

Základy farmakokinetiky
Základy farmakodynamiky
Terapeutické monitorování hladin
léčiv a metody stanovení

Mgr. Miroslava Bendová
Úsek klinické farmacie NL FN Brno
miroslava.bendova@fnbrno.cz

- Cílem farmakoterapie je dosažení požadovaného léčebného účinku s minimem rozvoje nežádoucích účinků
- Při výběru optimální farmakoterapie pro pacienta je důležitá nejen volba léčiva, ale i dávka léčiva (klinické zkoušení léčiv, bioekvivalenční studie)
- Racionální přístup kombinuje principy farmakokinetiky s farmakodynamikou.

FARMAKOKINETIKA

- **Popisuje průběh léčiva v organizmu v průběhu času**
- **Zabývá se tím, co organismus dělá s léčivem**

FARMAKODYNAMIKA

- **Studuje co léčivo dělá s organizmem,**
- **Zabývá se mechanismem působení léčiv**

Farmakologie

FARMAKODYNAMIKA

Specifická k léčivu, lékové skupině



- Inetrakce s buněčnými komponenty, např. s receptorem, cílové místo
- Působení léčiva v cílovém místě účinku
- Vztah mezi koncentrací léku a jeho účinkem
- Redukce nežádoucích symptomů
- Modifikace progresse onemocnění
- Nežádoucí účinky
- Lékové interakce
- Inter- a intra-individuální rozdíly

FARMAKOKINETIKA

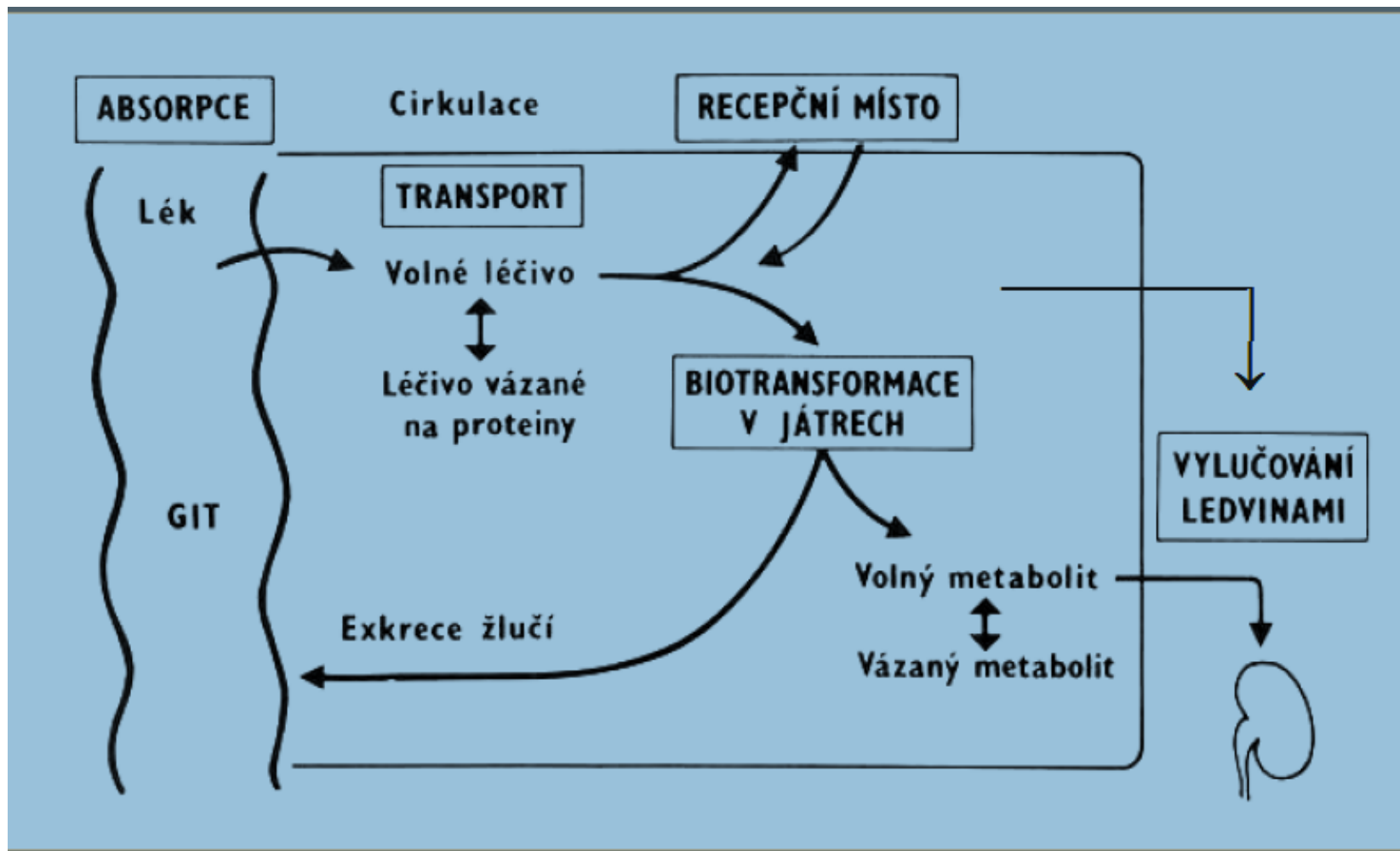
Nespecifická, obecné procesy



- Absorpce z místa podání
- Doručení léčiva do místa účinku
- Eliminace z organismu
- Trvání účinku
- Akumulace léčiva po opakovaném podávání
- Lékové interakce
- Inter- a intra-individuální rozdíly

