

Stanovení léků a návykových látek

Petr Breinek

TDM

terapeutické monitorování lékových hladin

- Soubor činností, jejichž cílem je optimalizovat a individualizovat další dávky léku
- Součástí TDM je:
 - Stanovení koncentrace léčiva (příp. jeho metabolitu) v krevním vzorku, odebraného v definovaném časovém intervalu
 - Interpretace výsledku

Proč se u některých léků stanovuje jejich koncentrace?

- Hrozí jejich **toxický účinek** při předávkování např. nefrotoxicita, ototoxicita
- **Některé mají úzké terapeutické rozmezí** (Rozmezí mezi nejnižší koncentrací léku, při které se objevuje jeho účinek a nejvyšší koncentrací, při které se ještě neobjevuje toxický účinek léku)
- **Lékař pozoruje nedostatečný účinek**
- **Je potřeba kontrolovat terapii**
- **Je podezření, že pacient léky neužívá**

Kdy stanovení koncentrace léku není indikováno

Účinek léku je stanovován jinak, např.:

- Warfarin (Quick INR,..)
- Inzulin (glukóza)
- Antihypertenziva (krevní tlak)

Obvykle monitorované léky

- **Imunosupresiva** (cyklosporin, takrolimus, sirolimus, mykofenolát,...)
- **Antiepileptika** (karbamazepin, fenytoin, kyselina valproová, fenobarbital,...)
- **Antibiotika** (gentamicin, vancomycin, amikacin,...)
- **Bronchodilancia** (teofylin)
- **Kardiotonika** (digoxin)
- **Antiarytmika** (amiodaron, chinidin,..)
- **Cytostatika** (metotrexát, busulfan)
- **Psychofarmaka** (Li,...)
- V některých případech se stanovují i **metabolity** léků

Analyzovaný materiál

- Plazma
- Sérum
- Krev
- Moč
- Sliny
- Mozkomíšní mok
- Žluč nebo peritoneální tekutina

Odběr vzorku

- V ustáleném stavu (steady state)
- **Před další dávkou** („through“) - např. digoxin
- **Kdykoli** („random“) - např. fenytoin
- **Před podáním** - např. karbamazepin, sirolimus, valproát
- **Po podání** („peak“) - např. metotrexát, Li
- **Před a po podání** -např. cyklosporin, vankomycin,

Doba odběru musí být u každého léku určena
+ informace o pacientovi: renální funkce, čas podání, dávka

Farmakologie a laboratoř

1. Klinická farmakologie

odběr

čas odběru

interpretace výsledku

konzultační činnost

hlášení podezření na nežádoucí účinek

léku

2. Klinická biochemie

preanalytická fáze

stanovení

terapeutické rozmezí

v případě nedostupnosti klinického

farmakologa další činnosti

Farmakokinetika

- studuje působení organismu na lék
- nauka no osudech léku v organismu

(změny koncentrace léku v těle, časový průběh koncentrací léku v plasmě, odhad a porovnání předpokládané koncentrace léku s koncentrací naměřenou → lze upravit dávku, ...)

Farmakodynamika

studuje působení léku na organismus
(orgány, tkáně, receptory)

- doba účinku
- stimulace
- deprese
- ovlivnění metabolismu

Farmakogenetika a farmakogenomika

Studují individuální genetický vliv na farmakokinetiku a farmakodynamiku (existuje velká interindividuální variabilita)

- Cílem je individualizace volby léku a jeho dávkování

Léky jsou metabolizovány

- U stanovovaných léků je jejich metabolismus znám
- Přibližně u 20% osob probíhá odbourávání léčiv **jinou rychlostí**, než u většiny osob
→ vzniká problém při stanovení dávky léku

„Rychlí metabolizátoři“

Přeměna léku probíhá rychleji:

- nedosáhne se terapeutické rozmezí
- účinek léku se neprojevuje

- tato situace není tak nebezpečná: lékař zvýší dávkování léku

„Pomalí metabolizátoři“

Přeměna léku probíhá pomaleji:

- množství léku v krvi přesahuje terapeutické rozmezí, i když užívá doporučené dávky
- často dochází k toxickým projevům až k poškození organismu
- závažnější stav

Co to způsobuje?

