

DOSIS

Farmaseuttinen aikakauskirja

Vol. 33 | 4/2017

SISÄLTÖ

Table of Contents

PÄÄKIRJOITUS:

Marja Airaksinen ja toimituskunta: Suomi 100 – Dosis 33!..... 227

MUISTOKIRJOITUS:

Adyary Fallarero, Heikki Vuorela

In Memoriam Pia Maarit Vuorela 229

KATSAUKSET:

Pertti J. Neuvonen

Kuinka kliinisen farmakologian tutkimus ja edistysaskeleet ovat jalkautuneet käytäntöön ja mitä haasteita on ratkaistavana lähitulevaisuudessa? 232

Jussi Kärkkäinen

Aihiolääketeknologia – nykyisistä sovelluksista syöpäsoluihin kohdentuvien aihiolääkkeiden kehitykseen 248

TUTKIMUS:

Elina Mäkinieniemi, Maija Koljonen, Kirsti Laitinen, Raimo Ojala

Lääkeneuvonta ja lääkityslistan ajantasaisuuden varmistaminen sairaalasta kotiutettaessa....262

VÄITÖSKIRJAKATSAUS:

Juha Kontturi

Tyyppin III polyketidisyntaasit gerberassa 276

RAPORTTI:

Ilkka Reenilä, Paavo Honkakoski

FinPharmaNet 11th Annual Meeting 2017: Drug Discovery & Development, University of Eastern Finland, Kuopio Campus, Aug 14–15, 2017 284

REFEREET VUONNA 2017 304

DOSIS

Farmaseuttinen aikakauskirja

Vol. 36 | 4/2017

Julkaisija

Suomen Farmasialiitto ry / viestintä
Mäkelänkatu 2 A 3. krs, 00500 Helsinki

Päätoimittaja

Prof. Marja Airaksinen
marjaairaksinen@gmail.com
Helsingin yliopisto
Farmasian tiedekunta
PL 56, 00014 Helsingin yliopisto

Toimituskunta

Prof. Marja Airaksinen
Prof. Markus Forsberg
Dos. Nina Katajavuori
FaT Joni Palmgrén
FaT Inka Puumalainen
Dos. Anneli Ritala-Nurmi
FaT Pekka Suhonen

Toimitus ja ulkoasu

Otavamedia OMA
Maistraatinportti 1
00015 Otavamedia
puh. 09 2525 0250
oma.otavamedia.fi

Ilmoitusmyynti

Kirsi Kvarnström
Puh. 050 368 9187
kirsi.kvarnstrom@farmasialiitto.fi

ISSN 0783-4233

Suomi 100 – Dosis 33!

Kun tätä pääkirjoitusta kirjoitamme, on Suomi juuri juhlinut 100-vuotista itsenäisyyttään ja Farmaseuttinen aikakauskirja Dosis on päättämässä 33. vuosikertaansa. Dosiksen kustantaja Suomen Farmasialiitto vietti itsenäisen Suomen tavoin 100-vuotisjuhlaansa, Suomen Apteekkariliitto 120-vuotisjuhlaansa. Näiden kahden liiton merkitys on ollut keskeinen muovatessa lääkehuollon rakenteita ja farmasian ammattilaisten osaamista kulloisiinkin yhteiskunnallisiin olosuhteisiin sopiviksi Suomessa samalla reflektoiden farmasian kansainvälisiä suuntauksia. Huomioon pantavaa on myös, että farmaseuttisia tieteitä Suomessa edistävä Suomen farmaseuttinen yhdistys on jo saavuttanut 130 vuoden iän (perustettu 1887).

Dosiksen 33 vuosikertaa kattaa kolmasosan koko Suomen itsenäisestä ajasta vuodesta 1984 lähtien. Tuona aikana on yllättävän moni asia muuttunut yhteiskunnassa, farmasiassa ja lääkeshoidoissa. Vuonna 1984 ei ollut pakkausselosteita, ei älypuhelimia eikä Internetiä, joista kuluttajat olisivat voineet omatoimisesti hankkia tietoa sairauksistaan ja käyttämistään lääkkeistä. Ammattilaistenkin lääketiedon lähteet olivat rajalliset, eikä monia nykyisin itsestään selvinä pidettäviä lääkeinnovaatioita ollut vielä keksitty. Toisaalta monien lääkkeiden käyttö väestössä oli huomattavasti vähäisempää kuin nykyisin. Lääkehoidon ja terveydentilan seurannan välineet olivat alkeellisia nykyisiin verrattuna: esimerkiksi diabeetikon sokeriarvoja seurattiin virtsasta liuskoilla. Vuonna

1982 todettiin, että verenpaineen hoitomyöntyvyys on huono – tänä päivänä tilanne on varsin sama: potilaille ei ole verenpainemittareita kotona ja sote-ammattilaiset edelleen ihmettelevät, miten hoitoon sitoutumista ja omahoitoa voitaisiin tukea. Kotona täytettävät lääkedosetit ovat pääsääntöisesti samanlaisia kuin vuonna 1984. Missä ovat läpimurtoinnovaatiot, jotka tukevat lääkehoidon onnistunutta toteutusta?

Dosis on ollut oman aikansa peili. Monia aikakausia mahtuu sen historiaan. Se on luonut foorumin suomalaisen farmasiaan liittyvälle tieteelliselle keskustelulle. Keskustelussa ovat toistuneet tietyt teemat, vaikka yhteiskunnan ja lääkealan infrastruktuurit ovat muuttuneet. Yksi teemoista on ammatillisuus vs. kaupallisuus lääkealalla, toinen farmasian ammattilaisten aseoituminen suhteessa muihin terveydenhuollon ammattilaisiin. Farmasian tieteenalojen välillä keskustelun jakajana on ollut kliininen farmasia vs. lääkekehitys ja -tutkimus. Suomessa ei ole vielä löydetty sellaista farmasian tieteenalojen integraatiota, joka johtaisi uudenvuotiseen lääkehoidon toteutuksen potilaslähtöisiin innovaatioihin. Tällaiset innovaatiot kuitenkin näkyvät jo oleellisena osana lääketeollisuuden strategioita. Kliininen farmasia on viime aikoina vahvistunut monissa maissa, joissa on vahva lääketeollisuus. Hyvänä esimerkkinä toimivat Aasian maat, joihin lääkekehitystä ja -tuotantoa on globaalisti siirtynyt ulkoistamisen seurauksena.

Mutta missä ollaankaan kehityksessä 33 vuoden päästä? Kloonataanko ihmisiä tai ainakin ihmisten osia rutiinisti? Onko ikuinen elämä saavutettu ja vanhenemisen fysiologia saatu hallintaan lääketieteen keinoin? Kantaako meistä jokainen ranneketta tai mikrosirua/minitietokonetta, joka tunnistaa elimistön tilan ja siinä tapahtuvat muutokset, jopa

korjaa muutoksia automaattisesti ja mukauttaa elimistön toimintaa ulkoisten riskitekijöiden mukaan? Millaisia lääkkeitä ja lääkkeitä on käytössä ja miten ne integroituvat muuhun hoitoon? Nämä kysymykset eivät ole sci-fiä, vaan todellisuutta tutkijoille jo tänä päivänä. Oleellinen kysymys onkin, miten farmasian kehitys ja osaaminen pysyvät lääketieteen ja terveydenhuollon kehityksessä mukana. Tulevaisuudessa tarvitaan aivan uudenlaisia sote-farmasisteja, samoin kuin uudenlaisia lääkekehitysfarmasisteja. Siksi lääkkeitä-osaaminen on menossa uusiksi, mikä on haaste farmasian tutkimus- ja koulutusyksiköille.

Olemme olleet etuoikeutettuja saadessamme olla farmasian näköalapaikalla Dosiksen toimituskunnassa. Dosis voi hyvin, sitä luetaan ja siihen saadaan erinomaisia kontribuutioita farmasian eri aloilta, lääketieteestä ja muilta lähialoilta sekä kansainvälisiltä asiantuntijoilta. Toivomme, että tulevaisuus on täynnä innovatiivisuutta, rohkeutta uudistua ja tehdä uusia avauksia, ehkä läpimurtoakin farmasian moninaistuvilla tieteenaloilla.

Onnea ja menestystä tulevalle Dosiksen toimituskunnalle, tuleville tieteen tekijöille ja kaikille Dosiksen lukijoille!

Dosiksen toimituskunta

→ **Professori Marja Airaksinen, päätoimittaja**

→ **Professori Markus Forsberg**

→ **Dosentti Nina Katajavuori**

→ **FaT Joni Palmgrén**

→ **FaT Inka Puumalainen**

→ **Dosentti Anneli Ritala-Nurmi**

→ **FaT Pekka Suhonen**

Pia Maarit Vuorela (née Härmälä)

1961–2017



We are tremendously saddened to inform the community that Pia Vuorela, Professor of Pharmaceutical Biology, passed away on the 1st of October 2017, after a several years lasting struggle with cancer, at the age of 56 years. Our memory of her remains as of one who was brimming with vitality, brilliance and wit. Her warm, yet fiercely independent and determined personality together with her influential scholarship attracted students and colleagues from around the University of Helsinki, and indeed around the world. We will miss her deeply.

Pia Vuorela was born on the 3rd of March 1961 in Vasa, Finland and got her Swedish-speaking matriculation examination in May 1980 as her basic education in Närpes Gymnasium in Österbotten. She graduated in May 1988 as a Master of Pharmacy (Pharmacognosy) and in November 1991 as a PhD (Pharmacognosy) at the University of Helsinki. Pia also acquired training in leadership, courses offered to university professors in leading positions, and also extensive training in university pedagogics.

Pia served several positions during the years 1991–2005 in the University of Helsinki. To mention a few, as a university lecturer, chief research scientist and director of the Research Center of Department of Pharmacy. She also served as the Responsible director of a pharmaceutical wholesale company, Instrumentarium/Medinovum in the years 1995–1996. During the years 1999–2013 she

had a close relationship to the Finnish Medicines Agency FIMEA, being a consultant and member/vice chair of the pharmacopoeia-committee appointed by the Ministry of Social Affairs and Health.

While being fully bilingual in Swedish and Finnish, Pia was appointed in August 2005 as a Professor of Pharmaceutical Chemistry into Swedish-speaking Åbo Akademi University. She was the Head of the discipline (Pharmaceutical sciences) during the years 2006–2012 and the Vice-director of the Department of Biosciences during the years 2010–2012. During that period she actively developed the Swedish-speaking education in pharmacy.

In 2013 Pia got a Professorship in pharmaceutical biology in the Faculty of Pharmacy, Division of Pharmaceutical Biosciences and in 2014 she was appointed as a Vice Dean (education and bilingualism).

During all the years, close to Pia's heart was being involved in teaching, development of teaching and supervision of bachelor, master and doctoral training levels, especially in the pharmacy curriculum. The main disciplines were pharmaceutical microbiology, pharmaceutical chemistry, pharmacognosy and pharmaceutical biology. During the years, Pia produced several teaching books, e-material, developed teaching methods and was responsible for several compulsory and optional

courses, as well as laboratory courses.

Pia Vuorela educated nearly 30 doctoral students and 10 post-doctoral researchers. They could always count on Pia's support and imagination when facing problems. She was especially driven to relentlessly help students and encourage them to always aim higher in their scientific careers. Pia published about 150 publications. She had a great skill to present her ideas so that they were very attractive in order to obtain research funding. She was also charming and spirited in her ability to collaborate and engage with colleagues all over the world. All her students and colleagues feel her absence tremendously.

Pia Vuorela was highly collegial and actively joined many university and academic bodies in Finland, Nordic countries and Europe. She was during the years 1989–1997 a member and a chairperson of the Pharmacy Club for Swedish speaking pharmacists in Finland. Equally she acted during the years 1995–2006 as a board member/vice-president/president in The Finnish Pharmaceutical Society that was also the member of the Federation of Finnish Learned Societies. Noteworthy is also her active engagement in European Federation for Pharmaceutical Sciences (EUFEPS) during the years 1996–2009 as a council member, internal auditor, executive committee member and vice-president. In all these bodies Pia was always enthusiastic, supportive, flexible and the person who

wanted to find a solution that would carry the case or problem forward and be accepted by all.

Pia was awarded several times: Albert Wuokko Award in 1992: For noteworthy work for the benefit to Finnish Pharmaceutical sciences by Finnish Pharmaceutical Society. Highest ranking Finnish doctoral candidate in 1994: Promotio Ordinis Philosophorum Universitatis Helsingensis MCMXCIV. Albert Wuokko Award in 2011: For Noteworthy work for the benefit of Finnish Pharmaceutical sciences by Finnish Pharmaceutical Society. This was for the first time that the Albert Wuokko Award was nominated twice for the same nominate, first as a junior and then as a senior.

In the last years Pia Vuorela was eagerly immersed in many projects, including strengthening Swedish-speaking education in the Faculty of Pharmacy, planning books, and not to mention several academic projects.

Pia's work was her great hobby. She could, however, often spare time for organizing parties at home to friends, family and of course to colleagues. She enjoyed good food and wine, but liked when someone else prepared it. Champagne with strawberries was always a great start in these activities.

She is survived by her friends, family and her son, Paul.

Adyary Fallarero
Heikki Vuorela

Kuinka kliinisen farmakologian tutkimus ja edistysaskeleet ovat jalkautuneet käytäntöön ja mitä haasteita on ratkaistavana lähitulevaisuudessa?

Pertti J. Neuvonen

LKT, kliinisen farmakologian emeritusprofessori
Kliinisen farmakologian yksikkö, Medicum
Helsingin yliopisto
pertti.neuvonen@helsinki.fi

TIIVISTELMÄ

Viime vuosien taloudellinen taantuma on hidastanut kliinisen farmakologian kehitystä yliopistoissa ja terveydenhuollossa. Lääketurvallisuuden parantaminen ja lääkevasteeseen vaikuttavien tekijöiden karakterisointi ovat olleet alan keskeisiä tutkimusaiheita. Tutkimuksissa on löydetty yli 200 kliinisesti relevanttia, aikaisemmin tunnistamatonta lääkeyhteisvaikutusta. Monet yhteisvaikutuksista aiheuttavat jopa 10-kertaisia muutoksia plasman lääkepitoisuuksissa ja hengenvaarallisten haittavaikutusten riskin tai lääkkeen tehon häviämisen. Interaktioiden ja haittavaikutusten vuoksi lääkkeiden tuoteinformaatioon on lisätty varoituksia, laitettu vaarallisimpia lääkeyhdistelmiä kontraindisoiduiksi ja poistettu eräitä lääkkeitä kokonaan käytöstä. Tieto kliinisesti tärkeistä lääkeinteraktioista saavuttaa yleensä nopeasti lääkkeiden määrääjät ja käyttäjät, ja voi vaikuttaa jopa miljoonien potilaiden lääkehoitoon. Monet yhteisvaikutuksista välittyvät lääkeainemetaboliaan osallistuvien entsyymien tai solukalvojen transportterien aktiivisuuden muutoksista induktion tai inhibition seurauksena. Suomalaiset tutkijat ovat validoineet useita lääkeaineita malliaineiksi, joiden avulla voidaan in vivo ihmistutkimuksissa karakterisoida kvantitatiivisesti eri mekanismien osuutta yhteisvaikutuksissa. Tutkimuksissa on löytynyt useita aikaisemmin tunnistamattomia interaktiomekanismeja. Silti on ilmeistä, että kaikkia lääkeinteraktioiden mekanismeja ei vielä tunneta. Mm. FDA ja EMA ovat hyödyntäneet suomalaistutkijoiden interaktiohavaintoja laatiessaan ohjeita lääke-teollisuudelle siitä, miten mm. uusien lääkekandidaattien interaktiopotentiaalia tulisi tutkia.

Äskettäin ilmestyneen arvovaltaisen analyysin mukaan (PriceWaterhouseCoopers 2016) esimerkiksi Englannissa kliiniseen farmakologiaan sijoitettu raha tulee yhteiskunnalle kuusinkertaisena (Sic) takaisin. mm. alentuneina terveydenhuoltojärjestelmän kustannuksina. On syytä olettaa, että Suomessa panos-hyötysuhde on ainakin samaa suuruusluokkaa.

Avainsanat: kliininen farmakologia, tutkimuksen vaikuttavuus, vaikutus lääkehoitoon, lääkeyhteisvaikutukset, lääketurvallisuus, vaikutusten ennakoitavuus, yksilöllinen lääkehoito

JOHDANTO

Tieteellisen tutkimuksen vaikuttavuutta ja hyödyllisyyttä on ajoittain kyseenalaistettu. Jopa hallituksen edustajien taholta on lausuttu epäily siitä, että akateemiseen tutkimukseen sijoitetut panokset eivät juurikaan hyödyttäisi suomalaista yhteiskuntaa. Tällaiset näkemykset lienevät osaltaan johtaneet yliopistolaitoksen määrärahojen leikkaamiseen. Mutta onko tieteellinen tutkimus aina merkityksetöntä, jos sen tuloksena ei synny myytäviä tuotteita tai palveluita? Seuraavassa on esimerkkejä riippumattoman akateemisen tutkimuksen vaikuttavuudesta lääketutkimuksen ja erityisesti kliinisen farmakologian alueella.

MITÄ KLIININEN FARMAKOLOGIA ON

Kliininen farmakologia on lääketieteen ala, jonka tavoitteena on tehokas, turvallinen ja taloudellinen lääkehoito, ”oikea lääke oikealle potilaalla oikeana annoksena jne.” Helsingin ja Turun yliopistoissa on alan professuurit ja näihin liittyen yliopistosairaalan sivuvirat, erikoislääkärien koulutusvirkoja ja eräitä muita vakansseja, mutta varsinkin Itä-Suomen, Tampereen ja Oulun yliopistoissa alan kehitys on kärsinyt yliopistoihin kohdistuneiden säästötoimien seurauksena. Kliiniset farmakologit toimivat konsultoivina lääkäreinä lääkehoidon ongelmiin liittyvissä kysymyksissä (esimerkiksi yhteisvaikutukset, haittavaikutukset, oheissairauksien ja perinnöllisten tekijöiden vaikutus, lääkepitoisuusmittausten tulkinta), toimivat lääkeneuvottelukunnissa (mm. kustannusvaikuttavuus) ja eettisissä toimikunnissa, tekevät alan tutkimusta ja antavat eri alojen ammattiryhmille jatko- ja täydennyskoulutusta edistääkseen lääkkeiden oikeaa ja turvallista käyttöä ja kliinisten lääketutkimusten asianmukaista suorittamista. Kliinisiä farmakologeja toimii myös lääkevalvonnan (Fimea) ja lääketieteellisen asian-tuntija- ja johtotehtävissä.

TRANSLATIONAALISTA TUTKIMUSTA PERUSTIETEIDEN JA LÄÄKEHOIDON RAJAPINNALLA

Lääkevasteissa on suuria potilaskohtaisia eroja. Syynä voivat olla erot sairauksien syntymekanismiessa tai vaikeusasteessa, mutta myös potilaan ikä, genetiikka, oheissairaudet ja muu lääkitys voivat vaikuttaa lääkkeiden tehoon ja siedettävyyteen. Yksilöerojen merkitys on eri lääkkeille erilainen ja monien tekijöiden vaikutukset tunnetaan vielä puutteellisesti. Siksi tämä aihepiiri on kliinisen

farmakologian keskeisiä tutkimuskohteita. Myös esimerkiksi farmakoepidemiologia, hoitomyöntyvyyteen vaikuttavat tekijät, raskauden aikana käytettyjen lääkkeiden mahdolliset haittavaikutukset sekä lapsilla käytettyjen lääkkeiden pitkäaikaisvaikutukset ovat tärkeitä tutkimusaiheita, mutta näitä ei tämän suppean katsauksen puitteissa ole mahdollista käsitellä.

Kliinis-farmakologisia tutkimuksia tehdään usein yhteistyössä eri alojen kliinikkokojen ja muiden tutkijoiden kanssa. Kliinisesti tärkeimmät tutkimustulokset, esimerkiksi havainnot hengen-vaarallisista lääkeyhteisvaikutuksista, vaikuttavat hoitokäytäntöihin jopa päivien tai viikkojen kuluessa tulosten julkaisemisesta. Ja tuloksia aletaan yleensä soveltaa kaikissa kehittyneissä maissa, missä ko. lääkkeitä käytetään. Siten Suomessa tehtyjen tärkeimpien kliinis-farmakologisten tutkimusten tulokset vaikuttavat vuosittain miljoonien potilaiden lääkehoitoon.

Suomalaisissa tutkimuksissa on löytynyt yli 200 kliinisesti merkittävää lääkeinteraktiota ja näiden lisäksi muita lääkkeisiin liittyviä riskejä (Neuvonen 2012). Haitta- ja yhteisvaikutusmekanismien selvittäminen on estänyt vastaavilla mekanismeilla tapahtuvia lääkevahinkoja. Piilevinä yhteisvaikutukset voivat aiheuttaa vaaratilanteita ilman että niiden todellisia aiheuttajia osataan tunnistaa (Neuvonen 2013). Jopa kuolemaan johtaneita tapahtumaketjuja on saatettu luulla sairauden oireista johtuviksi, vaikka todellinen syy olisi haitallinen lääkeyhteisvaikutus.

Lääkkeiden haittavaikutukset aiheuttavat merkittäviä kustannuksia terveydenhuoltojärjestelmälle. Laajan meta-analyysin perusteella lääkkeiden haittavaikutukset olivat 30-vuotiskaudella 1966–1996 USA:ssa 4.–6. tärkein kuolinsyy (Lazarou ym. 1998). Yhteisvaikutukset ovat useissa tapauksissa lääkehaitan taustalla. Lisäksi eräät interaktiot heikentävät lääkevaikutusta, jolloin parannaminen voi viivästyä tai estyä kokonaan.

TÄRKEITÄ LÄÄKEYHTEISVAIKUTUKSIA HAVAITTIIN JO 1970-LUVULLA

Vielä 1970-luvun alussa oli yleisenä käytäntönä antaa bakteeri-infektioiden hoidossa antibioottien keralla oraalisia rautavalmisteita, mikäli potilaalla oli alentunut hemoglobiinipitoisuus. Koska tetrasykliineillä tiedettiin olevan affiniteetti eräisiin metalli-ioneihin, heräsi epäily mahdollisesta yhteisvaikutuksesta. Jo pienikin annos ferrosulfaattia

(40 mg Fe²⁺) vähensi koehenkilöillä tetrasykliiniantibioottien imeytymistä, mm. doksisykliinin imeytymisestä estyi noin 90 % (Neuvonen ym. 1970). Löydös oli niin tärkeä, että sen julkaissut arvostettu lehti laati jo samaan numeroonsa yhteisvaikutuksen kliinistä merkitystä korostavan kirjoituksen (British Medical Journal, Leading Articles 1970). Kuriositeettina mainittakoon, että doksisykliinin valmistaja kiisti ensin äkäisessä vastineessaan interaktion sillä perusteella, että heidän omilla tutkimuksissaan rautavalmiste otettuna 20 tuntia (Sic!) ennen doksisykliiniä ei estänyt tämän imeytymistä (Batesman 1970). Sittemmin osoitimme, että yhteisvaikutus on pääosin vältettävissä pitämällä vähintään 2–3 tunnin väliaika tetrasykliinien ja rautavalmisteiden ottamisessa (Gothoni ym. 1972). Tätä aikaväliä soveltaen voidaan minimoida myös fluorokinolonien ja monien muiden, systeemisesti imeytyvien lääkkeiden kelaatioon perustuvia yhteisvaikutuksia.

Fenobarbitaali, fenytoiini ja karbamatsepiini olivat aikoinaan laajassa käytössä epilepsialäkkeinä, kunnes ne osoittautuivat voimakkaiksi induktoreiksi. Doksisykliinin puoliintumisajat olivat huomattavasti lyhempiä epilepsialäkkeitä käyttävillä potilailla kuin niitä käyttämättömillä henkilöillä (Neuvonen ja Penttilä 1974; Penttilä ym. 1974). Annostelulla 100 mg x 1/pv bakteriostaattisen doksisykliinin plasmapitoisuudet laskivat indusoiduilla potilailla useiden tuntien ajaksi monien bakterikantojen kasvua estävien pitoisuuksien alapuolelle. Myös monilla alkoholin suurkuluttajilla doksisykliinin puoliintumisajat olivat lyhentyneet (Neuvonen ym. 1976). Riittävän tehon varmistamiseksi indusoiduille henkilöille alettiinkin suositella doksisykliinin annostelua kahdesti vuorokaudessa tai suurempia kerta-annoksia.

FENYTOIINIVALMISTEIDEN ERILAINEN HYÖTYOSUUS OLI VAKAVA ONGELMA JA JOHTI MYRKYTYKSIIN

Suomessa oli 1970-luvulla yleisessä käytössä neljä fenytoiinin rinnakkaisvalmistetta. Parhaiten ja huonoinen imeytyvillä valmisteilla fenytoiinin AUC-arvojen (Area Under Curve, pitoisuus-aikakuvaajan alle jäävä pinta-ala) suhde oli kerta-annosten jälkeen 3,5-kertainen (Neuvonen ym. 1977). Koska fenytoiinin metabolia voi satureitua jo hoitopitoisuuksina, hyötyosuuksien erot korostuvat jatkuvassa käytössä. Kun eräs lääketehdas paransi tablettiensa ominaisuuksia niin, että kerta-annoksilla fenytoiinin AUC-arvot olivat 1.6-kertaisia

aikaisempiin verrattuna, fenytoiinin pitoisuudet nousivat potilailla muutaman kuukauden kuluessa jopa 5-kertaisiksi ja kehittyi lukuisia fenytoiini-intoksikaatiotapauksia (Neuvonen ym. 1979a). Tämä tapahtui huolimatta siitä, että hyötyosuuden parantumisesta oli kerrottu valmisteen pakkauskassa. Jos siis lääkeaineella on fenytoiinin kaltaisesti satureoituva kinetiikka, rinnakkaisvalmisteiden hyötyosuuksien pitää olla keskenään samanlaisia.

SOTALOLI PALJASTUI BEETA-SALPAAJAKSI, JOKA PIDENTÄÄ QT-AIKAA JA VOI AIHEUTTAA HENGENVAARALLISIA RYTMIHÄIRIÖITÄ

Beetasalpaaja sotaloli tuli kliiniseen käyttöön monissa maissa vuonna 1974. Indikaatioina olivat tuolloin mm. verenpainetauti, angina pectoris ja sydämen rytmihäiriöt. Lääkkeen tuoteinformaatioissa ei ollut mitään mainintaa sen mahdollisesta vaikutuksesta QT- aikaan eikä tästä ominaisuudesta ollut ainakaan julkaistuja ihmistutkimuksia. Suomessa ilmeni kuitenkin potilastapauksia, joissa todettiin EKG:ssä huomattava QT-ajan piteneminen ja vaarallisia sydämen rytmihäiriöitä (kääntyvien kärkien kammiotakyardia). Ilmiö havaittiin ensin sotalolia yliannoksen ottaneilla potilailla (Neuvonen ym. 1979b), mutta pitoisuusriippuvainen QT-ajan piteneminen ja rytmihäiriöriski todettiin pian myös hoidollisia sotaloliannoksia käyttävillä potilailla (Neuvonen ym. 1982). Lisäksi voitiin osoittaa, että kyseessä ei ollut beetasalpauksesta johtuva ominaisuus, vaan siitä riippumaton sotalolin ominaisvaikutus (Laakso ym. 1981). Näiden havaintojen jälkeen eli vasta noin 8 vuotta sotalolin markkinoille tulosta sen tuoteinformaatioon tuli varoitus QT-ajan pitenemisestä ja sydämen rytmihäiriöriskistä. Sotalolin käyttöaiheita on nykyisin huomattavasti rajoitettu ja hoito-ohjeissa korostetaan QT-ajan seurannan tärkeyttä.

LÄÄKEHIILI REHABILITOITIIN IMEYTYMISEN ESTÄJÄKSI AKUUTEISSA LÄÄKEMYRKYTYKSISSÄ – SYRJÄYTTI OKSETTAMISEN JA MAHAHUUHTELUN

Ensimmäiset tieteelliset raportit lääkehiilen kyvystä estää myrkyllisten aineiden, mm. strykniinin imeytymistä ovat jo 1800-luvun alkupuolelta. Lääkehiilen käyttö imeytymisen estäjänä oli kuitenkin vähäistä vielä 1970-luvulla. Kliinisen toksikologian johtaviin mielipidevaikuttajiin kuulunut professori Prescott totesi katsauksessaan ”New Approa-

ches in Managing Drug Overdose and Poisoning” lääkehiilestä, että ”we do not use it” (Prescott 1983) eikä sitä aina edes mainittu kliinisen toksikologian käsikirjoissa. Jos lääkehiilen käyttöön ohjeistettiin, saattoivat annossuositukset olla hyvin pieniä. Farmakologian ”raamattuna” pidetyssä Goodman & Gilmanin käsikirjassa lääkehiilen annossuositus oli vuonna 1970 (5. painos) 1–8 g ja vuonna 1975 (6. painos) 10 g.

Imeytymisen estämiseen akuuteissa myrkytystapauksissa suositeltiin yleensä oksettamista (Ipecaca) tai mahahuuhtelua, joiden oletettiin poistavan myrkylliset aineet mahalaukusta. Ihmisellä tehtyjä tutkimuksia nykyisin käytettävien lääkehiiliannosten (50 g) vaikutuksesta lääkkeiden imeytymiseen tai vertailevia tutkimuksia lääkehiilen, oksettamisen ja mahahuuhtelun kyvystä estää lääkeaineiden imeytymistä ei ollut. Tämän vuoksi käynnistettiin vapaaehtoisilla koehenkilöillä sarja tutkimuksia, joissa selvitettiin mm. lääkehiilen annoksen ja antoviiveen vaikutusta eri lääkkeiden imeytymiseen. Useimmista lääkkeistä suuri annos lääkehiiltä (50 g) sitoi yli 90 % mahalaukussa olevasta määrästä (Neuvonen ym. 1978, Neuvonen ym. 1980). Lääkehiilen teho oli ylivoimainen verrattuna Ipecalla aikaansaadun oksetuksen tai mahahuuhtelun tehoon testilääkkeiden imeytymisen estäjänä (Neuvonen ym. 1983, Lapatto-Reiniluoto ym. 2000). Lisäksi osoitimme, että toistuvasti annettu lääkehiili nopeuttaa eräiden lääkkeiden poistumista elimistöstä vielä näiden imeytymisen jälkeenkin. Jos (lääke)aine erittyy suolen sisälle ja reabsorboituu sitten takaisen verenkiertoon, voi suolen sisällä oleva lääkehiili nopeuttaa aineen poistumista. Lääkehiilen vaikutuksia dokumentoivista tutkimuksista on julkaisu lähes 50 alkuperäistutkimusta, useita väitöskirjoja ja katsauksia kansainvälisissä sarjoissa (Neuvonen 1982, Neuvonen ja Olkkola 1988). Suomalaiset tutkimukset mullistivat myrkytyspotilaiden ensihoitoa maailmanlaajuisesti. Esimerkiksi Helsingin ensihoitoyksikkö on omaksunut käytännön, jossa hengenvaarallisen yliannoksen nielleelle annetaan lääkehiili viiveettä jo ennen potilaan sairaalaan kuljettamista (Alaspää ym. 2005). Poikkeuksena ovat tilanteet, joissa aineet (esim. litium ja alkoholit) eivät sitoudu lääkehiileen tai on jokin vasta-aihe sen antamiselle.

CYP3A4-ENTSYYMIN VÄLITTÄMIÄ VAARALLISIA LÄÄKEINTERAKTIOITA ON LÖYTYNYT SUURI MÄÄRÄ

Keväällä 1992 tuli Meilahden sairaalan päivystykseen nuori nainen äkillisen tajuttomuuskohtauksen vuoksi. EKG:ssä todettiin pitkä QT-aika ja uusiutuneen kohtauksen aikana sydämen rytmihäiriö. Hän oli käyttänyt allergialääkkeenä ilman reseptiä saatavaa terfenadiinia ja sienilääke itrakonatsolia noudattaen annosteluohjeita. Verinäytteissä terfenadiinin pitoisuus oli 100 kertaa normaalia korkeampi, mutta sen metaboliitin pitoisuus ei ollut koholla (Pohjola-Sintonen ym. 1993). EKG normalisoitui muutaman päivän kuluessa em. lääkkeiden lopettamisesta ja parin kuukauden kuluttua, ilman itrakonatsolia annettu terfenadiini metaboloitui normaaliksi. Koska kirjallisuudesta ei löytynyt aikaisempia itrakonatsoli-terfenadiini interaktiotapauksia ja koska juuri pari vuotta aikaisemmin oli julkaistu katsaus, jonka mukaan ”itraconazole does not interfere with the mammalian drug metabolizing enzymes” (Heykants ym. 1989), tapaus oli aluksi mysteeri.

Itrakonatsoliin liittyvien yhteisvaikutusriskien selvittämiseksi käynnistettiin koehenkilöillä laaja tutkimussarja, minkä tuloksena löydettiin jopa kymmeniä vaarallisia lääkeyhteisvaikutuksia (Taulukko 1). Yhteisvaikutusten mekanismina on itrakonatsolin ja sen metaboliittien aiheuttama CYP3A4/5-entsyymien ja/tai P-glykoproteiinin (P-gp, MDR1) esto, riippuen näiden tekijöiden merkityksestä uhrilääkkeen farmakokinetiikassa. Pitkälti näiden suomalaisten tutkimusten perusteella itrakonatsolia käytetään nykyisin malli-inhibiittorina tutkittaessa eri lääkeaineiden alttiutta CYP3A4:n ja P-glykoproteiinin eston välittämiin yhteisvaikutuksiin. Myös Yhdysvaltojen lääkevalvontaviranomainen (Food and Drug Administration, FDA) ja Euroopan lääkevalvontaviranomainen (European Medicines Agency, EMA) suosittelivat itrakonatsolin käyttämistä koettimena yhteisvaikutustutkimuksissa.

Itrakonatsoli lisää 10–30-kertaiseksi mm. triatso-laamin, midatsolaamin, buspironin, lovastatiinin ja simvastatiinin AUC-arvoa. Tämän seurauksena uhrilääkkeiden vaikutukset ja haittavaikutukset lisääntyvät voimakkaasti aiheuttaen huomattavan riskin (Taulukko 1). Itrakonatsoli voi aiheuttaa kliinisesti merkittäviä yhteisvaikutuksia jopa satojen eri lääkkeiden kanssa. Esimerkiksi felodipiini ja muut dihydropyridiiniiryhmän kalsiumkanavan

salpaajat aiheuttavat herkästi nilkka- ja säärirturvotuksia potilaille, jotka käyttävät atsoli-sienilääkkeitä tai muita voimakkaita CYP3A4:n inhibiittoreita, koska ne nostavat suuresti dihydropyridiiniin pitoisuuksia (Neuvonen ja Suhonen 1995, Jalava ym. 1997a). Samaten itrakonatsoli ja muut vahvat CYP3A4:n estäjät lisäävät huomattavasti useiden glukokortikoidien plasmapitoisuuksia (Varis ym. 1998, 2000a, 2000b), myös niitä inhaloituina käytettäessä (Raaska ym. 2002), ja lisäävät suuresti Cushingin oireyhtymän riskiä. Useimmat muutkin atsoliryhmän sienilääkkeet estävät voimakkaasti CYP3A4-välitteistä metaboliaa aiheuttaen vaarallisia interaktioita. Flukonatsoli, mikonatsoli ja vorikonatsoli estävät merkittävästi myös eräitä muita CYP-entsyymejä.

Myös diltiatseemi, verapamiili, erytromysiini ja klaritromysiini estävät CYP3A4-välitteistä metaboliaa lisäten monien lääkeaineiden pitoisuuksia ja vaikutuksia (Taulukko 1). Kuitenkin, jos substraattilääkkeillä on suuri terapeutinen leveys tai niiden annoksia pienennetään tarpeeksi, voi yhteiskäyttö näiden keskivahvojen inhibiittoreiden kanssa olla mahdollista.

Greippimehu voi lisätä monien lääkeaineiden pitoisuuksia. Lääkkeiden keralla otettu greippimehu saattaa jopa 3–10-kertaistaa mm. simvastatiinin, lovastatiinin, buspironin tai muiden sellaisten lääkeaineiden hyötyosuuden, jotka metaboloituvat runsaasti jo suolen seinämässä CYP3A4-entsyymin vaikutuksesta (Kantola ym. 1998b, Lilja ym. 1998a, b). Toisaalta suuret annokset greippi- ja apelsiinimehua estivät voimakkaasti mm. seliprololin imeytymistä (Lilja ym. 2003, 2004), mutta tämä ei ole CYP3A4-välitteinen interaktio.