Osud léčiva v organismu

Z přednášky Aplikovaná farmakokinetika, MUDr. J Šedivý, VFN Praha

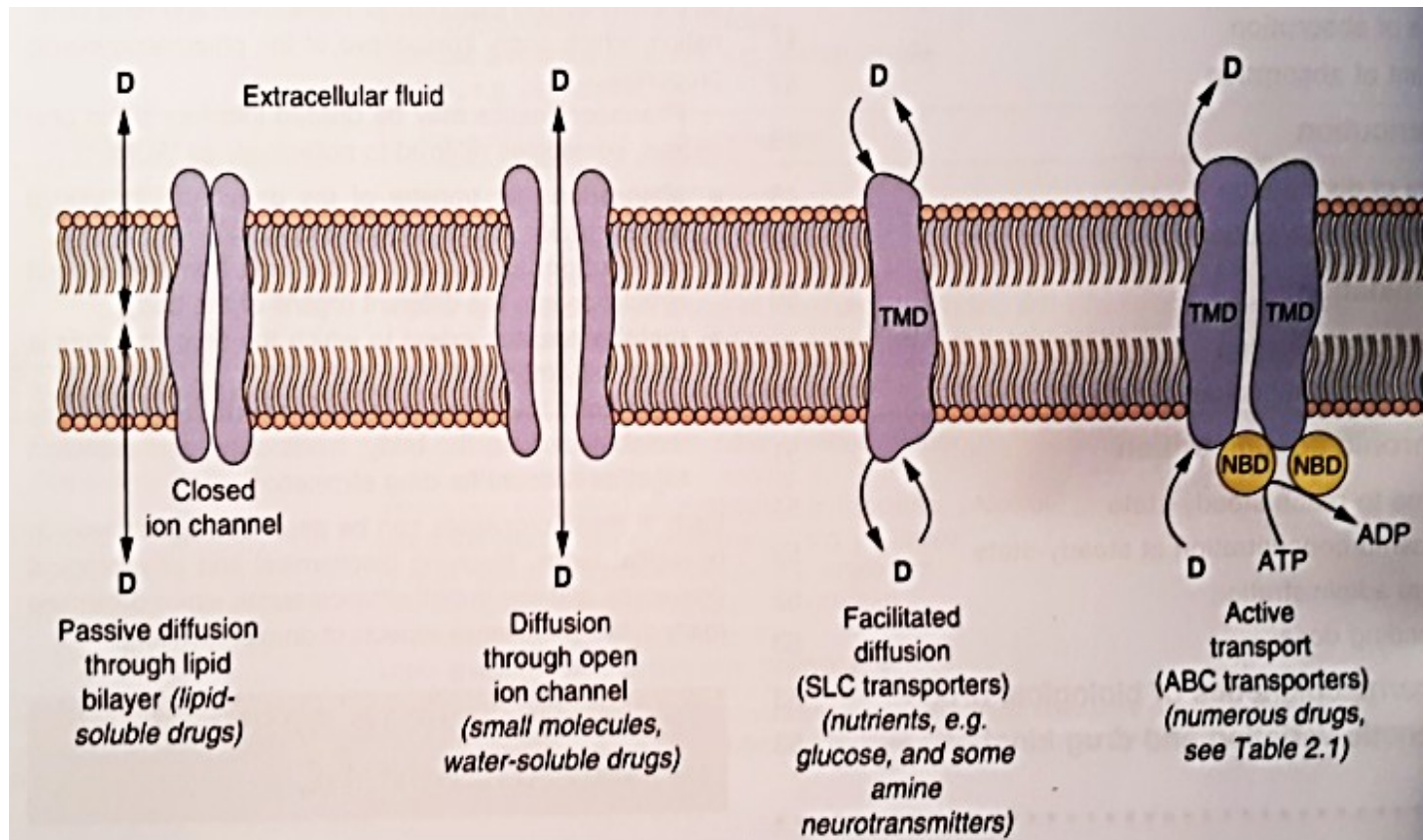


FARMAKOKINETIKA

- Obecné dělení farmakokinetiky do 4 základních procesů, tzv. „**ADME**“ :
 - **A**bsorpce – transfer léčiva z místa podání do systémové cirkulace
 - **D**istribuce – transfer léčiva ze systémové cirkulace do různých orgánů/tkání v organismu
 - **M**etabolismus – chemická modifikace léčiva v organismu
 - **E**xkrece – odstranění mateřské látky nebo jejího metabolitu z organismu
- Metabolismus + exkrece – dohromady přispívají k eliminaci léčiva z organismu

1. Absorption

Waller D., Sampson A. Medical Pharmacology and Therapeutics. 4Ed.



