотонинов синдром, предизвикани от комбинирано приложение на:

- ***5-hydroxy-L-tryptophan /5-HTP/*** (100 mg/kg i.p.) – прекурсор на серотонин и ***clorgyline*** (2 mg/kg i.p.) – селективен МАО-А инхибитор (по Nisijima et al., 2001)
- ***5-hydroxy-L-tryptophan /5-HTP/*** (100 mg/kg i.p.) – прекурсор на серотонин и ***tranylcypromine*** (3,5 mg/kg, i.p.) – неселективен МАО инхибитор (модифициран по Nisijima et al., 2001)

- ***fluoxetine*** (10 mg/kg i.p.) – селективен инхибитор на невроналното захващане на серотонин и ***tranylcypromine*** (3,5 mg/kg, i.p.) – неселективен МАО инхибитор (по Shioda et al., 2004)

В проучването беше изследвано взаимодействието между антидепресанти и опиоиди със серотонинергичен механизъм на действие и потенциалното развитие на серотонинов синдром чрез комбинираното приложение на:

- ***tramadol*** (20 mg/kg i.p.) – опиоиден аналгетик и ***tranylcypromine*** (3,5 mg/kg, i.p.) – неселективен МАО инхибитор
- ***tramadol*** (20 mg/kg i.p.) – опиоиден аналгетик и ***5-hydroxy-L-tryptophan /5-HTP/*** (100 mg/kg i.p.) – прекурсор на серотонин

1.2. Поведенчески и автономни прояви при серотонинов синдром

При посочените експерименталните модели изследваните и наблюдаваните поведенчески и автономни прояви характерни за развитието на серотонинов синдром у плъхове бяха отчетени по скалата на Haberzettl et al.

Таблица 11. Поведенчески и автономни прояви при серотонинов синдром у плъхове по Haberzettl et al.

Поведенчески прояви		**Автономни прояви**
Главни	**Второстепенни**	
тъпчене с предните лапи поклащане на главата отвеждане на задния крайник ниска стойка на тялото феномен на Straub тремор движение назад	потрепване на тялото дъвчене “head shakes” “head twitches” хиперактивност хиперреактивност повишена/понижена локомоторна активност миоклонус вертикално издигане/повдигане на задни лапи ригидност “wet dog shake”	промяна в телесната температура (повишаване/понижаване) ретракция на долната устна ерекция на пениса пилоерекция саливация

1.3. Мониториране на телесната температура

Телесната температура на животните регистрирахме чрез ректални термистори (TX-8), които са свързани с мултиканален апарат Iso-Thermex 16 (Columbus Instruments, USA), работещ с компютърна програма. След лубрикация с вазелин термисторите се въвеждаха ректално на дълбочина 6 см. На всяко животно се регистрираше изходната телесна температура като след прилагането на веществата температурата се отчиташе през интервали от 30 min до отзвучаване на ефекта на веществата.

2. Определяне на концентрацията на серотонин в кръвен серум на мъжки плъхове Wistar с метод ELISA по методология, предложена от производителя на кита

В края на експерименталния протокол бяха взети кръвните проби за анализ при спазване на разпоредбите на КЕНИМУС и БАБХ. Кръвта на животните беше събрана във вакутейнери (Serum Sep Clot Activator), оставена да се утаи за 10 мин на стайна температура, след което пробите бяха центрофугирани на 4000 оборота за 10 мин при 4℃. След това центрофугираните проби бяха съхранени на -20℃ до момента на анализа.

За определяне на концентрацията на серотонин в кръвния серум на експерименталните животни беше използван ELISA кит (Abbexa, USA, cat. # abx 257126, обхват 15,63 ng/mL – 1000 ng/mL, чувствителност 9,38 ng/mL). След стриктно спазване на методологията, предложа от производителя на кита, абсорбцията беше отчетена с помощта на BioTek microplate reader ELx800 при 450 nm. Данните от абсорбцията бяха използвани за калкулиране на концентрацията на серотонин в кръвния серум на експерименталните животни.

3. Статистически анализ

Данните от *in vivo* експериментите бяха анализирани със софтуер Graph Pad InStat Software. Получените екпериментални резултати са обработени статистически и представени като средни стойности ± S.E.M посредством методите на дисперсионния анализ (one-way ANOVA) и представени графично със софтуер Microsoft Exel, 2003. Статистическата достоверност бе установена с помощта на t-test на Student и paired t-test.

4. Систематичен литературен преглед

Беше извършен преглед на наличната документация за идентифициране на съответствие/пропуски в информацията за продуктите (КХП; ЛП), документация подкрепяща разрешенията за употреба и планове за управление на риска. Методологичният подход, който беше избран включва четири последователни етапа:

1. Изясняване на регистрационния статус на някои антидепресанти и опиоиди предизвикващи серотонинов синдром, включително типа на процедурата, по която са издадени разрешенията за употреба.
2. Анализ на данните за противопоказания (т.4.3.), специални предупреждения и предпазни мерки за употреба (т.4.4.), лекарствени и други взаимодействия (т.4.5.), нежелани лекарствени реакции (т.4.8.) и предозиране (т.4.9.) включени в съответните точки от КХП.
3. Анализ на постъпилите съобщения за лекарствени и други взаимодействия, както и съобщенията за нежелани лекарствени реакции, в това число серотонинов синдром на разгледаните антидепресанти и опиоиди.
4. Анализ на приложената клинична документация, подкрепяща издаването на разрешение за употреба (модули 2.5 и 5 от досието на лекарствените продукти).

IV. РЕЗУЛТАТИ

1. Резултати от *in vivo* опити

1.1. Поведенчески и автономни прояви при модели на експериментален серотонинов синдром

При посочените експериментални модели бяха изследвани и наблюдавани поведенчески и автономни прояви характерни за развитието на серотонинов синдром у плъхове и бяха отчетени по Haberzettl et al. (таблица 12).

Комбинираното приложение на *5-HTP (100 mg/kg i.p.)* и *tranylcypromine (3,5 mg/kg i.p.)* предизвика развитието на серотонинов синдром у експерименталните животни. Едно от експерименталните животни в тази група (n=6) завърши с летален изход отчетен на 90 мин. от началото на експеримента. Сред поведенческите реакции най-рано – на 15-та минута се появиха т. нар ниска стойка на тялото описвана в литературата като движение на животното ниско до земята като влечуго) и феномен на Straub. По-късно на 22-ра минута беше наблюдаван т.нар. “wet dog shake”. По-късно на 45-та минута бяха наблюдавани поклащане на главата и тремор. При всички животни беше отчетена хиперактивност. Сред автономните реакции най-рано на 15-та минута бе наблюдавана пилоерекция, а на 30-та минута покачване на температурата.

Комбинираното приложение на *5-HTP (100 mg/kg i.p.)* и *clorgyline (2 mg/kg i.p.)* предизвика развитието на серотонинов синдром у експерименталните животни. Всички животни в тази група (n=6) завършиха с летален изход между 60 и 90 мин от началото на експеримента.

Комбинираното приложение на *fluoxetine (10 mg/kg i.p.)* и *tranylcypromine (3,5 mg/kg i.p.)* предизвика развитието на серотонинов синдром у експерименталните животни. Специфични промени в поведението на плъховете като тремор и поклащане на главата се наблюдаваха на 90 мин. след инжектирането серотонинергичните вещества. Летален изход не беше наблюдаван.

Комбинираното приложение на *tramadol (20 mg/kg i.p)* с *tranylcypromine (3,5 mg/kg i.p.),* както и *tramadol (20 mg/kg i.p) с 5-HTP (100 mg/kg i.p.)* доведе до проява на някои симптоми като пилоерекция и феномен на Straub. Други специфични симптоми на проявен серотонинов синдром не бяха наблюдавани.

Таблица 12. Поведенчески и автономни прояви при модели на експериментален серотонинов синдром

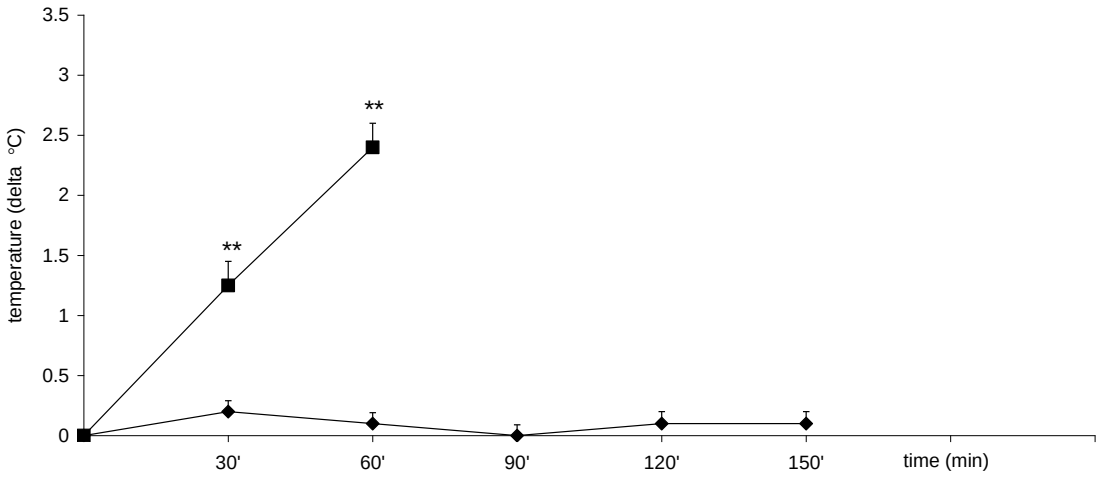
Проява			Модел на серотонинов синдром				
			5-HTP + clorgyline	5-HTP + tranylcypromine	fluoxetine + tranylcypromine	tramadol + tranylcypromine	tramadol + 5-HTP
Поведенчески	Главни	тъпчене с предните лапа	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
		head weaving [a]	+	+	+	–	–
		отвеждане на задния крайник	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
		ниска стойка на тялото	–	+	–	–	–
		феномен на Straub	+	+	+	+	+
		тремор	+	+	+	–	–
		движение назад	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
	Второстепенни	потрепване на тялото	+	+	+	–	–
		дъвчене	–	+	–	–	–
		head shakes [b]	+	+	+	–	–
		head twitches [c]	–	–	–	–	–
		хиперактивност	+	+	–	–	–
		хиперреактивност	–	–	–	–	–
		повишена локомоторна активност	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
		миоклонус	–	–	–	–	–
		повдигане на задни лапи	–	+	–	–	–
		ригидност	–	–	–	–	–
		wet dog shake [d]	–	+	–	–	–
Автономни		повишаване на телесната температура	+	+	+	+	+
		ретракция на долната устна	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
		ерекция на пениса	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
		пилоерекция	+	+	+	+	+
		саливация	+	+	–	–	–