CYP3A4 ja P-glykoproteiini ovat ihmisellä hyvin herkkiä indusoitumaan mm. rifampisiinia, karbamatepiinia tai fenytoiinia käytettäessä. Jo muutamana päivänä ajan käytetty rifampisiini pienentää mm. midatsolaamin, triatsolaamin ja simvastatiinin pitoisuudet noin kymmenesosaan tai sen alle verrattuna pitoisuuksiin ei-indusoiduilla henkilöillä. Tämän seurauksena useiden CYP3A4/P-glykoproteiinin substraattilääkkeiden vaikutus häviää käytännössä täysin (Taulukko 1). CYP3A4 osallistuu yli tuhannen lääkeaineen metaboliaan. Sen aktiivisuuden moninkertaistuminen voi aiheuttaa merkittävää pitoisuuksien ja vaikutusten vähenemistä niidenkin lääkeaineiden kohdalla, joiden eliminaatiossa CYP3A4:n osuus on indusoimattomalla henkilöllä pienehkö. Varsinaisten lääkkeiden

ohella myös mäkikuismaa sisältävät valmisteet indusoivat CYP3A4-entsyymiä pienentäen mm. oksikodonin pitoisuuksia (Nieminen ym. 2010a).

STATIINIEN MONINAISET YHTEISVAIKUTUKSET

Statiinien tulo kliiniseen käyttöön mullisti lipidi-sairauksien hoidon. Vihdoinkin oli kehitetty tehokkaasti kolesterolipitoisuutta alentavia ja hyvin siedettyjä lääkkeitä. Pian kuitenkin havaittiin niiden aiheuttavan herkästi lihasvaurioita potilailla, joilla oli käytössään joko erytromysiiniä, gemfibrotsiilia tai siklosporiinia. Epäillyn yhteisvaikutuksen mekanismi oli pitkään tuntematon, koska riskiä lisäävät lääkkeet kuuluivat farmakologisesti eri ryhmiin. Käynnistimme Suomessa laajan tutkimusohjelman, jossa onnistuttiin selvittämään lihashaittoja aiheuttaneiden statiini-interaktioiden keskeiset mekanismit. Osoitimme ensin, että CYP3A4-entsyymin estäjät nostavat merkittävästi lovastatiinin ja simvastatiiniin aktiivimuotojen pitoisuuksia plasmassa (mm. Neuvonen ja Jalava 1996, Neuvonen ym. 1998, Kantola ym. 1998a, Lilja ym. 1998b) (**Taulukko 1, s. 238**). Erityisen suuri oli itrakonatsolin aiheuttama pitoisuuksien nousu sopien vahaan CYP3A4:n estovaikutukseen. Gemfibrotsiili ei estänyt CYP3A4-entsyymiä, mutta se nosti statiinien plasmapitoisuuksia lihastokselle tasolle estämällä maksan OATP1B1-kuljetusproteiinia (Backman ym. 2000, Kyrklund ym. 2001). Lisäksi löydettiin kolmaskin interaktiomekanismi: gemfibrotsiilin ja klopido greelin glukuronidimetaboliitit ovat vahvoja CYP2C8-entsyymin estäjiä, mikä selittää niiden vaaralliset yhteisvaikutukset mm. serivastatiinin kanssa (Backman ym. 2002, Tornio ym. 2014). Elinsiirtopotilaiden käyttämä siklosporiini nostaa statiinien pitoisuutta estämällä sekä CYP3A4-entsyymiä että OATP1B1-transportterea. Suomalaisten tutkijoiden panos lihasvaurioita ja kuolemantapauksia aiheuttaneiden statiini-interaktioiden löytämisessä ja niiden mekanismien selvittämisessä on ollut keskeinen (Neuvonen ym. 2006).

CYP2C8-ENTSYYMI OSOITTAUTUI TÄRKEÄKSI LÄÄKEAINEIDEN METABOLIASSA JA VÄLITTÄÄ YLLÄTTÄVIÄ INTERAKTIOITA

Kolesterolilääke serivastatiinia markkinoitiin aluksi erityisen turvallisena statiinina, mutta pian siitä raportoitiin vakavia lihashaittoja. Lihasvaurioiden riski kasvoi vielä 50 kertaa suuremmaksi, jos poti-

Taulukko 1. Esimerkkejä suomalaisista ensihavainnoista koskien kliinisesti merkittäviä lääkeyhteisvaikutuksia. Yleensä havaintojen seurauksena on tuoteinformaatioon lisätty varoitus tai yhteiskäyttö on kontraindisoitu, joskus lääke on poistettu kokonaan käytöstä. Suomalaiset tutkijat ovat löytäneet yli 200 relevanttia lääkeinteraktiota. Siten luettelo on vain ”jäävuoren huippu” lääketurvallisuutta parantaneista tutkimuslöydöksistä. AUC = pitoisuus-aikakäyrän alle jäävä pinta-ala.

Uhrilääke	Interaktiivinen lääke tai aine; yhteisvaikutuksen mekanismi	Uhrilääkkeen (tai akt. metaboliitin) AUC:n muutos; haittavaikutus	Viite
Midatsolaami	Itra-, ketokonatsoli; CYP3A4 esto	yli 10-kertaistuu; syvä uni	Olkkola ym. 1994
Midatsolaami	Verapamiili, diltiatseemi; CYP3A4 esto	3–4-kertaistuu; syvä uni	Backman ym. 1994
Midatsolaami	Vorikonatsoli; CYP3A4 esto	10-kertaistuu; syvä uni	Saari ym. 2006
Midatsolaami	Erytromysiini; CYP3A4 esto	4-kertaistuu; syvä uni	Olkkola ym. 1993
Midatsolaami	Rifampisiini; CYP3A4 induktio	pienenee 95 %; vaikutus häviää	Backman ym. 1996a
Midatsolaami	Karbamatsepiini, fenytoiini; CYP3A4 ind.	pienenee 95 %; vaikutus häviää	Backman ym. 1996 b
Midatsolaami	Rifampisiini → Itrakonatsoli; CYP3A4	400-kertaistuu (Sic); hyvin suuri riski	Backman ym. 1998
Triatsolaami	Itra-, ketokonatsoli; CYP3A4 esto	yli 20-kertaistuu; syvä uni	Varhe ym. 1994
Triatsolaami	Flukonatsoli; CYP3A4 esto	2-4-kertaistuu; syvä uni	Varhe ym. 1996a
Triatsolaami	Diltiatseemi; CYP3A4 esto	3-kertaistuu; syvä uni	Varhe ym. 1996b
Triatsolaami	Mibefradiili*; CYP3A4 esto	9-kertaistuu; syvä uni	Backman ym. 1999
Triatsolaami	Rifampisiini; CYP3A4 induktio	pienenee 95 %; vaikutus häviää	Villikka ym. 1997a
Tsopikloni	Rifampisiini; CYP3A4 induktio	pienenee 80 %; vaikutus vähenee	Villikka ym. 1997b
Tsolpideemi	Rifampisiini; CYP3A4 induktio	pienenee 70 %; vaikutus vähenee	Villikka ym. 1997c
Buspironi	Itrakonatsoli; CYP3A4 esto	20-kertaistuu; serotonerg. vaikutus	Kivistö ym. 1997
Buspironi	Erytromysiini; CYP3A4 esto	6-kertaistuu; serotonerg. vaikutus	Kivistö ym. 1997
Buspironi	Greippimehu; CYP3A4 esto	5–10-kertaistuu; serotonerg. vaikutus	Lilja ym. 1998a
Felodipiini	Itrakonatsoli; CYP3A4 esto	6-kertaistuu, hypotensio, turvotus	Jalava ym. 1997a
Seliprololi	Greippimehu; imeytymisen esto	pienenee 80 %; vaikutus vähenee	Lilja ym. 2003
Seliprololi	Appelsiinimehu; imeytymisen esto	pienenee 80 %; vaikutus vähenee	Lilja ym. 2004
Kinidiini	Itrakonatsoli; CYP3A4 esto	2–3-kertaistuu; rytmihäiriö, kuolema	Jalava ym. 1997b
Lovastatiini	Itrakonatsoli; CYP3A4 esto	yli 20-kertaistuu; lihasvaurio	Neuvonen ja Jalava 1996
Lovastatiini	Greippimehu; CYP3A4 esto	5–10-kertaistuu; lihasvaurio	Kantola ym. 1998b
Lovastatiini	Gemfibrotsiili; OATP1B1 esto	3-kertaistuu; lihasvaurio	Kyrklund ym. 2001
Simvastatiini	Itrakonatsoli; CYP3A4 esto	10–20-kertaistuu; lihasvaurio	Neuvonen ym. 1998
Simvastatiini	Greippimehu; CYP3A4 esto	3–10-kertaistuu; lihasvaurio	Lilja ym. 1998b
Simvastatiini	Erytromysiini; CYP3A4 esto	5-kertaistuu; lihasvaurio	Kantola ym. 1998a
Simvastatiini	Verapamiili; CYP3A4 esto	4-kertaistuu; lihasvaurio	Kantola ym. 1998a
Simvastatiini	Gemfibrozil; OATP1B1 esto	2-kertaistuu; lihasvaurio	Backman ym. 2000

Uhrilääke	Interaktiivinen lääke tai aine; yhteisvaikutuksen mekanismi	Uhrilääkkeen (tai akt. metaboliitin) AUC:n muutos; haittavaikutus	Viite
Simvastatiini	Rifampisiini; CYP3A4 induktio	pienenee 90 %; vaikutus häviää	Kyrklund ym. 2000
Atorvastatiini	Itrakonatsoli; CYP3A4 esto	3-kertaistuu; lihasvaurio	Kantola ym. 1998c
Serivastatiini*	Gemfibrotsiili; CYP2C8 esto	6-kertaistuu; lihasvaurio, kuolema	Backman ym. 2002
Terfenadiini*	Itrakonatsoli; CYP3A4 esto	100-kertaistuu; pitkä QT, äkkikuolema	Pohjola-Sintonen ym. 1993
Metyyliprednisoloni	Itrakonatsoli; CYP3A4 esto	4-kertaistuu; Cushingin oireyhtymä	Varis ym. 1998
Metyyliprednisoloni	Diltiatseemi; CYP3A4 esto	3-kertaistuu; Cushingin oireyhtymä	Varis ym. 2000a
Metyyliprednisoloni	Mibefradiili*; CYP3A4 esto	4-kertaistuu; Cushingin oireyhtymä	Varis ym. 2000a
Deksametasoni	Itrakonatsoli; CYP3A4 esto	4-kertaistuu; Cushingin oireyhtymä	Varis ym. 2000b
Budesonidi, inhalaatio	Itrakonatsoli; CYP3A4 esto	4-kertaistuu; Cushingin oireyhtymä	Raaska ym. 2002
Digoksiini	Itrakonatsoli; P-glykoprot. esto	2–4-kertaistuu; digitalis-intoksikaatio	Partanen ym. 1996
Klopidogreeli	Greippimehu; CYP3A4 esto	akt. metab. AUC ja verihitulevaik. vähenee	Holmberg ym. 2014
Tikagrelori	Greippimehu; CYP3A4 esto	2-kertaistuu; verihitulevaik. kasvaa	Holmberg ym. 2013
Oksikodoni	Ritonaviiri; CYP3A4 ym. esto	3-kertaistuu; vaikutus voimistuu	Nieminen ym. 2010b
Oksikodoni	Vorikonatsoli; CYP3A4 ym. esto	4-kertaistuu; vaikutus voimistuu	Hagelberg ym. 2009
Oksikodoni	Itrakonatsoli; CYP3A4-esto	2-3-kertaistuu; vaikutus voimistuu	Saari ym. 2010
Oksikodoni	Mäkikuisma; CYP3A4 induktio	pienenee 50 %; vaikutus heikkenee	Nieminen ym. 2010a
Loperamidi	Itrakonatsoli; CYP3A4-esto	4-kertaistuu; vaikutus voimistuu	Niemi ym. 2006b
Loperamidi	Gemfibrotsiili; CYP2C8-esto	2-kertaistuu; vaikutus voimistuu	Niemi ym. 2006b
Repaglinidi	Gemfibrotsiili; CYP2C8 ja OATP1B1 esto	8-kertaistuu; hypoglykemian riski	Niemi ym. 2003b
Repaglinidi	Klopidogreeli; CYP2C8 esto	4–5-kertaistuu; hypoglykemian riski	Tornio ym. 2014
Repaglinidi	Siklosporiini; CYP3A4 ja OATP1B1 esto	2–3-kertaistuu; hypoglykemian riski	Kajosaari ym. 2005
Rosiglitazoni	Gemfibrotsiili; CYP2C8 + OATP1B1 esto	2–3 x; haittavaikutusten riski lis.	Niemi ym. 2003a
Pioglitazoni	Gemfibrotsiili; CYP2C8 + OATP1B1 esto	4–8 x; haittavaikutusten riski lis.	Jaakkola ym. 2005
Pioglitazoni	Klopidogreeli; CYP2C8 esto	2-kertaistuu; haitat korostuvat	Itkonen ym. 2016
Montelukasti	Gemfibrotsiili; CYP2C8 esto	4–5-kertaistuu; haittavaikutusriski lis.	Karonen ym. 2010
Titsanidiini	Fluvoksamiini; CYP1A2 esto	yli 30-kertaistuu; hypotensio, väsymys	Granfors ym. 2004a
Titsanidiini	Siprofloksasiini; CYP1A2 esto	yli 10-kertaistuu; hypotensio, väsymys	Granfors ym. 2004b
Titsanidiini	Rofekoksibi*; CYP1A2 esto	yli 10-kertaistuu; hypotensio, väsymys	Backman ym. 2006
Ketamiini	Tiklopidiini; CYP2B6 esto	yli 2-kertaistuu; yliannostus	Peltoniemi ym. 2011
Ketamiini	Greippimehu; CYP2B6 esto?	3-kertaistuu; yliannostus	Peltoniemi ym. 2012
Aliskireeni	Itrakonatsoli; transportterien esto	6-kertaistuu; vaikutus lisääntyy	Tapaninen ym. 2011

lailla oli samanaikaisesti käytössään gemfibrotsiili. Gemfibrotsiilin ja serivastatiinin yhteiskäyttö aiheutti USA:ssa sadoille potilaille vakavia lihaskivertäyksiä ja useita kymmeniä kuoli ennen kuin serivastatiini poistettiin käytöstä v. 2001. Interaktion mekanismi oli tunnistamaton, kunnes suomalaiset kliiniset farmakologit osoittivat, että gemfibrotsiili nostaa serivastatiinin ja eräiden sen metaboliittien plasmapitoisuudet 5–6-kertaisiksi, mikä selittää yhdistelmän vaarallisuuden (Backman ym. 2002). Gemfibrotsiilin päämetaboliitti (1-O-beeta-glukuronidi) inaktivoi palautumattomasti CYP2C8-entsyymiä ja tämä entsyymi osoittautui keskeiseksi serivastatiinin metaboliassa. Jo yksi kymmenesosa gemfibrotsiilin tavallisesta vuorokausiannoksesta riittää inaktivoimaan ihmisellä CYP2C8-entsyymien lähes täysin (Honkalampi ym. 2012). Entsyymien aktiivisuus palautuu normaaliksi vasta 2–3 vuorokauden kuluttua gemfibrotsiilin käytön lopettamisesta.

Koska gemfibrotsiili on in vivo vahva ja varsin selektiivinen CYP2C8-entsyymien estäjä, sitä suositellaan malli-inhibiittoriksi selvittäessä CYP2C8-entsyymien merkitystä lääkeaineiden metaboliassa (Backman ym. 2016, Tornio ym. 2017). Monen yleisessä käytössä olevan lääkkeen (mm. repaglinidi, pioglitazoni, rosiglitazoni, montelukasti) havaittiin metaboloituvan suurelta osin CYP2C8-entsyymien avulla (Niemi ym. 2003a ja b, Jaakkola ym. 2005, Karonen ym. 2010), vaikka niiden tuoteinformaatiossa ilmoitettiin muiden entsyymien olevan keskeisiä. Tämä kuvastaa osaltaan tutkimusmenetelmien haasteellisuutta ja aikaisemmin käytettyjen menetelmien rajallista kykyä erotella eri entsyymien roolia toisistaan. Virheellinen tai puuttuva tieto voi estää vaarallistenkin lääkeryhteisvaikutusten ennakoinnin. Oikein tehdyt ja tulkitut interaktiotutkimukset ovatkin potilasturvallisuuden kannalta tärkeitä.

Klopidogreeli on ollut kymmeniä vuosia kliinissä käytössä, mutta vasta äskettäin sekin on paljastunut CYP2C8-entsyymien estäjäksi (Tornio ym. 2014). Estovaikutus perustuu klopidogreelistä syntyvään asyl-glukuronidimetaboliittiin. Koska monet iäkkäät potilaat käyttävät klopidogreelin ohella useita muita lääkkeitä, on CYP2C8-eston välittämällä yhteisvaikutuksilla potentiaalisesti tärkeä kliininen merkitys (Taulukko 1). Useilla CYP2C8:n substraattilääkkeillä (mm. paklitakseli) on pieni terapeuttinen leveys. Siksi entsyymien esto voi aiheuttaa vakavia haittavaikutuksia, ellei yh-

teisvaikusta oteta huomioon lääkkeiden valinnassa ja annoksissa. Mainittakoon, että klopidogreelin käytön on jälkikäteen laskettu lisänneen noin 30-kertaiseksi serivastatiiniin liittyneen lihaskivertäyksen riskin, pelkkää serivastatiinia käyttäneisiin potilaisiin verrattuna.

TITSANIDIININ VAARALLISET YHTEISVAIKUTUKSET JÄIVÄT HUOMAAMATTA YLI KAHDEN VUOSIKYMMENEN AJAN

Sentraalinen lihasrelaksantti titsanidiini ehti olla laajassa kliinisessä käytössä yli 20 vuoden ajan ennen kuin tutkimusryhmämme osoitti, että sen eliminaatio tapahtuu lähes yksinomaan CYP1A2-entsyymien avulla. Mm. fluvoksamiini ja siprofloksasiini suurentavat titsanidiinin AUC-arvoja keskimäärin 33- ja 10-kertaiseksi inhiboimalla CYP1A2-entsyymiä. Seurauksena oli vaarallinen verenpaineen lasku ja vahva sedaatio (Granfors ym. 2004a ja b). Yllättäen myös tulehduskipulääke rofekoksibi esti voimakkaasti CYP1A2-entsyymiä lisäten titsanidiinin AUC-arvoa yli kymmenkertaiseksi (Backman ym. 2006). Jopa e-pillerit lisäsivät merkittävästi titsanidiinin pitoisuuksia. Titsanidiinin yhteiskäytöstä voimakkaiden CYP1A2-estäjien kanssa on raportoitu vakavia haittatapahtumia ja tuoteinformaatiossa varoitetaan nykyisin niiden ja titsanidiinin samanaikaisesta käytöstä. Varsinkin iäkkäillä ja verenkiertohäiriöistä kärsivillä potilailla CYP1A2-estäjien ja titsanidiinin yhteiskäytöstä aiheutuva voimakas verenpaineen lasku on suuri riski.

KULJETUSPROTEIINIT JA FARMAKOGENETIIKKA OVAT ”KUUMIA” TUTKIMUSAIHEITA

Solukalvojen kuljetusproteiineilla on suuri merkitys lääkeaineiden imeytymiselle, kudoksiin jakautumiselle, metabolialle ja erittymiselle, ja yleisemminkin aineiden kuljetukselle soluihin ja niistä ulos. Sekä perintötekijät että monet lääkkeet voivat vaikuttaa transportteriproteiinien toimintaan ja niiden substraatteina olevien lääkeaineiden tehoon. Suomalaiset tutkijat ovat tehneet useita pioneerihavaintoja sekä farmakogenetiikan että transporttereiden merkityksestä lääkevasteissa.

Effluksikuljettajiin kuuluva P-glykoproteiini (P-gp, MDR, ABCB1) estää monien lääkeaineiden imeytymistä suolistosta verenkiertoon. Useat lääkkeet ovat sekä P-gp:n että CYP3A4:n substraatteja. Lisäksi monet (lääke)aineet ovat näiden

kummankin inhibiittoreita (tai induktoreita), mikä selittää niiden kautta välittyvien interaktioiden samankaltaisuuden riippumatta siitä, kumman substraatteja uhrilääkkeet ovat. Toiminnallisesti P-gp ja CYP3A4 nivoutuvat niin tiiviisti yhteen, ettei niiden osuutta yhteisvaikutuksissa voida läheskään aina erottaa toisistaan, mikäli uhrilääkkeet ovat näiden molempien substraatteja. Itrakonatsolin ja muiden CYP3A4-inhibiittoreiden aiheuttama plasman digoksiini-pitoisuuden nousu (Partanen ym. 1996) johtunee pääosin P-gp:n estosta, koska digoksiini ei mainittavasti metaboloitu. *ABCBI*-geeni koodaa P-glykoproteiinin muodostumista. Suomalaisilla esiintyvät *ABCBI*-geenin haplotyytit vaikuttavat merkittävästi mm. simvastatiinihapon plasmapitoisuuksiin (Keskitalo ym. 2008), mikä voi heijastua mm. lihashaittojen riskiin.

OATP1B1 on orgaanisia anioneja maksasoluihin kuljettava polypeptidi. Sillä on keskeinen merkitys monen lääkeaineen farmakokinetiikalle ja vaikutuksille (Niemi ym. 2011). OATP1B1-transportteria koodaavan *SLCO1B1*-geenin polymorfoilla ja eräillä lääkeaineilla (mm. gemfibrosiili) on huomattava vaikutus OATP1B1:n toimintaan ja sitä kautta substraattilääkkeiden haittavaikutusriskiin. Huonosti toimiva OATP1B1, olipa syynä ”viallinen” *SLCO1B1*-geeni tai inhivoivat lääkkeet, voi moninkertaistaa mm. simvastatiinihapon plasmapitoisuuksia ja lisätä pitoisuusriippuvaisten lihaskaurioiden mahdollisuutta (Backman ym. 2000, Neuvonen ym. 2006, Niemi ym. 2006a, Pasanen ym. 2006b, Pasanen ym. 2007, Niemi ym. 2011). Matalaa transportteriaktiivisuutta aiheuttavan *SLCO1B1* c.521>C-variantin insidenssi on suomalaisessa väestössä homotsygoottisena noin 4 % ja heterotsygoottisena lähes 20 %. Se moninkertaistaa mm. simvastatiinin pitoisuudet plasmassa ja lisää suuresti lihaskaurioiden riskiä (Pasanen ym. 2006a). Tämän variantin insidenssi poikkeaa moninkertaisesti eri populaatioiden välillä (Pasanen ym. 2008). OATP1B1:n merkitystä potilaskohtaisia eroja aiheuttavana tekijänä ei vielä tunneta läheskään kaikkien lääkeaineiden osalta.

BCRP (Breast Cancer Resistance Protein) on effluksikuljettaja, jonka merkitys monien lääkeaineiden farmakokinetiikassa tunnetaan vielä puutteellisesti. Myös sitä koodaava *ABCG2*-geeni on polymorfinen, minkä johdosta esimerkiksi rosuvastatiinin ja atorvastatiinin plasmapitoisuuksissa on merkittäviä eroja suomalaissakin väestössä (Keskitalo ym. 2009).

Myös monien lääkeainemetaboliaan osallistuvien entsyymien aktiivisuudessa on polymorfiaa ja tämä selittää potilaiden välisiä lääkëveesteen eroja. Tunnetuimpia ovat CYP2D6-, CYP2C9- ja CYP2C19-entsyymien polymorfiat. Äskettäin on löydetty merkittävää variaatiota mm. karboksyyliesteriäsi 1 (CES1) -entsyymissä. Sitä koodaavan geenin eräs variantti vähentää CES1 aktiivisuutta, minkä seurauksena klopidogreelin aktiivisen metaboliitin muodostuminen ja verihitalevaikutukset lisääntyvät (Tarkiainen ym. 2015).

LOPUKSI

Tässä lehden toimituksen pyytämässä katsauksessa on käsitelty pääasiassa tutkimuksia, joihin liittyy Euroopan klinisen farmakologian järjestö (The European Association for Clinical Pharmacology and Therapeutics, EACPT) antoi kirjoittajalle viime kesänä Prahassa elämäntyöpalkinnon ”EACPT Prize 2017, The Lifetime Achievement in Clinical Pharmacology” (<http://eacpt.blogspot.fi/2017/02/2017-eacpt-lifetime-achievement-award.html>). Kyseessä on kahden vuoden välein myönnettävä, alan arvostetuin eurooppalainen palkinto. Tämä riippumattomalta taholta tullut huomionosoitus heijastaa osaltaan suomalaisen tieteellisen tutkimuksen kansainvälistä arvostusta. Kunniapalkinnosta kuuluu tietenkin mitä suurimmassa määrin kaikille niille tutkijoille, joiden kanssa kirjoittaja on saanut työskennellä peräti kuuden vuosikymmenen aikana ja julkaista yli 500 alkuperäisartikkelia.

Monet muutkin tutkijat Helsingin, Turun, Tampereen, Itä-Suomen ja Oulun yliopistoissa ja lääketeollisuudessa ovat tehneet arvokasta ja menestyksellistä klinisen farmakologian ja lähialojen tutkimusta, joka olisi ansainnut tulla käsitellyksi, mutta ei ollut tässä yhteydessä mahdollista.

Kuten katsauksessa kuvatuista esimerkeistä ilmenee, klinisen farmakologian merkittävät edistysaskeleet jalkautuvat yleensä nopeasti käytäntöön. Ne vaikuttavat lääketurvallisuuteen mm. vähentämällä haittavaikutusten riskiä ja parantamalla lääkehoidon vaikutusten ennakoitavuutta. Haitallisten interaktiomekanismien selvittäminen auttaa myös entistä parempien lääkeaineiden kehittämässä, kun lääkeaihioiden ja kandidaattien valinnassa osataan karsia haitallisia ominaisuuksia sisältäviä molekyyliä pois. Suomalaisten tutkijoiden panos on merkittävältä osin mahdollistanut haitallisista lääkeinteraktioista varoittavien tietokantojen kehittämisen ja käytön klinisessä työssä.

Lääketeollisuuden panos lääkkeiden kehittäjänä ja valmistajana on ratkaiseva, lääkkeet ovatkin ihmiskunnan suurimpia saavutuksia. Ymmärrettävästi lääketeollisuudessa ensisijainen tavoite on hoidollisesti tarvittavien lääkkeiden kehittäminen. Haitta- ja yhteisvaikutusmahdollisuuksien tutkimiseen ei ehkä kannusteta samassa määrin. Siksi myös valtiovallan tulisi ymmärtää, että vapaata ”akateemista puuhastelua” tarvitaan lääketurvallisuuden varmistamiseksi. Kylkiäisinä voi syntyä myös kaupallistettavia tuotteita.

Arvostettu kansainvälinen konsulttiyhtiö PriceWaterhouseCoopers on julkaissut joulukuussa 2016 selvityksen kliinisen farmakologian taloudellisista vaikutuksista Englannin kansalliselle terveydenhuoltojärjestelmälle (NHS, National Health Service). Selvityksen mukaan yhteiskunnan sijoitukset kliinisen farmakologian toimintaan tulevat peräti kuusinkertaisena takaisin (www.pwc.co.uk). On perustelua arvioida, että myös Suomessa panostukset kliinisen farmakologian koulutukseen ja toimintaedellytyksiin tuottavat terveydenhuoltojärjestelmässä vastaavaa tulosta johtaen miljoonien eurojen vuosittaiseen säästöön, mm. parantuneina hoitotuloksina ja lääkehaittojen ja niistä aiheutuneiden kustannusten vähenemisenä.

Lääkehoidon merkitys potilaiden hoidossa ja haasteet mm. monilääkityksen kasvaessa lisääntyvät jatkuvasti. Siksi kliinisen farmakologian koulutusta lääketieteen opiskelijoille, erikoislääkärinkoulutusta, ja konsultaatiomahdollisuuksia tulee olla saatavilla kaikkien yliopistosairaaloiden toiminta-alueella. Alan konsultaatiot ovat monesti hyvin vaativia ja edellyttävät potilaan sairauksien, hoitovaihtoehtojen ja lääkkeiden omaisuuksien perusteellista tuntemista. Toivottavaa on, että maamme kaikkiin lääketieteellisiin tiedekuntiin saadaan alan professuurit tarvittavine resursseineen ja että sote-uudistuksen myötä rationaalisen lääkehoidon kehittäminen saa vauhtia myös tällä tärkeällä osa-alueella, jonka kustannusvaikuttavuudesta on vahvaa näyttöä.

SUMMARY

Examples of the Research Achievements in Clinical Pharmacology in Finland and their Impact on Everyday Drug Therapy

During the recent years, clinical pharmacology has suffered from drawbacks in the universities and health care system due to the economic recession in Finland. Despite of these challenges, many groups have performed clinical and translational research aiming to an improved predictability and safety of drug treatment. For example, more than 200 clinically relevant, previously unrecognized drug-drug or food-drug interactions have been found in humans. Some of these can cause over 10-fold changes in the exposure of victim drugs. Many but not all of the drug interactions are mediated by an altered activity of drug metabolizing enzymes or membrane transporters. The observations have led to warnings or contraindications in drug information labels, even to withdrawal of some drugs from the market. For clinicians, the recognition of previously unknown adverse drug interactions helps in selection of right drugs and doses, i.e., to avoid “unknown mines” in the drug therapy. For the drug industry, exploration of the drug interaction mechanisms helps in developing of drugs, which are less prone to cause adverse effects. Based on the Finnish drug interaction studies, the FDA and EMA have adopted several probe substrates and inhibitors/inducers to their guidelines for drug industry, to be used in studies on the interaction liability of new drugs.

Key words: clinical pharmacology, academic research, drug therapy, drug safety

Author

→ **Pertti J. Neuvonen**

MD, Professor Emeritus of Clinical Pharmacology
Department of Clinical Pharmacology, Medicum
University of Helsinki
pertti.neuvonen@helsinki.fi

VIITTEET

Alaspää A, Kuisma MJ, Hoppu K, Neuvonen PJ: Prehospital administration of activated charcoal by EMS (Emergency Medical Services) is feasible and reduces delays in gastric decontamination after overdose. *Ann Emerg Med* 45:207-212, 2005

Backman JT, Filppula AM, Niemi M, Neuvonen PJ: Role of cytochrome P450 2C8 in drug metabolism and interactions. *Pharmacological Reviews* 68:168-241, 2016

Backman JT, Karjalainen MJ, Neuvonen M, Laitila J, Neuvonen PJ: Rofecoxib is a potent inhibitor of cytochrome P450 1A2: Studies with tizanidine and caffeine in healthy subjects. *Brit J Clin Pharmacol* 62:345-357, 2006

Backman JT, Kivistö KT, Olkkola KT, Neuvonen PJ: The area under the plasma concentration-time curve for oral midazolam is 400-fold larger during treatment with itraconazole than with rifampicin. *Eur J Clin Pharmacol* 54:53-58, 1998

Backman JT, Kyrklund C, Kivistö KT, Wang J-S, Neuvonen PJ: Plasma concentrations of active simvastatin acid are increased by gemfibrozil. *Clin Pharmacol Ther* 68:122-129, 2000

Backman JT, Kyrklund C, Neuvonen M, Neuvonen PJ: Gemfibrozil greatly increases plasma concentrations of cerivastatin. *Clin Pharmacol Ther* 72:685-691, 2002

Backman JT, Olkkola KT, Aranko K, Himberg J-J, Neuvonen PJ: Dose of midazolam should be reduced during diltiazem and verapamil treatments. *Br J Clin Pharmacol* 37:221-225, 1994

Backman JT, Olkkola KT, Neuvonen PJ: Rifampin drastically reduces plasma concentrations and effects of oral midazolam. *Clin Pharmacol Ther* 59:7-13, 1996a

Backman JT, Olkkola KT, Ojala M, Laaksovirta H, Neuvonen PJ: Concentrations and effects of oral midazolam are greatly reduced in patients treated with carbamazepine or phenytoin. *Epilepsia* 37:253-257, 1996b

Backman JT, Wang JS, Wen X, Kivistö KT, Neuvonen PJ: Mibefradil but not isradipine substantially elevates the plasma concentrations of the CYP3A4 substrate triazolam. *Clin Pharmacol Ther* 66:401-407, 1999

Bateman FJA: Effect of tetracyclines. *Br Med J* 4:802, 1970

British Medical Journal, Leading articles: Another drug interaction. *Br Med J* 4:509-510, 1970

Gothoni G, Neuvonen PJ, Mattila M, Hackman CR: Iron-tetracycline interaction: Effect of time interval between the drugs. *Acta Med Scand* 191:409-411, 1972

Granfors MT, Backman JT, Neuvonen M, Ahonen J, Neuvonen PJ: Fluvoxamine drastically increases concentrations and effects of tizanidine: a potentially hazardous interaction. *Clin Pharmacol Ther* 75:331-341, 2004a

Granfors MT, Backman JT, Neuvonen M, Neuvonen PJ: Ciprofloxacin greatly increases concentrations and hypotensive effect of tizanidine by inhibiting its CYP1A2-mediated presystemic metabolism. *Clin Pharmacol Ther* 76:598-606, 2004b

Hagelberg NM, Nieminen TH, Saari TI, Neuvonen M, Neuvonen PJ, Laine K, ym.: Voriconazole drastically increases exposure to oral oxycodone. *Eur J Clin Pharmacol* 65:263-271, 2009

Heykants J, Van Peer A, Van de Velde V, Van Rooy P, Meuldermans W, Lavrijssen K, ym.: The clinical pharmacokinetics of itraconazole: an overview. *Mycoses* 32 (suppl. 1):67-87, 1989

Holmberg MT, Tornio A, Joutsu-Korhonen L, ym.: Grapefruit juice markedly increases the plasma concentrations and antiplatelet effects of ticagrelor in healthy subjects. *Brit J Clin Pharmacol* 75:1488-1496, 2013

Holmberg MT, Tornio A, Neuvonen M, Neuvonen PJ, Backman JT, Niemi M: Grapefruit juice inhibits the metabolic activation of clopidogrel. *Clin Pharmacol Ther* 95:307-313, 2014

Honkalammi J, Niemi M, Neuvonen PJ, Backman JT: Gemfibrozil is a strong inactivator of CYP2C8 in very small multiple doses. *Clin Pharmacol Ther* 91:846-855, 2012

Itkonen MK, Tornio A, Neuvonen M, Neuvonen PJ, Niemi M, Backman JT: Clopidogrel markedly increases plasma concentrations of the CYP2C8 substrate pioglitazone. *Drug Metabolism and Disposition* 44:1364-1371, 2016

Jaakkola T, Backman JT, Neuvonen M, Neuvonen PJ: Effects of gemfibrozil, itraconazole, and their combination on the pharmacokinetics of pioglitazone. *Clin Pharmacol Ther* 77:404-414, 2005

Jalava K-M, Olkkola KT, Neuvonen PJ: Itraconazole greatly increases plasma concentrations and effects of felodipine. *Clin Pharmacol Ther* 61:410-415, 1997a

Jalava K-M, Olkkola KT, Neuvonen PJ: Itraconazole increases plasma concentrations of quinine. *Clin Pharmacol Ther* 62:510-517, 1997b

Kajosaari LI, Niemi M, Neuvonen M, Laitila J, Neuvonen PJ, Backman JT: Cyclosporine markedly raises the plasma concentrations of repaglinide. *Clin Pharmacol Ther* 78:388-399, 2005

Kantola T, Kivistö KT, Neuvonen PJ: Erythromycin and verapamil considerably increase serum simvastatin and simvastatin acid concentrations. *Clin Pharmacol Ther* 64:177-182, 1998a

Kantola T, Kivistö KT, Neuvonen PJ: Grapefruit juice greatly increases serum concentrations of lovastatin and lovastatin acid. *Clin Pharmacol Ther* 63:397-402, 1998b

Kantola T, Kivistö KT, Neuvonen PJ: Effect of itraconazole on the pharmacokinetics of atorvastatin. *Clin Pharmacol Ther* 64:58-65, 1998c