Faktory ovlivňující absorpci léčiva (po p.o.) do systémové cirkulace:

- **Struktura léčiva**

- je hlavní determinantou absorpce
- Léčivo **lipofilní/hydrofilní** – lipofilní látky se dobře rozpouštějí a penetrují
- **pH, ionizace** - ionizované formy jsou hydrofilnější, neionizované lipofilnější. Většina léčiv jsou slabé kyseliny a zásady. Příklad: ASA – slabá kyselina, v kyselém žaludečním pH je méně ionizovaná, proto větší absorpce se očekává ze žaludku, ale žaludek je limitován malou absorpční plochou (na rozdíl od tenkého střeva) a přítomností zón s neutrálním pH. Výsledkem - objemné množství ASA se absorbuje v tenkém střevě

- **Léková forma**

- Rychlá absorpce - potahované, nepotahované tablety, tobolky, suspenze, roztoky, sirupy
- Pomalá absorpce – u lékových forem, kde je léčivo například inkorporováno v matrix - difúze léčiva z matrix je pomalá – tablety nebo tobolky s řízeným uvolňováním

- **Gastrické vyprazdňování**

- Hlavní místo absorpce pro většinu léčiv – tenké střevo
- Opožděné gastrické vyprazdňování – polékové, jídlo, pooperační stavy, věk,.. – zpomalí dodání léčiva do hlavního místa absorpce

- **Intestinální stěna**

- Duodenum - velké množství celulárních enzymů (MAO, aromatické L-amino kyselá dekarboxylasy, CYP 450 – 3A4, enzymy zodpovědné za 2, fázi konjigač.reakcí.
- V enterocytech – efluxní transportér P-gP – limituje absorpci řady léčiv!!!

→ ZÁVĚR: léčivo přicházející do lumen střeva (k enterocytům) může mít 3 osudy:

- Difúze ze střeva do hepatální portální cirkulace
- Metabolismus v buňkách
- Transport léčiva zpět do lumen střeva (P-gP)

- Pozn. substráty pro CYP3A4 a P-gP se často překrývají!!!

FIRST – PASS METABOLISMUS!!!

- K metabolismu léčiv může dojít ještě dříve, než dosáhne systémové cirkulace! First-pass efekt se vyskytuje u léčiv podávaných p.o. – léčiva se mohou setkat se 4 hlavními matabolickými bariérami (před tím, než dosáhnou systém. cirkulace):
 - Intestinální lumen – trávicí, pankreatické enzymy, aerobní, anaerobní bakterie
 - Intestinální stěna – CYP3A4, P-gP
 - Játra – hlavní místo metabolismu léčiv!!! (podáním léčiv sublinguálně, rektálně – se vyhneme jaternímu first-pass mtb.)
 - Plíce