Отбелязани (+) са само проявите, които са били отчетени при минимум 3 от експерименталните животни за всяка група (n=6); Макар и близки, термините *head weaving* [a], *head shakes* [b] и *head twitches* [c] се различават: a – хоризонтално движение на главата, b - кратки и отсечени движения на главата в различни посоки, c - резки движения на главата само от врата, d - разтърсване на тялото като "мокро куче". Заради леко изразената принудителна фиксация на експерименталните животни, необходима за отчитане на ректалната им температура, не беше възможно да се отчетат симптоми на проявяващисе при свободно движение на животните (като тъпчене с предните лапи, отвеждане на задния крайник и движение назад, локомоторна активност) или такива, които не могат да бъдат наблюдавани заради принудителната поза (като ретракция на долната устна и ерекция на пениса), поради което в таблицата са означени като неприложими (not applicable, N/A)

1.2. Промяна в телесната температура при експериментални модели на серотонинов синдром и нейното фармакологично повлияване

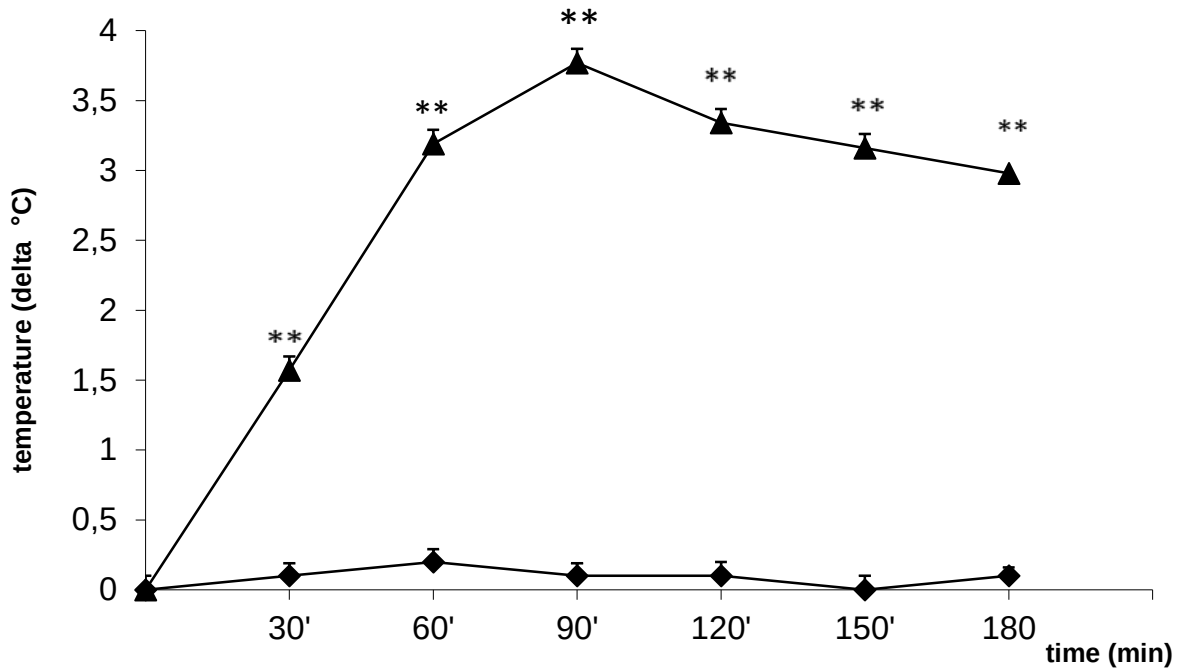
1.2.1. Хипертермия индуцирана от комбинираното приложение на антидепресанти и опиоиди със серотонинергичен механизъм на действие

Комбинираното приложение на *5-HTP (100 mg/kg i.p.) и clorgyline (2 mg/kg i.p.)* предизвика развитието на хипертермична реакция на 30 мин., а максимална стойност беше наблюдавана на 60 мин. след инжектирането на серотонинергичните вещества (фигура 3).



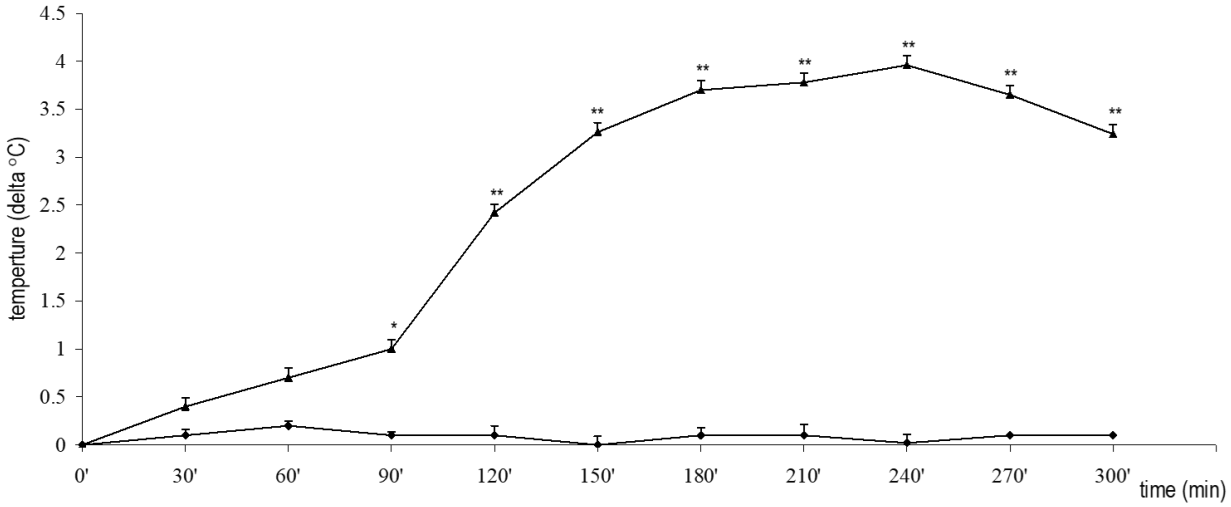
Фигура 3. Промяна в телесната температура при модел на серотонинов синдром предизвикан от комбинираното приложение на *5-HTP и clorgyline.* Средна промяна на телесната температура на плъхове (temperature delta °C) след прилагане на ■ ***5-HTP*** (100 mg/kg i.p.) + ***clorgyline*** (2 mg/kg i.p.) и ◆ 0,9 % ***NaCl*** (контрола). Статистическа значимост в сравнение с NaCl: **$p < 0.01$.

Комбинираното приложение на *5-HTP (100 mg/kg i.p.)* и *tranylcypromine (3,5 mg/kg i.p.)* предизвика развитието на хипертермична реакция на 30 мин., а максимална стойност беше наблюдавана на 90 мин. след инжектирането на серотонинергичните вещества (фигура 4).



Фигура 4. Промяна в телесната температура при модел на серотонинов синдром предизвикан от комбинираното приложение на *5-HTP* и *tranylcypromine.* Средна промяна на телесната температура на плъхове (temperature delta °C) след прилагане на ▲ ***5-HTP*** (100 mg/kg i.p.) + ***tranylcypromine*** (3,5 mg/kg i.p.) и ◆ 0,9 % ***NaCl*** (контрола). Статистическа значимост в сравнение с NaCl: **p < 0.01.

Комбинираното приложение на *fluoxetine (10 mg/kg i.p.)* и *tranylcypromine (3,5 mg/kg i.p.)* предизвика развитието на хипертермична реакция на 90 мин., а максимална стойност беше наблюдавана на 240 мин. след инжектирането на серотонинергичните вещества (фигура 5).



Фигура 5. Промяна в телесната температура при модел на серотонинов синдром предизвикан от комбинираното приложение на *fluoxetine* и *tranylcypromine*. Средна промяна на телесната температура на плъхове (temperature delta °C) след прилагане на ▲ ***fluoxetine*** (10 mg/kg i.p.) + ***tranylcypromine*** (3,5 mg/kg i.p.) и ◆ 0,9 % ***NaCl*** (контрола). Статистическа значимост в сравнение с NaCl: *p < 0.05, **p < 0.01.

Комбинираното приложение на *tramadol (20 mg/kg i.p.)* и *tranylcypromine (3,5 mg/kg i.p.)* предизвика статистически значимо повишаване на телесната температура на животните на 30 и 60 мин. от началото на експеримента. Максимално повишаване на телесна температура с 1.23 °C спрямо изходната беше отчетено на 30 мин. При едно от експерименталните животни беше отчетено покачване на телесната температура до 40.14 °C на 30 мин. след инжектирането на серотонинергичните вещества (таблица 13).

Комбинираното приложение на *tramadol (20 mg/kg i.p.)* и *5-HTP (3,5 mg/kg i.p.) предизвика* статистически значимо повишаване на телесната температура на животните между 60 и 180 мин. Максимално повишаване на телесна температура с 1.49 °C спрямо изходната беше отчетено на 120 мин. след инжектирането на серотонинергичните вещества. При едно от експерименталните животни беше наблюдавано покачване на телесната температура до 40.03 °C на 60 мин. от началото на експеримента (таблица 13).

Таблица 13. Промяна в телесната температура, предизвикана от комбинираното приложение на tramadol (20 mg/kg i.p.) и tranylcypromine (3,5 mg/kg i.p.) и tramadol (20 mg/kg i.p.) и 5-HTP (3,5 mg/kg i.p.).

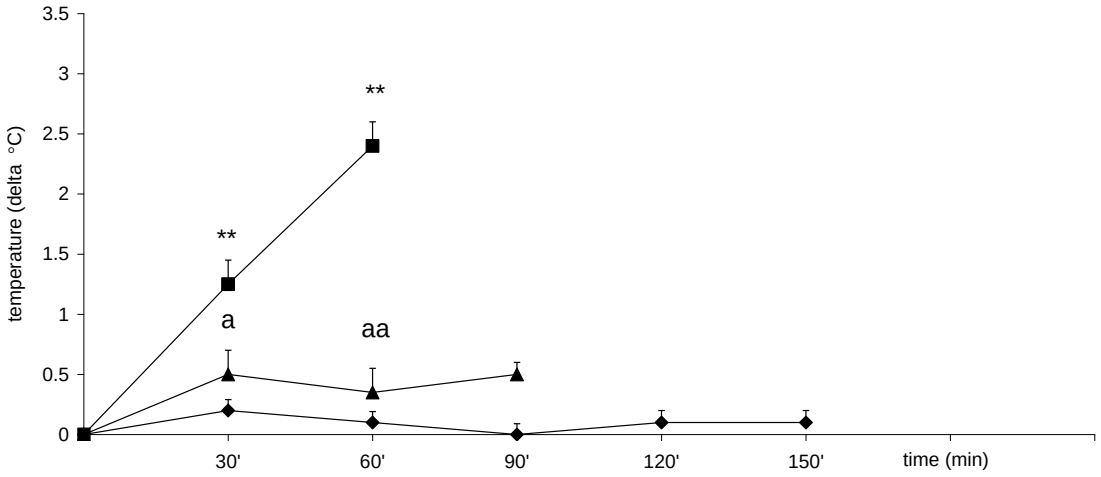
Модел	**Средна температура**						
	Изходна	**30 мин.**	**60 мин.**	**90 мин.**	**120 мин.**	**150 мин.**	**180 мин.**
Tramadol + Tranylcypromine	**37.37**	**38.60***	**38.54***	**38.11**	**37.67**	**37.35**	**37.30**
Tramadol + 5-HTP	**37.34**	**37.58**	**38.32***	**38.45***	**38.83****	**38.31***	**38.39***

Статистическа значимост в сравнение с NaCl: *p < 0.05, **p < 0.01.