Karonen T, Filppula A, Laitila J, Niemi M, Neuvonen PJ, Backman JT: Gemfibrozil markedly increases the plasma concentrations of montelukast; a previously unrecognized role for CYP2C8 in the metabolism of montelukast. *Clin Pharmacol Ther* 88:223-230, 2010

Keskitalo JE, Kurkinen KJ, Neuvonen PJ, Niemi M: ABCB1 haplotypes differentially affect the pharmacokinetics of the acid and lactone forms of simvastatin and atorvastatin. *Clin Pharmacol Ther* 84: 457-461, 2008

Keskitalo JE, Zolk O, Fromm MF, Kurkinen KJ, Neuvonen PJ, Niemi M: ABCG2 polymorphism markedly affects the pharmacokinetics of atorvastatin and rosuvastatin. *Clin Pharmacol Ther* 86:197-203, 2009

Kivistö KT, Lamberg T, Kantola T, Neuvonen PJ: Plasma buspirone concentrations are greatly

increased by erythromycin and itraconazole. *Clin Pharmacol Ther* 62:348-354, 1997

Kyrklund K, Backman JT, Kivistö KT, Neuvonen M, Laitila J, Neuvonen PJ: Rifampin greatly reduces plasma simvastatin and simvastatin acid concentrations. *Clin Pharmacol Ther* 68:592-597, 2000

Kyrklund C, Backman JT, Kivistö KT, Neuvonen M, Laitila J, Neuvonen PJ: Plasma concentrations of active lovastatin acid are markedly increased by gemfibrozil but not by bezafibrate. *Clin Pharmacol Ther* 69:340-345, 2001

Laakso M, Pentikäinen PJ, Pyörälä K, Neuvonen PJ: Prolongation of the Q-T interval caused by sotalol - possible association with ventricular tachyarrhythmias. *Eur Heart J* 2:353-358, 1981

Lapatto-Reiniluoto O, Kivistö KT, Neuvonen PJ: Gastric decontamination performed 5 min after the ingestion of temazepam, verapamil and moclobemide: charcoal is superior to lavage. *Br J Clin Pharmacol* 49:274-278, 2000

Lazarou J, Pomeranz B, Corey P: Incidence of adverse drug reactions in hospitalized patients: a meta-analysis of prospective studies. *JAMA* 279:1200-1205, 1998

Lilja JJ, Backman JT, Laitila J, Luurila H, Neuvonen PJ: Itraconazole increases but grapefruit juice greatly decreases plasma concentrations of celiprolol. *Clin Pharmacol Ther* 73:192-198, 2003

Lilja JJ, Juntti-Patinen L, Neuvonen PJ: Orange juice substantially reduces the bioavailability of the β -adrenergic-blocking agent celiprolol. *Clin Pharmacol Ther* 75:184-190, 2004

Lilja JJ, Kivistö KT, Backman JT, Lamberg TS, Neuvonen PJ: Grapefruit juice substantially increases plasma concentrations of buspirone. *Clin Pharmacol Ther* 64:655-660, 1998a

Lilja JJ, Kivistö KT, Neuvonen PJ: Grapefruit-simvastatin interaction: Effect on serum concentrations of simvastatin, simvastatin acid and HMG-CoA reductase inhibitors. *Clin Pharmacol Ther* 64:477-483, 1998b

Neuvonen PJ, Clinical pharmacokinetics of oral activated charcoal in acute intoxications. *Clin Pharmacokinetics* 7:465-489, 1982

Neuvonen PJ: Towards safer and more predictable drug treatment – Reflections from studies of the first BCPT Prize awardee. *Basic Clin Pharmacol Toxicol* 10:207-218, 2012

Neuvonen PJ: Vakavien lääkehaittojen ja vaarallisten lääkeinteraktioiden ennakointi ja ehkäisy. *Duodecim* 129:22-30, 2013

Neuvonen PJ, Bardy A, Lehtovaara R: Effect of increased bioavailability of phenytoin tablets on serum phenytoin concentration in epileptic outpatients. *Br J Clin Pharmacol* 8:37-41, 1979a

Neuvonen PJ, Elfving SM, Elonen E: Reduction of absorption of digoxin, phenytoin and aspirin by activated charcoal in man. *Eur J Clin Pharmacol* 13:213-218, 1978

Neuvonen PJ, Elonen E: Effect of activated charcoal on absorption and elimination of phenobarbitone, carbamazepine and phenylbutazone in man. *Eur J Clin Pharmacol* 17:51-57, 1980

Neuvonen PJ, Elonen E, Tanskanen A, Tuomilehto J: Sotalol prolongation of the Q-T interval in hypertensive patients. *Clin Pharmacol Ther* 32:25-32, 1982

Neuvonen PJ, Elonen E, Tarssanen L: Sotalol intoxication, two patients with concentration-effect relationships. *Acta Pharmacol Toxicol* 45:52-57, 1979b

Neuvonen PJ, Gothoni G, Hackman R, af Björkstén K: Interference of iron with the absorption of tetracyclines in man. *Br Med J* 4:532-534, 1970

Neuvonen PJ, Jalava M: Itraconazole drastically increases plasma concentrations of lovastatin and lovastatin acid. *Clin Pharmacol Ther* 60:54-61, 1996

Neuvonen PJ, Kantola T, Kivistö KT: Simvastatin but not pravastatin is very susceptible to interaction with the CYP3A4 inhibitor itraconazole. *Clin Pharmacol Ther* 63:332-341, 1998

Neuvonen PJ, Niemi M, Backman JT: Drug interactions with lipid-lowering drugs: Mechanisms and clinical relevance. *Clin Pharmacol Ther* 80:565-581, 2006

Neuvonen PJ, Oikkola KT: Oral activated charcoal in the treatment of intoxications: Role of

single and repeated doses. *Medical Toxicology* 3:33-58, 1988

Neuvonen PJ, Pentikäinen PJ, Elfving SM: Factors affecting the bioavailability of phenytoin. *Int J Clin Pharmacol Biopharm* 15:84-89, 1977

Neuvonen PJ, Penttilä O: Interaction between doxycycline and barbiturates. *Br Med J* 1:535-536, 1974

Neuvonen PJ, Penttilä O, Roos M, Tirkkonen J: Effect of long-term alcohol consumption on the half-life of tetracycline and doxycycline in man. *Int J Clin Pharmacol Biopharm* 14:303-307, 1976

Neuvonen PJ, Suhonen R: Itraconazole interacts with felodipine. *J Am Acad Dermatol* 33:135-136, 1995

Neuvonen PJ, Vartiainen M, Tokola O: Comparison of activated charcoal and ipecac syrup in prevention of drug absorption. *Eur J Clin Pharmacol* 24:557-562, 1983

Niemi M, Backman JT, Granfors M, Laitila J, Neuvonen M, Neuvonen PJ: Gemfibrozil considerably increases the plasma concentrations of rosiglitazone. *Diabetologia* 46:1319-1323, 2003a

Niemi M, Backman JT, Neuvonen M, Neuvonen PJ: Effects of gemfibrozil, itraconazole, and their combination on the pharmacokinetics and pharmacodynamics of repaglinide: potentially hazardous interaction of repaglinide with gemfibrozil. *Diabetologia* 46:347-351, 2003b

Niemi M, Pasanen MK, Neuvonen PJ: SLCO1B1 polymorphism and sex affect the pharmacokinetics of pravastatin but not fluvastatin. *Clin Pharmacol Ther* 80:356-366, 2006a

Niemi M, Pasanen MK, Neuvonen PJ: Organic anion transporting polypeptide 1B1: a genetically polymorphic transporter of major importance for hepatic drug uptake. *Pharmacological Reviews* 63:157-181, 2011

Niemi M, Tornio A, Pasanen MK, Fredrikson H, Neuvonen PJ, Backman JT: Itraconazole, gemfibrozil and their combination markedly raise the plasma concentrations of loperamide. *Eur J Clin Pharmacol* 62:463-472, 2006b

Nieminen TH, Hagelberg NM, Saari TI, Neuvonen M, Laine K, Neuvonen PJ, ym.: St John's

wort greatly reduces the concentrations of oral oxycodone. *Eur J Pain* 14:854-859, 2010a

Nieminen TH, Hagelberg NM, Saari TI, Neuvonen M, Neuvonen PJ, Laine K, ym.: Oxycodone concentrations are greatly increased by the concomitant use of ritonavir or lopinavir/ritonavir. *Eur J Clin Pharmacol* 66:977-985, 2010b

Oikkola KT, Aranko K, Luurila H, Hiller A, Saarnivaara L, Himberg J-J, ym.: A potentially hazardous interaction between erythromycin and midazolam. *Clin Pharmacol Ther* 53:298-305, 1993

Oikkola KT, Backman JT, Neuvonen PJ: Midazolam should be avoided in patients receiving systemic antimycotics ketoconazole or itraconazole. *Clin Pharm Ther* 55:481-485, 1994

Partanen J, Jalava M, Neuvonen PJ: Itraconazole increases serum digoxin concentration. *Pharmacol Toxicol* 79:274-276, 1996

Pasanen MK, Backman JT, Neuvonen PJ, Niemi M: Frequencies of single nucleotide polymorphisms and haplotypes of organic anion transporting polypeptide 1B1 SLCO1B1 gene in a Finnish population. *Eur J Clin Pharmacol* 62:409-415, 2006a

Pasanen MK, Fredrikson H, Neuvonen PJ, Niemi M: Different effects of SLCO1B1 polymorphism on the pharmacokinetics of atorvastatin and rosuvastatin. *Clin Pharmacol Ther* 82:726-33, 2007

Pasanen MK, Neuvonen M, Neuvonen PJ, Niemi M: SLCO1B1 polymorphism markedly affects the pharmacokinetics of simvastatin acid. *Pharmacogen Genomics* 16:873-879, 2006b

Pasanen MK, Neuvonen PJ, Niemi M: Global analysis of genetic variation in SLCO1B1. *Pharmacogenomics* 9:19-33, 2008

Peltoniemi MA, Saari TI, Hagelberg NM, Laine K, Neuvonen PJ, Oikkola KT: S-ketamine concentrations are greatly increased by grapefruit juice. *Eur J Clin Pharmacol* 68:979-986, 2012

Peltoniemi MA, Saari TI, Hagelberg NM, Reponen P, Turpeinen M, Laine K, ym.: Exposure to oral S-ketamine is unaffected by itraconazole but greatly increased by ticlopidine. *Clin Pharmacol Ther* 90:296-302, 2011

Penttilä O, Neuvonen PJ, Aho K, Lehtovaara R: Interaction between doxycycline and some antiepileptic drugs. *Br Med J* 1:470-472, 1974

Pohjola-Sintonen S, Viitasalo M, Toivonen L, Neuvonen PJ: Itraconazole prevents terfenadine metabolism and increases risk of torsades de pointes ventricular tachycardia. *Eur J Clin Pharmacol* 45:191-193, 1993

Prescott L: New approaches in managing drug overdose and poisoning. *Br Med J* 283:274-276, 1983

PricewaterhouseCoopers: Clinical Pharmacology and Therapeutics. The case for savings with NHS, December 2016. www.pwc.co.uk

Raaska K, Niemi M, Neuvonen M, Neuvonen PJ, Kivistö KT: Plasma concentrations of inhaled budesonide and its effects on plasma cortisol are increased by the cytochrome P450 3A4 inhibitor itraconazole. *Clin Pharmacol Ther* 72:362-369, 2002

Saari TI, Grönlund J, Hagelberg NM, Neuvonen M, Laine K, Neuvonen PJ, ym.: Effects of itraconazole on the pharmacokinetics and pharmacodynamics of intravenously and orally administered oxycodone. *Eur J Clin Pharmacol* 66:387-397, 2010

Saari TI, Laine K, Leino K, Valtonen M, Neuvonen PJ, Oikkola KT: Effect of voriconazole on the pharmacokinetics and pharmacodynamics of midazolam. *Clin Pharmacol Ther* 79:362-370, 2006

Tapaninen T, Backman JT, Kurkinen KJ, Neuvonen PJ, Niemi M: Itraconazole, a P-glycoprotein and CYP3A4 inhibitor, markedly raises the plasma concentrations and enhances the renin-inhibiting effect of aliskiren. *J Clin Pharmacol* 51:359-367, 2011

Tarkiainen EK, Holmberg MT, Tornio A, Neuvonen M, Neuvonen PJ, Backman JT, ym.: Carboxylesterase 1 c.428G>A single nucleotide variation increases the antiplatelet effects of clopidogrel by reducing hydrolysis in humans. *Clin Pharmacol Ther* 97:650-658, 2015

Tornio A, Filppula AM, Kailari O, Neuvonen M, Nyrönen TH, Tapaninen T, ym.: Glucuronidation converts clopidogrel to a strong time-dependent inhibitor of CYP2C8: a phase II metabolite

as a perpetrator of drug-drug interactions. Clin Pharmacol Ther 96:498-507, 2014

62:629-634, 1997c

Tornio A, Neuvonen PJ, Niemi M, Backman JT: Role of gemfibrozil as an inhibitor of CYP2C8 and membrane transporters. Expert Opin Drug Metab Toxicol 13:83-95, 2017

Varhe A, Olkkola KT, Neuvonen PJ: Oral triazolam is potentially hazardous to patients receiving systemic antimycotics ketoconazole or itraconazole. Clin Pharmacol Ther 56:601-607, 1994

Varhe A, Olkkola KT, Neuvonen PJ: Fluconazole, but not terbinafine, enhances the effects of triazolam by inhibiting its metabolism. Br J Clin Pharmacol 41:319-323, 1996a

Varhe A, Olkkola KT, Neuvonen PJ: Diltiazem enhances the effects of triazolam by inhibiting its metabolism. Clin Pharmacol Ther 59:369-395, 1996b

Varis T, Backman JT, Kivistö KT, Neuvonen PJ: Diltiazem and mibefradil increase the plasma concentrations and greatly enhance the adrenal-suppressant effect of oral methylprednisolone. Clin Pharmacol Ther 67:215-221, 2000a

Varis T, Kaukonen K-M, Kivistö KT, Neuvonen PJ: Plasma concentrations and effects of oral methylprednisolone are considerably increased by itraconazole. Clin Pharmacol Ther 64:363-368, 1998

Varis T, Kivistö KT, Backman JT, Neuvonen PJ: The cytochrome P450 3A4 inhibitor itraconazole markedly increases the plasma concentrations of dexamethasone and enhances its adrenal-suppressant effects. Clin Pharmacol Ther 68:487-494, 2000b

Villikka K, Kivistö KT, Backman J, Olkkola KT, Neuvonen PJ: Triazolam is ineffective in patients taking rifampin. Clin Pharmacol Ther 61:8-14, 1997a

Villikka K, Kivistö KT, Lamberg TS, Kantola T, Neuvonen PJ: Concentrations and effects of zopiclone are greatly reduced by rifampicin. Br J Clin Pharmacol 43:471-474, 1997b

Villikka K, Kivistö KT, Luurila H, Neuvonen PJ: Rifampin reduces plasma concentrations and effects of zolpidem. Clin Pharmacol Ther

Aihiolääketeknologia – nykyisistä sovelluksista syöpäsoluihin kohdentuvien aihiolääkkeiden kehitykseen

→ **Jussi Kärkkäinen**

Proviisori

Nuorempi tutkija

Itä-Suomen yliopisto

jussi.karkkainen@uef.fi

TIIVISTELMÄ

Aihiolääkkeet ovat lääkeaineen inaktiivisia johdoksia, joista aktiivinen lääkeaine vapautuu elimistössä kemiallisen tai entsyymattisen reaktion kautta. Lääkeaineen vapautuminen voi tapahtua ruuansulatuskanavassa ennen imeytymistä, imeytymisen yhteydessä suolen seinämässä, ensikierron metabolian yhteydessä maksassa tai vasta jakautumisen jälkeen kohdekudoksessa. Aihiolääketeknologian avulla voidaan ratkaista lääkeaineiden fysikaalis-kemiallisiin, biofarmaseuttisiin ja farmakokineettisiin ominaisuuksiin liittyviä ongelmia, jotka rajoittavat lääkeaineiden kliinistä käyttökelpoisuutta. Aihiolääketeknologiaa hyödyntäen voidaan esimerkiksi parantaa lääkeaineen imeytymistä lisäämällä sen vesi/rasvaliukoisuutta tai kohdentaa lääkeaine haluttuun kohdekudokseen, esimerkiksi syöpäkasvaimen. Lääkeaineiden syöpäsolukohdennuksessa voidaan hyödyntää syöpäsolujen ja elimistön terveiden solujen välisiä eroavaisuuksia. Tässä artikkelissa esitellään lukijalle esimerkkien avulla aihiolääketeknologiaa ja aihiolääketeknologian tärkeimpiä sovelluskohteita sekä markkinoilla jo olevia aihiolääkkeitä. Artikkelissa myös syvennytään aihiolääketeknologian hyödyntämiseen syöpäsoluihin kohdentuvien lääkeaineiden kehityksessä.

Avainsanat: Aihiolääketeknologia, aihiolääkkeet, LAT1-aminohappokuljetinproteiini, solukalvon kuljetinproteiinin substraatti

JOHDANTO

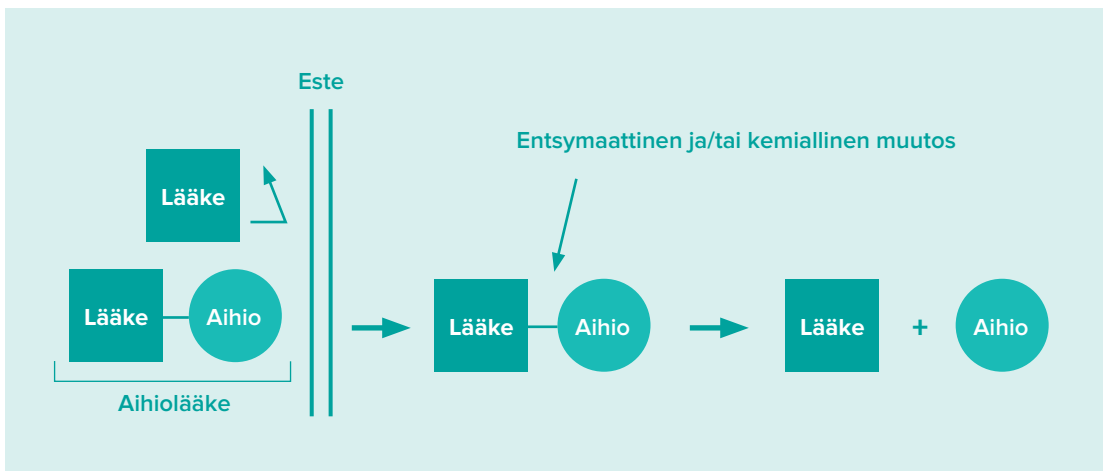
Aihiolääketeknologia on oleellinen osa lääkekehitystä. Nykyaikaisilla lääkekehityksen menetelmillä kyetään tuottamaan farmakologisesti erittäin aktiivisia lääkeainekandidaatteja. Kuitenkin usein näiden lääkeainemolekyylien lääkkeelliset ominaisuudet ovat huonoja. Esimerkiksi huonot farmakokineettiset ominaisuudet johtavat lääkekehityksen myöhemmissä vaiheissa ongelmiin ja saattavat huonoimmassa tapauksessa estää lääkeaineen kliinisen käytön kokonaan. Lääkeaineen kliinisen käyttökelpoisuuden parantamiseen voidaan hyödyntää aihiolääketeknologiaa. Aihiolääketeknologian avulla on mahdollista esimerkiksi lisätä lääkeaineen imeytymistä tai kohdentaa lääkeaine haluttuun kohdekudokseen, esimerkiksi syöpäkasvaimen. Aihiolääketeknologia voidaan liittää osaksi alkuvaiheen lääkekehitystä ja kehittää uusi lääkeaine suoraan aihiolääkemuotoon tai parantaa ”valmiiden”, jo markkinoilla olevien lääkeaineiden ominaisuuksia ja käytettävyyttä aihiolääketeknologian avulla.

Seuraavassa artikkelissa esittelen esimerkkien avulla aihiolääketeknologiaa ja aihiolääketeknologian tärkeimpiä sovelluskohteita sekä markkinoilla jo olevia aihiolääkkeitä. Artikkelin loppuosassa syvennytään aihiolääketeknologian hyödyntämiseen syöpäsoluihin kohdentuvien lääkeaineiden kehityksessä. Kohteena on syöpäsoluissa yli-ilmenevä solukalvon aminohappokuljetinproteiini (LAT1).

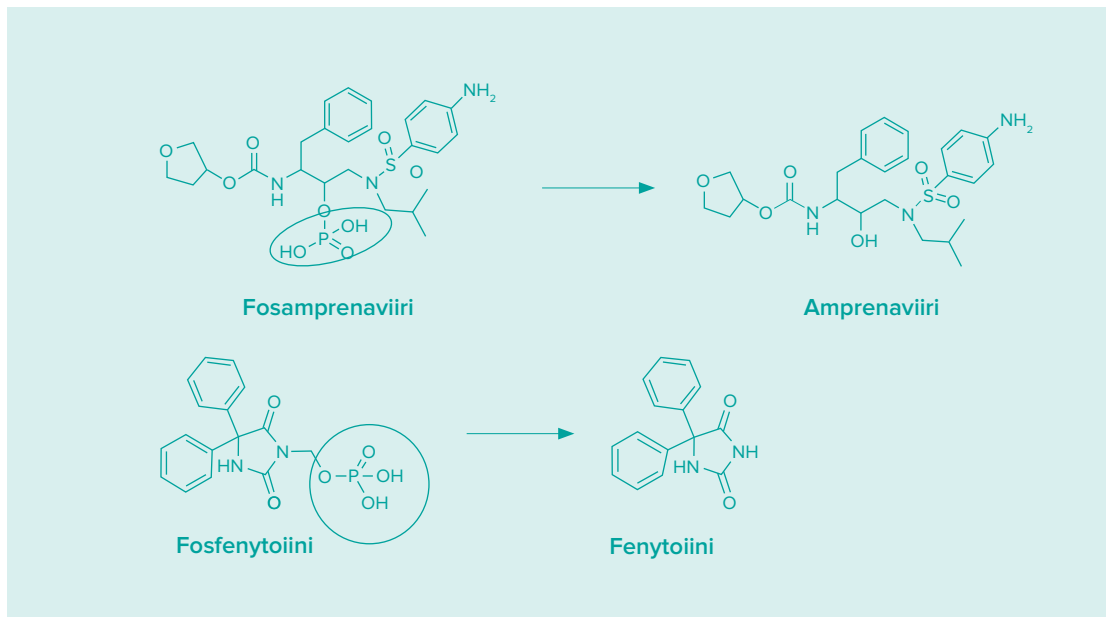
AIHIOLÄÄKKEET

Aihiolääkkeet (eng. prodrugs) ovat lääkeaineen inaktiivisia johdoksia, joista aktiivinen lääkeaine vapautuu elimistössä kemiallisen tai entsymaattisen reaktion kautta (Rautio ym. 2008). Jossain tapauksissa aktiiviseen lääkeainemolekyyliin ei ole liitetty lainkaan varsinaista aihio-osaa, vaan aktivoituminen tapahtuu molekyyliinsäisen rakennemuutoksen myötä (eng. bioprecursor prodrugs). Aktiivisen lääkeaineen vapautuminen aihio-osasta voi tapahtua ennen imeytymistä ruuansulatuskanavassa, imeytymisen yhteydessä suolen seinämässä, ensikierron metabolian aikana maksassa tai vasta jakaantumisen jälkeen kohdekudoksessa, esimerkiksi syöpäkasvaimessa. Aihiolääkkeiden toimintaperiaate on esitetty kuvassa 1. Aihiolääketeknologian merkitys uusien lääkeaineiden kehitystyössä on nykyisin suuri. On arvioitu, että tällä hetkellä kaikista markkinoilla olevista lääkkeistä noin 10 % on aihiolääkkeitä. Myös vuosina 2010–2014 hyväksytyistä uusista lääkkeistä noin 10 % oli aihiolääkkeitä ja vuonna 2015 jo noin 15 %.

Aihiolääketeknologian avulla pyritään ratkaisemaan lääkeaineiden fysikaalis-kemiallisiin, biofarmaseuttisiin ja farmakokineettisiin ominaisuuksiin liittyviä ongelmia, jotka rajoittavat lääkeaineiden kliinistä käyttökelpoisuutta (Ettmayer ym. 2004, Rautio ym. 2008). Aihiolääketeknologiaa voidaan hyödyntää niin suun kautta, parenteraalisesti kuin paikallisestikin annettavien lääkkeiden



Kuva 1. Aihiolääkkeen toimintaperiaate. Aktiivinen lääkeainemolekyyli pääsee aihiolääkkeen avulla esteen, esimerkiksi suolen seinämän tai veri-aivoesteen läpi.



Kuva 2. Kaksi vesiliukoisuutta lisäävää fosfaattiaihiolääkettä, fosamprenaviiri ja fosfentyiini, ja aktiivisten lääkeaineiden, amprenaviirin ja fentyiinin, entsymaattinen vapautuminen aihio-osistaan. Aihio-osat on kuvassa mypröity.

kehityksessä. Aihiolääketeknologiaa käyttämällä voidaan parantaa esimerkiksi lääkeaineen oraalista hyötyosuutta lisäämällä vesi- tai rasvaliukoisuutta tai hyödyntämällä elimistön aktiivisia kuljetusmekanismeja. Aihiolääketeknologian avulla voidaan myös pidentää lääkeaineen vaikutusaikaa elimistössä sekä kohdentaa lääkeaineen vaikutus haluttuun kudokseen, esimerkiksi syöpäkasvaimen tai keskushermostoon. Lääkeaineen onnistuneen kohdennuksen myötä kliininen käyttökelpoisuus paranee sekä haittavaikutukset muualla elimistössä vähenevät. Lisäksi aihiolääketeknologiaa hyödyntämällä voidaan pidentää lääkeaineen patenttiaikaa.

IMEYTYMISEN PARANTAMINEN

Imeytykseen suolistosta lääkeaineen täytyy olla liuenneena ruuansulatuskanavan nesteisiin sekä riittävän rasvaliukoinen ja molekyylikooltaan tarpeeksi pieni päästäkseen solukalvojen läpi passiivisella diffuusiolla. Lääkeaine voi olla myös suoliston aktiivisten kuljetusmekanismien substraatti, jolloin se imeytyy huolimatta puutteista vesi/rasvaliukoisuudessa.

Vesiliukoisuuden lisääminen. Ennen imeytymistä suolistosta verenkiertoon lääkeaineen tulee olla liuenneessa muodossa. Huonosti vesiliukoisesta lääkeaineesta voidaan muodostaa aihiolääke lisäämällä siihen aihio-osaksi ohutsuolen pH:ssa ionisoituva funktionaalinen ryhmä, kuten esimerkiksi fosfaatti, aminohappo tai sokeri. HIV-lääke amprenaviirin vesiliukoisuus on huono (~40 µg/ml) ja tarvittava vuorokautinen lääkeannos siten suuri. Vastaavasti amprenaviirin fosfaattiaihiolääkkeen aihio-osa (fosfaatti) ionisoituu ohutsuolen pH:ssa ja siten sen vesiliukoisuus on noin kymmenen kertaa parempi kuin amprenaviirin (Chapman ym. 2004). Aihiolääkkeen huomattavasti parempi vesiliukoisuus mahdollistaa pienempien lääkeannosten käytön ja siten myös suolistoon kohdentuvat haittavaikutukset ovat vähäisempiä. Fosamprenaviiri hydrolysoituu nopeasti amprenaviiriksi entsymaattisesti suoliston epiteelissä ennen imeytymistä (Kuva 2). Fosamprenaviiri on lisäksi hyvä esimerkki aihiolääkkeestä, jonka vaikuttava lääkeaine (amprenaviiri) oli markkinoilla ennen aihio-omotoa ja lisäksi aihio-omodon kehittäminen mahdollisti myös patenttiajan pidentämisen.

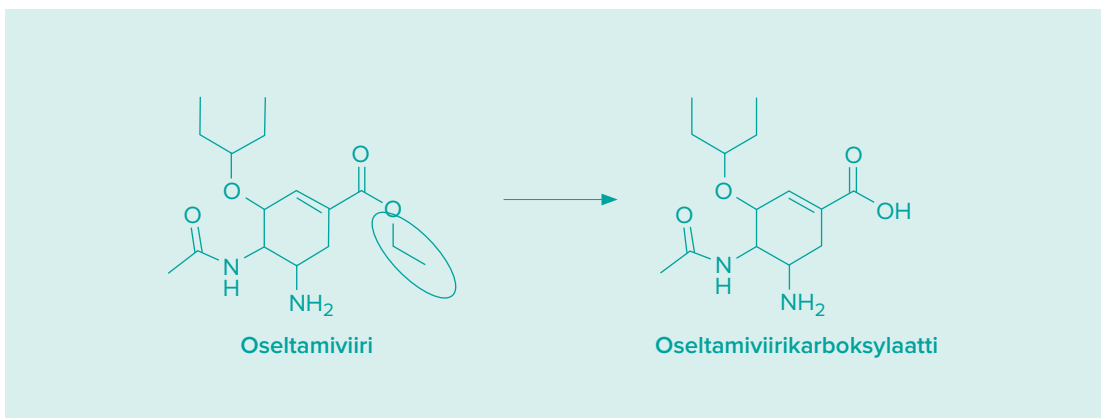
Myös parenteraalisesti annettavien lääkeaineiden hyvä vesiliukoisuus helpottaa niiden formulointia esimerkiksi infuusioliuokseksi tai injektioiksi. Epilepsian hoidossa käytettävän fenytoiinin vesiliukoisuus on huono (~20 µg/ml) ja siitä on valmistettava monimutkainen ja lukuisia haittavaikutuksia aiheuttava formulaatio (propyleeniglykoli ja etanoli apuaineina sekä korkea pH) parenteraaliseen antoon. Vastaavasti fenytoiinista muokatun fosfaattiaihiolääkkeen fosfenytoiinin vesiliukoisuus on merkittävästi suurempi (~140 mg/ml) ja se mahdollistaa lääkeaineen vesipohjaisen formuloinnin (Browne ym. 1996). Fenytoiini vapautuu aihio-osastaan elimistössä nopeasti entsyymaattisen reaktion kautta (Kuva 2).

Rasvaliukoisuuden lisääminen. Lääkeaineen imeytymistä passiivisella diffuusiolla suolistosta voidaan parantaa lisäämällä rasvaliukoisuutta. Rasvaliukoisuuden lisääminen voidaan toteuttaa tekemällä lääkeaineesta aihiolääke, jossa fysiologisessa pH:ssa ionisoitua polaarinen ryhmä (esim. karboksyylihappo) on ”piilotettu”. Yleensä tämä on toteutettu muokkaamalla lääkeaineen ionisoitua funktionaalinen ryhmä esimerkiksi esteriksi. Esterisidos hydrolysoituu nopeasti aihiolääkkeen kulkeuduttua suolistosta verenkiertoon elimistön esteraasien vaikutuksesta ja aktiivinen lääkeaine vapautuu aihio-osastaan. Useat antiviraaliset nukleosidit ovat polaarisia ja imeytyvät siten huonosti. Esimerkiksi influenssalääke oseltamiviirikarboksylaatti on liian polaarinen päästäkseen suolen seinämän läpi. Vastaavasti siitä tehty aihiolääke

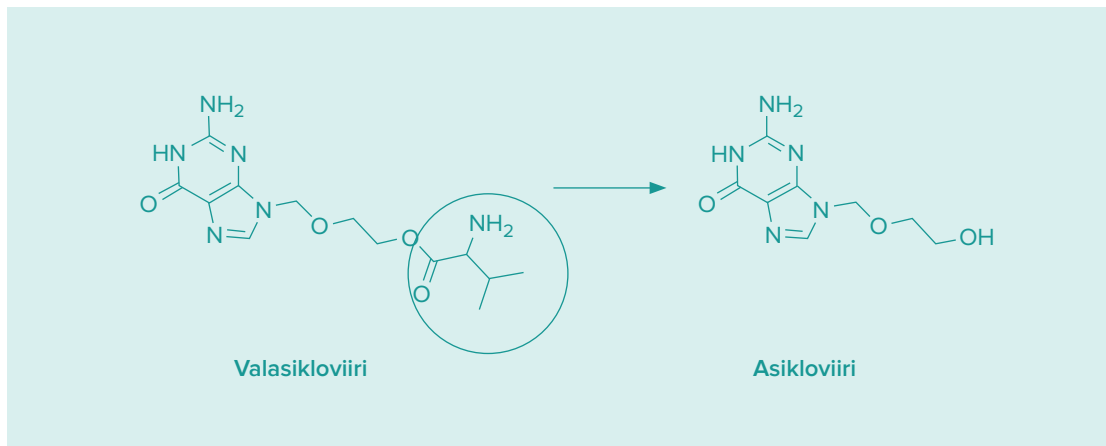
oseltamiviiri, jossa ionisoitua ryhmä (karboksyylihappo) on ”piilotettu” tekemällä siitä etyyliesteri, lisää aktiivisen lääkeaineen oraalista biologista hyötyosuutta merkittävästi (5 %:sta 79 %:iin) (McClellan ja Perry 2001). Oseltamiviirikarboksylaatti vapautuu aihio-osastaan elimistössä imeytymisen jälkeen (Kuva 3).

Aihiolääkkeitä, joissa on käytetty lääkeaineen rasvaliukoisuuden lisäämistä, ovat esimerkiksi myös angiotensiiniä korvetoivan entsyymin (ACE) estäjä enalapriili ja beetalaktaamiantibiootti pivampisilliini sekä useat glaukooman hoidossa käytettävät prostaglandiinianalogit, esimerkiksi latanoprosti, travoprosti, bimatoprosti ja tafluprosti. Enalapriili on kaksi kertaa paremmin suolistosta imeytyvä aktiivisen lääkeaineen (enalapriilaatti) etyyliesteri. Prostaglandiinianalogeista latanoprosti, travoprosti ja tafluprosti ovat aktiivisia lääkeaineitaan rasvaliukoisempia isopropyylestereitä. Ne läpäisevät sarveiskalvon ja hydrolysoituvat nopeasti aktiivisiksi lääkeaineiksi silmässä. Vastaavasti suhteellisen polaariset aktiiviset lääkeaineet läpäisevät sarveiskalvon huonosti ja aiheuttavat paikallisia haittavaikutuksia.

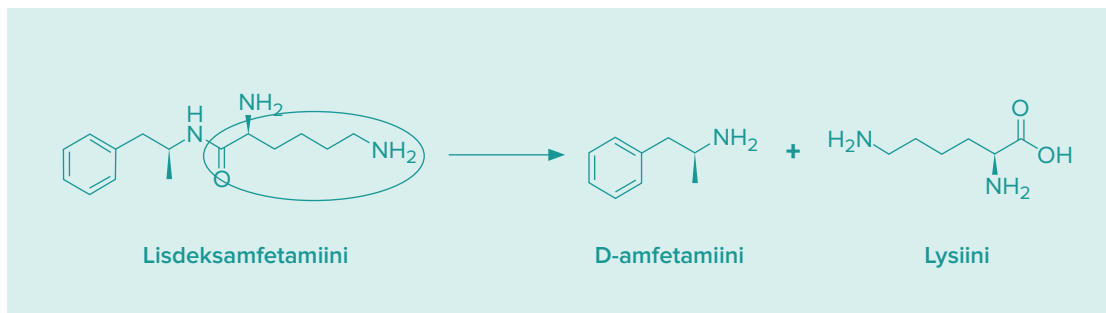
Aktiivisten kuljetusmekanismien hyödyntäminen. Imeytymistä ohutsuolesta voidaan myös parantaa käyttämällä hyväksi suolen epiteelin kuljetinproteiineja, jotka kuljettavat polaarisia ja molekyylikooltaan varsin suuria ravintoaineita suolistosta verenkiertoon. Näiden kuljetinproteiinien on todettu kuljettavan myös niiden luonnollisten substraattien kaltaisia molekyyliä. Esimerkiksi



Kuva 3. Oseltamiviirikarboksylaatin muodostuminen elimistössä oseltamiviiristä. Aihio-osa on ympyröity.



Kuva 4. Valasikloviirin hydrolysoituminen biologisesti aktiiviseen muotoon. Aihio-osana toimiva valiini on ympyröity.