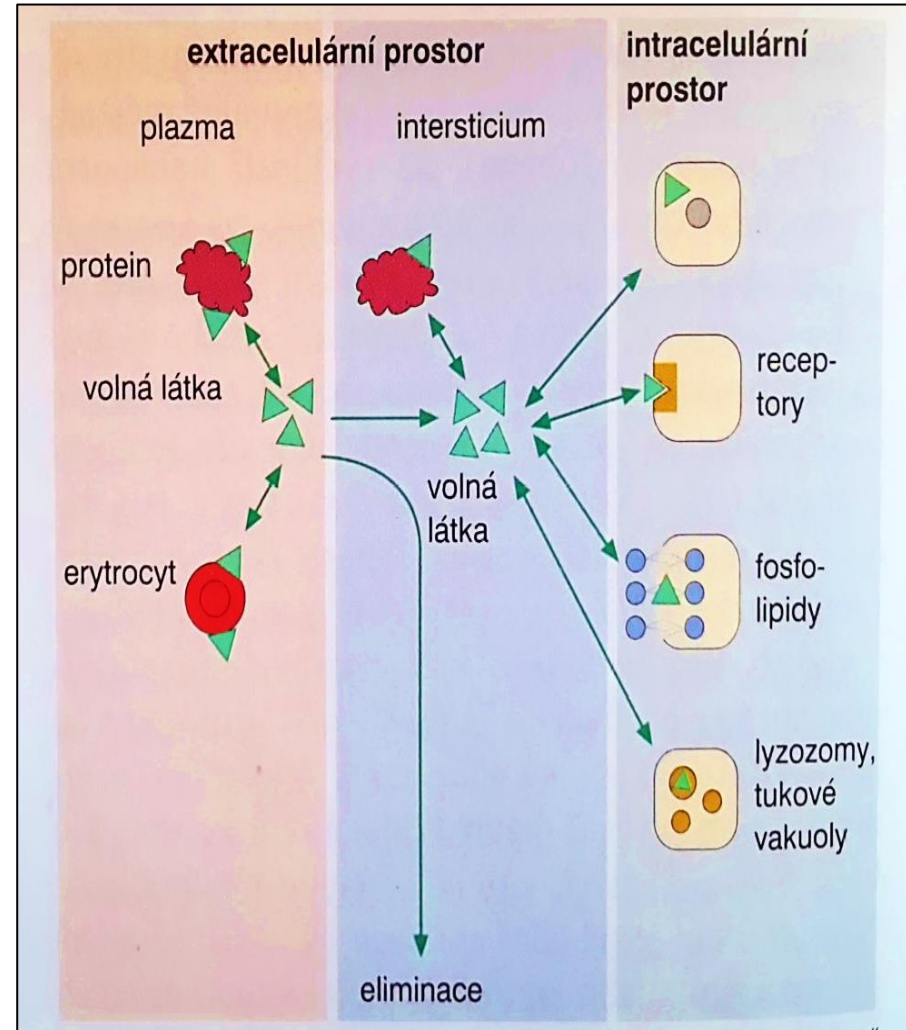
PRESYSTÉMOVÁ ELIMINACE LÉČIV - SHRNUÍ

- Po p.o. podání se většina léčiv absorbuje ve střevním lumen. Již zde může docházet k metabolismu léčiva. Krev ze střeva odtéká venou portae do jater. Krev obtéká jaterní buňky velmi pomalu, což umožňuje velmi intenzivní přestup látek do buněk a z buněk. Tak se může větší nebo menší podíl léčiva vychatat v játrech (= ztráta při 1. průchodu játry). Potom krev odtéká do pravé komory a do plic, kde dochází k intenzivnímu kontaktu látky s plicní tkání. Zde se může také velký podíl látky zadržet, protože plíce mají vysokou vazebnou kapacitu pro amfifilní a lipofilní látky. Teprve po pasáži plícemi se látky dostávají do levé srdeční komory a mohou se distribuovat ve velkém oběhu.
- Proces, kterým se určitý podíl enterálně resorbované látky odstraní z krve ještě před vstupem do velkého oběhu, se označuje presystémová eliminace.
- POZOR!!! I při i.v., s.c., i.m., per rect., subling. Podání je možná presystémová eliminace. Takto aplikovaná léčiva první musí projít plícemi, než se dostanou do velkého oběhu. Tak mohou plíce i fungovat jako pufrovací systém.

2. Distribuce

= proces, kdy je léčivo transportováno reverzibilně z krevního řečiště do orgánů a tkání, jakmile koncentrace léčiva v plazmě stoupla. A naopak, transport léčiva z tkání, jakmile koncentrace léčiva v plazmě klesla.

- Probíhá tak dlouho, dokud není dosaženo rovnovážného stavu mezi kompartmenty
- Dominantní – pasivní difúze neionizovaných látek skrz membrány



Distribuční prostory farmak

Celkový obsah vody v organismu kolísá : 50-75%

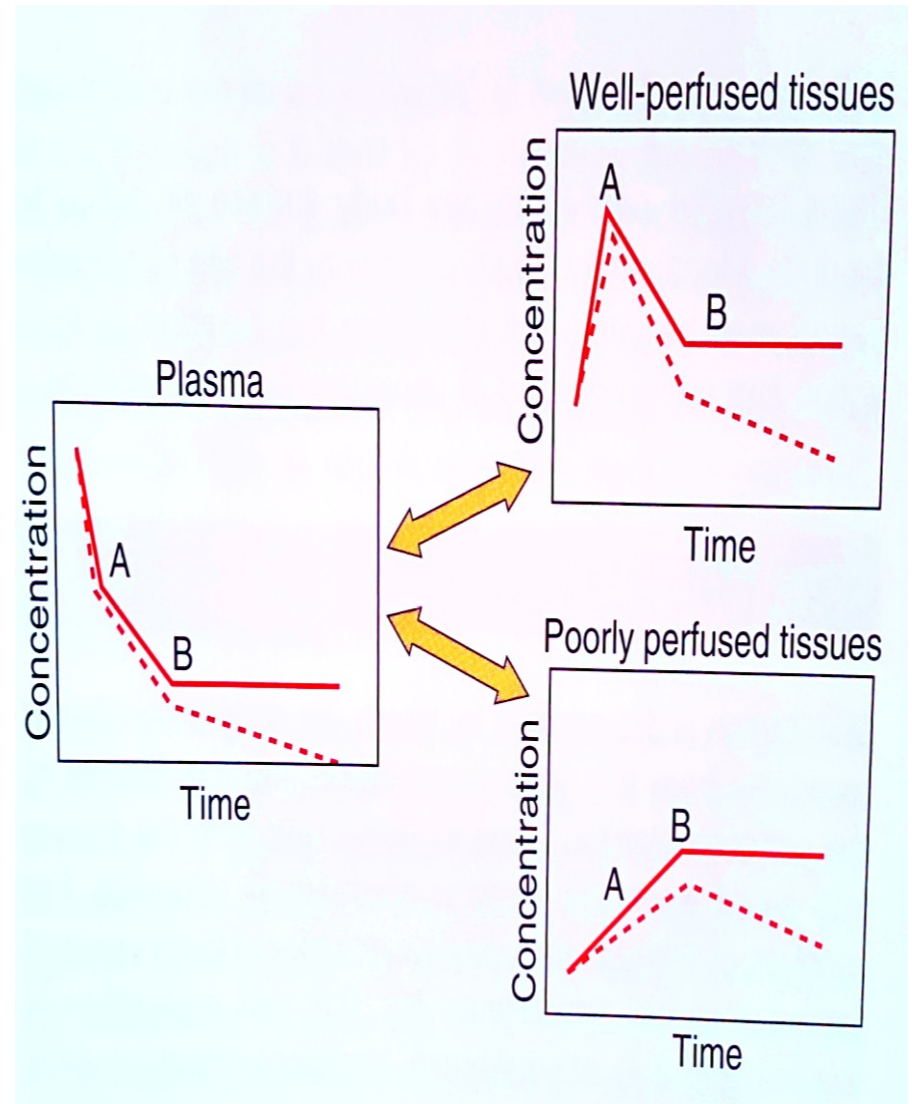
1. **Extracelulární tekutina** (plazma + intersticiium + lymfa)
2. **Intracelulární tekutina** – všechny buňky v těle
3. **Transcelulární tekutina** – cerebrospinální, nitrooční peritoneální, pleurální, synoviální, trávicí sekrety, plod