Dlouhou dobu se to nevědělo: lék se vysadil nebo změnil

- U pomalých metabolizátorů je to často zapříčiněno **geneticky**:
vrozené „chybění“ nebo změněná funkce některého **enzymu** (např. cytochrom P450 se podílí na metabolismu asi 30% používaných léků)

Současná praxe

- Sleduje se koncentrace léku v krvi
- Pacient musí chodit na kontroly (odběry krve)
- V případě problémů se upraví dávkování, či změní lék..

Budoucnost

Začíná se sledovat:

- buď vrozené chybění nebo změněná forma příslušného enzymu (vedoucí k pomalé přeměně léku v organismu)
- individualizace volby léku a jeho dávkování

Metody stanovení

1. Chromatografické metody

HPLC

HPLC/MS

LC/MS

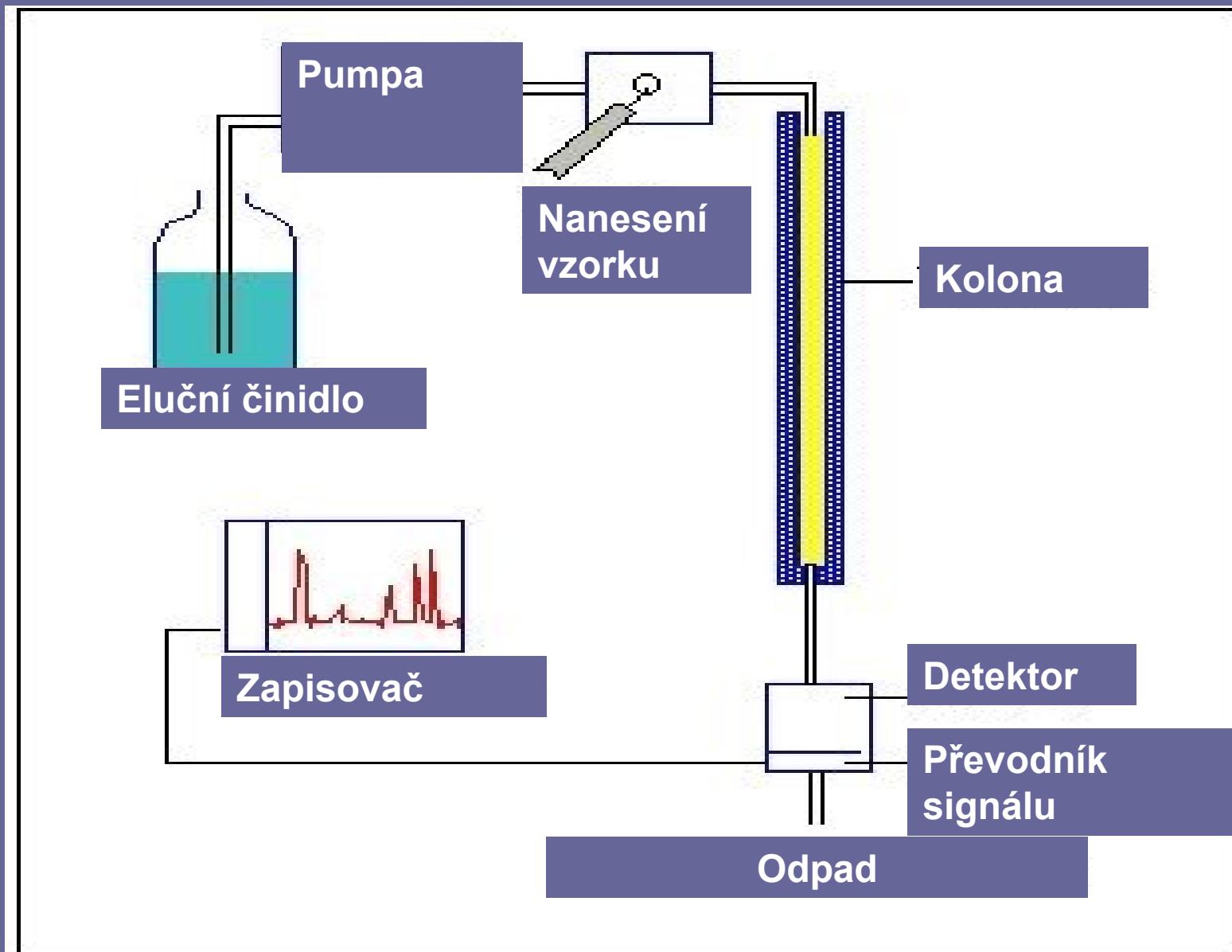
GC/MS

TLC

Techniky úpravy vzorků:

- Extrakce kapalinou
- Extrakce pevnou látkou (SPE)
- Ultrafiltrace
- Derivatizace
- Extrakce plynem (headspace)
- Adsorpce
- Vymrazování

HPLC – jednoduché schéma



HPLC



GC-TRACE GC MS – POLARISQ (Finnigan)



2. Imunoanalytické metody

a) fluorescenční imunoanalýza (FIA, FPIA, DELFIA)

b) enzymová imunoanalýza (EMIT, ELISA, MEIA, CEDIA)

c) luminiscenční imunoanalýza (LIA, ILMA, CMIA, ECLIA, ...)

3. Metody pro odhalování genetického polymorfismu v metabolismu léčiv

Lze stanovit:

- a) Fenotyp (rychlost transformace)
- b) Genotyp (analýza DNA, DNA čipy)

CYKLOSPORIN A MYKOFENOLOVÁ KYSELINA

- Imunosupresiva
- Odběr: nesrážlivá krev (EDTA)
- Referenční meze: podle doby po transplantaci a druhu transplantace
- Cy A: cyklický polypeptid