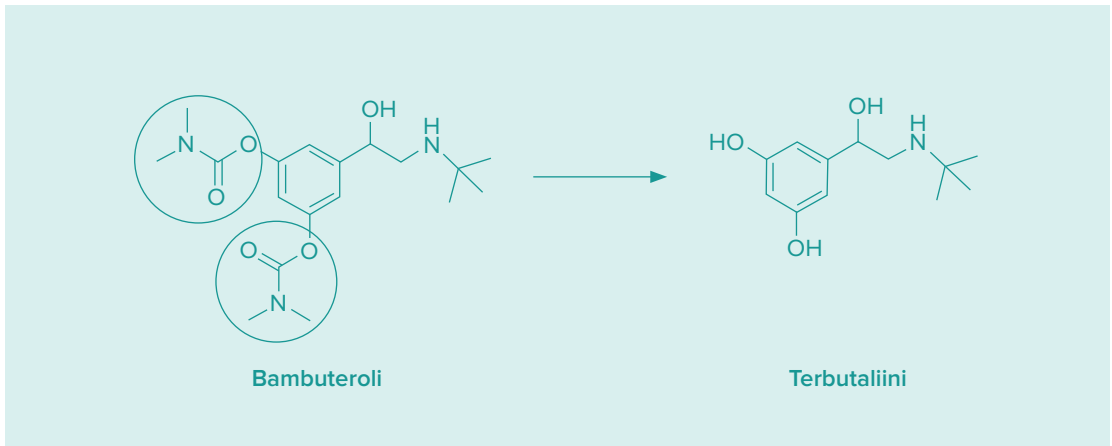


Kuva 5. Amfetamiinin lysiini-aihiolääke ja aktiivisen D-amfetamiinin vapautuminen. Aminohappoaihiio-osa on kuvassa ympyröity.

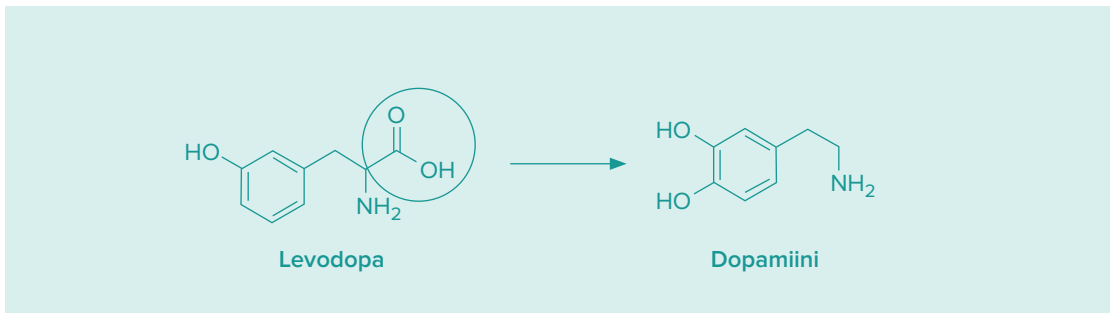
valasikloviiri, valgansikloviiri sekä lisdeksamfetamiini kykenevät käyttämään hyödyksi suoliston peptidikuljetinproteiinia (PEPT1) kulkeutuessaan verenkiertoon ohutsuolesta. Valasikloviiri ja valgansikloviiri ovat aihiolääkkeitä, joissa aihio-osana on aminohappo valiini. Aktiivinen lääkeaine vapautuu aihio-osastaan nopeasti imeytymisen jälkeen entsymaattisesti (Kuva 4).

Lisdeksamfetamiini (Kuva 5) on puolestaan amfetamiinin (D-muoto) imeytymisessä PEPT1:tä hyväksi käytävä lysiini-aihiolääke ADHD:n oireiden hoitoon (Pennick 2010). Aihiolääke vähentää väärinkäytön mahdollisuutta ja vapauttaa amfetamiinin verenkiertoon hitaasti pidentäen sen vaikutusaikaa.

Vaikutuksen pidentäminen. Lääkeaineen vaikutusaikaa elimistössä voidaan pidentää esimerkiksi vähentämällä sen metaboliaa. Voimakkaan ensikierron metabolian myötä hyötyosuus on yleensä pieni ja käytettävät lääkeannokset terapeuttisen vasteen saavuttamiseksi suuria. Myös lääkkeestä aiheutuvat haittavaikutukset siten lisääntyvät. Tällaisessa tapauksessa metabolisesti labiili, mutta farmakologisen vaikutuksen kannalta tärkeä funktionaalinen ryhmä ”suojataan” aihio-osalla. Tästä hyvänä esimerkkinä on terbutaliini, jonka nopeasti metaboloituvat fenoliset hydroksyyli-ryhmät on suojattu aihio-osilla (Kuva 6) aihiolääkkeeksi (bambuteroli).



Kuva 6. Bambuterolin hydrolysoituminen aktiiviseksi lääkeaineeksi, terbutaliiniksi. Fenolisia hydroksyyliiryhmiä suojaavat aihio-osat on ympyröity.



Kuva 7. Dopamiinin muodostuminen levodopasta. Levodopan kuljetinproteiinivälitteisen kuljetuksen mahdollistama aihio-osa on ympyröity.

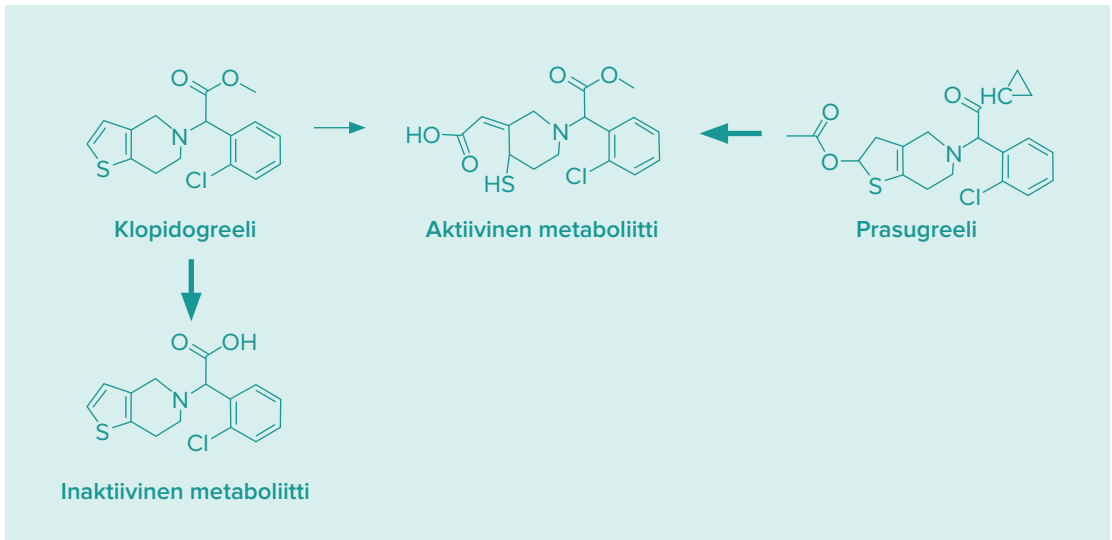
LÄÄKEAINEEN KOHDENTAMINEN.

Aihiolääketeknologian avulla voidaan lääkeaine kohdentaa esimerkiksi keskushermostoon, maksaan tai syöpäsoluihin.

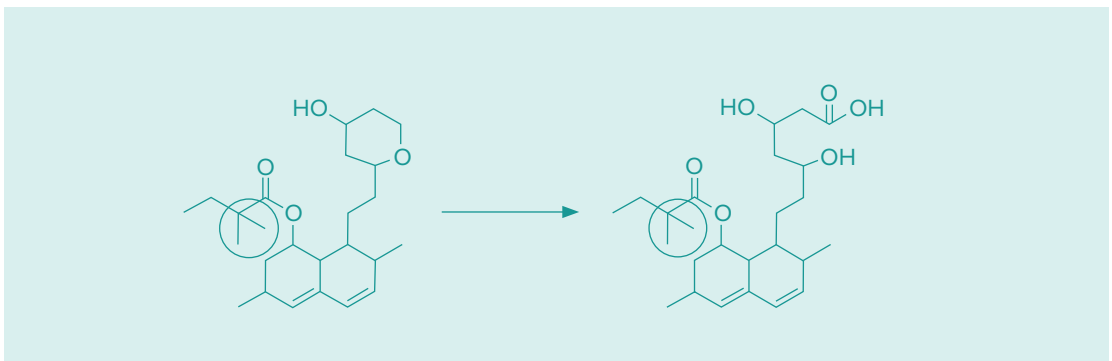
Keskushermosto. Veri-aivoeste rajoittaa tehokkaasti lääkeaineiden siirtymistä verenkierrosta keskushermostoon, joka on kliinisesti yksi vaikeimmin tavoitettavista lääkekohteista. Kohdennettaessa lääkeaine keskushermostoon on mahdollista hyödyntää veri-aivoesteellä olevia kuljetinproteiineja. Tästä hyvänä esimerkkinä on dopamiinin aihiolääke levodopa, joka on aminohappokuljetinproteiinin (LAT1) substraatti (Kageyama ym. 2000). Veri-aivoesteen läpäistyään levodopa muuttuu aivoissa entsymaattisen reaktion (dopa-

dekarboksylaasi) seurauksena dopamiiniksi (Kuva 7). Hydrofiilisenä molekyylinä dopamiini jää aivoihin ”loukkuun” ja saa aikaan lääkeaineen farmakodynaamiset vaikutukset.

Veri-aivoesteen läpäisevät parhaiten verraten pienet ja rasvaliukoiset molekyylit. Siten myös lääkeaineen rasvaliukoisuuden lisääminen (mainittu edellä) mahdollistaa tehokkaamman veri-aivoesteen läpäisyn, ja toimii siten myös kohdentamiskeinona keskushermostoon. Tällöin aktiivisen lääkeaineen vapautuminen aihio-osastaan tulee tapahtua selektiivisesti keskushermostossa ja vapautuneen lääkeaineen täytyy pidättäytyä aivoissa/ keskushermostossa aikaansaadakseen farmakologisen vaikutuksen.



Kuva 8. Klopidogreelin ja prasugreelin metaboloituminen entsyymaattisesti aktiiviseen muotoon maksassa. Klopidogreelistä noin 85 % metaboloituu inaktiiviseen karboksyylihappomuotoon.



Kuva 9. Simvastatiinin ja lovastatiinin aktivoituminen maksassa. Ainoastaan ympyröity kohta erottaa simvastatiinin ja lovastatiinin toisistaan; simvastatiinissa on ympyröidyssä kohdassa kaksi metyyliyhä (kuten kuvassa) ja lovastatiinissa yksi.

Maksa. Maksassa on paljon aihiolääkkeiden aktivointiin kykeneviä, maksa-spesifejä metaboloivia entsyymejä. Tätä voidaan käyttää hyväksi myös lääkeaineiden kohdennuksessa. Esimerkiksi klopidogreeli ja prasugreeli metaboloituvat aktiiviseen muotoonsa sytokromi P450-entsyymien vaikutuksesta vaikutuspaikallaan maksassa (Kuva 8). Klopidogreelistä kuitenkin metaboloituu noin 85 % inaktiiviseen muotoon. Prasugreeli on klopidogreelistä kehitetty rakenneanalogi, joka puolestaan

metaboloituu pääasiassa aktiiviseen muotoon ja siten parantaa lääkeaineen kliinistä käytettävyyttä merkittävästi.

Hyperkolestrolemian hoitoon käytettävät 3-hydroksi-3-metyyliliglutaryylikoentsyymi A - (HMG-CoA) reduktaasin estäjät simvastatiini ja lovastatiini ovat myös maksaan kohdentuvia aihiolääkkeitä. Molemmat aihiolääkkeet ovat varsin rasvaliukoisia, joiden muuttuminen polaarisemmiksi aktiivisiksi hydroksihappomuodoiksi tapahtuu

vaikutuspaikallaan maksassa molekyylin sisäisten rakennemuutosten myötä (Kuva 9). Lisääntyneen rasvaliukoisuuden myötä ne myös imeytyvät suhteellisen polaarisia aktiivisia muotojaan paremmin suolistosta.

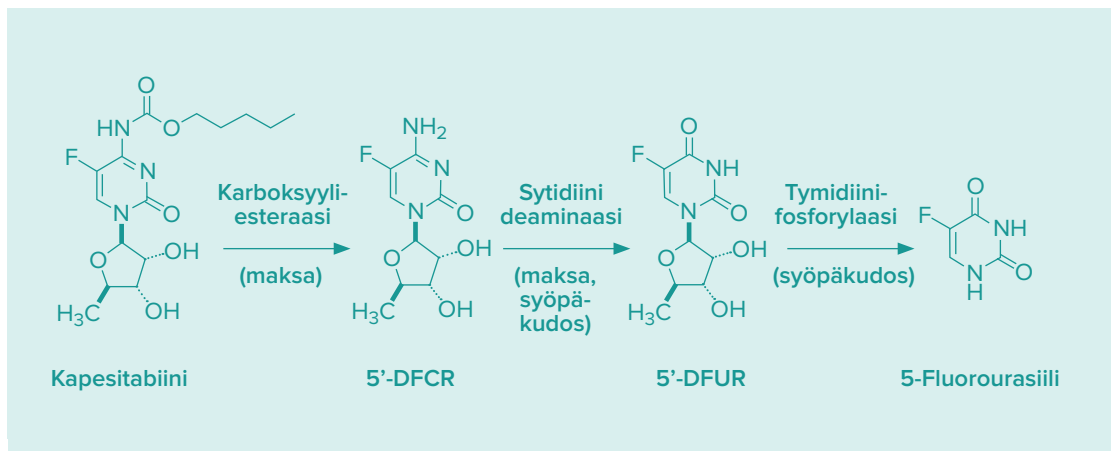
Syöpä. Syövän hoidossa käytettävät sytotoksiset lääkeaineet aiheuttavat hankalia haittavaikutuksia, koska niiden solutoksinen vaikutus kohdistuu syöpäsolujen lisäksi myös elimistön terveisiin jakautuviin soluihin, esimerkiksi luuytimessä ja limakalvoilla (Tietze ja Schmuck 2011). Hankalien haittavaikutusten seurauksena solunsalpaajia annetaan usein myös liian pieninä hoitoannoksina (Allen 2002). Tämä johtaa pahimmassa tapauksessa lääkehoidon epäonnistumiseen, lääkeaineresistenssin muodostumiseen ja lopulta syöpäsolujen leviämiseen elimistössä.

Syöpälääkkeiden kohdennuksessa voidaan hyödyntää elimistön terveiden solujen ja syöpäsolujen välisiä eroavaisuuksia (mm. Dubowchik ja Walker 1999, Allen 2002, Kratz ym. 2008, Srinivasarao ym. 2015). Onnistuneella kohdennuksella syöpälääkkeiden aiheuttamia toksisia haittavaikutuksia voidaan vähentää elimistön terveissä soluissa. Syövän syntymisen ja leviämisen kannalta keskeisten yhteisten piirteiden myötä muuntuneet syöpäsolut poikkeavat elimistön normaaleista soluista useiden solukalvon pintarakenteiden osalta. Syöpäsolujen solukalvolla esiintyy suurempina pitoisuuksina lukuisia vasta-aineita, reseptoreja, kuljetinproteiineja ja entsyymejä kuin elimistön terveissä soluissa

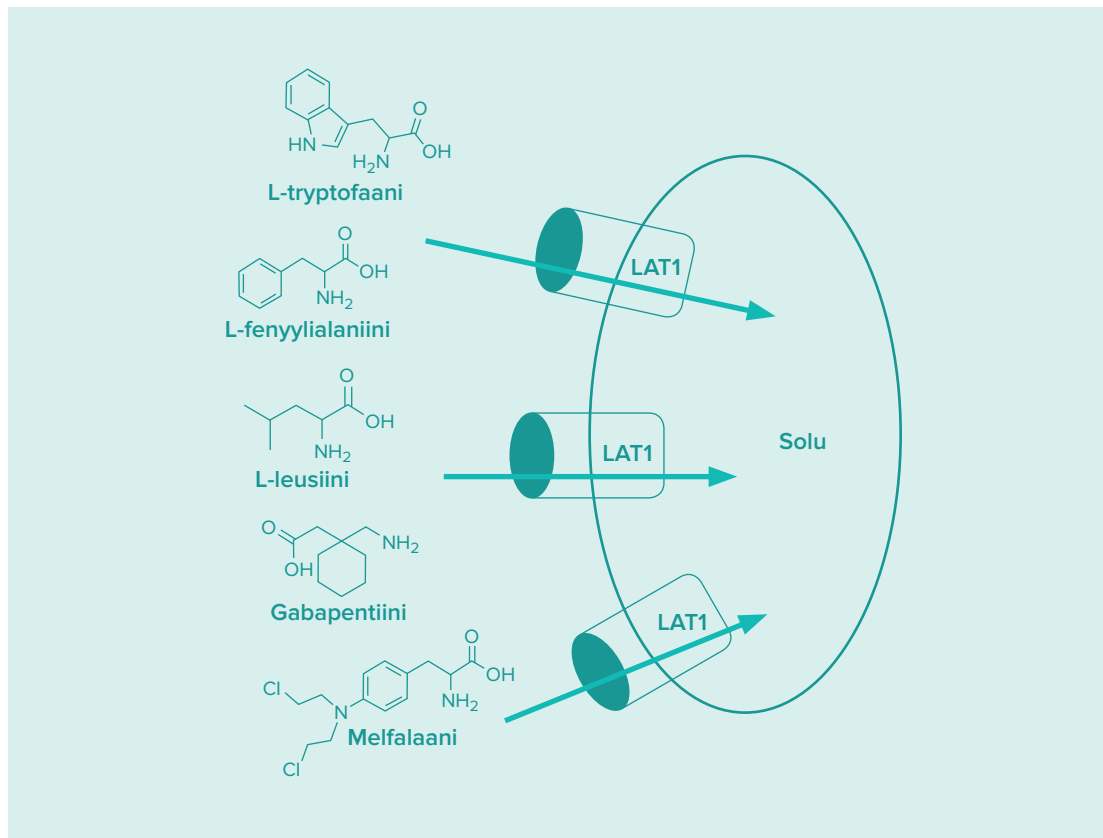
(mm. Hanahan ja Weinberg 2011, Kratz ym. 2008). Hyvänä esimerkkinä syöpäsoluihin kohdentuvasta lääkkeestä on 5-fluorourasiilin aihiolääke kapesitabiini (Walko ja Lindley 2005). Kapesitabiini muuttuu usean elimistössä tapahtuvan entsyymaattisen vaiheen jälkeen pääosin syöpäsoluissa aktiiviseksi 5-fluorourasiiliksi (Kuva 10), sillä aktivoitumiseen tarvittavaa tymidiinifosforylaasientsyymiä on kasvainsoluissa enemmän kuin terveissä soluissa. Siten vältetään lääkeaineen aiheuttamat solutoksiset vaikutukset muualla elimistössä.

LAT1 ja aihiolääkkeiden syöpäsolukohdentaminen. Solukalvon kuljetinproteiinit kuljettavat solun ulkoisista tiloista solun sisään useita vesiliukoisia ravintoaineita, jotka eivät muuten läpäise solukalvoa (Ganapathy ym. 2009). Syöpäsolujen solukalvolla esiintyy yli-ilmentyneenä esimerkiksi useita SLC-ryhmän (solute carrier) kuljetinproteiineja, jotka kuljettavat peptidejä, aminohappoja sekä vitamiineja ja hivenaineita soluun. Solukalvon kuljetinproteiineista suurten neutraalien aminohappojen kuljetinproteiini 1 (LAT1) on havaittu kiinnostavaksi terapeuttiseksi kohteeksi kohdennettaessa lääkeaineita aihiolääketeknologiaa hyödyntäen syöpäsoluihin.

LAT1:n on todettu yli-ilmentyvän useissa syöpäsoluissa, kuten esimerkiksi glioomassa sekä rintatauti-, keuhko- ja eturauhassyövässä (Fuchs ja Bode 2005). Nopeasti jakautuvat syöpäsolut tarvitsevat normaaleja soluja enemmän välttämättömiä aminohappoja proteiinisynteesiin sekä energian läh-



Kuva 10. Kapesitabiinin aktivoituminen elimistössä aktiiviseksi lääkeaineeksi, 5-fluorourasiiliksi.



Kuva 11. LAT1:n luonnollisten substraattien (tryptofaani, leusiini, fenyyialaniini) sekä gabapentiinin ja melfalaanin rakennekaavat. Molekyylit kulkeutuvat LAT1:n kautta esimerkiksi syöpäsolujen sisään.

teeksi syöpäsolujen muuntuneen energia-aineenvaihdunnan seurauksena. LAT1:n solun sisään kuljettama leusiini on osallisena myös syöpäsoluille tyypillisissä signaalinvälitysketjuissa edesauttamassa syövän kehittymistä ja leviämistä (Cantor ja Ginsberg 2012). LAT1:n ilmentyminen syöpäsoluissa seuraa syövän kliinis-patologista tilaa ollen aggressiivisissa ja etäpesäkkeitä lähettäneissä kasvaimissa suurempaa (Kaira ym. 2008). Syöpäsoluissa LAT1:n inhiboiminen on todettu estävän syöpäsolujen kasvua ja jakautumista (Imai ym. 2010).

LAT1 kuljettaa useita elimistölle välttämättömiä suuria neutraaleja aminohappoja, kuten fenyyialaniinia, leusiinia ja tryptofaania (Kuva 11) solun ulkoisista tiloista solujen sisään (Yanagida ym. 2001). Luonnollisten substraattien lisäksi LAT1 osallistuu myös luonnollisten substraattien kaltaisten lääkeainemolekyylien, kuten esimerkiksi levodopan (Kuva 7), melfalaanin ja gabapentiinin

(Kuva 11) kuljetukseen (esim. Kageyama ym. 2000, Uchino ym. 2002). Levodopa ja gabapentiini kulkeutuvat aivoihin veri-aivoesteen LAT1:n kautta ja melfalaani syöpäsoluihin syöpäsolujen solukalvon LAT1:n kautta.

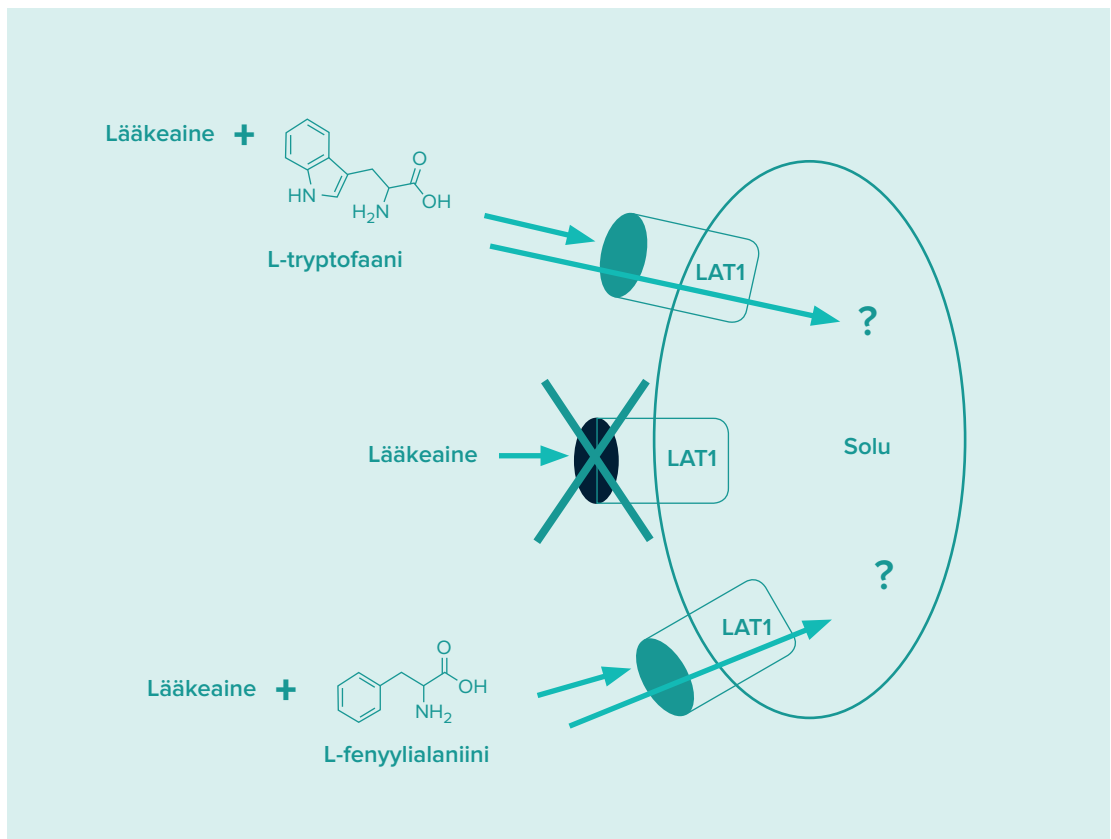
Lisäksi aminohappoaihiolääkkeet, jossa on LAT1:n luonnollinen substraatti (esim. fenyyialaniini) aihio-osana ja lääkeaine, joka ei itsessään ole LAT1-substraatti, sitoutuvat erittäin tehokkaasti LAT1:een (Kuva 12, lyhyet nuolet) (Ylikangas ym. 2013). Yhteistä molekyyleille, jotka kykenevät sitoutumaan LAT1:een ovat vapaa amino- (NH₂) ja karboksyylihapporyhmä (COOH) sekä rasvaliukoinen, haaraunut tai aromaattinen sivuketju (Kuva 11 ja Kuva 12).

Aminohappoaihiolääkkeiden LAT1-sitoutumiseen vaikuttavat sekä aihio-osan että lääkeaineen kemialliset ominaisuudet (Ylikangas ym. 2013). LAT1-sitoutumista lisäävät esimerkiksi; i) mole-

kyylikooltaan suhteellisen suuri ja rasvaliukoinen lääkeaine ii) lääkeaine meta-asemassa aihio-osana toimivan fenyylialaniinin aromaattisessa renkaassa iii) aminohappoaihiio-osan aromaattinen rakenne. Kuitenkin toistaiseksi tiedetään huonosti, missä määrin LAT1:een sitoutuvat aminohappoaihiolääkkeet kulkeutuvat solujen sisään LAT1:n kautta (Kuva 12, pitkät nuolet). Aiemmin on ainoastaan tutkittu niiden sitoutumista LAT1:een.

Itä-Suomen yliopiston farmasian laitoksella on parhaillaan menossa tutkimus, jossa selvitetään LAT1:een sitoutuvien molekyylien LAT1-välitteinen soluun kulkeutuminen. Tavoitteena on määrittää niitä rakenteellisia ominaisuuksia, jotka mahdollistavat tehokkaan LAT1-välitteisen kuljetuksen. Tutkimukseen on valittu joukko erilaisen LAT1-sitoutumisen omaavia molekyyliä,

joille määritetään LAT1-sitoutumisen lisäksi varsinainen LAT1-välitteinen kuljetus rintasyöpäsolujen (MCF-7) sisään. Tutkimuksen tässä vaiheessa myös määritetään näiden tutkimukseen valittujen molekyylien osalta LAT1-välitteisen soluun kulkeutumisen selektiivisyyttä suhteessa solukalvon muihin aminohappokuljetinproteiineihin, jotka hyväksyvät substraateikseen samankaltaisia molekyyliä kuin LAT1. Tutkimuksessa halutaan varmistaa, että LAT1-kohdentuviksi suunnitellut aminohappoaihiolääkkeet hyödyntävä ainoastaan LAT1:stä kulkeutuessaan solun sisään. Kokonaistavoitteena on siten selvittää ne rakenteelliset aihio-osan ja lääkeaineen ominaisuudet, jotka mahdollistavat lääkkeiden kohdentamisen selektiivisesti syöpäsoluihin.



Kuva 12. Aminohappoaihiolääkkeet, joissa on aihio-osana LAT1:n luonnollinen substraatti (esim. fenyylialaniini tai tryptofaani), sitoutuvat tehokkaasti LAT1:een (lyhyet nuolet). Lääkeaineen ei tarvitse olla LAT1-substraatti. Ei kuitenkaan tiedetä, kulkeutuvatko aminohappoaihiolääkkeet myös tehokkaasti LAT1-välitteisesti solujen sisään (pitkät nuolet).

TULEVAISUUDEN NÄKYMÄ

Aihiolääketeknologia on tärkeä osa nykyaikaista lääkekehitystä. Aihiolääketeknologian avulla voidaan parantaa lääkeaineen kliinistä käyttökel- poisuutta. Se voidaan ottaa osaksi jo alkuvaiheen lääkekehitystä ja kehittää uusi lääkeaine suoraan aihiolääkemuotoon. Myös vanhoista, jo olemassa olevista lääkeaineista voidaan tehdä aihiolääkkeitä ja parantaa niiden käytettävyyttä. Siten lääkkeitä pystytään parantamaan ja tehostamaan ilman täysin uusien lääkeaineiden kehitykseen liittyviä pitkiä ja riskialttiita lääkekehitysprojekteja.

Esimerkiksi syöpäsolukohdennuksesta tehtävä tutkimus tuottaa arvokasta tietoa aihiolääkkeiden suunnitteluun. Kohdennukseen optimaalisen aihio-osan ja lääkeaineen valitsemiseksi tulee kuitenkin hyödynnettävän aktiivisen kuljetinproteiinin toiminta ja substraattien tunnistaminen määrittää ensin tarkasti. Jos jo olemassa olevista solutoksisista lääkeaineista onnistuttaisiin muok- kaamaan esimerkiksi LAT1-kohdentuvia aihio- lääkkeitä, lisääntyisivät lääkeaineiden teho ja turvallisuus ja siten kliininen käyttökelpoisuus ja potilaiden hoitomyöntyvyys.

SUMMARY

Prodrugs are inactive forms of active drugs that are designed to be activated after an enzymatic or chemical reaction once administered into the body. Release of the active drug can occur before, during or after absorption at the specific site of action. The ultimate goal in prodrug design is to overcome the physicochemical, pharmaceutical, biopharmaceutical and pharmacokinetic limitations of parent drug, which otherwise would hamper its clinical use. The prodrug approach may provide an effective tool, for example, to enhance insufficient oral absorption by improved aqueous solubility/lipophilicity or to target drug action into specific organ, tissue or cells, for example cancer cells. Differences between normal and cancer cells can be utilized as a back- ground to targeted (pro)drug strategies. This article describes the main points of prodrug technology and highlights examples of prodrugs that are in clinical use. Also certain prodrug strategies for cancer targeting is introduced.

Keywords: Prodrug technology, prodrugs, L-type amino acid transporter 1, transporter substrate

KIRJALLISUUSVIITTEET

Allen TM: Ligand-targeted therapeutics in anticancer therapy. *Nat Rev Cancer* 2:750-63, 2002.

Browne TR, Kugler AR, Eldon MA: Pharmacology and pharmacokinetics of fosphenytoin. *Neurology* 46:S3-7, 1996.

Cantor JM, Ginsberg MH: CD98 at the crossroads of adaptive immunity and cancer. *J Cell Sci* 125:1373-82, 2012.

Chapman TM, Plosker GL, Perry CM: Fosamprenavir: a review of its use in the management of antiretroviral therapy-naïve patients with HIV infection. *Drugs* 64:2101-24, 2004.

Dubowchik GM, Walker MA: Receptor-mediated and enzyme-dependent targeting of cytotoxic anticancer drugs. *Pharmacol Ther* 83: 67-123, 1999

Ettmayer P, Amidon GL, Clement B, Testa B: Lessons learned from marketed and investigational prodrugs. *J Med Chem* 47:2393-404, 2004.

Fuchs BC, Bode BP: Amino acid transporters ASCT2 and LAT1 in cancer: partners in crime? *Semin Cancer Biol* 15:254-66, 2005.

Ganapathy V, Thangaraju M, Prasad PD: Nutrient transporters in cancer: relevance to Warburg hypothesis and beyond. *Pharmacol Ther* 121:29-40, 2009.

Giang I, Boland EL, Poon GM: Prodrug applications for targeted cancer therapy. *AAPS J* 16:899-913, 2014.

Hanahan D, Weinberg RA: Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell* 144:646-74, 2011.

Imai H, Kaira K, Oriuchi N, ym.: Inhibition of L-type amino acid transporter 1 has antitumor activity in non-small cell lung cancer. *Anticancer Res* 304819-28, 2010.

Kageyama T, Nakamura M, Matsuo A, ym.: The 4F2hc/LAT1 complex transports L-DOPA across the blood-brain barrier. *Brain Res* 879:115-121, 2000.

Kaira K, Oriuchi N, Imai H, ym.: Prognostic significance of L-type amino acid transporter 1 expression in resectable stage I-III nonsmall cell lung cancer. *Br J Cancer* 98:742-8, 2008.

Kratz F, Muller IA, Ryppa C, Warnecke A: Prodrug strategies in anticancer chemotherapy. *ChemMedChem* 3:20-53, 2008.

McClellan K, Perry CM: Oseltamivir: a review of its use in influenza. *Drugs* 61:263-83, 2001.

Pennick M: Absorption of lisdexamfetamine dimesylate and its enzymatic conversion to d-amphetamine. *Neuropsychiatr Dis Treat* 6: 317-27, 2010.

Rautio J, Kumpulainen H, Heimbach T, ym.: Prodrugs: design and clinical applications. *Nat Rev Drug Discov* 7:255-70, 2008.

Srinivasarao M, Galliford CV, Low PS: Principles in the design of ligand-targeted cancer therapeutics and imaging agents. *Nat Rev Drug Discov* 14:203-19, 2015

Tietze LF, Schmuck K: Prodrugs for targeted tumor therapies: recent developments in ADEPT, GDEPT and PMT. *Curr Pharm Des* 17:3527-3547, 2011.

Uchino H, Kanai Y, Kim DK, ym.: Transport of amino acid-related compounds mediated by L-type amino acid transporter 1 (LAT1): insights into the mechanisms of substrate recognition. *Mol Pharmacol* 61:729-37, 2002.

Walko CM, Lindley C: Capecitabine: a review. *Clin Ther* 2723-44, 2005.

Yanagida O, Kanai Y, Chairoungdua A, ym.: Human L-type amino acid transporter 1 (LAT1): characterization of function and expression in tumor cell lines. *Biochim Biophys Acta* 1514:291-302, 2001.

Ylikangas H, Peura L, Malmioja K, ym.: Structure-activity relationship study of compounds binding to large amino acid transporter 1 (LAT1) based on pharmacophore modeling and in situ rat brain perfusion. *Eur J Pharm Sci* 48:523-31, 2013.

Lääkeneuvonta ja lääkityslistan ajantasaisuuden varmistaminen sairaalasta kotiutettaessa

→ Elina Mäkinieniemi

Proviisori, Regulatory/Pharmacovigilance Expert
DRA Consulting Oy
elina.makiniemi@gmail.com

→ Maija Koljonen

Proviisori, FaL
Kuopion yliopistollinen sairaala
maiya.koljonen@kuh.fi

→ Raimo Ojala

Erikoisproviisori
Kuopion yliopistollinen sairaala
raimo.ojala@kuh.fi

→ Kirsti Laitinen

Yliopistonlehtori, FaT
Itä-Suomen yliopisto
Farmasian laitos, farmakologia
kirsti.laitinen@uef.fi

Kirjeenvaihto:

Elina Mäkinieniemi
elina.makiniemi@gmail.com

TIIVISTELMÄ

Johdanto Turvallinen lääkehoito edellyttää, että potilas ymmärtää, mikä on hänen lääkityksensä käyttötarkoitus, miten lääkettä käytetään, miten se vaikuttaa, mitkä ovat mahdolliset haittavaikutukset ja milloin tulee ottaa yhteyttä lääkäriin. Kotiuttamisvaiheen lääkityksen ajantasaistamisella (engl. medication reconciliation) ja lääkeneuvonnalla voidaan vähentää lääkityspoikkeamia ja edistää potilaan hoitoon sitoutumista. Tämän tutkimuksen tavoitteena oli tarkastella sairaalasta kotiutuvien potilaiden lääkeneuvonnan toteutumista ja potilaiden ymmärrystä omasta lääkityksestään sekä kotiuttamisen yhteydessä potilas-tietojärjestelmästä tulostetun lääkelistan (=kotilääkekortin) ajantasaisuutta. Lisäksi tavoitteena oli luoda kotiuttamisvaiheen lääkehoidon tarkistuslista.