Prostor	Podíl na tělesné hmotnosti
Objem krevní plazmy	cca 5%
Intersticiální prostor	cca 20%
Intracelulární prostor	cca 50%

- Po i.v. podání je v plazmě vysoká koncentrace léčiva
- léčivo může rychle vstupovat do dobře perfundovaných tkání, jako je mozek, játra a plíce
- Tento děj může být tak rychlý, že tyto tkáně získají rovnováhu s plazmou okamžitě → reprezentují centrální kompartment

Relativní orgánová perfúze	
Orgán	Poměr kardiálního výdeje
Dobře perfundované orgány	
Plíce	100%
Ledviny	15%
Játra	27%
GIT	15%
Mozek	12%
Slabě perfundované orgány	
Kůže	5%
Kosterní svaly	12%
kosti	3%
Tuková tkáň	4%

- Schéma redistribuce léčiv mezi tkáněmi
 - Iničiální pokles plazmatické koncentrace po i.v. podání je v důsledku vychytávání léčiv dobře perfundovanými tkáněmi, je rychle dosaženo rovnováhy (bod A)
 - Mezi body A a B léčivo kontinuálně vstupuje do slabě prokrvených tkání, což vyústí v poklesu koncentrací jak v plazmě, tak dobře prokrvených tkání
 - V bodě B jsou všechny tkáně v rovnováze + navíc eliminační fáze → další pokles z bodu B (ve všech tkáních)



Vazba léčiv na plazmatické proteiny

- **Albumin** – váže kyselé a neutrální látky
- **α_1 – kyselý glykoprotein** - váže zásadité a neutrální látky
- Vazba na plazmatické proteiny
 - Reverzibilní – u většiny léčiv
 - Ireverzibilní – léčiva se váží kovalentně, např. paracetamol při intoxikaci
- Plazmatické proteiny jsou transportéry pro většinu léčiv
- **Pouze volná frakce léčiva (nevázaná) má terapeutický účinek, ale na druhé straně pouze volná frakce vykazuje nežádoucí účinek**
- Vazba léčiva na proteiny nevyústí v žádný farmakologický efekt, ale bude měnit volnou koncentraci léčiva v plazmě
- Plazmatické proteiny mohou sloužit jako depa, rychle uvolní zásobní léčivo, když jeho plazmatická koncentrace klesne
- **Změny v hladinách plazmatických proteinů – změny volných frakcí léčiv – nutné reagovat úpravou dávky, dávkovacího intervalu!!!**

Příklady léčiv, které se extenzivně váží na plazmatické proteiny

Vazba na albumin	Vazba na α 1 – kyselý glykoprotein
Furosemid	Propranolol
Ibuprofen	Lidokain
Indometacin	Trimekain
Fenytoin	Tricyklická antidepresiva
Kyselina valproová	Propranolol
Warfarin	
Amiodaron	
Levothyroxin	
ATB – ceftriaxon,...	

FAKTORY OVLIVŇUJÍCÍ VAZBU LÉČIV NA ALBUMIN

Hypoalbuminémie	Vliv endogenních látek	Vliv exogenních látek
Jaterní onemocnění Nefrotický syndrom Těhotenství Cystická fibróza Popáleniny, trauma Malnutrice Starší > 65 let	Hyperbilirubinémie Hepatitida Jaterní onemocnění Renální dysfunkce	Lékové interakce, léčiva s vysokou vazbou na albumin

3. Metabolismus

- Užitečnou vlastností většiny léčiv – **lipofilita** – umožňuje přestup přes lipidové bariéry, proto mohou být léčiva podávána p.o.
- Metabolismus je nezbytný pro eliminaci liposolubilních léčiv z organismu, protože umožní přeměnu lipofilních léčiv (které se po eliminaci do moči reabsorbovaly tubuly zpět do org.) na hydrosolubilní léčiva (rychlá eliminace do močí, většinou aniontovými transportéry)
- Skrz metabolismus jsou produkovány nové chemické látky, které mohou vykazovat rozdílné farmakologické účinky než podaná mateřská látka:
 - Snížení biologické aktivity
 - Zvýšení biologické aktivity
 - Změna v přirozené aktivitě (vznikají odlišné farmakologické/toxick. Látky)
- Základní dělení: **1.fáze** a **2.fáze metabolismu**
 - Většina léčiv prochází oběma fázemi, ale některá mohou podstupovat pouze jednu fázi, některá léčiva se eliminují nezměněna!!!