- MPA: aktivní část z léčiva mofetil

DIGOXIN

- Odběr: srážlivá krev
před podáním nebo 6-11 h po
podání
- Referenční meze: 0,5-1,2 ug/l
- Srdeční glykosid, je indikován při srdečním selhávání
- DLIF (digoxin-like immunoreactive factor)
- DLIS (digoxin-like immunoreactive substance)

TACROLIMUS

- Imunosupresivum, FK 506
- obchodní název PROGRAF®
- objev (1984): extrakt z houby (Streptomyces tsukubaensis) japonská farmaceutická firma Fujisawa (kódové č. FK 506)
- přispívá významnou měrou k dosažení současného stupně rozvoje **transplantace** orgánů a buněk, používá se také při léčbě závažných autoimunitních onemocnění

- je 10x až 100x účinnější ve srovnání s cyklosporinem
- působí inhibičně v časně fázi aktivačního procesu T lymfocytů
- metabolizuje se v mikrosomech jaterních buněk (cytochrom P450)
- existují i závažné nežádoucí účinky (hypertenze, nefrotoxicita, neuropatie, hepatopatie, hyperlipoproteinemie)
- z toho vyplývá nutnost laboratorního monitorování lékové terapie (TDM)

Analyzovaný materiál

- pouze krev (EDTA)

- stabilita

+2 až +8 C14 dní

≤ -70 C 2 měsíce

koncentrace v krvi je průměrně 35x vyšší
(12-67x) než v plazmě

LITHIUM

- Odběr: srážlivá krev
10-18h po podáním
- Udržování terapeutické hladiny nebo určení intoxikace Li
- Terapeutická hladina: 0,5-1,2mmol/l
- Použití Li: léčba bipolárních chorob (duševní poruchy s cykly deprese a mánie) - profylaxe maniodepresivního onemocnění
- Stanovení: nejčastěji PES (plamenová emisní spektrometrie)