Aineisto ja menetelmät Tutkimus toteutettiin strukturoituna haastatteluna lääkärin tekemän kotiuttamisen jälkeen Kuopion yliopistollisen sairaalan (KYS) sydänosaston potilailla keväällä 2015. Haastatteluun hyväksyttiin 30 potilasta. Valintakriteereinä oli, että potilas kotiutui kotiin ja hänellä oli käytössä vähintään kolme lääkettä. Tutkittavien ikää ei rajattu.

Tulokset Syyn uuden lääkkeen aloitukseen osasi kertoa 75 % potilaista (n=24), syyn lääkkeen lopetukseen 50% (n=16) ja syyn annosmuutokseen 64 % (n=14). Potilaat ymmärsivät käyttämiensä lääkkeiden käyttötarkoitukset, annokset ja ottoajankohdat pääosin hyvin. Lääkkeiden käyttöön liittyvät haittavaikutukset ja riskit tiedettiin heikosti. Lääkkeiden käyttämättä jättämisen riskeistä potilaat tiedostivat välittömät vaikutukset, mutta pitkän aikavälin vaikutusten tunnistaminen oli heikkoa. Ainoastaan neljällä (13 % potilaista) tutkimuspotilaalla kotilääkekortti vastasi potilaan haastattelussa ilmoittamaa kotilääkitystä. Yhteensä kotilääkekorteilta (n=30) löydettiin 82 poikkeamaa, joista yleisin oli lääkkeen puuttuminen (52 % poikkeamista).

Johtopäätökset Lääkeneuvonnan tulisi kattaa uusien lääkitysten aloitukset, lääkitysten lopettamiset ja annosmuutokset. Lääkitysten hoidolliset ja haitalliset vaikutukset sekä käyttämättä jättämisen seuraukset, myös pitkäaikaiset seuraukset, tulisi käydä systemaattisemmin läpi potilaan kanssa. Kotiuttamisvaiheen lääkeneuvonnassa tulisi varmistaa, että kotilääkekortit vastaavat potilaiden kotona käyttämää lääkitystä ja että potilas tietää ja ymmärtää tehdyt muutokset. Kotiuttamisvaiheen lääkehoidon tarkistuslistalla voitaisiin todennäköisesti yhtenäistää sairaalan kotiuttamiskäytäntöjä lääkityslistan ajantasaistamisen ja lääkeneuvonnan osalta.

Avainsanat: lääkityspoikkeama, lääkitysturvallisuus, lääkeneuvonta, lääkityksen ajantasaistaminen, sairaalasta kotiuttaminen

JOHDANTO

Potilaan sairaalasta kotiuttaminen käsitteenä yhdistetään yleensä sairaalahoitajakson loppupäähän, jolloin potilas saa tarvittavat reseptit, jatkohoitohjeet, ohjeet lääkkeiden käytöstä ja lopulta luvan lähteä sairaalasta kotiin (Hassinen ym. 2011). Potilaan kotiuttaminen on kuitenkin huomattavasti laajempi prosessi ja alkaa heti sairaalaan sisään-oton jälkeen. Turvallinen lääkehoito -oppaassa suositellaan lääkehoitoa toteuttavaa henkilöstöä ohjaamaan ja neuvomaan potilasta lääkehoidossa koko lääkehoitoprosessin ajan (Inkinen ym. 2016). Turvallinen lääkehoito edellyttää, että potilas tietää lääkkeen käyttötarkoituksen ja vaikutukset, miten lääkettä käytetään, mahdolliset haittavaikutukset ja milloin ottaa yhteyttä lääkäriin. Potilasohjauksella pyritään tukemaan potilaan hoitoon sitoutumista ja omahoitoa. Lääkelistan ajantasaisuus tulee varmistaa aina potilaan kotiutuessa.

Erilaisia malleja lääkityksen ajantasaistamiseksi potilaan kotiuttamisvaiheessa

Lääkityksen ajantasaistaminen (engl. medication reconciliation) on prosessi, jossa varmistetaan, että potilaan tarkat lääkitystiedot siirtyvät potilaan mukana tämän siirtyessä hoitoketjussa eteenpäin (The Institute for Safe Medication Practices Canada 2011). Kanadalaisen mallin mukaan lää-

kityksen ajantasaistaminen tulee tehdä potilaan tullessa sairaalaan, tämän siirtyessä osastolta toiselle sekä kotiutuessa (The Institute for Safe Medication Practices Canada 2011). Tekijänä on jokaisessa vaiheessa joko lääkäri, hoitaja tai farmasisti. Lääkityksen ajantasaistaminen tapahtuu yhteistyössä potilaan, hänen omaistensa ja hoitohenkilökunnan kanssa, ja sen ensimmäinen vaihe on parhaan mahdollisen lääkityshistorian koostaminen potilaan tullessa sairaalaan (The Best Possible Medication History, BPMH) (The Institute for Safe Medication Practices Canada 2011). BPMH sisältää tiedon kaikista potilaan käyttämistä reseptilääkkeistä ja itsehoitovalmisteista. Sen muodostaminen on kolmivaiheinen prosessi: 1) potilaan lääkitystiedot kerätään ajantasaisimmasta lähteestä ja ainakin yhdestä muusta luotettavasta lähteestä 2) potilas tai omainen haastatellaan systemaattisesti, jotta saadaan selville potilaan todellinen lääkkeiden käyttö 3) kerätyt lääkitystiedot yhdistetään ja dokumentoidaan parhaaksi mahdolliseksi lääkityshistoriaksi.

Kotiuttamisvaiheen lääkityksen ajantasaistamisen tarkoituksena on luoda lista lääkkeistä, joiden käyttöä potilas jatkaa sairaalasta kotiutumisen jälkeen (The Institute for Safe Medication Practices Canada 2011). Tavoitteena on, että kaikki sairaalajakson aikana tehdyt lääkitysmuutokset ovat tarkoituksellisia ja että lääkityksen epäselvyydet on ratkaistu ennen potilaan kotiuttamista. Lääki-



Kuva 1. Lääkityksen ajantasaistamisprosessi. Mukaelma lähteestä: The Institute for Safe Medication Practices Canada 2011.

tyksen ajantasaistaminen tehdään vertaamalla potilaan tulovaiheessa selvitettyä parasta mahdollista lääkityshistoriaa sekä viimeisen 24 tunnin aikana käytettyä lääkelistaa potilaan tuoreimpaan lääkelistaan sairaalassa. Lääkityksen ajantasaistamisessa otetaan huomioon myös uudet lääkeytykset, jotka on tarkoitus aloittaa kotiuttamisvaiheessa. Näiden tietolähteiden perusteella luodaan paras mahdollinen lääkehoitosuunnitelma, joka käydään läpi potilaan kanssa ja tiedotetaan jatkohoitoon (The Best Possible Medication Discharge Plan, BPMDP). Lisäksi potilaalle neuvotaan lääkkeiden käyttöä, millä pyritään varmistamaan, että hän ymmärtää käyttamiensä lääkkeiden käyttötarkoitukset, vaikutukset, miten lääkkeitä käytetään, mahdolliset haittavaikutukset ja lääkitysten kestot. Lääkityksen ajantasaistamisprosessia on havainnollistettu yksinkertaistettuna kuvassa 1.

Ruotsissa ja Irlannissa on tutkittu toimintamalleja, joissa farmasisti on mukana potilaan hoidossa sairaalaan tulovaiheesta kotiuttamiseen asti (Bergkvist ym. 2009b, Hellström ym. 2011, Grimes ym. 2014). Ruotsissa LMM-mallin (Landskrona/Lund Integrated Medicines Management) käytön on havaittu vähentävän iäkkäille sopimattomien lääkkeiden käyttöä yli 65-vuotiailla potilailla (Bergkvist ym. 2009b, Hellström ym. 2011). Lisäksi lääkkeistä johtuvan suunnitteleamattoman sairaalahoidon tarpeen on havaittu vähentyvän (Hellström ym. 2011).

Irlannissa tutkitussa PACT-mallissa (Pharmaceutical Care in Tallaght Hospital) lääkäri ja farmasisti yhteistyössä ajantasaistavat ja arvioivat potilaan lääkityksen sairaalaan tulovaiheessa, sairaalajakson aikana sekä potilaan kotiuttamisvaiheessa (Grimes ym. 2014). PACT-mallin käytön havaittiin vähentävän lääkityspoikkeamien määrää kotiuttamisvaiheessa tilastollisesti merkitsevästi, kun sitä verrattiin sairaalan standardihoitoon (14 % vs. 65 %). Sen havaittiin myös ehkäisevän potentiaalisesti vakavia lääkityspoikkeamia ja parantavan yli 65-vuotiaille potilaille tehtävien lääkemääräysten laatua. Laskennallisesti arvioiden kotiuttamisvaiheen lääkityksen ajantasaistaminen tuli tehdä kolmelle potilaalle, jotta estettiin yksi kotiuttamisvaiheen lääkityspoikkeama. Yksi potentiaalisesti vakava lääkityspoikkeama saatiin estettyä, kun toiminto tehtiin 20 potilaalle.

Tutkimuksen tavoitteet

Suomessa ei ole tiedettävästi aiemmin tutkittu lääkelistan ajantasaisuutta ja lääkeneuvonnan onnis-

tumista potilaan sairaalasta kotiuttamisvaiheessa. Tämän tutkimuksen tavoitteena oli selvittää lääkeneuvonnan toteutumista sairaalassa ja potilaan tietämystä lääkityksensä käyttötarkoituksista ja siihen tehdyistä muutoksista haastatteleamalla potilaita sairaalassa sen jälkeen, kun lääkäri oli heidät kotiuttanut. Lisäksi tavoitteena oli selvittää, vastasiko potilaalle sairaalasta kotiuttamisen yhteydessä potilastietojärjestelmästä tulostettu lääkelista (=kotilääkekortti) potilaan kotona käyttämää lääkitystä. Tavoitteena oli myös selvittää annosten, ottoajankohtien, päällekkäisyyksien ja yhteisvaikutusten tarkastuksen tarpeellisuutta kotiuttamisvaiheessa sekä laatia ehdotus kotiuttamisvaiheen lääkeshoidon tarkistuslistasta, jota osastot voisivat hyödyntää kotiuttamisessa.

AINEISTO JA MENETELMÄT

Haastattelututkimukseen hyväksyttiin 30 sydänosastolta kotiutuvaa potilasta aikavälillä 11.3.2015 – 24.4.2015. Valintakriteereinä oli, että potilaalla oli käytössä kotiuttamisvaiheessa vähintään kolme eri lääkettä ja että tämä kotiutui sairaalasta kotiin. Potilaita ei rajattu iän perusteella. Tutkimukseen otettiin mukaan systemaattisesti 1 – 3 kriteerit täyttävää potilasta kunakin haastattelupäivänä (pois lukien kieltäytyneet) niin pitkään, että saatiin 30 potilastapausta. Tutkija suoritti haastattelut sydänosaston tiloissa arkipäivisin kello 12 – 16 sen jälkeen, kun lääkäri oli kotiuttanut potilaan eli käynyt hänen kanssaan läpi jatkohoitosuunnitelman ja antanut tarvittavat ohjeet sekä kotiuttamispaperit.

Tutkimus toteutettiin strukturoituna haastatteluna, jonka kysymykset käsittelivät potilaan saamaa kotiuttamisvaiheen lääkeneuvontaa ja mahdollisia lääkitysongelmia. Potilaan lääkitystietämysten tasoa mitattiin itse laaditulla lääkitystiedon kartoituslomakkeella, joka laadittiin soveltamalla ISMP Canadan kehittämää potilaan haastattelulomaketta (BPMDP Patient Interview Guide) sydänosastolta kotiutettavien potilaiden tiedontarpeet huomioiden (The Institute for Safe Medication Practices Canada 2011). Potilasta pyydettiin kertomaan tutkijalle jokaisen kotilääkekortilla olevan lääkkeen käyttötarkoitus, annos ja ottoajankohdat sekä mahdolliset käyttöön tai käyttämättä jättämiseen liittyvät riskit ja haitat. Haastattelija merkitsi lomakkeeseen kunkin lääkkeen kohdalle potilaan tietämysten mukaan joko t = täysin oikein, o = osittain oikein, v = väärin tai e = ei ollenkaan tietoa. Lääkitystiedon kartoituslo-

Taulukko 1. Yhteenveto lääkitystiedon kartoituslomakkeen vastausten tulkintaperiaatteista.

	Täysin oikein	Osittain oikein	Väärin	Ei ollenkaan tietoa
Käyttötarkoitus	Osasi nimetä lääke-ryhmän tai lääkkeen pääasiallisen vaikutuskohteen	Vastaus oli epämääräinen, mutta viittasi oikeaan suuntaan (esim. Panadol® on tulehduskipulääke)	Muisti käyttötarkoituksen väärin	Ei osannut kertoa lääkkeen käyttötarkoitusta
Annokset ja ottoajankohdat	Osasi kertoa, montako tablettia tai milligrammaa lääkettä ottaa mihinkin aikaan	Osasi kertoa joko annoksen tai ottoajankohdat, muttei molempia	Muisti tai luki lääkerekortista annoksen ja/ tai ottoajankohdan väärin	Ei osannut vastata
Lääkkeen käyttöön liittyvät haittavaikutukset ja riskit	Osoitti ymmärtävänsä lääkkeen käyttöön liittyvän oleellisen haittavaikutuksen tai riskin	Ei täysin ymmärtänyt lääkkeen käytöstä aiheutuvaa haittavaikutusta tai riskiä, mutta osasi nimetä mahdollisia haittavaikutuksia	Potilaan nimeämä haittavaikutus tai riski ei liittynyt kyseessä olevaan lääkkeeseen	Ei osannut vastata
Lääkkeen käyttämättä jättämiseen liittyvät riskit	Osasi kertoa riskin pitkällä tähtäimellä	Osasi kertoa välillisen vaikutuksen (esim. verenpaine nousee kun ei käytä verenpainelääkettä)	Potilaan nimeämä riski ei liittynyt kyseessä olevaan lääkehoitoon	Ei osannut vastata

makkeen vastausten tulkintaperiaatteet on tiivistetty taulukkoon 1.

Lääkitystiedon ajantasaisuutta kotiuttamisvaiheessa selvitettiin vertaamalla potilaan sairaalasta saamaa kotilääkekorttia potilaan haastattelussa ilmoittaman lääkitystietoon. Selvitys tehtiin systemaattisesti lääkitystiedon kartoituslomakkeen kysymyksillä: puuttuiko kotilääkekortilta jokin potilaan käyttämä lääke, oliko kotilääkekortilla jokin ylimääräinen lääke, vastasivatko lääkkeiden annokset potilaan kotona käyttämiä lääkeannoksia ja olivatko lääkkeiden ottoajankohdat kotilääkekortilla samat kuin kotona. Potilaan haastattelun lisäksi kotilääkekortin ajantasaisuus varmistettiin käymällä läpi sairaalahoitajakson aikana tehdyt lääkkeisiin liittyvät kirjaukset ja muutosmerkinnät potilastietojärjestelmässä.

Haastattelun jälkeen jokaisen tutkimukseen osallistuneen potilaan lääkitys tarkistettiin annosten, ottoajankohdien, yhteisvaikutusten ja päällekkäisyyksien selvittämiseksi. Tarkistus pyrittiin tekemään viimeistään parin päivän kuluttua haastattelusta, mutta useimmiten se tehtiin heti saman päivän aikana. Jos potilaan lääkityksessä

huomattiin haastattelun aikana jotain akuuttia, asiasta raportoitiin heti lääkärille. Työkaluina tarkistuksissa käytettiin Duodecim-lääketietokantaa, SFINX-Pharao- ja Renbase-tietokantoja ja lääkärin lääkityksen tietokantaa. Ottoajankohtia arvioitiin Ahonen ym. (2013) artikkelin pohjalta. Jokaisesta lääkityksen tarkistuksesta annettiin lopuksi kirjallinen yhteenveto lääkärille.

Tutkimukselle haettiin ja myönnettiin KYS:in organisaatiolupa alkuvuodesta 2015. Eettisen toimikunnan lausuntoa ei haettu, koska tutkimus tähtäsi ensisijaisesti osaston ja sairaalan toiminnan kehittämiseen. Tutkittavien tietosuojaturvattiin yksilöimällä kukin tutkittava tunnistekoodilla, joka koostui juoksevasta numerosta, potilaan sukupuolesta ja syntymävuodesta (esimerkiksi rN30). Henkilötietoja käytettiin ainoastaan, kun keskusteltiin hoitavan lääkärin kanssa potilaan hoitoon liittyvistä asioista, eikä niitä viety sydänosaston ulkopuolelle.

Aineiston analysointi

Haastattelulomakkeen avoimet kysymykset analysoitiin sisältölähtöisesti ja vastauksista muodostet-

tiin esiin nousseiden asioiden perusteella luokkia. Potilaiden kokonaisvalmistemäärää tarkasteltaessa laskettiin yhteen kaikki potilaan säännöllisesti ja tarvittaessa käyttämät reseptilääkkeet, itsehoitovalmisteet, ravintolisät ja luontaistuotteet. Kotilääkekortin valmistemäärää verrattiin analysoinnissa potilaan valmistemäärään haastattelun jälkeen. Kotilääkekortilla näkyvät tauotetut lääkkeet luokiteltiin analysoinnissa ylimääräisiksi, jos tauon syyt ei ollut merkitty näkyviin tai potilas ei osannut kertoa sitä tutkijalle. Myös nämä lääkkeet laskettiin mukaan kotilääkekortin alkuperäiseen kokonaisvalmistemäärään.

Mitattaessa potilaiden tietämystä lääkityksestään vastaukset analysoitiin lääkeaine- (sydän- ja verenpainelääkkeet) tai lääkeryhmittäin (muut lääkkeet). Yksi potilaista ei halunnut vastata lääkitystietoa kartoittavaan osioon, joten hänet jätettiin lääkitystiedon kartoituslomakkeen analysoinnin ulkopuolelle. Kymmenen ensimmäisen potilaan kohdalla haastattelussa käytettiin kysymystä ”Mitä riskejä tai haittoja lääkkeen käyttöön tai käyttämättä jättämiseen voi liittyä?” Tämän jälkeen kysymys jaettiin analysoinnin helpottamiseksi kahteen osaan ja potilailta kysyttiin erikseen lääkkeiden aiheuttamista haittavaikutuksista ja lääkityksen käyttämättä jättämisen riskeistä. Tulossiossa nämä kaksi kysymystä on analysoitu erillisinä ja ensimmäisen kymmenen potilaan vastauksia ei ole otettu analysoinnissa huomioon. Analysoinnissa käytettiin Excel 2013 -ohjelmaa.

Kotiuttamisvaiheen lääkehoidon tarkistuslistan kokoaminen

Potilaiden sairaalassa saamassa lääkeneuvonnassa, potilaiden lääketietämyksessä ja lääkityksen tarkistuksessa tehtyjen havaintojen perusteella laadittiin lista asioista, joita potilaan lääkeneuvonnassa ja myös jatkohoitoon siirtymisessä tulisi huomioida. Lisäksi listaan koottiin toimenpiteitä lääkitystiedon ajantasaistamiseen. Tässä huomioitiin tutkijan tekemät havainnot eroavaisuuksista potilaan ilmoittaman lääkityksen, potilaan saaman kotilääkekortin ja potilastietojärjestelmän välillä. Tarkistuslistan lopullinen sisältö muodostettiin tutkimusryhmän kesken keskustelemalla.

TULOKSET

Tutkimuspotilaiden taustatiedot

Tutkimukseen osallistui 30 sydänosaston potilasta, joiden taustatiedot on esitetty taulukossa 2. Poti-

Taulukko 2. Tutkimuspotilaiden (n=30) taustatiedot, yleisimmät sairaalaan tulossyyt, tapahtumadiagnoosit ja lääkehoito KYS:in sydänosastolla.

Taustatiedot	n	%
Sukupuoli		
Nainen	13	43
Mies	17	57
Ikä (keskiarvo 71 vuotta)		
Alle 55	2	7
55 – 65	7	23
66 – 75	11	37
76 – 85	9	30
Yli 85	1	3
Sairaalaan tulossyy*		
Rintakipu	13	43
Hengenahdistus	13	43
Rytmihäiriöt	9	30
Väsymys	2	7
Yskä	2	7
Tuli kutsuttuna	4	13
Muut syyt	10	33
Yleisimmät tapahtumadiagnoosit*		
Sepelvaltimotautikohtaus	10	33
Sydämen vajaatoiminta	5	17
Eteisvärinä tai eteislepatus	4	13
Vanha sydäninfarkti	4	13
Keuhkoveritulppa	3	10
Yleisimmät lääkitykset*		
Antitromboottinen lääke	28	93
Sydän- ja verenpainelääke	30	100
Kolesterolilääke (statiini)	24	80
Ruansulatuskanavan lääke	15	50
Kipulääke	22	73
Hoitoaika sydänosastolla (vrk)		
Keskiarvo		4,8 vrk
Kotilääkekortin valmistemäärä		
Keskiarvo		10,7
Vaihteluväli		6–18

*yhdeällä potilaalla voi olla useampi

laiden yleisimmät sairaalaaan tulossyyt olivat rintakipu (43 % potilaista), hengenahdistus (43 %) ja rytmihäiriöt (30 %). Yleisin potilaille sairaalassa tehty tapahtumadiagnosi oli sepelvaltimotautikohtaus (33 % potilaista). Tutkimuspotilaiden lääkitykset vastasivat tyypillisiä sydänpotilailla käytettyjä lääkkeitä. Jokaisella potilaalla oli käytössä vähintään yksi sydän- tai verenpainelääke, lähes kaikilla (93 %) vähintään yksi antitromboottinen lääke ja suurimmalla osalla (80 %) statiini.

Potilaille sairaalassa tehdyt lääkitysmuutokset

Jokainen tutkimuspotilas (n=30) sai kotiuttamisen yhteydessä mukaansa kotilääkekortin. Kaikilla muilla (97 %) paitsi yhdellä potilaalla kotona käytettävä lääkitys muuttui sairaalajakson aikana. Syyn

Taulukko 3. Tutkimuspotilaille (n=30) sairaalassa tehdyt lääkitysmuutokset ja potilaiden tietoisuus niistä.

Lääkitysmuutos	n	%
Aloitettiin yksi tai useampi lääke	24	80
Potilas ymmärsi/tiesi, miksi lääkitys oli aloitettu ¹	18	75
Potilas ei osannut kertoa, miksi lääkitys oli aloitettu	3	13
Potilas ei muistanut lääkityksen aloitusta	3	13
Lopetettiin yksi tai useampi lääke	16	53
Potilas ymmärsi/tiesi, miksi lääkitys oli lopetettu ¹	8	50
Potilas ei osannut kertoa, miksi lääkitys oli lopetettu	4	25
Potilas ei muistanut lääkityksen lopetusta	4	25
Käytössä olleen lääkityksen annostusta muutettiin	14	47
Potilas ymmärsi/tiesi, miksi annoksia oli muutettu ¹	9	64
Potilas ei osannut kertoa, miksi annoksia oli muutettu	0	0
Potilas ei muistanut, että annoksia oli muutettu	5	36

¹ sisennettyjen rivien prosenttiluvut laskettiin potilaista, joille oli tehty kyseisiä lääkitysmuutoksia

uuden lääkkeen aloitukselle osasivat kertoa useimmat potilaat (75 % potilaista), mutta syyt lopettamiseen (50 %) ja annosmuutoksiin (64 %) olivat heikommin tiedossa (**taulukko 3**). Lääkitysmuutoksissa ei huomioitu sairaalassa tehtyjä kokeiluja, jotka aloitettiin ja lopetettiin sairaalajakson aikana.

Lääkineuvonnan toteutuminen

Tutkimuspotilaista (n=30) 73 % ilmoitti saaneensa lääkahoitoon liittyvää ohjausta sairaalajakson aikana. Kaikki heistä olivat saaneet suullista neuvontaa. Tämän lisäksi 30 % potilaista oli saanut kirjallista lääkineuvontaa kuten lääkahoitoon liittyviä oppaita. Puolet potilaista (50 %) ilmoitti saaneensa lääkineuvontaa kotiuttamisvaiheessa, 23 % lääkkeenjaon ja 20 % lääkitysmuutosten yhteydessä. Lääkineuvonnan antajaksi 67 % potilaista ilmoitti lääkärin ja 47 % hoitajan.

Kysyttäessä, saivatko potilaat mielestään tarpeeksi lääkineuvontaa, 80 % tutkimuspotilaista vastasi kyllä. Kuitenkin kysymykseen: missä asiassa olisitte kaivanneet lisäneuvontaa tai onko jokin asia, joka teitä jäi mietityttämään lääkeshoidossanne, 37 % tutkimuspotilaista ilmoitti asioita, jotka

Taulukko 4. Tutkimuspotilaiden esimerkkivaikuttavuuksia kysyttäessä lisäneuvonnan tarvetta.

Lisäneuvonnan tarve	Esimerkki
Haittavaikutukset	Ovatko tabletit vatsaystävällisiä?
Yhteisvaikutukset	Miten uudet lääkkeet vaikuttavat yhdessä entisten kanssa?
Lääkkeen vaikutus	Miten INR-arvo pysyy kohdillaan?
Lääkkeen käyttötärkoitus	Korvaako määrätty kaliumvalmiste kalkkitabletin?
Annostelu	Miten yhdistän lääkkeenoton ruokailuun?
Lääkehoidon kesto	Kuinka pitkään lääkkeitä tarvitsee syödä? Voisiko joitain lääkkeitä lopettaa jo seuraavan kontrollin jälkeen?
Lääkkeen vaihtuminen	Vaihdettiinko kolesterolilääke sairaalassa toiseen valmisteeseen?

olivat jääneet mietittävään tai joihin he olisivat kaivanneet lisäneuvontaa. Tiedontarpeisiin liittyviä esimerkkivastauksia on koottu taulukkoon 4.

Potilaiden lääketietämys

Potilaat (n=29) ymmärsivät käyttämiensä lääkkeiden käyttötarkoitukset pääosin hyvin. Suurin osa antitromboottisia lääkkeitä, sydän- tai verenpainelääkkeitä tai kolesterolilääkkeitä käyttäneistä potilaista osasi kertoa, mihin tarkoitukseen lääke oli heillä määrätty. Esimerkiksi pieniannoksista asetyylisalisyylihappoa käyttäneistä potilaista (n=16) 88 % ja varfariinia käyttäneistä (n=13) 93 % ymmärsi täysin tai osittain lääkkeen käyttötarkoituksen. Toisaalta 25 % potilaista, joille oli määrätty klopidoogreelivalmiste (n=12), ei osannut kertoa, mikä oli lääkkeen käyttötarkoitus. Sydän- ja verenpainelääkkeissä puolestaan eniten tietämättömyyttä tai väärinymmärrystä liittyi ACE:n estäjien, beetasalpaajien ja diureettien käyttötarkoitukseen. ACE:n estäjien käyttäjistä (n=16) 19 % ei osannut kertoa lääkkeen käyttötarkoitusta tai oli ymmärtänyt sen väärin. Vastaavat luvut beetasalpaajien (n=27) ja diureettien (n=10) kohdalla olivat 26 % ja 30 %. Statiinien käyttäjistä (n=24) 79 % ymmärsi lääkkeen käyttötarkoituksen täysin. Lähes kaikki potilaat osasivat kuitenkin kertoa ottamansa lääkeannokset ja niiden ajankohdat täysin oikein.

Potilaat (n=19) tunsivat lääkkeiden haittavaikutuksia huonosti tai eivät ollenkaan. Tutkijan havainnon mukaan potilaat sanoivat usein, ettei heillä ole lääkkeisiin liittyviä haittavaikutuksia, eivätkä he osanneet tällöin nimetä lääkkeiden mahdollisia haittavaikutuksia. Ne potilaat, jotka kertoivat haittavaikutuksista, puhuivat usein omista kokemuksistaan. Lääkeryhmittäin tarkasteltuna potilaiden tietämys antitromboottisen lääkityksen haittavaikutuksista ja riskeistä oli heikkoa. Esimerkiksi klopidoogreeliä käyttäneistä potilaista (n=5) 80 % ei osannut nimetä ollenkaan lääkkeeseen liittyviä haittavaikutuksia. Vastaava luku varfariinia käyttäneistä potilaista (n=8) oli 38 %. Myös sydän- ja verenpainelääkkeiden haittavaikutukset tunnettiin heikosti tai ei ollenkaan. Esimerkiksi beetasalpaajia käyttäneistä potilaista (n=17) 94 % ei osannut nimetä ollenkaan lääkkeeseen liittyviä haittavaikutuksia. Vastaavat luvut esimerkiksi ACE:n estäjien (n=10) ja diureettien (n=5) käyttäjillä olivat 80 % ja 60 %.

Tutkijan havaintojen perusteella potilaat (n=19) osasivat kertoa, mitä esimerkiksi verenpaine-, ko-

Taulukko 5. Tutkimuspotilaiden (n=30) kotilääke-korteilta tehdyt havainnot virheellisistä lääketiedoista.

Havainto	Lukumäärä		Potilaita	
	n	%	n	%
Puuttuva säännöllinen tai tarvittaessa otettava valmiste	43	52	22	73
Ylimääräinen valmiste kotilääkekortilla	27	33	16	53
Väärä ottoajankohta	9	11	7	23
Tarvittava valmiste säännöllisenä listalla	2	2	2	7
Puuttuva annos	1	1	1	3
Yhteensä	82	100	-	-

lesteroli- tai verensokeriarvoille tapahtuu, jos lääkitys jää käyttämättä. Harvempi kuitenkin osasi kertoa, mitä korkeista arvoista aiheutuu pidemmällä aikavälillä. Antitromboottisen lääkityksen käyttämättä jättämisen riskit ymmärrettiin melko hyvin. Esimerkiksi pieniannoksista asetyylisalisyylihappoa käyttäneistä (n=8) 75 % ja varfariinia käyttäneistä (n=8) 63 % ymmärsi käyttämättä jättämisen riskit täysin. Toisaalta klopidoogreelia käyttäneistä potilaista (n=5) 40 % ei osannut lainkaan nimetä lääkkeen käyttämättä jättämiseen liittyviä riskejä. Sydän- ja verenpainelääkkeiden käyttämättä jättämisen aiheuttamat riskit puolestaan osattiin nimetä melko heikosti. Esimerkiksi 50 % ACE:n estäjien ja ATR-salpaajien (n=10 ja n=4) käyttäjistä ei osannut kertoa ollenkaan, mille verenpainelääkityksen käyttämättä jättäminen altistaa. Lisäksi kukaan diabeteslääkkeiden käyttäjistä (n=7) ei haastattelussa osannut eritellä, mitä tapahtuu jos korkea verensokeri jää hoitamatta.

Kotilääkekorttien ajantasaisuus

Tutkimuspotilailla oli ennen lääkityksen kirjoituslomakkeen avulla tehtyä haastattelua listattu kotilääkekortille keskimäärin 10,7 valmistetta. Haastattelujen jälkeen valmistemäärä nousi 11,3:een. Ainoastaan neljä (13 %) potilasta ilmoitti, että kotilääkekortti vastasi täysin heidän kotona käyttämäänsä lääkitystä. Kotilääkekorteille tehtäviä muutoksia tai korjauksia oli keskimäärin 2,7

yhtä tutkimuspotilasta kohti. Yleisimmät havainnot olivat säännöllisen tai tarvittavan valmisteen puuttuminen kotilääkekortilta (52 % poikkeamista) ja ylimääräinen valmiste kotilääkekortilla (33 %). Yhteenveto lääkityksen ajantasaistamisessa tehdyistä havainnoista on esitetty taulukossa 5.

Suurin osa (60 %) kotilääkekorteilta puuttuneista valmisteista oli ei-lääkkeellisiä eli ravintolisiä, vitamiineja tai luontaistuotteita. Ylimääräisistä valmisteista suurin osa (30 %) oli sydän- tai verenpainelääkkeitä, joista kaikki olivat joko ilman merkittäviä syytä tauotettuja tai lääkärin kotilääkekortilta käsin yliviivaamia. Lähes kaikki ylimääräiset valmisteet (93 %) olivat aktiivisina potilaiden lääkelistalla myös potilastietojärjestelmässä. Kahdeksalla potilaalla (27 %) oli kotilääkekortilla yksi tai useampi tauotettu lääke. Vain puolella potilaista tauotettujen lääkkeiden syy oli kirjattu kotilääkekortille näkyviin tai potilas osasi haastattelussa kertoa, miksi lääke on tauotettu. Esimerkiksi yhdellä potilaalla oli kotilääkekortilla tauolla kolme eri kalsiumkanavan salpaajaa, eikä hän osannut kertoa, onko lääkkeitä tarkoitus jossain vaiheessa jatkaa tai miksi ne ovat tauolla.

Lääkityksen tarkistus

Epärationalaisia päällekkäisyyksiä löytyi seitsemän potilaan (23 %, n=30) kotilääkekortilta. Lähes kaikilla potilailla päällekkäisyydet liittyivät kotilääkekorteilla tauolle merkittyihin lääkkeisiin. Kaikilla muilla (97 % potilaista), paitsi yhdellä potilaalla havaittiin lääkityksessä vähintään yksi farmakodynaaminen tai -kineettinen yhteisvaikutusriski. Yleisimpiä riskejä olivat suurentunut verenvuotoriski (87 % potilaista), ummetus (47 %), ortostatismi (43 %) ja lääkeainealtistuksen suurentuminen (40 %). Tutkimuksessa ei tehty oirehaastattelua, joten yhteisvaikutusriskien kliinistä merkitystä ei voitu arvioida.

Lääkityksen tarkistusten perusteella lääkäreille annettaviin yhteenvetoihin kirjattiin yhteensä 142 toimenpide-ehdotusta, joista suurin osa (43 % ehdotuksista) oli lääkitystiedon korjauskehotuksia potilastietojärjestelmään. Potilaista (n=30) 30 %:lle ehdotettiin lääkeannoksen tarkistamista ja yhtä monelle tehostettua seurantaa, jolla tarkoitettiin esimerkiksi suositeltavia laboratoriotarkastuksia tai oireseurantaa yhteisvaikutusriskin kliinisen merkityksen havaitsemiseksi. Lääkkeen ottoajankohdan muutosta ehdotettiin seitsemälle potilaalle (23 % potilaista). Ehdotukset koskivat esimerkiksi

verenpainelääkkeen tai nitraattien annostelun aikaistamista. Toimenpide-ehdotusten toteutumista ei tutkimuksessa tarkasteltu, koska potilaat ehtivät lähteä kotiin ennen kuin lääkityksen arviointien yhteenvedot annettiin lääkäreille.

Kotiuttamisvaiheen lääkehoidon tarkistuslistan kokoaminen

Haastatteluissa ja lääkityksen tarkistuksissa tehtyjen keskeisten havaintojen perusteella koostettiin kotiuttamisvaiheen lääkehoidon tarkistuslista (liite 1). Tarkistuslista koostettiin huomioiden kolme kotiuttamisvaiheen eri osa-aluetta, jossa havaittiin puutteita tutkimuksen aikana: kotilääkekortin ajantasaisuus, jatkohoito-ohjeet ja lääkeneuvonta. Tarkistuslista muodostettiin mukailemaan kotiuttamisen normaalia toimintajärjestystä käytettävyyden helpottamiseksi.

POHDINTA

Tämän pilottitutkimuksen avulla saatiin hyödyllistä tietoa kotiuttamisprosessin ja potilasohjauksen kehittämiskohdista lääkehoidon osalta. Tutkimus tehtiin pienellä potilasaineistolla yhdellä KYS:in vuodeosastolla, jolloin tuloksia ei voida yleistää koskemaan laajempaa potilasjoukkoa. Potilaiden kotiuttamiskäytännöt vaihtelevat KYS:in eri osastojen välillä ja eri sairaaloissa. Tarkempiin johtopäätöksiin tarvitaan lisätutkimuksia eri sairaaloissa erilaisilla osastoilla.