1.2.2. Повлияване на хипертермичната реакция от ГАМК-ергични вещества

Ефект на ***diazepam*:**

Предварителното приложение на *diazepam* в доза 5 mg/kg (i.p.) на плъхове с модел на серотонинов синдром, предизвикан от инжектирането на *5-HTP* и *clorgyline* доведе до намаляване на хипертермичната реакция на 30 мин. в сравнение с групата с модел на серотонинов синдром (*5-HTP* + *clorgyline*), при която преди инжектирането на серотонинергичните вещества беше въведен физиологичен разтвор (фигура 6).

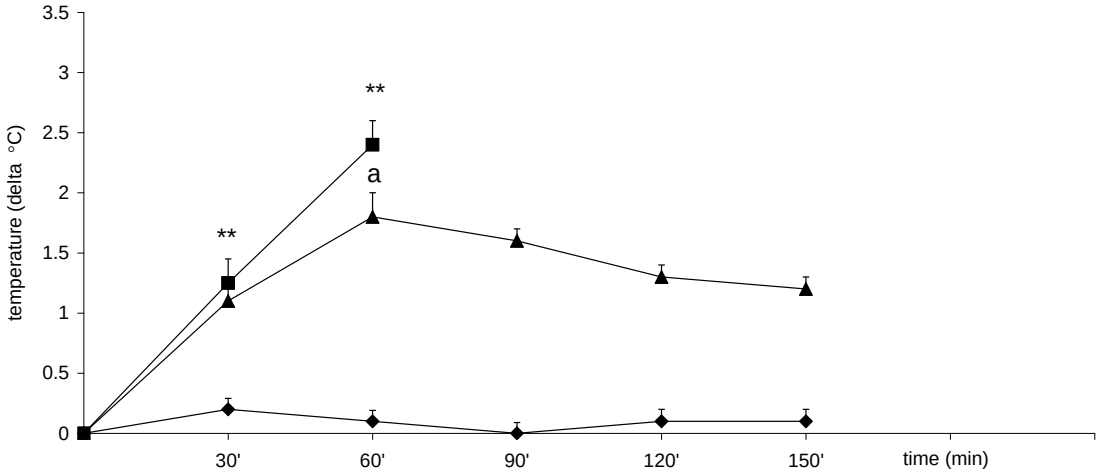


Фигура 6. Ефект на *diazepam* върху хипертермичната реакция при модел на серотонинов синдром, предизвикан от приложението на *5-HTP* и *clorgyline*.

Средна промяна на телесната температура на плъхове (temperature delta °C) след прилагане на: ■ 0,9 % ***NaCl*** + ***5-HTP*** (100 mg/kg i.p.) + ***clorgyline*** (2 mg/kg i.p.); ▲ ***diazepam*** (5 mg/kg i.p.) + ***5-HTP*** (100 mg/kg i.p.) + ***clorgyline*** (2 mg/kg i.p.) и ◆ 0,9 % ***NaCl***. Статистическа значимост: в сравнение с NaCl: **$p < 0.01$; в сравнение с 0,9 % ***NaCl*** + ***5-HTP*** (100 mg/kg i.p.) + ***clorgyline*** (2 mg/kg i.p.); $^{a}p < 0.05$, $^{aa}p < 0.01$.

Ефект на ***vigabatrin*:**

Предварителното приложение на *vigabatrin* в доза 300 mg/kg (i.p.) на плъхове с модел на серотонинов синдром, предизвикан от инжектирането на *5-HTP* и *clorgyline* доведе до намаляване на хипертермичната реакция на 60 мин в сравнение с групата с модел на серотонинов синдром (*5-HTP + clorgyline*), при която преди инжектирането на серотонинергичните вещества беше въведен физиологичен разтвор (фигура 7).



Фигура 7. Ефект на *vigabatrin* върху хипертермичната реакция при модел на серотонинов синдром предизвикан от *5-HTP* и *clorgyline*. Средна промяна на телесната температура на плъхове (temperature delta °C) след прилагане на: ■ 0,9 % ***NaCl*** + ***5-HTP*** (100 mg/kg i.p.) + ***clorgyline*** (2 mg/kg i.p.); ▲ ***vigabatrin*** (300 mg/kg i.p.) + ***5-HTP*** (100 mg/kg i.p.) + ***clorgyline*** (2 mg/kg i.p.) и ◆ 0,9 % ***NaCl***. Статистическа значимост: в сравнение с NaCl: **p < 0.01; в сравнение с 0,9 % ***NaCl*** + ***5-HTP*** (100 mg/kg i.p.) + ***clorgyline*** (2 mg/kg i.p.); $^{a}p < 0.05$.

1.2.3. Повлияване на хипертермичната реакция от 5-НТ-рецепторни антагонисти

Ефект на ***cyproheptadine*:**

Предварителното приложение на *cyproheptadine* в доза 10 mg/kg (i.p.) на плъхове с модел на серотонинов синдром, предизвикан от инжектирането на *fluoxetine* и *tranylcypromine* потисна развитието на хипертермична реакция (таблица 15).

Ефект на ***propranolol*:**

Предварителното приложение на *propranolol* в доза 10 mg/kg (i.p.) на плъхове с модел на серотонинов синдром, предизвикан от инжектирането на *fluoxetine* и *tranylcypromine* потисна развитието на хипертермичната реакция (таблица 14).

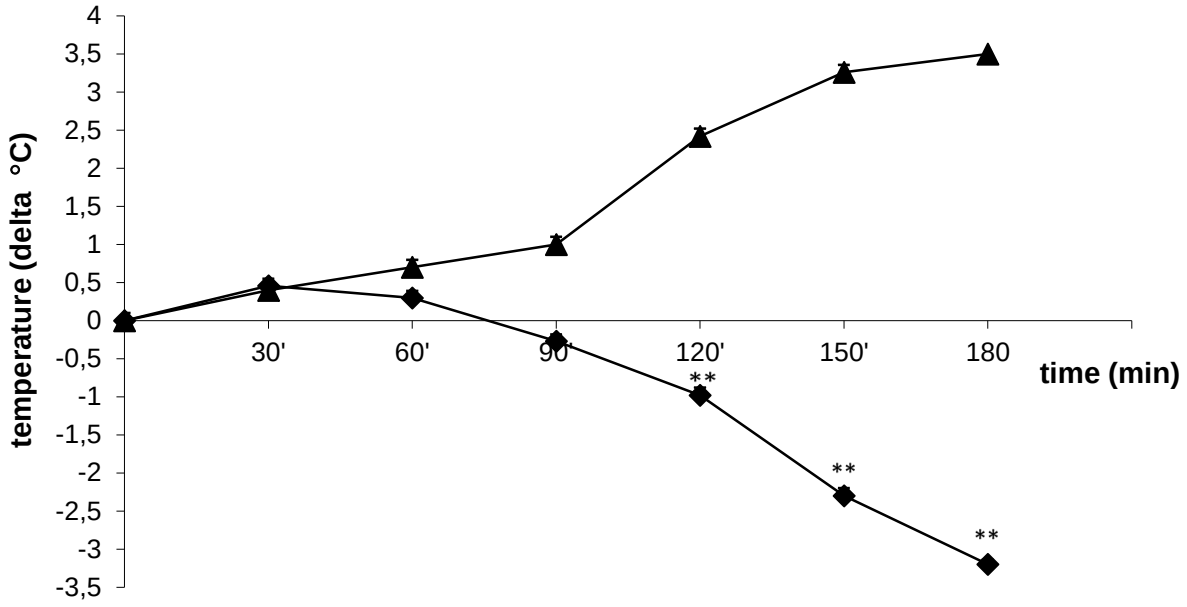
Таблица 14. Ефект на *cyproheptadine и propranolol* върху хипертермичната реакция при модел на серотонинов синдром, предизвикан от *fluoxetine* и *tranylcypromine.*

5-НТ-антагонист	Средна температура						
	Изходна	30 мин.	60 мин.	90 мин.	120 мин.	150 мин.	180 мин.
Cyproheptadine	**37.39**	**37.57**	**37.22**	**36.37***	**35.98****	**35.68****	**35.56****
Propranolol	**37.46**	**36.29***	**36.28***	**35.72****	**35.38****	**35.17****	**35.21****

Статистическа значимост в сравнение с NaCl: *p < 0.05, **p < 0.01.

Ефект на ***asenapine*:**

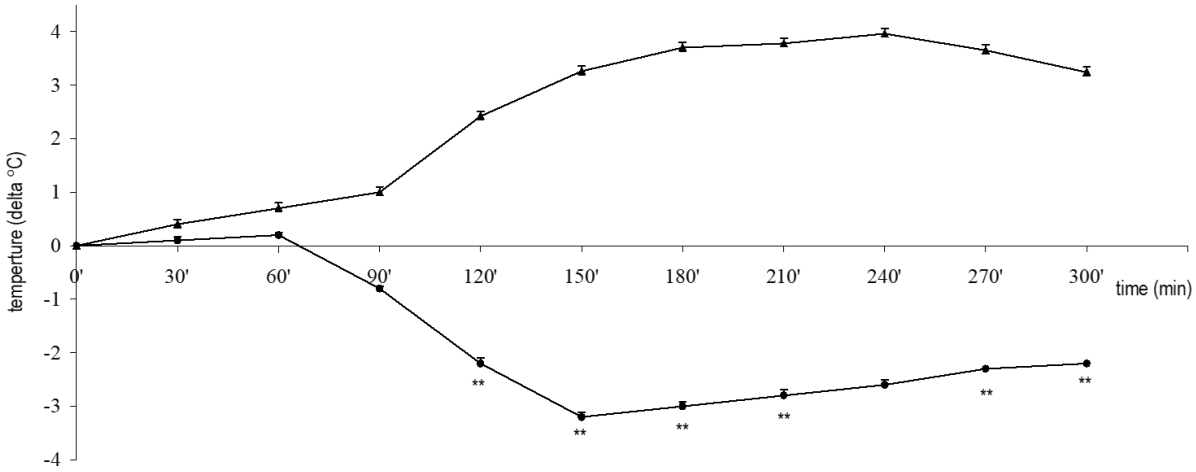
Предварителното приложение на *asenapine* в доза 10 mg/kg (i.p.) на плъхове с модел на серотонинов синдром, предизвикан от инжектирането на *fluoxetine* и *tranylcypromine* потисна развитието на хипертермичната реакция (фигура 8, таблица 16).