- Metabolizmus léčiv – 2 fáze:

1.fáze

- Někdy nazývaná **PREKONJUGAČNÍ** (její metabolity jsou vhodné substráty pro konjugační reakce)
- Zahrnuje: oxidaci, redukci, hydrolýzu (mohou probíhat i paralelně)
- Přeměňují léčiva na polárnější metabolity schopné eliminace nebo následné reakce ve fázi 2

2. Fáze

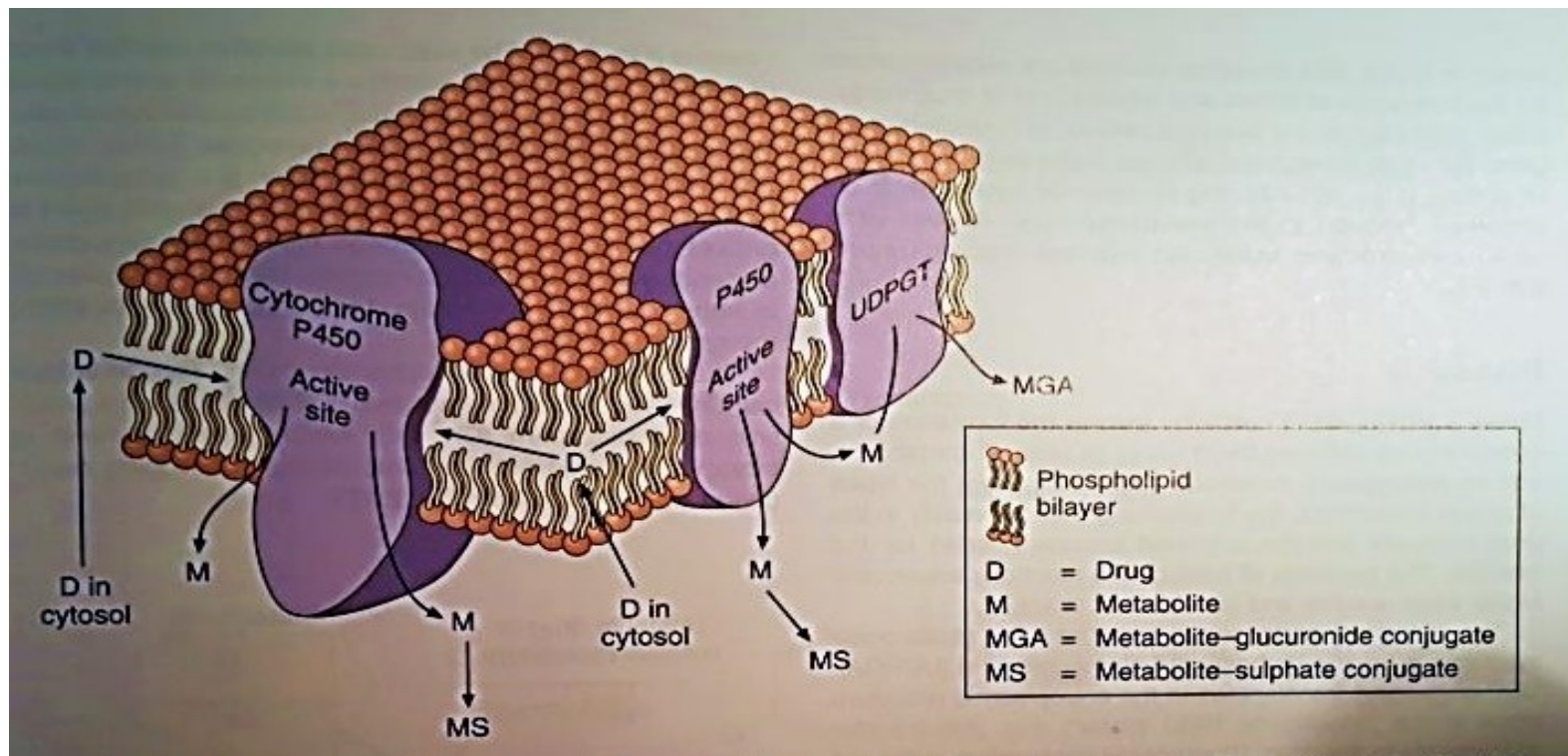
- **KONJUGAČNÍ**
- Zahrnuje: glukuronidaci, sulfataci, metylaci, amino acid konjugaci, glutathion konjugaci
- Výsledkem je polární látka transportovaná z buněk do extracelulárního prostoru a eliminována žlučí, močí či konvertována na další látky

Cytochrom P450 je superrodina membránově vázaných hemoproteinových enzymů, lokalizovaných na hladkém endoplazmatickém retikulu v buňkách. V největší míře je lokalizován v játrech.