Lääkeneuvonnan ongelmakohdat ja tehostamistarpeet

Tutkimuksen perusteella vaikuttaa siltä, että lääkeneuvonnassa uuden lääkityksen aloitusta painotetaan potilaille enemmän kuin lääkityksen lopettamista tai annosmuutoksia. Potilaista 75 % tiesi, miksi heille oli aloitettu uusi lääke osastohoidon aikana. Vastaavat luvut lopetusten ja annosmuutosten kohdalla olivat 50 % ja 64 %. Tutkimustulosten perusteella ei voida varmasti todeta, aiheutuiko potilaiden tietämyksen puute lääkeneuvonnan vähäisyydestä, vai eivätkö potilaat ehtineet sisäistää tai muistaneet saaneensa lääkeneuvontaa. Tutkimuksessa ei myöskään arvioitu potilaiden kognitiota, jolloin sen vaikutusta tuloksiin ei voida sulkea pois. Lähes joka kolmas tutkittavista ilmoitti, ettei ollut saanut ollenkaan lääkeneuvontaa sairaalajakson aikana, mikä on yllättävän suuri luku. Etenkin sepelvaltimotautipotilaille sairastuminen tulee usein yllättäen, jolloin sairastumisen käsittelemi-

nen vie voimavaroja. Tällöin lääkeneuvonta on haastavaa. On pyrittävä löytämään oikea ajoitus ja keskityttävä potilaan kannalta keskeiseen, ymmärrettävään ja riittävään sisältöön. Myös hoitopäivät sairaalassa ovat vähentyneet 35 % vuosien 1997 – 2013 välillä, ja etenkin vuodesta 2006 alkaen vähentyminen on tapahtunut nopealla tahdilla (Mikkola ym. 2015). Potilaille jää entistä vähemmän aikaa käsitellä sairastumistaan ja saamaansa uutta tietoa. Lääkeneuvonnan tulisi olla kiinteä osa koko sairaalajaksoa sen alusta kotiuttamiseen asti.

Potilaiden tietämys lääkkeiden haittavaikutuksista osoittautui heikoksi. Haastatteluissa kävi ilmi, että potilaat eivät osanneet kertoa lääkkeisiin liittyvistä riskeistä tai haittavaikutuksista, elleivät he olleet itse niitä kokeneet. Aiemmin onkin havaittu, että potilaat eivät osaa yhdistää kokemiaan oireita lääkityksen aiheuttamiksi haittavaikutuksiksi (Lämsä 2014, Valkonen 2014, Saukkonen 2015). Arviolta 12 – 30 % lääkkeisiin liittyvistä haittatapah- tumista voisi kuitenkin olla estettävissä tai korjattavissa esimerkiksi seuraamalla lääkevastetta tai lääkityksen haittavaikutuksia tarkemmin potilaan oireiden perusteella tai seuraamalla laboratorio- arvoja riittävästi (Forster ym. 2004, Kripalani ym. 2012). Tutkimuksesta saatiin signaali, että etenkin sydänpotilailla klopidoagregioiden ohjausta tulisi tehostaa.

Potilaiden tietämys lääkkeiden käyttämättä jättämiseen liittyvistä riskeistä osoittautui myös puutteelliseksi. Lääkkeiden käyttämättä jättämi- sen suorat vaikutukset (esimerkiksi verenpaineen tai verensokerin nousu) olivat potilailla hyvin tiedossa, mutta lääkityksen hyötyä pitkällä tähtäimellä ei osattu hahmottaa tai kertoa tutkijalle. Potilaan kyvyttömyys hahmottaa sairauden vaka- vuutta saattaakin heikentää hoitoon sitoutumista (WHO 2003). Esimerkiksi korkean verenpaineen tai korkean kolesterolin vakavuutta ei usein ym- märretä, koska niillä ei ole suoraa vaikutusta poti- laan vointiin. Lääkeneuvonnassa tulisi mitattavien tavoitearvojen lisäksi korostaa myös lääkityksen merkitystä sairauksien ehkäisyssä. Toisaalta poti- las on itse omalta osaltaan vastuussa lääkityksen onnistumisesta. Potilaan sitoutuminen omaan hoitoonsa paranee, kun hän pääsee vaikuttamaan hoitonsa suunnitteluun ja saa luotettavia ja ym- märrettäviä vastauksia häntä askarruttaviin kysy- myksiin. Terveystietohenkilöstön tehtävänä on tukea potilasta.

Lääkitystietojen oikeellisuus ja ajantasaisuus

Suomalaisissa sairaaloissa on havaittu, että potilai- den tulovaiheen lääkitystiedot ovat usein puutteel- liset (Lämsä 2014, Valkonen 2014, Saukkonen 2015) ja että sairaalajakson aikana kolmasosalla kirur- gisista potilaista on lääkelistalla poikkeamia (Ahl- qvist ym. 2014). Lisäksi lääkelistan poikkeamien on havaittu olevan yleisiä kotihoidon potilailla (Tiio- nen ym. 2016). Suomessa potilaiden kaikki lääkitys- tiedot tallennetaan tulevaisuudessa rakenteisesti potilastiedon arkistoon (Mäkelä-Bengs ym. 2014), mikä helpottaa tiedonsaantia, mutta samalla koros- taa vaatimusta siirrettävän tiedon oikeellisuudelle. Ajantasainen lääkelista on turvallisen lääkityksen perusta. Siksi on kehitettävä toimintatapoja, joilla turvataan lääkelistojen ajantasaisuus.

Tässä tutkimuksessa 87 %:lla potilaista oli koti- lääkekortilla vähintään yksi poikkeama lääkitys- tiedoissa. Tulos on jonkin verran korkeampi kuin kansainvälisissä tutkimuksissa keskimäärin (Allen- de Bandres ym. 2013, Grimes ym. 2014, Belda-Rus- tarazo ym. 2015). Korkeampaa tulosta voi selittää esimerkiksi kaikkien potilaan käyttämien ravin- tolisien, vitamiinien ja luontaistuotteiden huomi- ointi poikkeamien analysoinnissa. Poikkeamien esiintyvyys lääkitystiedoissa oli kuitenkin samaa suuruusluokkaa kuin suomalaisilla yli 75-vuotiailla kotihoidon potilailla tehdyssä tutkimuksessa, jossa vertailtiin potilaan todellista lääkkeiden käyttöä julkisen terveydenhuollon potilastietojärjestelmän lääkitystietoihin (Tiihonen ym. 2016).

Suurin osa (52 %) potilaiden kotilääkekorteilta löydettyistä poikkeamista oli puuttuvia säännöllisiä tai tarvittavia lääkkeitä, mikä on myös yhteneväis- tä kansainvälisten tutkimustulosten kanssa (Pip- pins ym. 2008, Bergkvist ym. 2009a, Belda-Rus- tarazo ym. 2015). Kotona käytössä olevien lääkkeiden puuttuminen lääkelistalta viittaa puutteelliseen lääkityksen ajantasaistamiseen potilaan sairaalaan tulovaiheessa. Tämä tukee aikaisemmin tehtyjä havaintoja lääkityksen tulovaiheen ajantasaista- misprosessin kehittämistarpeesta (Lämsä 2014, Valkonen 2014, Saukkonen 2015).

Tauotettujen lääkemääräysten ongelmallisuus ja epäselvyys nousivat esiin potilaiden kotilääke- kortteja tarkasteltaessa ja potilaita haastateltaessa. Kahdeksalla (27 %) tutkimuspotilaalla oli kotilää- kekortilla yksi tai useampi tauotettu lääke, mutta vain puolella heistä tauon syy oli merkitty potilas- tietojärjestelmään tai potilas osasi kertoa sen ky-

syttäessä. Kuitenkin hoitavalta lääkäriltä kysyttäessä kävi usein ilmi, että tauotettua lääkettä ei ollut tarkoitus enää jatkaa. Tutkijan havainto oli, että tauolle jätettiin lääkkeitä, jotka kuitenkin korvattiin potilaan kotilääkekortilla toisella valmisteella. Potilasturvallisuuden kannalta olisi ehdottoman oleellista, että tauon syy merkitään näkyviin, eikä lääkityksen tauotusmahdollisuutta käytetä lopetuksen korvikkeena. Vaarana on, että tauotetut lääkkeet aktivoituvat vahingossa uudelleen potilaan tullessa sairaalaan tai siirtyessä eteenpäin hoitoketjussa ja pahimmassa tapauksessa tahattomasti uudelleen aktivoitunut lääkitys aiheuttaa potilaalle haittaa. Lääkärin tulisivin lopettaa tar-

peettomat lääkkeet potilaan siirtyessä avohoitoon (Inkinen ym. 2016).

Kotiuttamisvaiheen lääkityksen ajantasaistamisella ja potilasohjauksella voidaan kansainvälisten tutkimusten perusteella optimoida potilaan lääkehoitoa ja ehkäistä lääkitysongelmia (Karapinar-Carkit ym. 2009, Pal ym. 2013). Eräissä tutkimuksissa puolestaan arvioitiin, että lääkityksen ajantasaistamisprosessilla estettiin seitsemän kymmenestä kliinisesti merkittävästä lääkityspoikkeamasta (Vira ym. 2006). Ruotsissa ja Irlannissa moniammatillisella yhteistyöllä on pyritty tunnistamaan, ratkaisemaan ja estämään lääkityksestä aiheutuvia ongelmia kaikissa hoitoketjun

LIITE 1.

Kotiuttamisvaiheen lääkehoidon tarkistuslista

Kotilääkekortti

- Varmista, että kaikki potilaan käytössä olevat lääkkeet, itsehoitovalmisteet, luontaistuotteet ja ravintolisät on kirjattu kotilääkekortille. Haastattele tarvittaessa potilas lääkitystietojen ajantasaistamiseksi.
- Tarkista, ettei potilaan kotilääkekortille ole jäänyt vain sairaalakäyttöön tarkoitettuja valmisteita.
- Tarkista, ettei potilaan kotilääkekortille ole jäänyt tauotettuja lääkkeitä. Jos lääkkeen tauotus on perusteltua, kirjaa tauon syy näkyviin.
- Tarkista, että lääkkeiden annokset ja ottoajankohdat on kirjattu oikein.
- Tarkista, ettei potilaan kotilääkekortille ole jäänyt päällekkäisiä valmisteita ja ettei lääkityksessä ole merkittäviä interaktioita.
- Kirjaa tarvittaessa lääkkeeseen liittyviä ohjeita tai tärkeitä huomioita lisätietokenttään.
- Dokumentoi lopuksi lääkitys tarkistetuksi potilastietojärjestelmään.

Jatkohoito

- Kirjaa potilaalle sairaalajakson aikana tehdyt lääkitysmuutokset selkeästi potilaan epikriisiin.
- Jos lääkkeitä on lopetettu sairaalassa, kirjaa lopetuksen syy näkyviin.
- Varmista, että potilaalle on kirjoitettu e-reseptit uusista lääkkeistä. Jos mahdollista, mitätöi

sairaalassa lopetettujen lääkkeiden reseptit.

- Varmista, että potilas tietää, miten hoidon jatkoseuranta toteutetaan. Painota myös potilaan omaa vastuuta hoidostaan, esimerkiksi verenpaineen seurantaa. Anna mukaan kirjalliset jatkohoito-ohjeet.
- Varmista, että potilas tietää, mihin ottaa yhteyttä sairauteen tai lääkitykseen liittyvissä ongelmatilanteissa.
- Varmista lääkkeiden saatavuus tai anna mukaan huolellisesti merkityt muutaman päivän lääkkeet ja lääkeneuvonta.

Lääkeneuvonta

- Anna potilaalle kotilääkekortti.
- Varmista, että potilas ymmärtää sairaalassa aloitettujen lääkkeiden käyttötarkoituksen, annokset ja ottoajankohdat.
- Varmista, että potilas tietää, mitkä lääkkeet on lopetettu ja minkä lääkkeiden annoksia on muutettu.
- Selvennä potilaalle, mitä oleellisia riskejä lääkkeiden käyttöön liittyy ja milloin on syytä ottaa yhteyttä lääkäriin.
- Selvennä potilaalle, miksi lääkkeiden käyttäminen on tärkeää. Seurattavien tavoitearvojen lisäksi painota pitkän aikavälin vaikutuksia terveyteen.
- Jos mahdollista, anna potilaalle mukaan kirjallista materiaalia lääkehoidosta.

vaiheissa (Hellström ym. 2011, Grimes 2014). Vastaavanlainen toimintamalli voisi parantaa lääkitysturvallisuutta Suomessakin.

Myös tässä tutkimuksessa lääkityksen tarkistuksessa annosten, ottoajankohtien päällekkäisyyksien ja yhteisvaikutusten osalta löytyi tärkeitä huomioitavia ja muutettavia asioita potilaiden lääkityksiin. Kotiuttamisvaiheen lisäksi lääkityksen tarkistaminen olisi hyvä kuitenkin suorittaa sairaalahoitojakson alkuvaiheessa tai keskivaiheilla ja aina, kun lääkitystä muutetaan. Kotiuttamisvaiheessa tehdyn tarkistuksen ehdotettuja toimenpiteitä ei ehdi enää tehdä sairaalassa ja vastuu siirtyy kotihoitoon.

Kotiuttamisvaiheen lääkehoidon tarkistuslista

KYS:in sydänosaston kotiuttamisvaihetta tutkittaessa havaittiin, että potilaiden lääkeneuvontaa voitaisiin tehostaa, sillä potilaiden tietämyksessä lääkehoidoistaan havaittiin puutteita. Esimerkiksi potilaiden tietämys lääkitykseen tehdyistä muutoksista ja lääkehoidon pitkäaikaisvaikutuksista havaittiin puutteelliseksi. Lisäksi ainoastaan neljällä (13 %) tutkimuspotilaalla kotilääkekortti vastasi potilaan haastattelussa ilmoittamaa kotilääkitystä. Kotiuttamisvaiheen lääkehoidon tarkistuslista (liite 1) voisi olla yksi keino tehostaa lääkeneuvontaa ja parantaa kotilääkekorttien oikeellisuutta. Jatkotutkimusaiheita ovat tarkistuslistan validointi ja testaaminen eri sairaaloiden eri osastoilla.

JOHTOPÄÄTÖKSET

Sairaalassa tapahtuvan kotiuttamisvaiheen lääkeneuvonnan tulisi kattaa uusien lääkitysten aloitukset, lääkitysten lopettamiset ja annosmuutokset. Lisäksi lääkitysten hoidolliset ja haitalliset vaikutukset sekä käyttämättä jättämisen seuraukset, myös pitkäaikaiset seuraukset, tulisi käydä systemaattisemmin läpi potilaan kanssa. Kotiuttamisessa tulisi varmistaa, että potilaille annettavat kotilääkekortit ja potilastietojärjestelmän tiedot vastaavat potilaiden kotona käyttämää lääkitystä. Kotiuttamista olisi hyvä vakioda esimerkiksi lääkehoidon tarkistuslistan avulla (liite 1).

SUMMARY

Medication counselling and reconciliation at hospital discharge

Introduction To be able to use their medication safely, patients must know the indications of their medication, how to use their medicines, how they effect and the possible adverse effects of their medication. Patients must also know when to contact a physician. Medication reconciliation and counselling can reduce discrepancies and improve medication adherence. The aim of this study was to investigate medication counselling and patients' understanding of their medications and the correctness of medication lists at hospital discharge. In addition, the aim was to develop a discharge checklist.

Materials and methods The study was conducted as a structured interview after the physician had discharged the patient on the cardiac medical ward of the Kuopio University Hospital (KUH) in the spring 2015. Thirty patients were interviewed. The inclusion criteria for the interview were patient discharging home and having at least three medicines. Age was not restricted.

Results The reason for initiation of a new medicine, discontinuation of a medicine or a dosage change were understood by 75 %, 50 % and 64 % of the patients, respectively. Medicine indications, doses and dosing times were mostly well understood. Patients were inadequately aware of the adverse effects and risks of medicine use. Patients were aware of the immediate effects of discontinuation of medication but long-term effects were poorly understood. Only four patients (13 %) reported that their medication list at discharge was correct. In all, 82 discrepancies were found of which most (52 %) were omitted medicines.

Conclusion Medication counselling at hospital discharge should cover the initiation of new medications, discontinuation of medications and dosage changes. In addition the therapeutical and adverse effects as well as the consequences of medication discontinuation, also the long-term effects, should be discussed more systematically with the patient. Medication counselling at discharge should also ensure that patient's medication list corresponds the medication used at

home and that the patient knows and understands the changes made to the medication. A discharge checklist could standardize medication counselling and reconciliation at hospital discharge.

Keywords: medication discrepancy, medication safety, medication counselling, medication reconciliation, hospital discharge

KIRJALLISUUSVIITTEET

Ahlqvist S, Ahtiainen H, Airaksinen M, Hakoinen S, Haavisto E, Laaksonen R: Farmaseutin havaitsemat lääkityspoikkeamat potilaiden lääkityksissä kirurgisella vuodeosastolla Kymenlaakson keskussairaalassa. *Dosis* 30(2): 72-85, 2014

Ahonen J, Ojala R, Naaranlahti T: Lääkkeenoton järkevä ajoitus tehostaa vaikutusta. *Suom Lääkäril* 68: 3340-42, 2013

Allende Bandres M, Arenere Mendoza M, Cutiérrez Nicolás F, Calleja Hernández M, Ruiz La Iglesia F: Pharmacist led medication reconciliation to reduce discrepancies in transitions of care in Spain. *Int J Clin Pharm* 35: 1083-90, 2013

Belda-Rustarazo S, Cantero-Hinojosa J, Salmeron-García A, González-García L, Cabeza-Barrera J, Galvez J: Medication reconciliation at admission and discharge: an analysis of prevalence and associated risk factors. *Int J Clin Pract* 69: 1268-74, 2015

Bergkvist A, Midlöv P, Höglund P, Larsson L, Bondesson Å, Eriksson T: Improved quality in the hospital discharge summary reduces medication errors – LIMM: Landskrona Integrated Medicines Management. *Eur J Clin Pharmacol* 65: 1037-46, 2009a

Bergkvist A, Midlöv P, Höglund P, Larsson L, Eriksson T: A multi-intervention approach on drug therapy can lead to a more appropriate drug use in the elderly. LIMM-Landskrona Integrated Medicines Management. *J Eval Clin Pract* 15: 660-7, 2009b

Forster A, Clark H, Menard A ym: Adverse events among medical patients after discharge from hospital. *CMAJ* 170: 345-9, 2004

Grimes T, Deasy E, Allen A ym: Collaborative pharmaceutical care in an Irish hospital: uncontrolled before-after study. *BMJ Qual Saf* 23: 574-83, 2014

Hassinen R, Ylönen M, Kerkkä M: "Kotoa – kotiin" –toimintaohje. Hallinnollinen ohje 8/2011. Kuopion yliopistollinen sairaala 2011

Hellström L, Bondesson Å, Höglund P ym: Impact of the Lund Integrated Medicines Management (LIMM) model on medication appropriateness and drug-related hospital revisits. *Eur J Clin Pharmacol* 67: 741-52, 2011

Inkinen R, Volmanen P, Hakoinen S, (toim.): Turvallinen lääkehoito. Opas lääkehoitosuunnitelman tekemiseen sosiaali- ja terveydenhuollossa. Terveyden ja hyvinvoinnin laitos 2016

Karapinar-Carkit F, Borgsteede S, Zoer J, Smit H, Egberts A, van den Bemt P: Effect of Medication Reconciliation With and Without Patient Counseling on the Number of Pharmaceutical Interventions Among Patients Discharged from the Hospital. *Ann Pharmacother* 43: 1001-10, 2009

Kripalani S, Roumie C, Dalal A ym: Effect of a Pharmacist Intervention on Clinically Important Medication Errors After Hospital Discharge. *Ann Intern Med* 157: 1-10, 2012

Lämsä E: Kaatumisvaaraa lisäävien lääkkeiden havaitseminen osana potilaan lääkehoidon selvitystä. Pro gradu -tutkielma, Farmasian laitos, Itä-Suomen yliopisto, Kuopio 2014

Mikkola M, Rintanen H, Nuorteva L, Kovasin M, Erhola M: Valtakunnallinen sosiaali- ja terveydenhuollon laitospaikkaselvitys. Terveyden ja hyvinvoinnin laitos 2015

Mäkelä-Bengs P, Virkkunen H, Vuokko R: Lääkemerkin tekeminen ja tietosisältö 2016. Toiminnallinen määrittely. Terveyden ja hyvinvoinnin laitos 2014. www.thl.fi

Pal A, Babbott S, Wilkinson S: Can the Targeted Use of a Discharge Pharmacist Significantly Decrease 30-Day Readmissions? *Hosp Pharm* 48: 380-8, 2013

Pippins J, Gandhi T, Hamann C: Classifying and Predicting Errors of Inpatient Medication Reconciliation. *J Gen Intern Med* 23: 1414-22, 2008

Saukkonen M: lääkäiden potilaiden lääkkeiden selvittäminen ja lääkityksen turvatarkastukset KYS:in päivystysalueella. Pro gradu -tutkielma, Farmasian laitos, Itä-Suomen yliopisto, Kuopio 2015

The Institute for Safe Medication Practices
Canada: Medication reconciliation in acute care:

Getting started kit. Kanada 2011

Tiihonen M, Nykänen I, Ahonen R, Hartikainen S: Discrepancies between in-home interviews and electronic medical records on regularly used drugs among home care clients. *Pharmacoepidemiol Drug Saf* 25: 100-5, 2016

Vira T, Colquhoun M, Etchells E: Reconcilable differences: correcting medication errors at hospital admission and discharge. *Qual Saf Health Care* 15: 122-6, 2006

Valkonen V: Kotona käytettyjen lääkkeiden selvittäminen ja lääkityksen turvatarkastukset: sepelvaltimotautipotilaat KYSin sydänosastolla. Pro gradu -tutkielma, Farmasian laitos, Itä-Suomen yliopisto, Kuopio 2014

WHO: Pitkäaikaisiin hoitoihin sitoutuminen. Näyttöä toiminnan tueksi. Lääketietokeskus Oy, Helsinki 2003

Tyypin III polyketidisyntaasit gerberassa

→ Juha Kontturi

Tuotekehitystutkija, FT
Medix Biochemica
Klovinpellontie 3
02180, Espoo

Kirjeenvaihto

juha.kontturi@gmail.com

Filosofian maisteri Juha Kontturin väitöskirja ”Tyypin III polyketidisyntaasit gerberassa” tarkastettiin Helsingin yliopiston maa- ja metsätaloustieteen tiedekunnassa 10.2.2017. Biotekniikan alaan kuuluvassa väitöksessä vastaväittäjänä toimi professori Günter Brader Itävallan Teknologian instituutista ja kustoksena professori Teemu Teeri, Helsingin yliopistosta. Väitöskirja on julkaistu Helsingin yliopiston maa- ja metsätaloustieteellisen tiedekunnan julkaisusarjassa (Kontturi 2/2017) ja se on sähköisesti saatavilla: <https://helda.helsinki.fi/handle/10138/174094>

TIIVISTELMÄ

Sekundaarimetaboliitit ovat kasveissa tavattavia yhdisteitä, jotka toimivat pigmentteinä, UV-säteilyn suojana sekä taistelussa mikrobeja vastaan. Myös ihminen on kiinnostunut yhdisteistä, sillä kasvien sekundaarimetabolian tuotteita tai niiden johdoksia käytetään mm. antibiootteina, home- ja hyönteismyrkkyinä sekä lääkkeinä. Kasveissa tavattavat polyketidiyhdisteet ovat eräs sekundaarimetaboliittien ryhmä, joita käytetään sekä antimikrobiaalisina yhdisteinä tai lääkkeinä. Kasveissa nämä yhdisteet ovat tyypin III polyketidisyntaasi-entsyymien katalysoimien reaktioiden lopputuotteita.

Tyypin III polyketidisyntaasit ovat pieniä (40-45 kDa), homodimeerisiä proteiineja, jotka toiminnaltaan muistuttavat rasvahapposyntaaseja. Tyypin III polyketidisyntaasit toimivat katalyytteinä biosynteesireaktioissa, joiden lopputuotteet ovat kasveissa tavattavia polyketidiyhdisteitä.

Väitöskirjassani tutkin gerberassa tavattavia tyypin III polyketidisyntaasi-entsyymejä, jotka tuottavat polyketideiksi luokiteltuja sekundaarimetabolian tuotteita. Ensimmäinen julkaisuni koski gerberan polyketidisyntaaseja, jotka ovat vastuussa antimikrobiaalisen yhdisteen biosynteesistä (4-hydroksi-5-metyyliikumariini). Toisessa julkaisussani määritin kaksi muuta gerberan tyypin III polyketidisyntaasia, jotka osallistuvat siitepölyhiukkasen soluseinän biosynteesiin. Kolmas artikkeli koski glukosyyli transferaaseja, entsyymejä jotka liittävät sokerimolekyylejä kasvien sekundaarimetaboliitteihin.

Avainsanat: Polyketidisyntaasit, sekundaarimetaboliitit, gerbera

JOHDANTO

Gerbera (*Gerbera hybrida*) on maailmanlaajuisesti viljelty koristekasvi, jonka kasvattamisella on merkittävä kaupallinen merkitys. Potentiaalinen merkitys on gerberan sisältämässä kemiallisissa yhdisteissä, sekundaarimetaboliiteissa. Sekundaarimetaboliitit ovat kasvin tuottamia yhdisteitä, jotka ovat usein tietyille lajille tai suvulle ominaisia. Ne eivät suoranaisesti osallistu kasvin aineenvaihdunnan toimintaan, kuten energian tuotantoon, kasvuun tai lisääntymiseen. Kasveissa niillä on merkittävä rooli mm. pigmentteinä, UV-säteilyn suojana, sekä puolustuksessa patogeenejä vastaan. Sekundaarimetaboliitit ovat tärkeitä myös ihmisille. Eriyisesti lääketeollisuus on kiinnostunut yhdisteistä, sillä noin 50 % hyväksytyistä lääkkeistä viimeisen 30 vuoden aikana ovat olleet suoraan tai epäsuorasti kasvipärisiä. Kasvien polyketidit ovat yksi suurimmista sekundaarimetaboliittien ryhmistä, joita käytetään mm. antibiootteina, home- ja hyönteismyrkkyinä sekä syöpälääkkeinä (Austin & Noel 2003; Newman ym., 2012).

Gerberalla on myös suvulle tyypillinen sekundaarimetaboliittien kirjo, joita ei tavata muilla lajeilla. Kasvista löytyy kahta toisilleen läheistä yhdistettä, gerberiiniä (4-hydroksi-6-metyyli-5,6-dihydro-2-pyrone) ja parasorbosidia (4-hydroksi-6-metyylitetrahydro-2-pyrone) (**kuva 1**). Lisäksi gerberasta löytyy harvinaista 4-hydroksi-5-metyylidikumariinia, jota tavataan gerberan lisäksi vain muutamissa sen lähisukulaiskasveissa. Gerberan polyketidiyhdisteet ovat tehokkaita antimikrobialisia yhdisteitä. Aikaisemmat tutkimukset ovat osoittaneet, että yhdisteet gerberiini, parasorbosidi ja erityisesti 4-hydroksi-5-metyylidikumariini ovat tehokkaita yhdisteitä ehkäisemään homeiden kas-

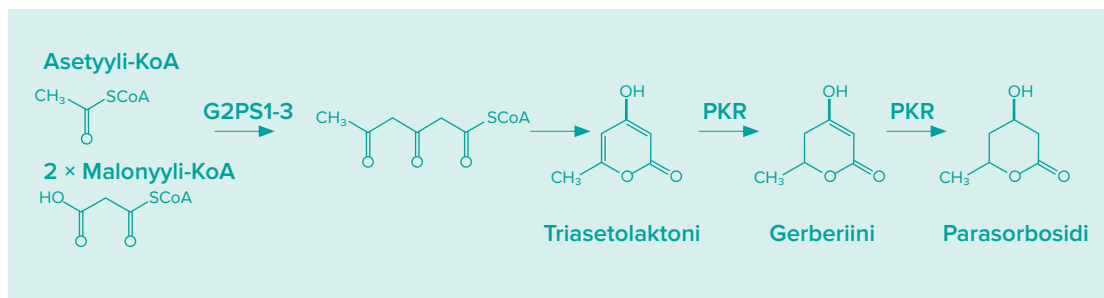
vua (Eckermann ym., 1998; Inue ym., 1989; Koskela ym., 2011)

Tyyppin III polyketidisyntaasit ovat kooltaan suhteellisen pieniä (40-45 kDa), rakenteeltaan homodimeerisiä proteiineja. Entsyymit toimivat katalyytteinä biosynteesireaktioissa, jotka muistuttavat etäisesti rasvahappojen biosynteesiä. Tyyppin III polyketidisyntaasin reaktiomekanismi tunnetaan suhteellisen hyvin. Reaktio käynnistyy lähtöaineen latauksella, malonyyli-CoA:n dekarboksylaatiolla sekä sen liittämällä pitenevään polyketidiketjuun. Lopulta molekyyli aromatisoituu entsyymiin kiinnittyneenä. (Ferrer ym., 1999; Jez ym., 2000)

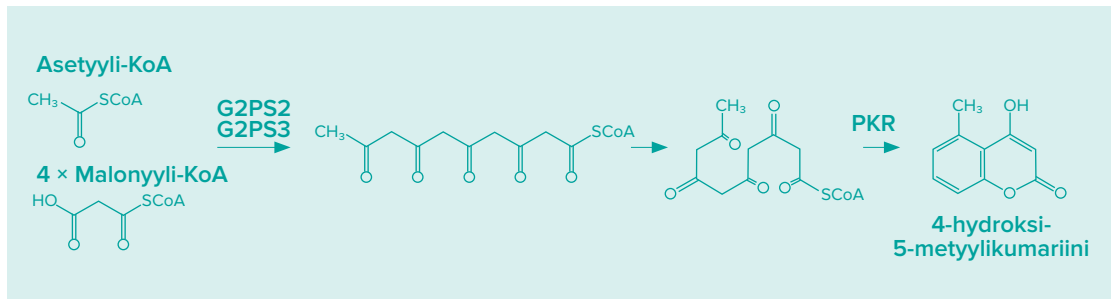
Tutkimusryhmämme gerberasta löytämä 2-pyronisyntaasi (G2PS1) oli ensimmäinen kasveista löydetty tyyppin III polyketidisyntaasi, joka käyttää lähtöaineena asetyyli-CoA:ta. G2PS1 on triketidisyntaasi, joka käyttää yhden molekyylin asetyyli-CoA:ta sekä kaksi molekyyliä malonyyli-CoA:ta muodostaen avoimen triketidin, joka aromatisoituu triasetolaktoniksi. Tämä edelleen pelkistyy gerberiiniksi ja parasorbosidiksi vielä tunnettoman polyketidireduktaasin johdosta (**Kuva 1**) (Eckermann ym., 1998). Myöhemmin myös gerberan G2PS2 ja G2PS3 entsyymeillä todettiin myös sama entsyymiaktiivisuus.

Sekä gerberiini että parasorbosidi toimivat gerberassa antimikrobialisina yhdisteinä. Aikaisemmat tutkimukset osoittivat, että G2PS1-geenin hiljentäminen antisense-tekniikalla johti näiden yhdisteiden katoamiseen, jolloin gerberan homeenkestävyys (*Botrytis cinerea*) heikkeni dramaattisesti (Elomaa ym., 1996; Koskela ym., 2011)

Gerberassa on myös kolmas yhdiste, 4-hydroksi-5-metyylidikumariini, jonka on osoitettu hillitsevän tehokkaasti homeiden kasvua. Tämän yhdisteen



Kuva 1. Triasetolaktonin biosynteesi sekä pelkistys gerberiiniksi ja parasorbosidiksi



Kuva 2. 4-hydroksi-5-metyylikumariinin biosynteesin malli.

on oletettu olevan tyyppin III polyketidisyntaasin tuote, perustuen vanhoihin radioaktiivisiin gerberan syöttökokeisiin (Inue ym., 1989). Väitöskirjatyössäni hypoteesina oli, että kaksi gerberan polyketidisyntaasia, sekä G2PS2 että G2PS3 osallistuisivat tämän yhdisteen biosynteesiin.

Toinen osa väitöskirjaani koski kahta muuta tyyppin III polyketidisyntaasia. Aikaisemmat tutkimukset ovat osoittaneet, että kasveissa esiintyy konservoituneita polyketidyntaaseja, jotka osallistuvat sporopolleniinin biosynteesiin. Sporopolleniini on kasvin siitepölyseinämässä tavattava polymeerinen yhdiste, joka on kemiallisilta ja fysikaalisilta ominaisuuksiltaan erittäin vahva yhdiste, antaen näin hyvän suojauksen hiukkaselle (Quilichini ym., 2015). Väitöskirjassani tarkoituksena oli osoittaa, että myös gerberassa on tähän entsyymiperheeseen kuuluvaa kaksi entsyymiä, jotka todennäköisesti osallistuvat sporopolleniinin biosynteesiin.

Kasveissa sekundaarimetaboliitit ovat usein sokeri-molekyylisiin liitettyinä. Sokerin liittäminen eli glykosylointi muuttaa usein yhdisteen ominaisuuksia liukoisempaan suuntaan, jolloin yhdisteen varastointi solussa on helpompaa. Entsyymejä, jotka katalysoivat sokermolekyylin liittämisen kasvien sekundaarimetaboliitteihin, kutsutaan glykosyylitransferaaseiksi (Vogt & Jones 2000). Kolmas tutkimukseni tavoite oli löytää gerberan glukosyylitransferaaseja (entsyymejä, jotka käyttävät lähtöaineenaan juuri glukoosia), jotka katalysoivat glukoosin G2PS1 biosynteesireitin yhdisteisiin (triasetolaktoni, gerberiini, parasorbosidi).

MENETELMÄT

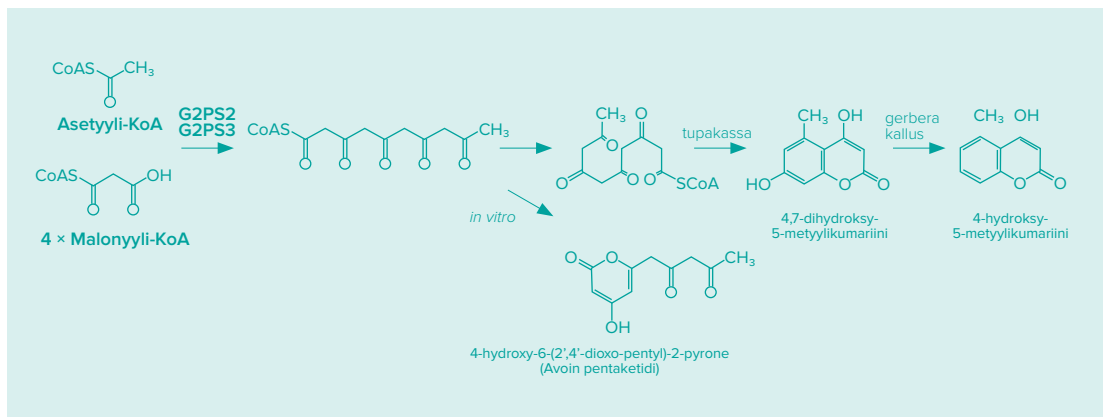
Väitöskirjassani käytettiin entsyymien tutkimiseen kolmenlaisia menetelmiä. Ensimmäisessä in

vitro lähestymistavassa geenit kloonattiin ekspresiovektoreihin, jotka transformoitiin Escherichia coliin, jossa proteiinit tuotettiin liukoiseen muotoon. Tämän jälkeen proteiinit puhdistettiin muista E.colin bakteereista, ja entsyymien in vitro aktiivisuus määritettiin antaen entsyymeille malonyyli-CoA:ta sekä useita erilaisia lähtö-aineita. Tuotettuja yhdisteitä analysoitiin nestekromatografiaa ja massaspektrometria hyväksi käyttäen. Toisessa menetelmässä, entsyymejä ekspressoitiin tupakassa (Nicotiana benthamiana) käyttäen kasviexpressioon tarkoitettuja vektoreita. Kolmanneksi, käyttäen hyväksi samoja kasvi-vektoreita, entsyymejä ekspressoitiin gerberan omassa erilaistumattomassa kallussolukossa, joka tarjosi entsyymeille niiden luonnolliset lähtöaineet sekä mahdolliset muut biosynteesissä toimivat proteiinit.

Lisäksi proteiinien homologista mallinnusta käytettiin entsyymien aktiivisen keskuksen tutkimisessa. Mallien avulla tehtiin mutaatioita tutkimme entsyymeihin, joiden avulla selvitimme mitkä aktiivisen keskuksen aminohapot ovat välttämättömiä entsyymien aktiivisuudelle. Muita artikkeleissa käytettyjä menetelmiä olivat geenien ekspressioon liittyvät menetelmät, kuten reaaliaikainen kvantitatiivinen PCR sekä in situ tutkimukset.