Фигура 8. Ефект на *asenapine* върху хипертермичната реакция при модел на серотонинов синдром предизвикан от *fluoxetine* и *tranylcypromine*. Средна промяна на телесната температура на плъхове (temperature delta °C) след прилагане на ▲ ***fluoxetine*** (10 mg/kg i.p.) + ***tranylcypromine*** (3,5 mg/kg i.p.) и ◆ ***asenapine*** (0,6 mg/kg i.p.) + ***fluoxetine*** (10 mg/kg i.p.) + ***tranylcypromine*** (3,5 mg/kg i.p.). Статистическа значимост в сравнение с ***fluoxetine*** (10 mg/kg i.p.) + ***tranylcypromine*** (3,5 mg/kg i.p.): **$p < 0.01$.

Ефект на ***olanzapine*:**

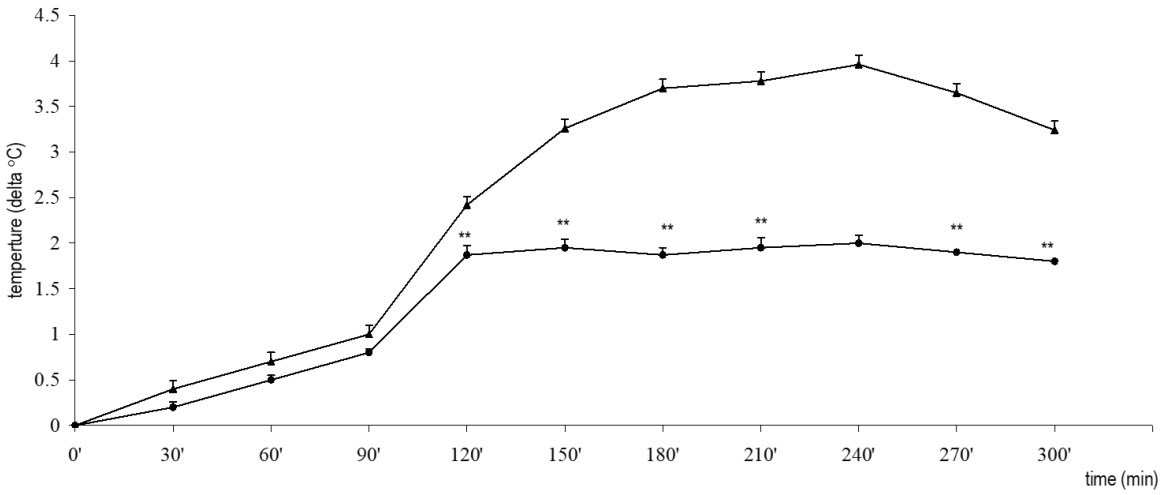
Предварителното приложение на *olanzapine* в доза 5 mg/kg (i.p.) на плъхове с модел на серотонинов синдром, предизвикан от инжектирането на *fluoxetine* и *tranylcypromine* потисна развитието на хипертермичната реакция (фигура 9, таблица 16).



Фигура 9. Ефект на *olanzapine* върху хипертермичната реакция при модел на серотонинов синдром предизвикан от *fluoxetine* и *tranylcypromine.* Средна промяна на телесната температура на плъхове (temperature delta °C) след прилагане на ▲ ***fluoxetine*** (10 mg/kg i.p.) + ***tranylcypromine*** (3,5 mg/kg i.p.) и ■ ***olanzapine*** (5 mg/kg i.p.) + ***fluoxetine*** (10 mg/kg i.p.) + ***tranylcypromine*** (3,5 mg/kg i.p.). Статистическа значимост в сравнение с ***fluoxetine*** (10 mg/kg i.p.) + ***tranylcypromine*** (3,5 mg/kg i.p.); *p < 0.05, **p < 0.01.

Ефект на ***risperidone*:**

Предварителното приложение на *risperidone* в доза 1 mg/kg (i.p.) на плъхове с модел на серотонинов синдром, предизвикан от инжектирането на *fluoxetine* и *tranylcypromine* доведе до намаляване на хипертермичната реакция на 120 мин в сравнение с групата с модел на серотонинов синдром (фигура 10).



Фигура 10. Ефект на *risperidone* върху хипертермичната реакция при модел на серотонинов синдром предизвикан от *fluoxetine* и *tranylcypromine*. Средна промяна на телесната температура на плъхове (temperature delta °C) след прилагане на ▲ ***fluoxetine*** (10 mg/kg i.p.) + ***tranylcypromine*** (3,5 mg/kg i.p.) и ■ ***risperidone*** (1 mg/kg i.p.) + ***fluoxetine*** (10 mg/kg i.p.) + ***tranylcypromine*** (3,5 mg/kg i.p.). Статистическа значимост в сравнение с ***fluoxetine*** (10 mg/kg i.p.) + ***tranylcypromine*** (3,5 mg/kg i.p.); **$p < 0.01$.

Сравнително изследване на ефектите на ***asenapine*** и ***olanzapine*** с ефекта на ***cyproheptadine*** върху хипертермията, наблюдавана при лекарствено индуциран серотонинов синдром:

Резултатите от настоящето проучване показват, че предварителното прилагане на asenapine (в доза 0.6 mg/kg, i.p.) или olanzapine (в доза 10 mg/kg, i.p.) ефективно повлияха хипертермичната реакция при модел на серотонинов синдром у плъхове, сравнимо с ефекта на cyproheptadine (таблица 15).

Таблица 15. Сравнително изследване на ефектите на *asenapine* и *olanzapine* с ефекта на *cyproheptadine* върху хипертермията, наблюдавана при лекарствено индуциран серотонинов синдром, предизвикан от *fluoxetine* и *tranylcypromine.*

5-HT$_2$-антагонист	**Средна температура**						
	Изходна	**30 мин.**	**60 мин.**	**90 мин.**	**120 мин.**	**150 мин.**	**180 мин.**
Cyproheptadine	**37.39**	**37.57**	**37.22**	**36.37***	**35.98****	**35.68****	**35.56****
Asenapine	**37.06**	**37.52**	**37.36**	**36.79**	**36.08***	**34.76****	**33.90*****
Olanzapine	**37.09**	**37.18**	**37.00**	**36.20***	**35.60****	**35.20****	**35.50****

Статистическа значимост в сравнение с NaCl: *p < 0.05, **p < 0.01.

2. Концентрацията на серотонин в кръвен серум на мъжки плъхове Wistar с метод ELISA

Концентрацията на серотонин в кръвния серум на експерименталните животни беше определена чрез метода ELISA. Приблизително еднаква концентрация на серотонин от 1.74 ng/ml беше отчетена в кръвния серум на експерименталните животни от контролната група, както и тези с модел на серотонинов синдром с или без приложението на 5-НТ-рецепторни антагонисти (таблица 16). Въпреки наличието на изразени поведенчески и автономни прояви, повишена концентрация на серотонин в серума на експерименталните животни не се установи.

Таблица 16. Концентрация на серотонин в кръвен серум на плъхове с модел на серотонинов синдром

Група	Доза (mg/kg)	Брой животни (n)	Концентрация (ng/ml)
Контрола	**-**	**6**	**1.7403**
Модел на серотонинов синдром	**10 (fluoxetine)** **3.5 (tranylcypromine)**	**6**	**1.7416**
Asenapine	**0.6**	**6**	**1.7425**
Cyproheptadine	**10**	**6**	**1.7423**

3. Регулаторни проблеми при някои антидепресанти и опиоиди предизвикващи серотонинов синдром

Антидепресанти

От групата на селективните инхибитори на обратното захващане на серотонина в България разрешени за употреба са: ***fluoxetine***, ***fluvoxamine***, ***citalopram***, ***escitalopram***, ***sertraline*** и ***paroxetine***. Лекарствените продукти, съдържащи тези активни вещества са разрешени по **национална** или **децентрализирана** процедура и се разпределят по начина представен на таблица 17.

Таблица 17. Лекарствените продукти, съдържащи SSRIs разрешени за употреба по национална или децентрализирана процедура

Оригинален продукт	Генерични продукти
Fluoxetine	няма представени
Fluvoxamine	няма представени
Citalopram	2 генерични продукта
Escitalopram	11 генерични продукта
Sertraline	5 генерични продукта
Paroxetine	5 генерични продукта

Прегледани бяха кратките характеристики и листовки за пациента на общо 29 разрешени за употреба лекарствени продукта съдържащи горепосочените лекарствени вещества като същите бяха сравнени с информацията за референтните продукти, разрешени за употреба в ЕС.

Критериите, по които бяха сравнени са:

- специални предупреждения и предпазни мерки при употреба
- нежелани лекарствени реакции

През 2005 година в ЕС е приключила арбитражна процедура по чл. 31 от Директива 2001/83/ЕС за **всички SSRIs-съдържащи лекарствени продукти**, във връзка с установен **повишен риск от суицидни мисли и суицидно поведение при деца и юноши.** В този период България още не е била член на ЕС, но регулаторната рамка е била изцяло хармонизирана с европейските изисквания, с оглед предстоящото присъединяване на страната. С оглед на това, още в този пред-присъединителен период всички притежатели на разрешение за употреба (ПРУ) на съществено-подобни (генерични) лекарствени продукти са предприели необходимите мерки за уеднаквяване на информацията за продуктите (КХП и ЛП) с референтните такива по отношение на терапевтични индикации и противопоказания.

Същевременно следните факти правят впечатление:

Citalopram

При един продукт разрешен за употреба по **национална** процедура, информацията не е актуализирана от 2011 година.

Sertraline

От наличните 5 генерични продукти 1 е получил РУ по децентрализирана процедура, а останалите 4 са получили РУ по национална процедура. След първоначалната хармонизация на информацията за продуктите, при едно **национално** РУ се наблюдава липса на актуализация на КХП от 2011 година.

Paroxetine

През 2018 година Комитетът за лекарствена безопасност, след приключена процедура за единна оценка на периодични доклади за безопасност (PSUSA) на лекарствени продукти, съдържащи *paroxetine* е излязъл с препоръка **за включване на „бруксизъм“ като нежелана лекарствена реакция с неизвестна честота.** Съгласно действащата регулаторна рамка този тип промени следва да бъдат имплементирани от ПРУ в рамките на предварително зададена от PRAC (Комитет за оценка на риска в проследяването на лекарствената безопасност) крайна дата и Изпълнителната агенция по лекарствата (ИАЛ) да бъде информирана до 14 дни след имплементирането й.

Резултатите от проведеното проследяване на информацията за продуктите, съдържащи *paroxetine* показва, че от всички 6 лекарствени продукта (от които 4 са

разрешени по национална процедура и 2 по DCP) при 1 е подадено заявление за промяна тип IB, която предполага имплементиране до 6 месеца след одобрението и един ПРУ не е актуализирал информацията за продукта си.