CYP 450 – součástí oxidačních reakcí

CYP P450 – rodina CYP 1-4

Isoenzymy – CYP3A4, 2D6, 2C9, 2C19, 1A2,...



Substráty/ inhibitory/induktory CYP450

Isoenzym	Substrát enzymu	Inhibitor	Induktor
CYP 1A2	paracetamol, kofein, theofylin	klaritromycin, grapefruit	cigaretový kouř
CYP 2C9	diclofenak, ibuprofen, warfarin	amiodaron, flukonazol, fluoxetin, kys. valproová	karbamazepin, dexametason, rifampicin
CYP 2D6	metoprolol, bisoprolol, SSRI, ondansetron	amiodaron, fluoxetin	karbamazepin, fenytoin, rifampicin
CYP 3A4	amiodaron, karbamazepin, midazolam	amiodaron, grapefruit, klaritromycin	karbamazepin, fenytoin, rifampicin

4. Eliminace

- Hlavní eliminační cesty: **moč, žluč**

1. Exkrece močí

- Zahrnuje 3 procesy: **glomerulární filtraci, reabsorpci, tubulární sekreci**

$$\underline{\text{Totální exkrece} = \text{GF} + \text{TS} - \text{reabsorpce}}$$

- **GF** – všechny molekuly menší než 20kDa , filtrace přes póry v membráně, glomerulární filtrát obsahuje kolem 20% objemu plazmy, proto 20% všech hydrosolubilních nízkomolekulárních léčiv vstupuje do filtrátu. Pouze volné léčivo, nevázané na plazmatické proteiny
- **Reabsorpce** – pouze malá část léčiv, lipofilních
- **Tubulární sekrece** – pomocí sekrečních transportérů, zejména metabolity ve formě glukuronidačních, sulfatačních konjugátů

2. Exkrece žlučí

- Primární eliminační cesta větších molekul (>500 Da)
- Konjugace s glukuronovou kyselinou zvyšuje molekulovou hmotnost substrátu téměř o 200 Da!
- Eliminační cesta: játra → žluč → tenké střevo → kolon → rectum

ENTEROHEPATÁLNÍ OBĚH:

- Pouze některá léčiva eliminovaná žlučí
- V kolon (prostřednictvím bakteriální hydrolýzy) může docházet k reabsorpci léčiv, vstupovat do portální žíly, játra, (systémová cirkulace), žluč

APLIKOVANÁ FARMAKOKINETIKA

KLINICKÁ FARMAKOKINETIKA – využívá poznatky experimentální farmakokinetiky k tomu, aby bylo možné kvalifikovaně odhadnout změny absorpce, eliminace, distribuce léčiva u konkrétního pacienta a dále k odhadu chování léčiva v organismu a optimálního dávkovacího schématu.

Cílem klinické farmakokinetiky je především racionalizovat terapii u konkrétního pacienta.

Farmakokinetické parametry léčiv se u konkrétního pacienta mohou lišit a znalost aplikované farmakokinetiky nám dává možnost tyto změny odhadnout.

Je nutné znát základy obecné a aplikované farmakokinetiky, tak je možné používat klinickou farmakokinetiku v praxi

ZÁKLADNÍ PARAMETRY APLIKOVANÉ FARMAKOKINETIKY

- **Biologická dostupnost F (%)**
- **Vazba na plazmatické bílkoviny (%)**
- **Clearance (ml/min)**
- **Distribuční objem V_d (L/kg)**
- **Biologický poločas $T_{1/2}$ (hod., min.)**

Léčivá látka	F (%) p.o.	Vazba na bílkoviny (%)	Clearance (ml/min)	V_d (L/kg)	$T_{1/2}$ (hod.)
Amikacin	-	0 - 11	91,2	0,25	1,4 – 2,3
Diazepam	90 - 100	98	1,62	1,1	Mateřská látka: 33-45, desmetyldiazepam 152-174
Digoxin	70	25	117	7	36 - 48
Warfarin	93	99	3,21 (exkrece močí, 92% jako metabolity)	0,14	20 - 60