VÄITÖSKIRJAN TULOKSET

Tieteellisesti merkityksellisimmät tulokset liittyivät 4-hydroksi-5-metyylikumariinin biosynteesistä vastaaviin tyyppin III polyketidisyntaaseihin. E. colissa tuotetut polyketidisyntaasit, G2PS2 ja G2PS3 tuottivat pentaketidi-tuotteen in vitro, kun entsyymeille annettiin lähtöaineina asetyyli-CoA:ta sekä malonyyli-CoA:ta. Rakenteeltaan yhdiste ei kuiten-



Kuva 3. G2PS2- ja G2PS3-entsyymien aktiivisuus *in vitro*, tupakassa sekä gerberan kallus solukossa.

kaan ollut kumariini, vaan yhden rengsarakenteen sisältämä avoin pentaketidiyhdiste. Tupakkaan infiltroidut G2PS2 tai G2PS3, tuottivat kumariinin pelkistymätöntä muotoa (4,7-dihydroksi-5-metyyli-kumariini). Tupakan lehden solut eivät siis sisältäneet reduktaasia, joka pelkistäisi OH-ryhmän pois tästä yhdisteestä. Transgeeninen G2PS2- tai G2PS3-kallus alkoi tuottaa 4-hydroksi-5-metyyli-kumariinia, jota villityypin kallus ei vielä sisältänyt tässä kehitysvaiheessa. Transformoitu kallus sisälsi kumariinia pelkistyneenä (**Kuva 3**).

G2PS1-proteiinin julkaistu rakenne mahdollisti luotettavien G2PS2- ja G2PS3-proteiinien mallien luomisen, joita käytettiin selvittämään, mitkä aminohapot muodostavat entsyymien aktiivisen keskuksen. Mallien ja mutaatioiden avulla osoitimme kaksi G2PS2- ja G2PS3-entsyymien aktiivisen keskuksen aminohappoa (Thr 344 ja Ile203), jotka olivat välttämättömiä pentaketidisyntaasin aktiivisuudelle. G2PS1-entsyymissä nämä aminohapot olivat Ile343 ja Leu202 (**Kuva 4**).

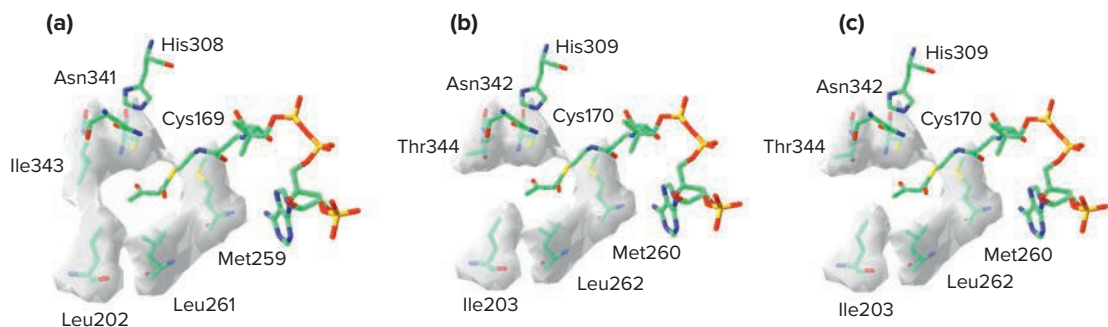
Toisessa julkaisussa karakterisoimme kaksi tyyppin III polyketidisyntaasia, joiden todettiin kuuluvan tyyppin III polyketidisyntaasin alaluokkaan (ASCLs, anther specific chalcone synthase like enzymes). Julkaisussa osoitimme, että GASCL1- ja GASCL2-entsyymit ovat *in vitro* entsyymiaktiivisuudeltaan tyyppin III polyketidisyntaaseja, jota pystyvät käyttämään pitkäketjuisia alifaattisia lähtöaineita syntetisoidessaan tri- sekä tetraketidituotteita. Lisäksi *in situ*-menetelmällä osoitimme, että nämä geenit ekspressoituvat hyvin pienellä

alueella heteiden solukossa.

Kolmas julkaisu koski G2PS1 entsyymien biosynteesireitin lopputuotteiden glukosylaatiota. Useita glykosyylitransferaaseja tuotettiin liukoiseen muotoon *E.coli*ssa, ja entsyymien *in vitro* aktiivisuus testattiin käyttäen radioaktiivista glukosia. Yksi tuotetuista entsyymeistä pystyi liittämään glukosimolekyylin triasetolaktoni- ja gerberiini-yhdisteisiin, mutta reaktio ei ollut näille yhdisteille spesifinen, vaan entsyymit pystyivät glukosyloimaan myös muita gerberan sekundaarimetaboliitteja.

YHTEENVETO

Väitöskirjassani karakterisoin neljä tyyppin III polyketidisyntaasia. Ensimmäisessä artikkelissani osoitin, että G2PS2 ja G2PS3 ovat vastuussa erikseen gerberan antimikrobiaalisen yhdisteen, 4-hydroksi-5-metyyli-kumariinin biosynteesistä. Toisessa julkaisussa osoitin, että GASCL1- ja GASCL2-entsyymit kuuluvat ASCL (anther specific chalcone synthase like) proteiinien alaluokkaan. Entsyymiaktiivisuudeltaan ne olivat tri- sekä tetraketidisyntaaseja, jotka todennäköisesti osallistuvat sporopoleniini polymeerin biosynteesiin. Kolmas julkaisu koski gerberan glukosyylitransferaaseja, joiden *in vitro* aktiivisuus osoitettiin usean gerberan sekundaarimetaboliitin kanssa. G2PS1 aloittaman biosynteesin reitille spesifistä glukosyylitransferaasia ei kuitenkaan löydetty. Väitöskirjani julkaisuissa entsyymien karakterisoinnissa käytettiin hyväksi proteiinien tuottamista *E.coli*ssa, mikä mahdollisti entsyymien *in vitro* aktiivisuuden määrittämisen.



Kuva 4. Proteiinien mallit; G2PS1 (a), G2PS2 (b) ja G2PS3 (c).

Lisäksi kahdella eri in planta menetelmällä saavutettiin parempi, toisiaan täydentävä selvitys entsyymien aktiivisuudesta. Lisäksi proteiinien mallintamisen sekä mutaatiotutkimusten avulla selvitettiin mitkä ovat entsyymiaktiivisuuden kannalta tärkeät aminohapot aktiivisessa keskuksessa. Lisäksi tutkittavien proteiinien geenien ekspressoitumista tutkittiin in situ sekä PCR-menetelmillä.

Väitöskirjani lisäsi ymmärrystämme kasvien sekundaarimetaboliiteista, sekä erityisesti tyyppiin III polyketidisyntaaseista. Kun uusia entsyymejä karakterisoidaan kasvien biosynteesireiteiltä, on helpompi saada parempi kokonaiskuva koko biosynteesistä. Kokonaisten biosynteesireittien tunnistaminen luo taas uusia mahdollisuuksia sekä kasvinjalostukselle että uusien bioaktiivisten molekyylien tuottamiselle käyttäen esimerkiksi bakteerisoluja.

SUMMARY

Type III Polyketidesynthases from *Gerbera hybrida*

The type III polyketidesynthases (PKSs) are a group of enzymes involved in the production of structurally diverse secondary metabolites, polyketides in plants. The compounds, such as chalcones, chromones, stilbenes and coumarins possess a variety of important biological roles for the plants, such as protection against oxidative stress, pathogens and UV irradiation. From the human use perspective, polyketides or their derivatives serve as antifungal compounds, immunosuppressants, anticancer drugs, antibiotics and insecticides.

Type III PKS are small (40-45 kDa) proteins functioning as homodimers. They catalyze the sequential decarboxylative condensation reaction between malonyl-CoA and a variety of CoA-linked starter molecules in a biosynthesis, which closely resembles fatty acid biosynthesis. *Gerbera* (*Gerbera hybrida*) expresses three genes encoding chalcone synthases (CHS), which are enzymes involved in the biosynthesis of flavonoids in plants. In addition, it has three genes encoding 2-pyrone synthases (G2PS1-3), which differ from the CHSs with altered substrate specificity and the amount of decarboxylative malonyl-CoA condensation reactions. It was previously shown that G2PS1 is a triketide synthase, responsible for the biosynthesis of 4-hydroxy-6-methyl-2-pyrone (triacetolactone, TAL), a putative precursor for two antimicrobial compounds, gerberin and parasorboside in *gerbera*. In this study, the G2PS2 and G2PS3 were functionally characterized as pentaketide synthases and their role in the biosynthesis of another antimicrobial compound, 4-hydroxy-5methylcoumarin (HMC) was demonstrated. Using protein modelling and mutagenesis studies, the structural differences in the active site cavity of *gerbera* 2-pyrone synthases were demonstrated. The *gerbera* type III PKS family was extended by characterizing two additional 2-pyrone synthases and determining their expression patterns. The newly discovered GASCL1 and GASCL2 are anther specific chalcone synthase like enzymes (ASCLs), which in many other plant species have been shown to take part to the biosynthesis of sporopollenin, the main component of a exine layer of the

pollen grain. The last part of the thesis focus on glycosyltransferases (GTs), a group of enzymes that catalyze the addition of a sugar moiety to the plant secondary metabolites, including the products of the *gerbera* type III PKSs.

Keywords: Polyketide synthases, secondary metabolites, *Gerbera hybrida*

Author

→ Juha Kontturi

R&D Scientist, PhD
Medix Biochemica
Klovinpellontie 3
02180, EspooPhD

Correspondence

juha.kontturi@gmail.com

The Academic dissertation of Juha Kontturi, MSc, on "Type III Polyketide Synthases from *Gerbera hybrida*" was presented in the Faculty of Agriculture and Forestry of Helsinki University on 10th February, 2017. Professor Günter Brader, Institute of Technology, Austria, served as the opponent, and Professor Teemu Teeri, University of Helsinki, Finland, as the custos. The Thesis is available from: <https://helda.helsinki.fi/handle/10138/174094>

LÄHTEET

Austin MB, Noel P: The chalcone synthase superfamily of type III polyketide synthases.

Natural Product Reports 20: 79-110, 2003

Eckermann S, Schroder G, Schmidt J, Strack D, Edrada RA, Helariutta Y, Elomaa P, Teeri TH, Schröder J: New pathway to polyketides in plants. *Nature* 396: 387-390, 1998

Elomaa P, Helariutta Y, Kotilainen M, Teeri TH: (1996). Transformation of antisense constructs of the chalcone synthase gene superfamily into *gerbera hybrida*: Differential effect on the expression of family members. *Molecular Breeding* 2: 41-50, 1996

Ferrer JL, Jez JM, Bowman ME, Dixon RA, Noel JP: Structure of chalcone synthase and the molecular basis of plant polyketide biosynthesis. *Nature Structural Biology* 6: 775-784, 1999

Inue T, Toyonaga T, Nagumo S, Nagai M: Biosynthesis of 4-hydroxy-5-methylcoumarin in a *Gerbera jamesonii* hybrid. *Phytochemistry* 28: 2329-2330, 1989

Jez JM, Austin MB, Ferrer JL, Bowman ME, Schroder J, Noel JP: Structural control of polyketide formation in plant-specific polyketide synthases. *Chemistry & Biology* 7: 919-930, 2000

Koskela S, Soderholm PP, Ainasoja M, Wennberg T, Klika KD, Ovcharenko VV, Kylanlahti I, Auerma , Yli-Kauhaluoma J, Pihlaja K, Vuorela PM Teeri TH: Polyketide derivatives active against *Botrytis cinerea* in *Gerbera hybrida*. *Planta* 233: 37-48, 2011

Newman DJ, Cragg GM: Natural products as sources of new drugs over the 30 years from 1981 to 2010. *Journal of Natural Products* 75: 311-335, 2012

Quilichini TD, Grienberger E, Douglas CJ: The biosynthesis, composition and assembly of the outer pollen wall: A tough case to crack. *Phytochemistry* 113: 170-182, 2015

Vogt T, Jones P: Glycosyltransferases in plant natural product synthesis: Characterization of a supergene family. *Trends in Plant Science* 5: 380-386, 2000

FinPharmaNet 11th Annual Meeting 2017: Drug Discovery & Development, University of Eastern Finland, Kuopio Campus, Aug 14–15, 2017

→ Ilkka Reenilä

Division of Pharmacology and Pharmacotherapy
Faculty of Pharmacy
University of Helsinki
PO Box 56 (Viikinkaari 5E)
00014 University of Helsinki
E-mail: ilkka.reenila@helsinki.fi

→ Paavo Honkakoski

School of Pharmacy and Doctoral Programme in
Drug Research
University of Eastern Finland
PO Box 1627
70211 Kuopio
E-mail: paavo.honkakoski@uef.fi

Correspondence:

Ilkka Reenilä (ilkka.reenila@helsinki.fi)

The FinPharmaNet doctoral education network had its 11th Annual Joint Meeting at the University of Eastern Finland (UEF), Kuopio Campus during Aug 14–15, 2017.

The theme of the meeting was Drug Discovery & Development from the Molecules to the Real Use of Medicines. The lectures and poster presentations were relevant for the whole drug development and shed light to the current drug research from different points of view. There were 69 registered participants including doctoral candidates, senior researchers, and representatives from authorities and industry.

Doctoral candidates presented their thesis research projects in three parallel poster sessions. The posters were of high quality and the audience could give feedback about the posters by post-it stickers. Winners of poster prizes, which were kindly donated by Finnish scientific societies, were chosen by a board of evaluators. An additional prize was given based on public voting. The best presentation awardees were: **Tatu Pantsar** (University of Eastern Finland, sponsored by the Finnish Pharmacological Society), **Erkka Järvinen** (University of Helsinki, sponsored by the Finnish Pharmaceutical Society), **Minttu Mattila** (University of Turku, sponsored by the Finnish Toxicological Society) and **Gabriela Martinez** (University of Turku, “people’s choice award”, sponsored by the Faculty of Health Sciences, UEF).

The Student council also organised an evening program for doctoral candidates to discuss on how Annual meetings could be developed in the future. Altogether 28 participants gave good suggestions for future themes for the meetings, how to execute the meetings, and how to improve doctoral candidate presentations. After discussions, the doctoral candidates enjoyed games, sauna and networking.

The Annual meeting was organised by the Doctoral Programme in Drug Research at UEF. The organizers were Prof. **Paavo Honkakoski** and Student Council formed by doctoral candidates **Jussi Kärkkäinen, Juuso Leikas, Jonna Weisell, Elina**

Lämsä, Rami El Dairi, Anssi-Pekka Karttunen, Marko Lamminsalo and Ali Mohammed.

The FinPharmaNet Annual meeting was supported by Faculty of Health Sciences and School of Pharmacy (UEF), Admescope, Charles River Discovery Labs, the Finnish Pharmaceutical Society, the Finnish Pharmacological Society, the Finnish Toxicological Society, Orion Pharma and Medfiles.

Since 2007, FinPharmaNet has been a national doctoral education network which was funded by the Academy of Finland until the end of year 2015. Thereafter, each University has constructed its own systems for doctoral education. FinPharmaNet has united the majority of Finnish organisations providing doctoral education in drug research and toxicology. The network consists of seven Universities (Helsinki, Turku, Eastern Finland, Åbo Akademi, Oulu, Tampere and Jyväskylä), representatives from the pharmaceutical industry (e.g., Pharma Industry Finland, Orion Pharma and Bayer), research institutes (e.g., The Finnish Centre for Alternative Methods, FICAM) and authorities (Finnish Medicines Agency Fimea). Three Universities (Eastern Finland, Helsinki and Turku) have their own Drug Research programmes whereas in other Universities, drug research is integrated to other doctoral programmes. The purpose of FinPharmaNet is to provide a wide-ranging advanced education in all aspects of the life cycle of drugs and in toxicology. The network coordinates and announces its doctoral training (<http://finpharmanet.fi>). The current Director of FinPharmaNet is Professor **Mika Scheinin** from the University of Turku. Drug research doctoral programme coordinators (PhD, Doc. **Ilkka Reenilä** in Helsinki and PhD **Eeva Valve** in Turku) participate in the coordination of FinPharmaNet.

Despite the termination of funding by the Academy of Finland, FinPharmaNet is a viable scientific community, supported by local Universities, and strongly involved in Finnish drug research education.

In this issue of *Dosis*, the program of the FinPharmaNet 11th Annual Meeting gives an overview of the current doctoral training in drug research and toxicology in Finland.

Suomen lääketutkimuksen tohtorikoulutusverkoston vuositapaaminen: FinPharmaNet 11th Annual Meeting 2017: Drug Discovery & Development, Itä-Suomen yliopisto, Kuopion kampus, 14.–15.8.2017

→ Ilkka Reenilä

Farmakologian ja lääkehoidon osasto
Farmasian tiedekunta
Helsingin yliopisto
PL 56 (Viikinkaari 5E)
00014 Helsingin yliopisto
Sähköposti: ilkka.reenila@helsinki.fi

→ Paavo Honkakoski

Terveystieteiden tiedekunta
Itä-Suomen yliopisto, Kuopion kampus
PL 1627
70211 Kuopio
Sähköposti: paavo.honkakoski@uef.fi

FinPharmaNet, Suomen valtakunnallinen lääketutkimuksen tohtorikoulutuksen verkosto, piti II. vuositapaamisensa Itä-Suomen yliopiston Kuopion kampuksella 14.–15.8.2017. Teemana oli lääkekehityksen vaiheet (*Drug discovery & development*) molekyyleistä niiden todelliseen käyttöön. Luennot ja posterisesitykset olivat relevantteja koko lääkekehityksen kannalta ja antoivat hyvän kuvan useasta näkökulmasta siitä, mitä lääketutkimus on tänä päivänä. Rekisteröityneitä osanottajia oli 69, yleisössä oli tohtorikoulutettavien lisäksi senioritutkijoita ja viranomaisten sekä teollisuuden edustajia.

Tohtorikoulutettavat esittelivät väitöskirjatutkimuksiaan kolmessa rinnakkaisessa posterisessiossa. Esillä oli 21 korkealuokkaista posteria, joita osallistujat saivat arvioida post-it-lappujen avulla. Tieteellisten yhdistysten lahjoittamien posteripalkintojen saajat valitsi posteripalkintoraati. Lisäksi yksi posterit palkittiin yleisöäänestyksen perusteella. Palkinnot saivat **Tatu Pantsar** (Itä-Suomen yliopisto, Suomen Farmakologiyhdistyksen palkinto), **Erkka Järvinen** (Helsingin yliopisto, Suomen Farmaseuttisen yhdistyksen palkinto), **Minttu Mattila** (Turun yliopisto, Suomen Toksikologiyhdistyksen palkinto) sekä yleisön valitsema **Gabriela Martinez** (Turun yliopisto, Terveystieteiden tiedekunnan palkinto).

Tohtorikoulutettavien (*student council*) organisoimaan omaan ohjelmaan osallistui 28 tohtorikoulutettavaa. Tilaisuudessa käytiin keskustelua siitä, kuinka vuositapaamisien antia voisi parantaa vastaisuudessa. Tohtorikoulutettavat antoivat hyviä vinkkejä tulevista teemoista sekä siitä, minkä tyyppiset toteutustavat ja opiskelijaesitykset voisivat kehittää tilaisuutta. Illan päätteeksi oli verkostoitumista pelien ja saunan kera.

Tämänvuotisen FinPharmaNetin vuositapaamisen järjesti Itä-Suomen yliopiston Lääketutkimuksen tohtoriohjelma, joka kuuluu Itä-Suomen yliopiston tohtorikouluun. Järjestelytoimikunnassa olivat professori **Paavo Honkakoski** sekä tohtorikoulutettavien muodostama toimikunta: **Jussi Kärkkäinen, Juuso Leikas, Jonna Weisell, Elina**

Lämsä, Rami El Dairi, Anssi-Pekka Karttunen, Marko Lamminsalo ja Ali Mohammed. Vuositapaamista tukivat Terveystieteiden tiedekunta sekä Farmasian laitos (Itä-Suomen yliopisto), Admescope, Charles River Discovery Labs, Suomen Farmaseuttinen yhdistys, Suomen Farmakologiyhdistys, Suomen Toksikologiyhdistys, Orion Pharma ja Medfiles.

FinPharmaNet on vuodesta 2007 alkaen toiminut kansallinen tohtoriohjelmien verkosto, jota Suomen Akatemia tuki vuoteen 2015 asti. Tämän jälkeen kukin yliopisto on perustanut oman tutkijakoulu- ja tohtoriohjelmajärjestelmänsä. FinPharmaNet kuitenkin edelleen yhdistää suuren osan Suomen lääketutkimuksen ja toksikologian tohtorikoulutusta antavia yksiköitä. FinPharmaNetin sidosryhmiin kuuluvat seitsemän yliopistoa (Helsinki, Turku, Itä-Suomi, Åbo Akademi, Tampere, Oulu ja Jyväskylä), lääketeollisuuden edustajia (mm. Orion, Bayer ja Lääketeollisuus ry), instituutteja kuten esim. The Finnish Centre for Alternative Methods (FICAM) sekä viranomaisia (Lääkealan turvallisuus- ja kehittämiskeskus FiMEa). Itä-Suomen, Helsingin ja Turun yliopistoissa toimivat omat lääketutkimuksen tohtoriohjelmat, kun taas muissa yliopistoissa lääketutkimuksen tohtorikoulutus on integroitu muihin tohtoriohjelmiin. Koulutuksen tavoitteena on tarjota laaja kokonaiskäsitys lääkkeiden koko elinkaaresta sekä toksikologiasta. Verkosto koordinoi ja tiedottaa tohtorikoulutuksestaan omalla nettisivullaan (<http://finpharmanet.fi>). FinPharmaNetin johtaja on professori **Mika Scheinin** (Turun yliopisto). Lääketutkimuksen tohtoriohjelmien koordinaattorit (dosentti **Ilkka Reenilä** Helsingissä ja FT **Eeva Valve** Turussa) osallistuvat FinPharmaNet-verkoston koordinaatioon.

Huolimatta Suomen Akatemian rahoituksen päättymisestä on FinPharmaNet-verkosto edelleen elinvoimainen tieteellinen yhteisö, joka on yliopistojen tukema ja vahvasti mukana suomalaisessa lääketutkimuksen tohtorikoulutuksessa. Tämä Dosiksen artikkeli FinPharmaNet-verkoston II. vuositapaamisen ohjelmasta antaa kuvaa nykyisestä lääketutkimuksen ja toksikologian tohtorikoulutuksesta Suomessa.

11th Annual FinPharmaNet Meeting

“Drug Discovery & Development”

August 14–15, 2017

Mediteknia, Yliopistonranta 1 B, Kuopio, Finland

Program

Monday Aug 14, 2017

SESSION I – Discovery

Chair: Professor Paavo Honkakoski, UEF

12.15–12.30

Opening of the Annual FinPharmaNet Meeting

Professor Mika Scheinin, Director of
FinPharmaNet, University of Turku

12.30–13.00

Targeted drug delivery technologies

Professor Arto Urtti, UEF & UH

13.00–13.30

Drug delivery and targeting

PhD, Adjunct Professor Kristiina Huttunen, UEF

13.30–14.00

Molecular modelling – new drug targets

Professor Antti Poso, UEF & University of
Tübingen

14.00–14.30

From batch to continuous manufacturing of drugs

Assistant Professor Ossi Korhonen, UEF

14.30–15.00

Coffee/Tea

SESSION II – posters

15.00–16.30

Poster Tours

Posters are divided in 3(-4) sections according
to the stage of drug discovery or development.
Students briefly present their work one by one.

16.30-17.00

Sticky Note Feedback

Give feedback to each poster presentation with
a sticky note. Vote the best presentation of the
tour.

17.00-18.00

Free Discussion at Posters

(FinPharmaNet Board meeting)

18.30–

Buffet dinner

20.00–

Student Council program

Tuesday Aug 15, 2017

SESSION III – Preclinical and Clinical Development

Chair: Ullamari Pesonen

9.00–9.30

Preclinical development

Principal Research Scientist Ullamari Pesonen,
Orion Pharma

9.30–10.00

Small animal MRI as a tool for drug development

Professor Olli Gröhn, UEF

10.00–10.30

Clinical contract research

Key Account Manager Kirsi Pärri-Hedman,
Medfiles Ltd.

10.30–11.00

Clinical drug development

Senior Medical Officer Tuomo Lapveteläinen,
FIMEA

11.00–12.30

Lunch Break

SESSION IV – Approval & Market

Chair: Elina Lämsä, UEF

12.30–13.00

Market authorization

Senior Researcher Elina Jarho, FIMEA

Break

13.30–14.00

Effectiveness of care

Professor Sirpa Hartikainen, UEF

14.15–14.45

Coffee/Tea

14.45–15.30

Cost-effectiveness

Professor Janne Martikainen, UEF

15.30

Poster prizes for best poster in each section

16.00

Closing of Meeting

Professor Paavo Honkakoski, UEF

Posters

A LINK BETWEEN SEX HORMONES, OBESITY AND GUT MICROBIOTA

Gabriela Martínez-Chacón^{1,2}

Eveliina Munukka²

Himanshu Kumar¹

Sami Pietilä³

Raine Toivonen²

Seppo Salminen¹

Arno Hänninen²

Leena Strauss^{2,4}

Niina Saarinen^{2,4}

Sari Mäkelä^{1,2,4}

¹Functional Foods Forum, Institute of Biomedicine, University of Turku

²Bioinformatics Unit, Turku Centre for Biotechnology

³University of Turku and Åbo Akademi

⁴University of Turku, Center for Disease Modeling

Sex steroids are involved in the development of obesity and metabolic disorders. The interrelationship between sex steroid balance and metabolism is complex, and the underlying mechanisms are still unclear. The impact of gut microbiota in development of obesity, inflammation and metabolic dysregulation has been suggested in humans and demonstrated in mouse models. Less is known about the interactions between sex steroids and gut microbiota. Based on available evidence, it is, however, pertinent to ask if sex steroids participate in the regulation of the composition or function of gut microbiota, or if gut microbes regulate sex steroid balance. The aim of the present study was to define the interplay between sex steroid balance and gut microbiota, in the context of obesity and metabolic dysregulation. First, we showed that non-obese human aromatase expressing (AROM+) male mice, with increased circulating estradiol to testosterone ratio and impaired liver lipid metabolism, have a female-type intestinal microbiota and higher ratio of Firmicutes to Bacteroidetes. Treatment with aromatase inhibitor restored estradiol/testosterone levels, followed by a slight improvement in their microbiota ecology. Second, in a mouse model reporting the expression of human aromatase (CYP19A1) gene (hARO-

Luc mouse), ovariectomy-induced obesity, accompanied with elevated Firmicutes to Bacteroidetes ratio, low-grade inflammation in gut and increased aromatase reporter gene expression in the adipose tissue. In conclusion, by applying two gene-modified mouse models, we showed that changes in sex steroid balance are linked to altered gut microbiota composition, and on the other hand, sex steroid related obesity is linked to increased expression of human aromatase gene reporter. Further experiments, such as fecal transplantation from mice with altered sex steroid balance to WT mice, are needed to confirm the causality between sex steroids, gut microbiota and metabolic disorders.

THE EFFECTS OF NPY OVEREXPRESSION ON MOUSE MODEL OF HEART FAILURE

Minttu Mattila^{1,2}

Eriika Savontaus²

Mikko Savontaus³

¹Drug Research Doctoral Programme, University of Turku, Finland

²Pharmacology, Drug Development and Therapeutics, University of Turku, Finland

³Heart Center, Turku University Hospital, Finland

Background: As heart failure still lacks a comprehensive treatment, we hypothesized that studying the effect of neuropeptide Y (NPY), a transmitter of the sympathetic nervous system, on the failing heart would be of interest. Previous studies have demonstrated the pivotal role of sympathetic nervous system in the pathogenesis of heart failure. In our laboratory, a transgenic mouse model overexpressing NPY in noradrenergic neurons in central and sympathetic nervous systems (NPY-OE) has been developed. Doxorubicin (DOX) is one of the most effective anticancer drugs ever developed but its use is seriously restrained by the induction of dose-dependent cardiomyopathy leading to heart failure.

Methods: Heart failure was induced by administering doxorubicin (DOX) or PBS as control as a single intraperitoneal injection at a dose of 20

mg/kg to NPY-OE or wild-type (WT) control mice (n=33). The mice were weighed weekly. At week 0 and 6, the body composition was measured by quantitative nuclear magnetic resonance scanning and the function of the heart was recorded by echocardiography. The mice were sacrificed at week 6 and the serum and the hearts were collected for analysis. The paraffin sections of the heart were produced and the mRNA expression of cardiac genes of interest was analysed with quantitative RT-PCR.

Results: DOX treatment lowers the weight gain of the mice affecting NPY-OE mice more than wild type mice. In the DOX treated animals sarcoplasmic reticulum Ca²⁺ ATPase (SERCA2a) levels were significantly lower compared to the saline treated animals indicating that the doxorubicin treatment lowers SERCA2a mRNA expression level in the mouse heart. Atrial natriuretic peptide mRNA levels were significantly higher in the DOX treated animals compared to the saline treated animals. We also interestingly found the neuropeptide Y mRNA level in the heart to be over ten times higher in transgenic NPY-OE mice than in WT mice (p<0.0001) without an effect of DOX. At the present time, the histology and morphology analyses and the echocardiography data analysis are still in progress.

Conclusions: Doxorubicin treatment resulted in reduced SERCA2a levels and higher atrial natriuretic peptide levels consistent with observations in human heart failure. Doxorubicin-induced heart failure also hampered weight gain affecting more severely NPY-OE mice. We are waiting to get histology and echocardiography results to study any morphological or functional differences between DOX treated NPY-OE and WT mice heart.

HYDROXYSTEROID (17BETA) DEHYDROGENASE 13 KNOCKOUT MICE PRESENT WITH INFLAMMATION ASSOCIATED LIVER STEATOSIS

Hanna Heikelä^{1,*}

Marion Adam^{1,*}

Dorothea Portius²

Jenni Mäki-Jouppila¹

Arfa Mehmood^{1,3}

Prem Adhikari¹

Irene Esposito⁴

Laura Elo^{3,5}

Fu-Ping Zhang¹

Suvi T. Ruohonen¹

Leena Strauss¹

Michelangelo Foti²

Matti Poutanen¹

¹Department of Physiology, Institute of Biomedicine and Turku Center for Disease Modeling University of Turku, Finland

²Department of Cell Physiology and Metabolism, Faculty of Medicine, Centre Médical Universitaire (CMU), Geneva, Switzerland

³Turku Centre for Biotechnology, University of Turku and Åbo Akademi University, Turku, Finland

⁴Institute of Pathology, Technische Universität München, Munich, Germany

⁵Department of Mathematics and Statistics, University of Turku, Turku Finland

*Equal contribution

Hydroxysteroid (17beta) dehydrogenases (HSD17Bs) form a group of enzymes that are characterized by their sequence similarity at the active site, and their ability to catalyze the conversion between the weak 17keto- and the highly active 17beta-hydroxysteroids. To study the physiological role of HSD17B13, a lipid droplet associated protein, we characterized the phenotype of knockout (KO) mice deficient in HSD17B13 (HSD17B13KO). The data revealed normal serum sex steroid concentrations and proper reproductive performance in both male and female HSD17B13KO mice, indicating a minor role for

HSD17B13 in sex steroid metabolism and reproduction. In line with the strong expression in the liver, histological analysis showed the presence of liver steatosis in HSD17B13KO mice that was associated with inflammation. The phenotype was more pronounced in males than females. The severity of the phenotype progressed with aging, and accumulation of triglycerides was observed in the livers of the male mice from 3 months onwards. Furthermore, metabolic profiling showed a tendency for increased hepatic phospholipid content in the 9 month-old HSD17B13KO males with two acylcarnitines (C16:0 and C18:1) showing the most profound increase (~2-fold). Additionally, presence of microgranulomas (Kupffer cell aggregations) with increased portal inflammation and ductular proliferation was observed in liver specimens from HSD17B13KO mice. This was associated with increased expression of immune response genes in the HSD17B13KO male liver. In conclusion, the lack of HSD17B13 impairs hepatic lipid metabolism in mice, resulting in liver steatosis and inflammation. The data, thus, indicate that HSD17B13 is involved in fatty acid metabolism in the liver, while the enzyme does not play a major role in the regulation of reproductive functions.

EFFECTS OF PERIPHERALLY ACTING NEUROPEPTIDE Y RECEPTOR ANTAGONISTS BIBO3304 AND BIIE0246 ON OBESITY

Liisa Ailanen^{1,2}

Laura H. Vähätalo¹

Henriikka Salomäki¹

Satu Mäkelä¹

Wendy Orpana¹

Suvi T. Ruohonen¹

Eriika Savontaus^{1,3}

¹University of Turku, Institute of Biomedicine, Department of Pharmacology, Drug Development and Therapeutics and Turku Center for Disease Modeling, Turku, Finland

²University of Turku, Drug Research Doctoral Program, Turku, Finland

³Turku University Hospital, Unit of Clinical Pharmacology, Turku, Finland

Introduction: Neuropeptide Y (NPY) plays an important role in the regulation of energy home-

ostasis in central and sympathetic nervous system, and mice overexpressing NPY in noradrenergic neurons (OE-NPY) display obesity with related metabolic disorders. Peripheral NPY Y₁- and Y₂-receptors (YRs) are known to mediate obesogenic effects via inhibition of lipolysis or via stimulation of adipogenesis, respectively, but their importance in regulating energy homeostasis is not known. The aim of this study was to elucidate peripheral blockade of YRs on the metabolic phenotype of OE-NPY and WT mice with healthy and high caloric diet.

Methods: Specific Y₁R-antagonist BIBO3304, Y₂R-antagonist BIIE0246, or vehicle was administered (i.p.) for 2 or 4½ weeks on chow- or western-diet-fed OE-NPY and WT mice (n=6-11/group). Weight gain, food intake and body composition were monitored throughout the experiment.

Results: Y₁R-antagonism had no long-lasting effects on body composition on either diet. However, Y₁R-antagonism decreased serum and liver triglyceride in chow-fed WT mice, but increased serum cholesterol levels in both genotypes on western diet. Y₂R-antagonist on chow-diet increased body weight gain and predisposed WT mice to metabolic disturbances i.e. increased serum insulin and cholesterol levels and hepatic triglycerides. Similarly on western-diet Y₂R-antagonist had obesogenic effect in WT mice, which is suggested to result from blockage of presynaptic Y₂Rs increasing the NPY levels. Oppositely, Y₂R-antagonist treated OE-NPY mice on western diet had reduced body fat mass gain and hepatic triglycerides, and decreased serum cholesterol levels relative to fat mass.

Conclusion: On a healthy diet or with normal NPY levels, peripheral Y₁R- or Y₂R-antagonism seems not to have advantages in the control of body weight and adiposity. However, during energy surplus combined with elevated NPY levels, e.g. stress combined with an unhealthy diet, Y₂R-antagonism has beneficial effect on fat deposition.

EVALUATION OF AORTIC VALVE MORPHOLOGY IN HYPERCHOLESTEROLEMIC MICE BY MAGNETIC RESONANCE IMAGING (MRI)

Jonna Weisell¹

Anna-Kaisa Ruotsalainen²

Hanne Laakso²

Juha Näpänkangas³

Anna-Liisa Levonen²

Timo Liimatainen^{2,4}

Jaana Rysä¹

¹School of Pharmacy, University of Eastern Finland, Kuopio, Finland

²A.I. Virtanen Institute for Molecular Sciences, University of Eastern Finland, Kuopio, Finland

³Department of Pathology, University of Oulu, Oulu University Hospital, Oulu, Finland

⁴Imaging Center, Kuopio University Hospital, Kuopio, Finland

Aims: In aortic stenosis (AS), valvular calcification makes valves thicker and stiffen causing impairment of the valve function, leading to obstruction of the blood flow and eventually to left ventricular hypertrophy. The non-invasive cardiac magnetic resonance imaging (MRI) has been found potential in imaging AS but there is a room for improvement in the image resolution to be able to accurately detect composition and function of the valves. We used high-resolution cine-imaging to study changes in morphology of the aortic valves in a mouse model of AS.

Methods: LDLR^{-/-}/ApoB100/100 mice were fed a high-fat diet (HFD) (42 % kcal from fat) or a normal chow diet (control) for 5 months. The mice heart were imaged at MRI and echocardiography, and the ejection fraction (EF), end diastolic and end systolic volumes were determined. MRI imaging was correlated with the histological staining: Masson trichrome for fibrosis, Alizarin Red for the calcification and Mac-3 for the macrophages.