Допълнително, на 16 май 2019 Комитетът за лекарствена безопасност към EMA (PRAC) е разгледал информация от сигнали за **нежелани лекарствени реакции** за някои антидепресанти (налични в EudraVigilance, научната литература, социалните медии и кумулативни доклади, предоставени от ПРУ): Fluoxetine (Elililly), Citalopram, Escitalopram (Lundbeck), Fluvoxamine (Mylan), Sertraline, Paroxetine (Gsk), Vortioxetine, Venlafaxine (Almirall), Desvenlafaxine (Pfizer), Duloxetine, Milnacipran (Pierrefabre), Clomipramine (Alfasigma).

След анализ на получените съобщения и предоставената допълнителна информация PRAC взема решение, че всчки ПРУ на продукти, съдържащи тези активни вещества трябва да подадат заявления за промяна в информацията за продуктите в рамките на следващите два месеца.

От проследяване на наличната информация може да се направи извода, че притежателите на разрешения за употреба по **национална** процедура **не се съобразяват** с препоръките на Комитета по лекарствена безопасност и **не въвеждат своевременно** новите данни за безопасност на продуктите си в информацията, която се разпространява до медицинските специалисти и до пациентите.

Опиоиди

Dextromethorphan

По време на оценката на периодични доклади за безопасност (ПДБ) през 2018 година (*PSUSA/00001009/201811)* Комитетът по лекарствена безопасност публикува следното становище:

На база на прегледа на постмаркетинговите данни, PRAC препоръчва добавянето на предупреждения в точка 4.4 на КХП относно: **серотонинов синдром**, лекарствена зависимост и **употреба при деца**. Освен това, тъй като рискът от предозиране е допълнително охарактеризиран чрез оценяване на постмаркетинговото наблюдение, PRAC счита, че информацията относно симптомите и лечението на предозиране

трябва да бъде включена в точка 4.9 на КХП. Препоръчва се актуализиране на листовката.

Засегнати продукти са:

- Stopex 30 mg таблетки
- Demephan 3,42 mg/ml сироп
- Dinarex 1,5 mg/ml сироп

Tramadol

(PSUSA/00003002/201705)

Въз основа на прегледа на наличните в литературата данни и предвид приноса на работната група по фармакогеномика (PGWP) и педиатричния комитет (PDCO), PRAC препоръчва да се добави строго предупреждение в точка 4.4 на КХП за това, че **трамадол се метаболизира чрез CYP2D6**, както и за **употребата му при деца в постоперативен период** и **деца с компрометирана дихателна функция**. Освен това, тъй като рисковете от зависимост и симптомите на отнемане са по-добре характеризирани чрез оценката на наличните в литературата данни и постмаркетинговото наблюдение, точка 4.4 на КХП трябва да се актуализира съответно (таблица 18).

Таблица 18. Лекарствените продукти, съдържащи tramadol, за които промяната не е имплементирана.

Продукти, за които промяната НЕ е имплементирана	Продукти, за които промяната НЕ е имплементирана, но предстои
• Tramadol STADA 50 mg/ml инжекционен разтвор • Tramadol KRKA 50 mg твърди капсули	• Tramadol KRKA 50 mg/ml инжекционен разтвор • Tramadol KRKA 100 mg/2 ml инжекционен разтвор • Doreta SR 75 mg/650 mg таблетки с удължено освобождаване

Suboxone (buprenorphine/naloxone)

През 2016 г. FDA предупреждава за няколко проблема свързани с безопасността на приложение на опиоидните аналгетици (в това число и риск от развитие на серотонинов синдром), които са наложили промяна в КХП и ЛП. Доказателствата се основават на 43 случая докладвани от FAERS, при които опиоидите са били използвани едновременно със серотонинергични лекарства (без докладвани случаи на серотонинов синдром при монотерапия). Сред посочените данни, опиоидите най-често асоциирани със серотонинов синдром са *fentanyl, oxycodone* и *methadone*.

На базата на тези събития ЕМА в сътрудничество с PRAC предприемат преразглеждане на данните за централно оторизираните продукти (CAPs). По това време КХП в Европа съдържащи *fentanyl* са били с вече посочен серотонинов синдром, следователно никакви действия не са били необходими.

Въпреки това, в КХП на продукта ***Suboxone (buprenorphine/naloxone)*** не се споменава серотонинов синдром и единственото предупреждение касаещо антидепресанти е в т.4.5., както следва: **„едновременното приложение на моноаминооксидазни (МАО) инхибитори може да доведе до усилване на ефектите на опиоидите въз основа на опита с морфин“** и „други депресанти на централната нервна система, други опиатни производни (напр. метадон, аналгетици и антитусиви), определени **антидепресанти**, седативни H1-рецепторни антагонисти, барбитурати, анксиолитици, различни от бензодиазепини, невролептици, клонидин и сродни вещества: **тези комбинации повишават потискането на централната нервна система**“

Още повече, при преглед на информацията налична в базата данни на EudraVigilance проведен през август 2019 г. бяха намерени общо 22 случая на серотонинов синдром с участието на ***Suboxone.***

С оглед на известния риск от взаимодействие между опиоиди и антидепресанти водещо до развитието на серотонинов синдром (което е добре описано в „информацията за продукта“ в САЩ, но не и в КХП в Европа) и като се вземат под внимание наличните данни от EudraVigilance и литературата:

1. PRAC препоръчва сигналът да бъде допълнително оценен. От ПРУ се изисква:

- Да предостави общ преглед на цялата налична информация (спонтанни доклади, литература, база данни за безопасност и клинични изпитвания) за употребата на *buprenorphine/naloxone* свързана с развитието на „серотонинов синдром“. Причинно-следствената връзка при всеки един случай трябва да бъде представена в съответствие с установените гайдлайни на СЗО (WHO-UMC causality assessment guideline)
- Въз основа на резултатите от този преглед ПРУ трябва да обсъди необходимостта от актуализиране на информацията за продукта и/или да представи план за управление на риска за Suboxone.

2. Имайки предвид наличните данни в EudraVigilance (EV) и в литературата относно сигнали за серотонинов синдром асоцииран с взаимодействието между **комбинацията *buprenorphine/naloxone* и други серотонинергични лекарства**, PRAC се съгласява допълнително да извърши анализ на базата данни в EV на серотонинов синдром асоцииран с взаимодействие на ***buprenorphine*** **като самостоятелна активна съставка и други серотонинергични лекарства**.

V. ОБСЪЖДАНЕ НА РЕЗУЛТАТИТЕ

Серотонинов синдром е възможно да се наблюдава като резултат на предозиране на серотонинергични лекарства или на взаимодействия при комбинирано прилагане на две или повече лекарства, повишаващи синаптичната концентрация на серотонин. Сред всички серотонинергични медикаменти, антидепресантите са най-честите причинители на серотонинов синдром, като най-често се докладва участието на SSRIs и в по-малка степен SNRIs, ТЦА и МАО-инхибиторите. [2]

През 2016 г. FDA публикува съобщение касаещо лекарствената безопасност (drug safety communication, DSC) относно риска от развитие на серотонинов синдром при едновременната употребата на опиоиди с други лекарства, особено антидепресанти и лекарства за лечение на мигрена. [28, 164, 165]

Това съобщение се появява няколко години след като още през 2009 г. FDA сигнализира за проблеми свързани с безопасността на приложение на някои опиоидни аналгетици като *tramadol*, *tapentadol* и *pethidine*, което е насочило вниманието към потенциалния риск от развитие на серотонинов синдром в резултат на лекарствени взаимодействия. Това от своя страна е наложило нанасянето на корекции в КХП и ЛП за съответните продукти. [164]

Още повече, анализ на регистрираните случаи на серотонинов синдром във френската база данни за проследяване на лекарствената безопасност посочва, че най-честата лекарствена комбинация асоциирана с развитието на серотонинов синдром е тази между антидепресантите от групата на SSRIs и опиоидните аналгетици. [2]

Серотониновият синдром се характеризира с триада от симптоми, включващи нарушения на психичния статус, автономна дисрегулация и невромускулна хиперреактивност. Счита се, че изявата на синдрома при животни наподобява тази при хора. Прояви на серотонинова токсичност са описани при различни животински видове като кучета [166–168], зайци [169, 170], котки [167], морски свинчета [171, 172], маймуни [173–175], гълъби [169] и др. Въпреки това, най-много литературни данни, респективно най-много проучвания, има върху развитието на серотонинов синдром при мишки и плъхове. [146]

В литературата са описани два класически модела на серотонинов синдром у плъхове индуцирани чрез комбинирането приложение на серотонинергични вещества с различен механизъм на действие: 5-HTP (100 mg/kg i.p.) – прекурсор на серотонин и clorgyline (2 mg/kg i.p.) – селективен MAO-A инхибитор [33] и fluoxetine (10 mg/kg i.p.) – селективен инхибитор на невроналното захващане на серотонин и tranylcypromine (3,5 mg/kg, i.p.) – неселективен MAO инхибитор. [31]

Нашите изследвания потвърждават появата на описаните в литературата поведенчески симптоми на серотонинов синдром при плъхове като най-изразена проява беше наблюдавана при модела на серотонинов синдром индуциран от приложението на *5-HTP* и *tranylcypromine*.

Сред поведенческите реакции най-рано, до 30 мин., се наблюдаваха тремор, ниска стойка на тялото, феномен на Straub и „wet dog shake“. Счита се, че тези симптоми съответстват на наблюдаваната у хора със серотонинов синдром, невромускулна хиперреактивност с прояви на повишен мускулен тонус, миоклонус, клонус и др. [7, 16]. При всички животни беше отчетена хиперактивност отговаряща на описваните при хора със серотонинов синдром нарушения в менталния статус. [7, 16]

Лимитациите на нашето изследване се изразяват в леко изразена принудителна фиксация на експерименталните животни, необходима за отчитане на ректалната им температура. Поради това, не беше възможно да се отчетат симптоми на серотонинов синдром проявяващи се при свободно движение на животните като тъпчене с предните лапи, отвеждане на задния крайник, движение назад и др.

Описаните в литературата автономни прояви на серотонинов синдром при плъхове включват промяна в телесната температура, пилоерекция, саливация, екзофталм, ерекция и ретракция на долната устна и диария. [146] Анализът на Haberzettl et al. показва, че най-честата проява на автономна дисрегулация наблюдавана при плъхове със серотонинов синдром е промяната в телесната температура.

Това се потвърждава от нашите изследвания, при които повишаване на телесната температура на животните беше отчетено при всички експериментални модели на серотонинов синдром. Според John Hopkins University, за нормална телесена температура при плъхове се приема температурата между 35.9ºC и 37.5ºC. [176] Ние отчетохме покачване на телесна температура до 41.58ºC при модела на серотонинов

синдром индуцират от комбинираното приложение на прекурсура на серотонин *5-HTP* и неселективния МАО инхибитор *tranylcypromine*.

Въпреки разнообразието от поведенчески и автономни прояви характерни за проявата на серотонинов синдром при плъхове, именно хипертермията е отговорна за смъртността, която се описва при експерименталните животни.

В нашето изследване, инжектирането на прекурсура на серотонин 5-HTP и селективния МАО-А инхибитор *clorgyline* предивика смърт на всички експериментални животни между 60 и 90 мин. Летален изход беше наблюдаван и при едно от експерименталните животни инжектирано с прекурсура на серотонин 5-HTP и неселективния МАО инхибитор *tranylcypromine*. При модела на серотонинов синдром индуциран от приложението на селективния инхибитор на обратното захващане на серотонин *fluoxetine* и неселективния МАО инхибитор *tranylcypromine*, въпреки развитието на хипертермия, всички животни оцеляха до края на експеримента.

Както при животни, така и при хора, хипертермията е една от най-тежките автономни прояви на серотонинов синдром. [2, 5] Макар и не задължителен симптом, тя се наблюдава при тежките форми на серотонинов синдром и се свързва с лоша прогноза. Усложнения като бъбречна недостатъчност, гърчове, ДИК и др. наблюдавани при серотонинов синдром се дължат именно на развитието на хипертермия и нейното неадекватно лечение. [7]

Точно установена дефиниция на термина „хипертермия“ не съществува. Често тя се отъждествява с термина „фебрилитет/треска“. И двата термина описват състояние на повишена телесна температура. [141, 177, 178] Въпреки това, механизмът им на развитие и тяхното лечение, съществено се различават.

Поддържането на телесна температура в тесни граници е жизненоважно за оцеляването на всички бозайници, включително хората. [142] Телесната температура при човек се регулира от хипоталамуса и за нормална се приема температура от около 37 °C, въпреки че при здрави индивиди тя може да варира с до 1°C. [141] Хипоталамусът определя т.нар. “set point” или зададената нормална телесна температура. Някои състояния обаче могат да променят така зададения “set point”. Този патофизиологичен механизъм лежи в основата на развитието на

фебрилитет или треска. Фебрилитетът (треска) се дефинира като процес, при който телесната температура се повишава (≥ 38.3 °C) в резултат от промяна в зададената температура (“set point”) в хипоталамуса в отговор на действието на инфекциозни или неинфекциозни причинители. [179–182]

За разлика от фебрилитета, при хипертермията се развива хиперметаболитно състояние, при което няма промяна в зададената (“set point”) от хипоталамуса температура. Тялото се опитва да изравни повишената телесна температура до нормално зададената от хипоталамуса, но механизмите на охлаждане не успяват да се справят. [178] Разликите в патофизиологичните механизми на развитие на тези две състояния определят и различните подходи за лечение. Стандартните антипиретици, които се използват при фебрилитет (треска) понижават патологично повишената зададена температура в хипоталамуса (“set point”). Именно заради това, те се оказват неефективни в лечението на хипертермия, при която промяна в температурния “set point” няма. [178]

Предполага се, че хипертермичната реакция, наблюдавана при серотонинов синдром е свързана основно с активиране на 5-HT_{2A}-рецепторите. [33, 183] Експериментални изследвания потвърждават участието на 5-HT_{1A} и 5-HT_{2A} рецепторите в терморегулацията при плъхове. Така например, блокадата на 5-HT_2 рецепторите от *ketanserin* или *pirenperone* предизвиква понижаване на телесната температура, докато блокирането на 5-HT_{1A} рецепторите от *pindolol* резултира в повишаване на телесната температура. [184]

Това се потвърждава от нашите резултати, които показват, че предварителното прилагане на *cyproheptadine* и атипичните антипсихотици *asenapine* (в доза 0,6 mg/kg, i.p.), *olanzapine* (в доза 5 mg/kg, i.p.) и *risperidone* (в доза 1 mg/kg, i.p.) инхибира хипертермичната реакция при експериментален серотонинов синдром.

Cyproheptadine е антихистамин от първо поколение наличен под формата на таблетки и сироп за орално приложение, който освен H_1, блокира мускариновите (M_1, M_2, M_3) и серотонинвоите (5-HT_{2A}, 5-HT_{2C} и 5-HT_7) рецептори. [132, 185–187] Мултирецепторното действие на *cyproheptadine*, обяснява разнообразното му клинично приложение: при алергични състояния, сърбеж, като стимулатор на апетита, при хиперкинетични състояния на ГИТ като синдром на бързото изпразване на стомаха (dumping syndrome) и др. [185–188]

Въпреки че не е клинично одобрен, *cyproheptadine* е едонственият медикамент, който се използва “off label” в практиката за лечение на серотонинов синдром и асоцииранатa с него хипертермия. [7] Недостатък на *cyproheptadine* е, че е достъпен само в перорална форма, което ограничава използването на лекарството, ако пероралният прием не е възможен или вече е приложен активиран въглен.

Проучвания доказват, че *cyproheptadine* ефективно повлиява хипертермичната реакция при експериментален модел на серотонинов синдром. Още повече, сравнително изследване доказва, че за разлика от останалите 5-HT_2 антагонисти, той превентира както развитието на серотонинов синдром, така и смъртността на експерименталните животни. [33, 132]

Това се потвърждава и от нашите резултати, които демонстрират блокиране на хипертермичната реакция от *cyproheptadine* при експериментален серотонинов синдром.

Повечето атипични антипсихотици проявяват своето действие предимно чрез блокиране на 5-HT_2 рецепторите. За разлика от класическите (типични) антипсихотици, чиято класификация се основава на химичната им структура (фенотиазини, тиоксантени, бутирофенони и др.), класифицирането на атипичните антипсихотици се базира предимно на техния фармакодинамичен профил [189]. Това разделение отразява и съществените разлики в афинитета на отделните представители антипсихотици към различни рецептори – серотонинови (5-HT_{1-7}), допаминови (D_{1-5}), адренергични (α_{1-2}, β_{1-2}), мускаринови (M_{1-5}), хистаминови (H_1) и др.

Olanzapine и *asenapine* се класифицират като мултирецепторно действащи антипсихотици (multi-acting receptor-targeted antipsychotics, MARTA), които освен към серотониновите и допаминовите рецептори, проявяват афинитет и към рецептори от други системи (мускаринови, хистаминови и др.). [189]

Olanzapine е тиенобензодиазепинов дериват структурно близък до *clozapine* и е показан за лечение на шизофрения, остра мания и биполярно афективно разстройство. Наличен е в орална форма и депо форма за мускулно приложение. *Olanzapine* проявява по-голяма блокираща активност към 5-HT_{2A}, отколкото към D_2. За разлика от други атипични антипсихотици *olanzapine* блокира и редица други

рецептори като проявява висок афинитет към серотонинергичните (5-HT_{2C}, 5-HT_3 и 5-HT_6) и хистаминовите (H_1) рецептори; умерен към допаминовите (D_1 – D_5) и мускариновите (M_1 – M_5); и слаб към адренергичните (α_1 и α_2). [189]

Asenapine, наличен под формата на лингвети, е атипичен антипсихотик одобрен от EMA за лечение на биполярно разстройство, а от FDA за лечение и на шизофрения. [190] Asenapine проявява афинитет към почти всички серотонинови рецептори: 5-HT_{1A}, 5-HT_{1B}, 5-HT_{2A}, 5-HT_{2B}, 5-HT_{2C}, 5-HT_5, 5-HT_6 и 5-HT_7. Проявява афинитет още към допаминовите (D_1, D_2, D_3, D_4), адренергичните (α_1, α_{2A}, α_{2B}, α_{2C}) и хистаминовите (H_1 и H_2) рецептори, но има минимално действие върху мускариновите рецептори. [189]

За разлика от *asenapine* и *olanzapine*, *risperidone* се класифицира като серотонин-допаминов антагонист (serotonin-dopamine antagonist, SDA) и е първият атипичен антипсихотик произведен в депо форма за мускулно приложение показан за лечение на шизофрения и биполярно афективно разстройство. [189] *Risperidone* представлява бензизоксазолово производно с изразена селективност към 5-HT_{2A} и D_2 рецепторите и съотношение 5-HT_{2A}/D_2 около 20. Освен това *risperidone* притежава висок афинитет и към адренергичните (α_1 и α_2) рецептори, но нисък афинитет за хистаминовите (H_1) рецептори. [191]

В допълнение, *olanzapine* и *asenapine* в нашето изследване предизвикаха обръщане на хипертермичната реакция, предизвикана от комбинираното приложение на серотонинергичните вещества (fluoxetine и tranylcypromine) в хипотермична.

Температурната дисрегулация е документирана странична реакция на антипсихотичните лекарства. [192–196] Най-често тя се изразява в развитие на хипертермия, животозастрашаващ симптом характерен за малигнения невролептичен синдром (МНС). Данни от различни клинични случаи, обобщени в последните години от van Marum [192] и Zonnenberg [193, 194] показват, че приложението на класически или атипични антипсихотици крие риск от развитие и на друга, по-рядко документирана НЛР, а именно хипотермия. При хора, хипотермията се дефинира като телесна температура под 35 °C разграничавайки три степени: лека (33 – 35 °C), умерена (28 – 33 °C) и тежка (< 28°C) хипотермия. [193]

Въпреки че хипотермичният ефект на антипсихотиците е по-малко познат от хипертермичния изразяващ се в МНС, анализ на литературните данни показва, че са налични почти равен брой доклади за хипотермия (480 случая) и хипертермия (524 случая) асоциирана с приложението на антипсихотици. Zonnenberg et al. считат, че реалната честота на хипотермия свързана с употребата на антипсихотици е поне 10 пъти по-висока от документираната. [193] За първи път развитието на хипотермия след употребата на антипсихотични лекарства е описано от Loughnane при 26 годишна пациентка на терапия с *chlorpromazine*. [197]

Анализите на van Marum et al. и Zonnenberg et al. посочват, че хипотермията най-често се наблюдава седмица след започване на терапията с антипсихотик или след повишаване на дозата му. Те посочват още, че по-често се касае за употреба на атипични антипсихотици (приблизително 55 % от случаите), сред които най-често се докладва участието на *risperidone*. [192, 193, 198] Лека степен на хипотермия, свързана с приложение на ниска доза *risperidone* е наблюдавана и при дете с вербално и физическо агресивно поведение. [199]

От направените от van Marum и Zonnenberg анализи става ясно, че антипсихотици с по-голям афинитет за блокиране на 5-HT_{2A}, отколкото D_2 рецепторите, по-често са асоциират с развитие на хипотермия. Блокиране на перфиерните α адренергични рецептори също може да играе роля в засилване на хипотермичния ефект като се инхибира активирането на периферните механизми при охлаждане (вазоконстрикция и треперене). [193] Това може да обясни високата честота на докладвани случаи на хипотермия след приложение на *risperidone* – атипичен антипсихотик с изразена 5-HT_{2A} и изразена α блокираща активност.