Results: From the MRI cine-images, the aortic wall and the atherosclerotic plaque were clearly separated and MRI demonstrated significant decline in EF (13%, $p < 0.05$) in HFD mice compared to controls. Similarly, echocardiography revealed a marked reduction in EF (33%, $p < 0.01$) in HFD mice compared to controls. The end systolic images of the aortic valves showed atheroma plaque and

valve dysfunction. MRI and histological analysis revealed more severe atheromatous changes in the HFD mice compared to control (19%, $p < 0.05$; 32%, $p < 0.01$, respectively). In the histological analysis, area of aortic sinus was dilated 71% ($p < 0.001$) and enlargement of area of aortic cusps (91%, $p < 0.001$) was seen in HFD mice compared to controls.

Conclusions: In hyperlipidemic mice valvular atherosclerotic plaque and stenosis as well as reduction of EF was noted. Dysfunction and morphological changes of the aortic valves were clearly visualized by the cine MRI providing a non-invasive tool to monitor aortic valve morphology in mice.

STUDYING NEUROPROTECTIVE MECHANISMS IN THE SOD1-G93A MOUSE MODEL OF AMYOTROPHIC LATERAL SCLEROSIS

Sara Figuerola Santamónica¹

Francesca De Lorenzo¹

Michael Sendtner²

Mart Saarma¹

Merja Voutilainen¹

¹Institute of Biotechnology, University of Helsinki, Finland

²Institute for Clinical Neurobiology, University of Würzburg, Germany

Introduction: Amyotrophic lateral sclerosis (ALS) is a fatal neurodegenerative disease characterized by the progressive degeneration of motor neurons leading to muscle atrophy, paralysis and eventually death of the patients within 1-3 years from onset of symptoms. To date, there is no treatment for ALS. The pathogenic processes underlying the disease are multifactorial and not fully understood yet. The first aim of the study was to characterize the SOD1-G93A mouse model of ALS and evaluate the model for drug testing. The second aim was to study the effects of a novel molecule (Molecule X) in this animal model.

Materials and Methods: Towards the first aim, the difference in the progression of the disease between SOD1-G93A mice and wild type littermates was evaluated by body weight changes, signs of disease and behavioral tests such as rotarod and grip strength. At the disease endpoint (when animals hind limbs were paralyzed), mice were sacrificed

and samples from spinal cord, gastrocnemius muscle and motor cortex were collected. Towards the second aim, the novel drug was chronically infused to mice ventricle for 28 days. The methods used to follow the progression of the disease and the samples collected were the same as in the first aim.

Results: SOD1 mice showed continuously loss of body weight (up to 20% of baseline weight) and gradually appearance of signs of the disease compared to wild type littermates. In addition, motor performance and grip strength was reduced in SOD1 mice. The novel drug significantly increases motor coordination and maintains body weight of the SOD1 animals. The drug also increase mice lifespan by an average of 9 days.

Conclusions: The SOD1-G93A mouse model mimics ALS features and it is a good in vivo approach for drug testing. The novel molecule studied significantly improves motor coordination and maintains body weight in this mouse model of ALS. Although the mechanism and signaling pathway of Molecule X still remain to be studied further, this molecule holds a great promise for the treatment of ALS.

NEURORESTORATIVE EFFECT OF A GDNF FAMILY LIGAND MIMETIC IN UNILATERAL 6-HYDROXYDOPAMINE MODEL OF PARKINSON'S DISEASE IN RATS

Juho-Matti Renko¹

Yulia Sidorova²

Arun Mahato²

Tanel Visnapuu¹

Merja Voutilainen²

Mati Karelson³

Raimo K. Tuominen¹

Mart Saarma²

¹Division of Pharmacology and Pharmacotherapy, Faculty of Pharmacy, University of Helsinki, Finland

²Institute of Biotechnology, University of Helsinki, Finland

³Institute of Chemistry, University of Tartu & GeneCode Ltd., Estonia

Background: Glial cell line-derived neurotrophic factor (GDNF) has shown neurorestorative effects on dopaminergic neurons in various animal models of Parkinson's disease (PD). However, GDNF protein cannot pass blood-brain barrier which makes its systemic delivery problematic. To overcome this problem, GeneCode Ltd. has developed small molecule compounds that activate GDNF Family Ligand (GFL) receptors (GFR α -RET) and their downstream signaling pathways. The objective of this study was to test the neurorestorative effect of one GFL mimetic (GFLM) in unilateral 6-hydroxydopamine (6-OHDA) model of PD.

Methods: 6-OHDA (3 μ g/1.5 μ l) was injected into three sites in the right striatum of male Wistar rats (n=9-11/group). Two weeks later osmotic mini-pumps were implanted s.c. and connected to cannulas with tips placed into the right striatum. GFLM (0.1 μ g/24h, 0.3 μ g/24h or 1 μ g/24h), GDNF (3 μ g/24h) or vehicle was infused at the rate of 0.5 μ l/h for 14 days, after which the cannulas and mini-pumps were removed. Amphetamine-induced (2.5mg/kg, i.p.) rotational behavior was tested 2, 4, 6, 8, 10 and 12 weeks post lesion. After the last test rats were perfused and coronal brain sections were made. Optical density of tyrosine hydroxylase (TH) immunostaining was analyzed from the striatum and TH-positive neurons counted from the substantia nigra.

Results: GFLM (0.3µg/24h) and GDNF (3µg/24h) significantly reduced amphetamine-induced rotations at 12 weeks after the 6-OHDA lesion. Analysis of the optical density of TH-immunoreactive fibers in the striatum and the number of TH-positive cells in the substantia nigra are still ongoing.

Conclusions: The results suggest that the GFLM tested here has neurorestorative activity in the 6-OHDA-model of PD. Thus, small molecules that activate GFL receptors may have potential as a new disease modifying therapy for PD.

Acknowledgements: Parkinson's UK, Marie Curie IAPP, TEKES 3iRegeneration and GeneCode Ltd.

STRUCTURAL FEATURES OF LAT₁-UTILIZING PRODRUGS PROVIDING TARGETED BRAIN DELIVERY AND LOW SYSTEMIC EXPOSURE OF DRUGS

Elena Puris

Mikko Gynther

Johanna Huttunen

Aleksanteri Petsalo

Kristiina M. Huttunen

University of Eastern Finland, Faculty of Health Sciences, School of Pharmacy

Introduction: L-type amino acid transporter 1 (LAT₁) - mediated prodrug approach is a promising tool for targeted brain delivery of neuroprotective agents. Nevertheless, there is a lack of knowledge about brain and systemic pharmacokinetics of LAT₁-utilizing prodrugs and its association to structures of the compounds.

Objectives: The purpose of the study was to investigate the structure-pharmacokinetics relationship of five newly synthesized LAT₁-utilizing prodrugs of ketoprofen. The analysis was aimed to identify the structural features, which can ensure the effective brain delivery and low systemic exposure of drugs.

Methods: The association between promoiety structures of LAT₁-utilizing prodrugs and following parameters was assessed: LAT₁-mediated uptake in vitro in human retinal pigmented epithelial cells (ARPE-19), brain permeation using in situ mouse brain perfusion technique, pharmacokinetic profile of unbound prodrugs, released ketoprofen and parent drug itself in mouse plasma, brain

and liver after 25 µmol/kg (i.p.).

Results: The prodrugs with aromatic ring in promoiety showed higher ability to compete for LAT₁ with known substrate [¹⁴C]-L-leucine and their uptake was reduced more significantly by selective LAT₁ inhibitor than for prodrugs with aliphatic promoiety. Although all prodrugs crossed the BBB, only meta- and para-substituted phenylalanine prodrugs released ketoprofen in the brain after i.p. injection in mice. Moreover, the liver exposure to released ketoprofen from these two prodrugs was significantly lower than after ketoprofen dosing.

Conclusions: The present study provides important information for successful application of LAT₁-mediated prodrug approach for targeted delivery of neuroprotective agents into the brain with minimization of systemic exposure. Moreover, we have proposed a screening approach to select promising LAT-utilizing prodrug candidates at an early stage of the development.

ALTERATIONS IN RESTING STATE FUNCTIONAL CONNECTIVITIES ARE ASSOCIATED WITH CORTICO-STRIATAL MOTOR NETWORK DISRUPTIONS IN A RAT MODEL OF EARLY-STAGE PARKINSON'S DISEASE

Juuso V. Leikas¹

Jaakko Paasonen²

Aaro J. Jalkanen¹

Francesc Casas Mon¹

Mikko Gynther¹

Tiina Pirttimäki²

Tomi Rantamäki³

Olli Gröhn²

Markus M. Forsberg¹

¹Faculty of Health Sciences, School of Pharmacy (Pharmacology), University of Eastern Finland, Kuopio, Finland

²Biomedical Imaging Unit, A.I. Virtanen Institute for Molecular Sciences, University of Eastern Finland, Kuopio, Finland

³Faculty of Biological and Environmental Sciences, Department of Biosciences, Division of Physiology and Neuroscience, University of Helsinki, Helsinki, Finland

Parkinson's disease (PD) is characterized by progressive degeneration of dopaminergic cells in substan-

tia nigra resulting in dopamine (DA) loss in striatum. Unilaterally 6-hydroxydopamine (6-OHDA)-lesioned rat is a widely used rodent model to mimic the striatal DA loss in preclinical studies. However, the effects of unilateral 6-OHDA lesion on brain functional networks are poorly understood. Here, we investigate alterations in the functional connectivity (FC) of rats with 6-OHDA induced partial striatal DA depletion resembling early-stage PD by exploiting resting-state functional magnetic resonance imaging. The analysis revealed significantly increased general cortico-subcortical connectivity and a trend towards increased subcortical and decreased intracortical connectivities after partial 6-OHDA lesion compared to sham-lesioned rats. Greater FC changes were observed in the lesioned brain hemisphere. Region-region analysis revealed significant 6-OHDA induced FC changes in areas involved in basal ganglia motor circuit. 6-OHDA induced a 51% decrease in striatal DA levels indicating successful partial lesion. Furthermore, 6-OHDA induced a significant increase in striatal GABA, while glutamate levels remained unaltered. GABA levels also negatively correlated with FC between ipsilateral ventrolateral striatum and contralateral motor cortex. These results accord with clinical studies showing increased striatal GABA tone, hyperconnectivity of the cortico-basal ganglia-thalamocortical networks and decreased FC in cortical areas in PD patients. This study provides evidence that 6-OHDA-induced FC changes are associated with altered striatal GABA signaling resulting from dysfunction of dopaminergic control in striatum. Therefore, rsfMRI is a potential pre-clinical tool for assessing novel disease-modifying treatment concepts for PD.

ROLE OF CIP2A IN BASAL BREAST CANCER

Srikar Nagelli^{1,2,3}

Anni Laine⁴

Jukka Westermarck^{1,2}

¹Turku Centre for Biotechnology, University of Turku and Åbo Akademi University

²Department of Pathology, Faculty of Medicine, University of Turku

³Drug Research Doctoral Programme (DRDP), University of Turku

⁴Netherlands Cancer Institute, Amsterdam, The Netherlands

It is well known that the phosphorylation activity of kinases needs to be counterbalanced by the phosphatases to maintain cellular homeostasis. However, the functional relevance of protein phosphatases in cancer is currently not very well understood. Here we have used *in vitro* approaches, and functional mouse genetics to characterize functional impact of Protein Phosphatase 2A (PP2A) in breast cancer. Basal-like breast cancer is clinically the most challenging subtype and currently, there are no targeted therapies. We previously identified PP2A inhibitor protein CIP2A (Junttila et al., *Cell*, 130, 2007) as a clinically relevant breast cancer oncoprotein, and also its expression correlated with aggressive breast cancer (Come et al., *CCR*, 2009). Importantly, we now show that CIP2A is essential for initiation of the basal-type breast cancer and that CIP2A overexpression very significantly correlates with poor patient prognosis in TNBC patient population. We have also identified a number of TNBC cell lines that are highly dependent on CIP2A overexpression for their colony growth, and for PARP inhibitor resistance. In summary, the data indicate that inhibition of PP2A phosphatase activity by CIP2A is a novel oncogenic driver mechanism in clinically challenging human breast cancer subtypes.

SYNTHESIS AND IN VITRO EVALUATION OF TRPA1 ION CHANNEL BLOCKING BETULIN DERIVATIVES

Ilari Mäki-Opas¹

Tiina J. Ahonen²

Raisa Haavikko²

Sami Alakurtti³

Mari Hämäläinen¹

Lauri J. Moilanen¹

Eeva Moilanen¹

Jari Yli-Kauhaluoma²

Vânia M. Moreira^{2,4}

¹The Immunopharmacology Research Group, Faculty of Medicine and Life Sciences, University of Tampere and Tampere University Hospital, Tampere, Finland

²Division of Pharmaceutical Chemistry and Technology, Faculty of Pharmacy, University of Helsinki, Finland

³VTT Technical Research Centre of Finland Ltd, Espoo, Finland

⁴Strathclyde Institute of Pharmacy and Biomedical Sciences, University of Strathclyde, Glasgow, UK

Transient receptor potential ankyrin 1 (TRPA1) is a cation channel expressed predominantly in non-myelinated nerve endings. TRPA1 is as a physiological chemosensor for potentially harmful exogenous chemicals and its activation causes immediate and mostly painful sensations (Zygmunt and Högestätt 2014). The blockade of TRPA1 channel has been shown to alleviate pain and inflammation in animal models (Moilanen *ym.* 2012, Moilanen *ym.* 2015a and b), which makes it a potential drug target. Although there are several known TRPA1 activating compounds, such as the natural product cinnamaldehyde or the endogenous inflammatory mediator bradykinin, only few blockers have been reported. Betulin is a widely studied triterpenoid, which can be found in the bark of the birches (*Betula sp. L.*). Betulin and its derivatives have been reported to have anti-inflammatory properties (Laavola *ym.* 2016). In continuation to our research and with triterpenoids (Haavikko *ym.* 2014, Parkkari *ym.* 2014, Laavola *ym.* 2016) and development of novel compounds for studying chronic pain conditions (GLORIA Project 2017), we have synthesized betulin

derivatives and investigated their effects in vitro on TRPA1 on Fluo 3-AM intracellular Ca²⁺ measurements. We have identified compounds which have shown a statistically significant effect in blocking TRPA1 at 10 μM concentration. These compounds could be useful tools in determination of the physiological role of TRPA1 blockage.

References

GLORIA Project website: <http://gloria.helsinki.fi/>

Haavikko R, Nasereddin A, Sacerdoti-Sierra N, Kopelyanskiy D, Alakurtti S, Tikka M, Jaffe CL, Yli-Kauhaluoma J: Heterocycle-Fused Lupane Triterpenoids Inhibit Leishmania Donovanii Amastigotes. *Med Chem Commun* 5(4): 445-451, 2014

Laavola M, Haavikko R, Hämäläinen M, Leppänen T, Nieminen R, Alakurtti S, Moreira VM, Yli-Kauhaluoma J, Moilanen E: Betulin Derivatives Effectively Suppress Inflammation in vitro and in vivo. *J Nat Prod* 79 (2): 274-280, 2016

Moilanen LJ, Hämäläinen M, Lehtimäki L, Nieminen RM, Moilanen E: Urate Crystal Induced Inflammation and Joint Pain Are Reduced in Transient Receptor Potential Ankyrin 1 Deficient Mice Potential Role for Transient Receptor Potential Ankyrin 1 in Gout. *PLoS One* 10 (2): e0117770, 2015

Moilanen LJ, Hämäläinen M, Nummenmaa E, Ilmarinen P, Vuolteenaho K, Nieminen RM, Lehtimäki L, Moilanen E: Monosodium Iodoacetate-Induced Inflammation and Joint Pain Are Reduced in TRPA1 Deficient Mice Potential Role of TRPA1 in Osteoarthritis. *Osteoarthr Cartil* 23 (11): 2017-2026, 2015

Moilanen LJ, Laavola M, Kukkonen M, Korhonen R, Leppänen T, Högestätt ED, Zygmunt PM, Nieminen RM, Moilanen E: TRPA1 Contributes to the Acute Inflammatory Response and Mediates Carrageenan-Induced Paw Edema in the Mouse. *Sci Rep* 2:380, 2012

Parkkari T, Haavikko R, Laitinen T, Navia-Paldanius D, Ryttilahti R, Vaara M, Lehtonen M, Alakurtti S, Yli-Kauhaluoma J, Nevalainen T, Savinainen JR, Laitinen JT: Discovery of Triterpenoids as Reversible Inhibitors of ¹/²-Hydrolase Domain Containing 12 (ABHD12). *PLoS One* 9 (5): e98286, 2014

Zygmunt PM, Högestätt ED: TRPA1. In *Mammalian Transient Receptor Potential (TRP) Cation Channels: Volume I*. Nilius B, Flockerzi V (Eds). Springer Berlin Heidelberg, 2014. pp. 583-630.

EFFLUX TRANSPORT OF ENDOGENOUS ESTROGEN GLUCURONIDES

Erkka Järvinen¹

Heidi Kidron²

Moshe Finel¹

¹Division of Pharmaceutical Chemistry and Technology

²Division of Pharmaceutical Biosciences, Faculty of Pharmacy, University of Helsinki, Finland

Estrone, estradiol and estriol are important endogenous estrogens that are rapidly converted into their glucuronic acid conjugates by human intestinal and hepatic UDP-glucuronosyltransferases. The resulting glucuronides, estrone-3-glucuronide (E1-G), estradiol-3- and 17-glucuronides (E2-3G and E2-17G), as well as estriol-3- and 16-glucuronides (E3-3G and E3-16G), are found in human plasma and urine. Efflux of these glucuronides by important human transporters have not been characterized comprehensively earlier, excluding the widely studied E2-17G. We have now tested the transport of E1-G, E2-3G, E3-3G and E3-16G by human recombinant efflux transporters MRP2, MRP3, MRP4 and BCRP expressed in Sf9 insect cells, using the vesicular transport assay. The results revealed very high activity of BCRP in E1-G and E2-3G transport, nearly 10-fold higher than the activity of other transporters. MRP3 transported all the tested estrogen glucuronides at quite similar rates and with Km values below 20 µM, but with low Vmax values. However, in the case of E3-3G, the most hydrophilic glucuronide studied here, MRP3 was the most active tested transporter at low concentrations and its Vmax value in this case was about two-fold higher than towards the other tested glucuronides. MRP4 exhibited unique selectivity by transporting at high rates only E3-16G. The current results, in combination with previously reported human in vivo disposition findings, allow us to better understand how these transporters affect the disposition of glucuronide metabolites of both important endogenous compounds and drugs.

TRANSFER AND METABOLISM OF DIURON IN HUMAN PLACENTA

Ali Mohammed

Vesa Karttunen

Pasi Huuskonen

Marjo Huovinen

Seppo Auriola

Kirsi Vähäkangas

Faculty of Health Sciences, School of Pharmacy/ Toxicology, University of Eastern Finland, Kuopio, Finland

Diuron is a broad-spectrum phenylurea derived herbicide which is commonly used across the globe. It is highly stable and persistent in aquatic environment, and thus commonly found in water, including drinking water. Thus, also pregnant women are exposed to diuron. Diuron is toxic to reproductive systems of animals and carcinogenic in rat urothelium, and recently found to be genotoxic in human cells. Diuron is metabolized in vivo in animals and humans yielding toxic metabolites, 3-(3,4-dichlorophenyl)-1-methyl urea (DCPMU) and 3-(3, 4-dichlorophenyl)urea (DCPU). Information on diuron toxicokinetics and related toxicity in human placenta is scarce. Human placenta has to be used in toxicity testing because placenta varies between species more than any other organ. Transfer and metabolism of diuron in perfused human placenta, and metabolism of diuron in vitro in human placental microsomes and human trophoblastic cancer cells (BeWo) were studied. According to the preliminary results, diuron crossed human placenta readily and equilibrated between maternal and fetal sides within 2 hours of perfusion. Intriguingly, diuron was metabolized into DCPMU in human placental perfusion and in vitro in human placental microsomes and BeWo cells. Diuron metabolism was inhibited upon addition of ± naphthoflavone, a CYP1A1 inhibitor. In conclusion, it is evident that diuron crosses human placenta and is metabolized in placenta into a toxic metabolite. This gives an idea that fetal exposure to diuron is highly likely to take place if the mother is exposed to diuron prenatally and may thus result in fetotoxicity.

CONJUNCTIVAL DRUG PERMEABILITY, EMPLOYING QSPR AND PK MODELS

Eva Ramsay^{1,2}

Eva M. del Amo¹

Théo Picardat¹

Unni Tengvall¹

Marjo Tuomainen¹

Seppo Auriola¹

Elisa Toropainen¹

Marika Ruponen¹

Arto Urtti^{1,2}

¹School of Pharmacy, University of Eastern Finland, Kuopio, Finland

²Faculty of Pharmacy, University of Helsinki, Helsinki, Finland

Introduction: Topical administration on the ocular surface is followed by large fraction of the dose to be absorbed across the conjunctiva to the systemic blood circulation, due to larger surface area and leakier membrane of the conjunctiva than that of cornea. However, systematic studies of conjunctiva as permeation barrier for small molecular drugs and effect of that on ocular pharmacokinetics (PK) are still lacking.

Objectives: The aim of this study was to identify the molecular descriptors defining conjunctival permeability (Papp, CJ), by employing cassette dosing and QSPR (quantitative structure-property relationship) model. Further, evaluate the impact of Papp, CJ on ocular PK.

Methods: Permeability studies were performed *ex vivo* with porcine conjunctiva and a cassette dose composed of 32 drug molecules. The permeability was analyzed by a LC/MS method and the results were combined with molecular descriptors of the drugs for the generation of the multivariate QSPR model. Conjunctival and corneal permeability together with tear flow rate were used to calculate trans-corneal and systemic bioavailability.

Results: The results showed a 17-fold range in Papp, CJ values. A QSPR model with a Q₂ value of 0.624 predicted the external test set with a mean fold error of 1.34. The polar surface area, hydrogen bond donor and halogen ratio were the most relevant descriptors for Papp, CJ. Systemic bioavailability across the conjunctiva was in the range of 40–90%, as for trans-corneal it was of 0.2–2.4%.

Conclusions: An increase in corneal drug per-

meability is expected to improve trans-corneal bioavailability. However, less than one would expect due to high loss via conjunctiva, which sets limits to ocular bioavailability.

DISTORTION OF MYC-AURORA KINASE A INTERACTION BY SPECIFIC KINASE INHIBITORS

Tatu Pantsar¹

Antti Poso^{1,2}

Daniel Dauch²

Ramona Rudalska²

Stefan Laufer³

Lars Zender²

¹School of Pharmacy, Faculty of Health Sciences, University of Eastern Finland, PO Box 1627, FI-70211 Kuopio, Finland

²Division of Translational Gastrointestinal Oncology, Department of Internal Medicine VIII, University of Tuebingen, 72076, Tuebingen, Germany

³Department of Pharmaceutical Chemistry, University of Tuebingen, 72076 Tuebingen, Germany

One of the most famous oncogenes, MYC, is upregulated in various human tumors. Obviously, MYC is as an exceptionally attractive drug target. However, due to structural characteristics of MYC (lack of a proper binding pocket for a small-molecule), it is considered as undruggable. Our recent findings (Dauch et al. 2016) revealed that MYC may be targeted indirectly via Aurora kinase A (AurKA) in particular hepatocellular carcinomas (HCCs). A direct *in vivo* shRNA screen revealed that MYC is shielded from proteasomal degradation in p53 deficient HCC by AurKA; thus, this type of tumors become addicted to the shielding MYC-AurKA interaction. Moreover, we noticed that specific AurKA inhibitors, which cause a conformational change in AurKA, prevents the binding of MYC, leading to MYC degradation. In addition, we noticed that the phosphorylation status of MYC is crucial for its ability to bind AurKA. To study this phenomenon in more detail, as MYC-AurKA structural data is unavailable, we utilized various molecular modeling tools to generate a putative model for MYC-AurKA interaction. Our main interest lie in understanding, especially, how the conformational change resulted

by specific inhibitors, has an effect on MYC-Aurka binding. In the contribution, we will discuss our key results and their implications as well as how our model suggest new potential therapy approaches against MYC in TP53 altered liver cancer.

Reference

Dauch D et al: A MYC aurora kinase A protein complex represents an actionable drug target in p53-altered liver cancer. *Nat Med* 22: 744-753, 2016

FEEDING AND MIXING IN CONTINUOUS TABLET MANUFACTURING: MEASURING SYSTEM RESPONSES AGAINST PARAMETER AND MATERIAL CHANGES WITH THE IMPLEMENTATION OF NIR SPHERE

Anssi-Pekka Karttunen¹

Andre Canas²

Rute Dias²

Anne Troelsen³

Joao Lopes²

Jarkko Ketolainen¹

Ossi Korhonen¹

¹School of Pharmacy, Faculty of Health Sciences, University of Eastern Finland, Kuopio, Finland

²Research Institute for Medicines (iMed.Ulisboa), Faculdade de Farmácia, Universidade de Lisboa, Lisbon, Portugal

³Department of Physics, Chemistry, Pharmacy, University of Southern Denmark, Odense, Denmark

In the current study the effects of total feed rate, mixer rpm, mixer inlet feeding port and excipient density on system responses were studied. The formulations were binary mixtures of Paracetamol and either Microcrystalline Cellulose (MCC) or Dibasic Calcium Phosphate (DCP). System responses studied were mass hold of the mixer, bulk residence time of mixture, residence time distribution (RTD) of API and homogeneity of mixture at the mixer outlet. The system consisted of two loss-in-weight feeders (K-Tron) and a continuous mixer (Modulomix, Hosokawa Micron). The concentration of API at the outlet of the mixer was measured by NIR sphere where the material flows through a glass tube and six fibers in different angles collect

the NIR spectra. In theory, this provides a much more accurate measurement than a single NIR probe in one position. The different total feed rates studied were 5, 10 and 15 kg/h and different mixer speeds were 300, 900 and 1500 rpm. The difference in bulk density of the two excipients was roughly 2:1 (DCP:MCC) and inlet ports of mixer were situated at the beginning and the end of mixing zone. All the experimental runs consisted of feeding components initially with ratio of 50/50 %w/w and then introducing step changes for measuring RTD. Based on the results the different parameters studied had a clear effect on mass hold of the mixer, bulk residence times and mean residence time for API. Homogeneity of the mixture remained at good level after reaching the steady state both at the beginning of the run and after step changes. NIR sphere results were very promising and accurate in determining the API concentration and this technique should be useful in-line measurement for process control, especially in mixing. However, with low total feed rate, it was sometimes hard to produce acceptable NIR data.

SYNTHESIS OF REGENERATIVE COMPOUND DERIVATIVES FOR TARGET IDENTIFICATION STUDIES

Mikael Jumppanen¹

Matej Zore¹

Sini Kinnunen²

Virpi Talman²

Mika Välimäki²

Heikki Ruskoaho²

Jari Yli-Kauhaluoma¹

Gustav Boije af Gennäs¹

¹Division of Pharmaceutical Chemistry and Technology, Faculty of Pharmacy, University of Helsinki, Finland

²Division of Pharmacology and Pharmacotherapy, Faculty of Pharmacy, University of Helsinki, Finland

Introduction: Ischemic heart disease, stroke, traumatic brain injury and degenerative brain diseases, such as Parkinson's disease, all lead to irreversible cell loss and are today major global causes of death and characterized by significant unmet medical needs. Affinity chromatography is a common method for protein target identification. The

method requires that the compound of interest is covalently bound to a solid phase. In this study, the lead compound was covalently bound to a solid phase at different attachment points by using various synthetic routes. Also inactive control compounds were synthesized.

Materials and Methods: Affinity chromatography is used for target identification studies of active compounds. Affinity chromatography requires that the compound has to be covalently attached to a solid phase and exposed to a protein extract. Covalent binding of the compound to the solid phase is confirmed with infrared spectroscopy (IR).

Results: Active and inactive compounds, bound covalently to a solid phase, have been successfully synthesized. The compounds are used in affinity chromatography studies to identify protein targets affecting heart regeneration.

Conclusions: Vision of the 3iRegeneration project is to create new cardiac and neural cells locally in the heart and brain in order to treat associated diseases. In order to achieve this goal mechanism-of-action studies are hugely important.

PROTEIN MODELLING AND VIRTUAL SCREENING TO IDENTIFY NEW INHIBITORS TARGETING THE LSRK KINASE TO INTERFERE IN QUORUM SENSING

Prasanthi Medarametla¹

Viviana Gatta²

Tuomo Laitinen¹

Päivi Tammela²

Antti Poso¹

¹Department of Pharmaceutical and Medicinal Chemistry, School of Pharmacy, University of Eastern Finland, Kuopio, Finland

²Division of Pharmaceutical Biosciences, Faculty of Pharmacy, University of Helsinki, Finland

Quorum Sensing (QS), the communication between bacteria, controls functions such as sporulation, competence, virulence factor secretion and biofilm formation through signalling molecules known as autoinducers (AI). In enteric bacteria like *Salmonella*, LsrK kinase catalyzes the phosphorylation of type II signalling molecules (AI-2), which further activates AI-2-related genes involved in QS. Designing inhibitors against this target may unravel

new aspects in anti bacterial drug discovery with a mechanism of action different from current antibiotics. Herein, for the first time, we have modelled the three-dimensional structure of LsrK kinase protein of *Salmonella typhimurium* using homology modelling. Structure based virtual screening was carried out using LsrK kinase models against the FIMM database to identify new inhibitors. 105 compounds were selected for the experimental evaluation and confirmatory assays have been carried out on primary hits. This initial screening campaign gave two hits that are specific to LsrK. Further, these hits can be explored to design more potent inhibitors against LsrK, targeting new QS pathways for the treatment of bacterial infections.

VALIDATION OF 3D OCULAR PHARMACOKINETIC MODEL OF THE RABBIT EYE AFTER INTRAVITREAL AND INTRACAMERAL INJECTIONS

Marko Lamminsalo¹

Veli-Pekka Ranta¹

Ella Taskinen¹

Astrid Subrizi²

Lasse Murtomäki³

Timo Karvinen⁴

Arto Urtti^{1,5}

¹School of Pharmacy, University of Eastern Finland

²Interdisciplinary Nanoscience Center, Aarhus University

³Department of Chemistry and Materials Science, Aalto University

⁴COMSOL Oy, Finland

⁵Centre for Drug Research, Division of Pharmaceutical Biosciences, University of Helsinki

Introduction: In order to speed up the drug development process by making use of the computational power available, computational fluid dynamic simulations are used to evaluate the behavior of the drug in the eye.

Objectives: To validate the anatomically and physiologically accurate 3D rabbit ocular model for the prediction local drug concentrations after intravitreal and intracameral injections of macromolecules.

Methods: Based on the axisymmetric anatom-

ically accurate geometric model constructed by Missel (2012), the elimination of intravitreal and intracameral bolus injections of macromolecules in the rabbit eye was simulated using COMSOL Multiphysics software. In addition to convection and diffusion, the effects of heat transfer and gravity were also included in the model. By adjusting the permeability of the trabecular meshwork, the intraocular pressure (IOP) varied from 10.1 to 20 Torr. Literature data were used to validate the model.

Results: Inclusion of heat transfer and gravity dramatically increased the mixing in the anterior chamber. The clearance from the anterior chamber depended mostly on the aqueous humor flow rate whereas the clearance from the vitreous was mostly governed by diffusion. High IOP dramatically slowed the clearance from the vitreous. Results were in line with the literature.

Conclusions: The behavior of the drug differs greatly in the anterior and the posterior segment of the eye. In addition to the anatomy, physiological factors have a major impact on the clearance of the drug molecules and thus must be carefully taken into account in modelling. The validated model provides a useful prediction tool for ocular drug delivery.

SYNTHESIS OF BENZAZULENES AS POTENT PIM-1 AND PIM-3 INHIBITORS

Ralica Arnaudova¹

Alexandros Kiriazis¹

Ingo Aumuller¹

Päivi Koskinen²

Jari Yli-Kauhaluoma¹

¹University of Helsinki, Division of Pharmaceutical Chemistry and Technology, Faculty of Pharmacy, Helsinki, Finland

²University of Turku, Department of Biology, Section of Genetics and Physiology, Turku, Finland

Overexpression of oncogenic Pim kinase family is implicated with tumorigenesis, inflammatory states and drug or radiation resistance. The main role of Pim kinases in cellular transformation, metabolic reprogramming, engineering of immune cells to blunt their anti-cancer action, protecting cancer

cells from apoptosis and rescuing apoptotic cells by defending mitochondria makes these kinases as prime targets for anti-cancer therapy. Furthermore, gene knockout studies have demonstrated that Pim deficient mice are viable and fertile. Despite the unique architecture of the ATP-binding site of Pim kinases, there is no currently available Pim-targeted drugs on the market. Benzazulenes refers to a class of compounds with fused 5-6-7-membered rings and embedded 10Å-azulene system. Our previous designed and synthesized benzazulenes are capable to inhibit protein kinase activity and some of them show selectivity against Pim family members. We have developed synthetic pathway for converting the natural bicyclic sesquiterpene guaiazulene 1, into tricyclic hydroxy ketone 2 by using common reagents. The subsequent acid-mediated dehydration of 2 gives the fully conjugated tricyclic core of benzazulene 3. Compound 3 can participate in various chemical transformations such as in the acid-catalyzed tautomerization of the carbonyl group to form the heptafulvene 4 followed by oxidative cleavage of the semicyclic CPC double bond to give the desired tropone 5. Our recent work has focused on conjugated additions and oxidative nucleophilic substitution reactions of 3. In presence of amino nucleophiles and oxidant the reaction preferably proceeds via regioselective 1,4-addition to give 2-amino benzazulenes 6 in high yields.

UNIVERSAL PEPTIDE BREAK TECHNOLOGY FOR ENZYME ACTIVITY ASSAYS IN DRUG DISCOVERY

Natalia Tong-Ochoa¹

Kari Kopra¹

Arjan van Adrichem²

Krister Wennerberg²

Harri Härmä¹

¹Department of Chemistry, Faculty of Mathematics and Natural Science, University of Turku

²Institute for Molecular Medicine Finland, University of Helsinki

Protein post-translational modifications (PTMs) are important regulatory mechanisms involved in cellular signal transduction processes catalyzed by a vast number of enzymes. Deregulation of PTMs

is reflected in the alteration of different cellular processes leading to several diseases such as cancer. Due to the implication of PTMs in cell signaling, enzymes have become attractive therapeutic targets for inhibition/activation in different disease treatments leading to discovery and development of novel drugs as well as new enabling techniques. We are developing an antibody-free system for enzyme activity monitoring in a high throughput format. The universal biochemical assay can be applied to multiple different PTMs. It is based on a leucine zipper (LZ) concept where enzymatic activity is monitored as a result of peptide-peptide association or dissociation depending on the target enzyme activity. A non-labeled peptide as an enzyme substrate binds to its Eu³⁺ labeled peptide counterpart in presence of enzyme inhibitors forming the LZ dimer, and high time-resolved luminescence (TRL) signal is monitored. In the presence of an active enzyme, peptide substrate PTMs dissociate the LZ dimer, and low TRL-signal is detected in presence of soluble quencher molecules. The universal assay has been demonstrated for enzyme targets such as EGFR and PKA kinases, PTP1B phosphatase, Sirtuin 1 and HDAC3 deacetylases and PAD4 amidinotransferase for tyrosine and serine phosphorylation, tyrosine dephosphorylation, lysine deacetylation and citrullination respectively. The assay principle has been further developed to support multiplexing such as simultaneous monitoring of serine and tyrosine phosphorylation, and phosphorylation/dephosphorylation switches in one reaction. The applicability of the developed leucine zipper kinase method has been demonstrated in a small-scale screen using the Published Kinase Inhibitor Set (PKIS) library. The approach can potentially be applied to multiple different PTMs in a cost-effective HTS compatible format. Further studies could be performed with real libraries and optimization to provide a sensitive platform for PTM detection for drug discovery.

Refereet 2017

Marja Airaksinen
Ercan Celikkayalar
Markus Forsberg
Mikaela Grönholm
Suvi Häkkinen
Terhi Kurko
Kirsi Kvarnström
Anna Kärkönen
Anne Lecklin
Saija Leikola
Joni Palmgrèn
Inka Puumalainen
Anneli Ritala-Nurmi
Pekka Suhonen

Julkaisemme vuosikerran viimeisessä Dosiksessa listan kyseisen vuoden julkaisuun tarjottujen artikkelien refereenä toimineista henkilöistä. Nimet on listattu sukunimen mukaisessa aakkosjärjestyksessä.