Различни експериментални изследвания посочват ролята на 5-HT_2-рецепторите в участието на температурната дисрегулация характерна за атипичните антипсихотици, а други изследвания при плъхове съобщават за развитие на различен температурен отговор при антипсихотичните лекарства в зависимост околната температура: при температура под 22 °C се развива хипотермия, при 29 °C няма промяна в температурния отговор, а при 32 °C се развива хипертермия. [200, 201]

Експерименталните и клиничните изследвания показват, че атипичните антипсихотици *olanzapine* и *risperidone* предизвикват понижаване на телесната

температура и посочват, че механизмът на хипотермичното действие е свързано с блокиране на 5-HT_2-рецепторите. [196, 198, 199, 202]

Сред всички 5-HT_2-рецепторни антагонисти, най-добре проучена и доказана при серотонинов синдром е ефективността на *cyproheptadine*. Поради това, ние сравнихме ефекта на по-слабо изследвания атипичен антипсихотик *olanzapine* и неизследвания при това състояние атипичен антипсихотик *asenapine* с ефекта на *cyproheptadine* при експериментален модел на серотонинов синдром.

Резултатите от настоящето проучване показват, че предварителното прилагане на *asenapine* (в доза 0.6 mg/kg, i.p.) или *olanzapine* (в доза 10 mg/kg, i.p.) ефективно повлияха хипертермичната реакция при модел на серотонинов синдром у плъхове, сравнимо с ефекта на *cyproheptadine*.

Освен 5-HT_2 блокиращия механизъм, вероятно *asenapine* повлиява хипертермичната реакция при експериментален серотонинов синдром по комплексен начин и по-специфично чрез стимулиране на 5-HT_{1A} рецепторите.

Трябва да се отбележи, че серотонинът има различен афинитет за 5-HT_{1A} и 5-HT_{2A} рецепторите. Счита се, че той е 400 до 1000 пъти по-голям за 5-HT_{1A}, отколкото за 5-HT_{2A}. [146, 159, 203, 204] Например, след комбинирано приложение на прекурсора на серотонин *5-HTP* и МАО-А инхибитора *clorgyline*, телесната температура на плъховете се променя в зависимост от дозата на веществата. По-конкретно, хипотермия се наблюдава след прилагане на по-ниски дози, докато хипертермия се наблюдава при по-високи дози. [149, 205]

Инжектирането на серотонинергичните вещества в ниски дози води до по-слабо покачване на нивата на серотонин, с което биват окупирани предимно 5-HT_{1A} рецепторите, които медиират хипотермична реакция. Въвеждането на серотонинергичните вещества в по-високи дози води до покачване на нивата на серотонин, при което доминира активирането на 5-HT_{2A} рецепторите, предизвикващо развитието на хипертермична реакция.

Тези данни, както и резултатите от нашето проучване могат да допринесат за изясняване механизма на действие на *asenapine* и предизвикания от него хипотермичен ефект при експериментален серотонинов синдром.

Резултатите от нашето проучване показват още, че предварителното приложение на *propranolol* (в доза 10 mg/kg, i.p.) ефективно повлиява хипертермичната реакция при модел на серотонинов синдром.

Propranolol е неселективен бета блокер, който проявява и 5-HT_{1A}-блокиращо действие. Експериментални изследвания показват, че *propranolol* ефективно потиска развитието на хипертермична реакция при модел на серотонинов синдром индуцран от приложението на *5-HTP* и *clorgyline*. Въпреки това, данните сочат, че *propranolol* не подбрява преживяемостта на експерименталните животни при този модел на серотонинов синдром. [33]

Предполага се, че съществува функционално взаимодействие между 5-HT_{1A} и 5-HT_{2A} рецепторите при плъхове. [33, 146]

Това се потвърждава от нашето изследване, при което *propranolol*, който е и 5-HT_{1A}-антагонист, предотврати появата на поведенческите и автономните симптоми на серотонинов синдром медиирани както от 5-HT_{1A}, така и от 5-HT_{2A} рецепторите.

Освен серотонинергичната медиация, счита се, че и други медиаторни системи взимат участие в терморегулационните процеси. Така например, ГАМК е основен централен инхибиторен невротрансмитер, който участва още и в процесите на терморегулация. Потенциране на централното инхибиращо действие на ГАМК се постига по няколко различни механизма, включващи алостерично модулиране на $ГАМК_A$-рецепторите (бензодиазепини, барбитурати, Z-лекарства), директно $ГАМК_A$- или $ГАМК_B$-рецепторно агонистично действие (*muscimol, baclofen*), увеличен синтез на ГАМК (*gabapentin, pregabalin, sodium valproate*), потискане на ензимното разграждане на ГАМК (*vigabatrin, sodium valproate*) и инхибиране на невроналния и глиалния ъптейк на ГАМК (*tiagabine*). При централно и системно приложение на *diazepam*, и *vigabatrin* е установено доза-зависимо понижаване на телесната температура у плъхове. [206–209] Предполага се, че ГАМК-индуцираната хипотермия се медиира чрез активиране на $GABA_A$- и/или активиране на $GABA_B$-рецепторите. [140, 210] Хипотермичният ефект на *vigabatrin* настъпват по-късно в сравнение с индуцираната от *diazepam* хипотермия, което може да бъде обяснено с индиректния им механизъм на потенциране на ГАМК-ергичната медиация.

Ние допускаме, че в повлияването на хипертермията при серотонинов синдром от ГАМК-ергични вещества освен директни ГАМК-ергични механизми са включени и взаимодействия между невротрансмитери или медиаторни системи. Пресинаптично локализираните $GABA_B$-рецептори повлияват освобождаването на норадреналин, допамин и 5-хидрокситриптамин. [211] Установена е експресия предимно на $GABA_{B(1)}$-рецептори в повечето от серотонин-ергичните и катехоламин-ергичните неврони в ядрата на мозъчния ствол, които участват в регулацията на автономните функции. [212] Взаимодействията между GABA-ергичната и серотонин-ергичната система се осъществяват посредством пресинаптично хетерорецепторно $GABA_B$-инхибиране на освобождаването на 5-HT или посредством G-протеин-куплирано взаимодействие между $5\text{-}HT_{1A}$ и $GABA_B$-ергичните рецептори. [213]

Нашите изследвания установиха, че веществата с ГАМК-ергичен механизъм на действие *diazepam* и *vigabatrin* ефективно понижават хипертермичната реакция при експериментален серотонинов синдром у плъхове. Намаляването на хипертермията, индуцирана от серотонин-ергични вещества при предварителното прилагане на ГАМК-миметици най-вероятно се дължи на повишаването на централната ГАМК-ергична невротрансмисия чрез директно активиране на $ГАМК_A$-рецепторите (*diazepam*), както и чрез непряко действие посредством увеличаване на синаптичната концентрация на ГАМК (*vigabatrin*). Ефектите на изследваните ГАМК-миметици върху хипертермията, свързана със серотонинов синдром са в подкрепа на хипотезата за взаимодействие между ГАМК-ергичната и серотонинергичната система в процесите на терморегулация.

Литературните данни от последните години сочат, че най-често срещаната лекарствена комбинации водеща до развитието на серотонинов синдром е тази между антидепресанти и опиоиди. [2] Опиоидните аналгетици са едни от най-често изписваните лекарства в както в болнична среда, така и в амбулаторни условия. Те могат да предизвикат серотонинов синдром когато бъдат комбинирани с други серотонинергични медикаменти или когато биват приложени самостоятелно във високи дози. [28, 81, 145, 214–218] Доказано е, че *pethidine*, *tramadol*, *methadone* и други синтетични опиоиди инхибират функцията на SERT in vitro [145].

Експериментални изследвания при животни предоставят важна информация относно опиоид индуцирания ефлукс на серотонин в ЦНС. [219] Те показват, че

различните представители на опиоидите проявяват различен серотонинергичен механизъм на действие.

Докато μ- и δ- опиоидните агонисти предизвикват освобождаване на серотонин от dorsal raphe nucleus, те нямат ефект върху освобождаването на серотонин в median raphe nucleus или в nucleus accumbens. [219] За разлика от тях, κ-опиоидните агонисти произвеждат локално намаление на серотонина и в трите области на мозъка. Освен това изследователите откриват, че *morphine* (предимно μ-опиоиден агонист) не стимулира директно серотонергичните неврони. [220] Вместо това, той индиректно стимулира освобождаването на серотонин чрез активиране на опиоидни рецептори в ГАМК-ергичните и глутаматергичните неврони в dorsal raphe nucleus. [221]

Въпреки нарастващите клинични данни за комбинирано приложение на опиоиди и антидепресанти довело до развитие на серотонинов синдром, експериментални проучвания изследващи взаимодействието между двете фармакологични групи и потенциала за развитие на серотонинов синдром липсват.

Единствените проведени досега експерименти при животни са на Fox et al. (2009). [104, 145] Екипът учени изследва потенциала за развитие на серотонинов синдром на някои опиоиди със серотонинергичен механизъм на действие (*tramadol*, *pethidine* и *morphine*) приложени самостоятелно на SERT нокаут мишки (SERT -/-), хетерозиготен тип (SERT +/-) и див тип (SERT +/+) мишки.

Резултатите показват, че с изключение на *morphine*, останалите изследвани опиоиди (*tramadol* и *pethidine*), индуцират проявата на серотонинов синдром подобни симптоми, но предимно при мишките дефицитни на един (+/-) или два (-/-) гена за SERT. [104]

В допълнение, за да изследва потенциалния механизъм на индуциране на серотонинов синдром характерен за *tramadol*, екипът използва 5-HT_{1A} рецепторния антагонист WAY 100,635, който бива инжектиран на мишките минути преди приложението на *tramadol.*

Резултатите показват, че предварителното приложение на 5-HT_{1A} рецепторния антагонист WAY 100,635 предотвратява появата на симптоми на серотонинов

синдром при мишките дефицитни на един (+/-) или два (-/-) гена за SERT, но не и при дивия тип мишки (+/+).

Фактът, че *tramadol* индуцира симптоми характерни за серотонинов синдром при (+/-) и (-/-) мишки, но 5-HT_{1A} рецепторния антагонист предотвратява развитието на серотонинов синдром само при тези дефицитни и на двата гена (-/-), предполага, че зад развитието на серотонинов синдром предизвикан от *tramadol*, вместо самостоятелно активиране на постсинаптичните 5-HT_{1A} рецептори стои по-комплексен механизъм на действие.

Tramadol е възможно да индуцира серотонинов синдром при (+/-) мишки, като блокира SERT, увеличавайки извънклетъчните нива на серотонин, вместо директно да активира постсинаптичните 5-HT_{1A} рецептори, което изглежда е в основата на този отговор в (-/-) мишки. [104]

Кличните данни сочат, че най-честата лекарствена комбинация водеща до развитие на серотонинов синдром е тази между антидепресанти и опиоидни аналгетици, сред които най-често докладван е *tramadol*. [2] Поради това, ние решихме да изследваме експериментално у плъхове потенциала за развитие на серотонинов синдром след като *tramadol* е бил приложен едновременно с други серотонинергични вещества: прекурсора на серотонин *5-HTP* или неселективния МАО инхибитор *tranylcypromine*.

В нашето изследване комбинираното приложение на *tramadol* (20 mg/kg i.p) с *tranylcypromine* (3,5 mg/kg i.p.) или с *5-HTP* (100 mg/kg i.p.) доведе до покачване на ректалната температура на експерименталните животни. Наблюдавани бяха и някои симптоми като пилоерекция и феномен на Straub, който бе отчетен като симптом неспецифичен за серотонинов синдром, имайки предвид, че опиоидите самостоятелно могат да предизвикат такъв. Други поведенчески симптоми характерни за развитието на серотонинов синдром у плъхове не бяха наблюдавани.

Изборът на доза от 20 mg/kg бе направен по литературни данни за приложение на tramadol при плъхове с цел аналгезия, която варира от 20 mg/kg до 50 mg/kg. [222, 223] В нашето изследване ние приложихме най-ниската описана доза на *tramadol* за да се редуцира риска от развитието на седация асоциирана с приложението на по-високите дози опиоидни аналгетици, което би компрометирало проявата и

изследването на поведенчески и автономни реакции характерни за развитието на серотонинов синдром у плъхове.

Това може да обясни липсата на други проявени симптоми, както и по-слабото повишаване на телесната температура спрямо тази наблюдавана при останалите изработени от нас модели на серотонинов синдром (5-HTP и clorgyline; 5-HTP и tranylcypromine; fluoxetine и tranylcypromine).

Значимостта на различни лабораторни показатели в потвърждаване на диагнозата серотонинов синдром е била проучвана и изследвана. Въпреки разнообразната клинична изява, няма специфичен лабораторен показател, който да потвърди диагнозата серотонинов синдром. [7] Неспецифични отклонения включват електролитни нарушения, метаболитна ацидоза, повишен креатинин и повишени нива на серумната аминотрансфераза. Те се свързват с поишения мускулен тонус и възможна рабдомиолиза наблюдавани при някои от тежките форми на серотонинов синдром. [224–226] Изглежда концентрацията на серотонин в кръвта не корелира с тежестта на заболяването, тъй като в действителност тя не отразява интрасинаптичната концентрация на серотонин. В нашите изследвания, ние също не установихме повишена концентрация на серотонин в серума на експерименталните животни, въпреки наличието на значително изразени поведенчески и автономни прояви.

VI. ИЗВОДИ

1. При комбинирано системно приложение на антидепресанти (*5-HTP* и *clorgyline*; *5-HTP* и *tranylcypromine*; *fluoxetine* и *tranylcypromine*) у плъхове се предизвиква серотонинов синдром с характерни поведенчески и автономни реакции.
2. При предварително въвеждане на изследваните ГАМК-ергични средства или 5-HT_2-рецепторни антагонисти се установява редуциране на проявите на серотонинова токсичност у плъхове.
3. Предварително въвеждане на изследваните ГАМК-ергични средства или 5-HT_2-рецепторни антагонисти намалява хипертермичната реакция, която се развива при изследваните експериментални модели на серотонинов синдром.
4. Серотониновите антагонисти *olanzapine* и *asenapine* обръщат хипертермичната реакция, индуцирана при комбинирано приложение на антидепресанти в хипотермична.
5. *Asenapine* и *olanzapine* показаха ефективно повлияване на хипертермичната реакция, сравнимо с ефекта на *cyproheptadine*.
6. При направения от нас анализ на лекарствени продукти съдържащи антидепресанти и опиоиди разрешени по национална процедура се установяват регулаторни пропуски, които ще бъдат докладвани до ИАЛ и PRAC за своевременно предприемане на адекватни регулаторни промени.

VII. ПРИНОСИ

Постигнатите резултати имат фундаментален характер, но със значение за терапевтичната практика, тъй като някои лекарства с ГАМК-ергичен механизъм на действие (напр. анксиолитици, антиконвулсанти) показват ефективно повлияване на някои от симптомите на серотонинов синдром, включително хипертермията. Освен това изследваните в настоящото проучване *fluoxetine* (SSRI) и *tramadol* (опиоиден аналгетик) се използват широко в клиничната практика, а прилаганите за повлияване на серотонинов синдром 5-HT_2-рецепторни антагонисти *olanzapine*, *risperidone* и *asenapine* имат друго основно предназначение (антипсихотици).

В методологичен аспект използваните експериментални методи могат да бъдат прилагани при изследване на лекарства с терапевтичен потенциал при серотонинов синдром.

В приложно-научен аспект е възможно да бъдат проучени нови фармакологични подходи за повлияване на лекарствено индуцирана хипертермия, която не се повлиява от прилагането на класически антипиретици. Изследването на нови подходи и механизми за повлияване на хипертермията има голямо значение за клиничната практика, защото резултат на хипертермичните състояния могат да бъдат редица усложнения като церебрална или когнитивна дисфункция, коагулопатия, чернодробна и бъбречна недостатъчност, рабдомиолиза и увреждане на клетките.

Основни приноси с фундаментален или приложно-научен характер са:

1. Установяване на ефективно повлияване на лекарства-предизвикан серотонинов синдром от прилагането на ГАМК-ергичните лекарства *diazepam* и *vigabatrin*.
2. Установяване на ефективно повлияване на лекарства-предизвикан серотонинов синдром от прилагането на 5-HT_2-рецепторни антагонисти (*olanzapine*, *risperidone* и *asenapine*).
3. Терапевтични подходи за повлияване на хипертермичната реакция при серотонинов синдром чрез прилагане на 5-HT_2-рецепторни антагонисти (*olanzapine* и *asenapine*) или лекарства повишаващи централния инхибиращ ефект на ГАМК (*diazepam* и *vigabatrin*).

4. Терморегулаторните промени с предлагания метод за верификация са адекватен подход за обективизиране на сериозни НЛР, от които водещи са промените в телесната температура. Известно е, че този метод е задължителен при предклиничното токсикологично изследване на нови лекарствени молекули и при изследването за пирогенност на лекарствени продукти предназанчени за паренетрално приложение.
5. За първи път е направен анализ за риска от развитие на серотонинов синдром при употребата на антидепресанти и опиоиди в лекарствени продукти разрешени по централизирана и национална процедура.
6. Установените пропуски дадоха основание за изготвяне на препоръки докладвани на ИАЛ и Комитета по лекарствена безопасност за своевременно предприемане на адекватни регулаторни промени съобразно направените от нас изводи.

VIII. ПУБЛИКАЦИИ СВЪРЗАНИ С ДИСЕРТАЦИОННИЯ ТРУД

1. **Koleva K**, R. Nikolov; Antidepressants-induced serotonin syndrome: Literature review; PHARMACIA, vol. 65, No. 1/2018

2. **K. Koleva**, S. Marchev, R. Nikolov, L. Todorova, S. Surcheva, M. Vlaskovska. Experimental and regulatory studies on adverse effects of some antidepressants in elderly. In: 14th Congress of the European Association for Clinical Pharmacology and Therapeutics (EACPT), 29 June – 2 July 2019, Stockholm, Sweden; European Journal of Clinical Pharmacology (2019) 75 (Suppl 1): S1–S110, EACPT-1380, **IF=2,641**

3. **Колева К**, Николов Р. Поведенчески, соматични и автономни прояви при експериментален модел на серотонинов синдром. Медицински преглед, vol. LVI, 2020, №3

4. R.P. Nikolov, **K.N. Koleva**, M.H. Hristov, K.S. Yakimova. Hyperthermia in experimental models of the serotonin syndrome: influence of vigabatrin. Bulgarian Chemical Communications. Vol. 52, Issue 1 (pp. 138-141) 2020

5. **Koleva K**, Pavlov O, Nikolov R, Behr R. Deep brain stimulation as a possible treatment of hyperthermia in patients with serotonin syndrome. Medical Hypotheses. 2020; 139:109704, **IF=1,375**

6. **Koleva K**, L. Todorova, S Marchev, M Vlaskovska, R Nikolov; Pharmacovigilance: procedures for uniform assessment of periodic safety update reports and their implementation in national settings. Focus on analgesics; PHARMACIA, 67(4): 283–288

IX. УЧАСТИЯ В НАЦИОНАЛНИ И МЕЖДУНАРОДНИ КОНГРЕСИ, СВЪРЗАНИ С ДИСЕРТАЦИОННИЯ ТРУД

1. Toteva Silvia, **K. Koleva**, G. Bogdanov, R. Nikolov. *„Effects of olanzapine on hyperthermia in an experimental serotonin syndrome“*, 17th International Congress of Medical Sciences (ICMS), 2018, София, България

2. **К. Колева**, Р. Николов. *„Ефект на 5-HT2-антагонисти върху хипертермия при експериментален серотонинов синдром у плъхове“*, Национална научна конференция “15 години фармация в Медицински университет – Пловдив”, 2018, Девин , България

3. **Kalina Koleva**, Stanislav Marchev, Lubina Todorova, Slavina Surcheva, Mila Vlaskovska, Rumen Nikolov. *„Experimental and regulatory studies on adverse effects of some antidepressants in elderly“*, 14th Congress of the European Association for Clinical Pharmacology and Therapeutics (EACPT), 29 юни – 2 юли 2019, Стокхолм, Швеция

4. R. Nikolov, **K. Koleva**, M. Hristov, K. Yakimova. *„Hyperthermia in experimental models of the serotonin syndrome: influence of vigabatrin”*, Neuroscience, bioinformatics, microbiome and beyond, 17-19 септември 2019, Бачиново, България

5. **К. Колева**, Р. Николов. *„Експериментални модели на серотонинов синдром у плъхове”*, Юбилейна научна конференция – 45 години на висшето училище в Плевен, 31.10 - 02.11.2019, Плевен, България

6. **Колева К**, Богданов Г, Николов, Р. *„Фармакологично повлияване на хипертермичната реакция при експериментални модели на серотонинов синдром“*, Конгрес по фармация с международно участие, 21-24 ноември 2019, Боровец, България

7. **K. Koleva**, M. Hristov, G. Bogdanov, R. Nikolov. *“Effect of asenapine in rat serotonin syndrome”*, The 36th Balkan Medical Week, 24-26 септември 2020, Букурещ, Румъния

Бих искала да изкажа своите сърдечни благодарности:

На научния си ръководител доц. д-р Румен Николов за безрезервната помощ и усилия положени в процеса на работа, за гласуваното доверие и предоставената възможност за изява.

На научния си консултант чл.-кор. проф. д-р Мила Власковска за всеотдайната подкрепа, отделеното време и безценни напътствия.

На семейство и най-близките си хора, за проявеното разбиране и подкрепа през изминалите години.