<p>Biologická dostupnost F (%)</p>	<p>Podíl léčiva, který dosáhl systémové cirkulace (%), popř. bezrozměrné číslo 0-1. Charakterizuje, jaká část léčiva aplikovaného mimo krevní řečiště dosáhne centrálního kompartmentu.</p> <p><u>Využití:</u> výpočet dávky, která se z místa aplikace skutečně dostane do systémové regulace $D_{real} = F \times D$</p>
<p>Clearance (ml/min)</p>	<p>Objem plazmy, který se za časovou jednotku očistil od účinné látky. Clearance charakterizuje výkonnost eliminačních orgánů.</p> <p><u>Využití:</u> výpočet udržovací dávky léčiva: $D = c_{ss} \times Clearance$</p>
<p>Distribuční objem V_d (L/kg)</p>	<p>Fiktivní veličina, teoretický prostor, do kterého se lék po podání rozptýlí v určité zjištěné koncentraci.</p> <p>V_d vyjadřuje vztah mezi velikostí dávky a dosaženou koncentrací v plazmě. $V_d = D/c_{max}$</p> <p><u>Využití:</u> výpočet nasycovací (úvodní dávky). Velikost V_d je nepřímo závislá na vazbě na plazmatické bílkoviny.</p>
<p>Biologický poločas $T_{1/2}$ (hod., min.)</p>	<p>Doba, za kterou klesne koncentrace léku v plazmě na polovinu. Za 5 $T_{1/2}$ se vyloučí z org. prakticky veškerý lék.</p> <p>Velikost $T_{1/2}$ je závislá na clearance + V_d: $T_{1/2} = V_d/Clear.$</p> <p><u>Využití:</u> Odhad doby nutný k vyloučení léku Odhad doby nutný k dosažení rovnovážné konc.léku</p>

Distribuční objem (V_d)

- Zdánlivý prostor, distribuce léčiva jak v cirkulaci, tak i ve tkáních
- 1. parametr pro určení koncentrace léčiva
- Určuje nárazovou dávku (LD)

- Změny V_d např. při sepsi, hypalbuminémii, dehydrataci, LI,...

intravaskulární prostor	V_d 5-7 L
extracelulární prostor	V_d 10-20 L
intracelulární prostor	V_d > 50 L

- Využití V_d :
 1. Výpočet nasycovací dávky - nasycovací dávku volíme u těch léčiv, u kterých opakované podávání udržovacích dávek vede k dosažení CSS za velmi dlouhou dobu
 2. Pro posouzení velikosti distribučního prostoru (léčivo distribuováno intra, extracelulárně, intravaskulárně)

V_d u hydrofilních x lipofilních léčiv

Hydrofilní léčiva

- Mají V_d , který dobře odpovídá IBW a lepších výsledků dosáhneme při dávkování na 1 kg IBW a to i u obézních

Lipofilní léčiva

- V_d spíše odpovídá celkové tělesné hmotnosti (př. propofol). Tato dávka u velmi obézních může být neúměrně vysoká → nesmí být podávána opakovaně, protože eliminační funkce ledvin a jater neodpovídá u obézních osob tělesným proporcím!!!

- Př. AMG (distribuce do ECT)

+ u obézních je distribuce do tukové tkáně u hydrofilních léčiv až 40%

→ propočet dávky dle korigované hmotnosti (ABW):

$$\underline{ABW = 0,4 \times (\text{tělesná hmotnost} - IBW) + 1 \times IBW}$$

→ u neobézních počítat s IBW, u obézních s ABW

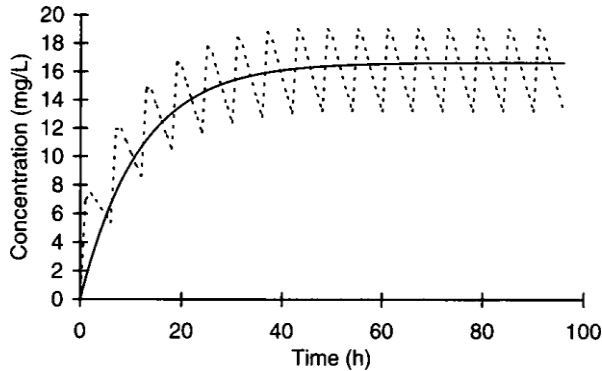
Kompartmentové modely

= fiktivní modely distribuce léčiv

- **1 kompartment** – léčivo po i.v. podání vykazuje lineární pokles koncentrace. Okamžitá distribuce léčiva z centrálního kompartmentu do periferního. Odběr c_{\max} pro TDM můžeme provést ihned po podání léčiva
(př. theofylin distribuční fáze 10 min.
AMG – závislost na délce infuze)
- **2 kompartment** – léčivo po podání opouští krevní řečiště, je distribuováno a eliminováno. Hladiny pro TDM je nutno vždy odebrat v eliminační fázi, kdy je již nastolena rovnováha mezi krví a tkáněmi
(př. digoxin – odběr za 8 hod. po podání
vankomycin – distribuční fáze 1-2 h.)

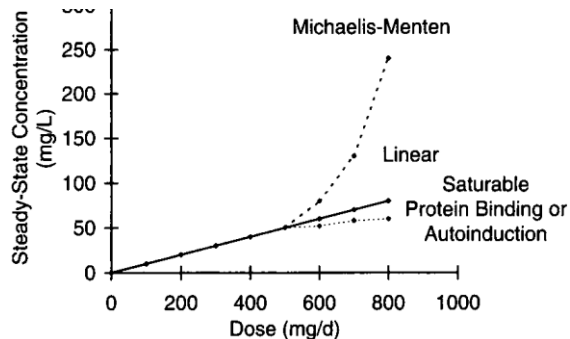
Lineární x nelineární FK

1. Lineární farmakokinetika



- Koncentrace léčiva stoupá
- steady-state – stav, kdy rychlost přívodu se rovná rychlosti eliminace
- Steady-state..... Za 4-5 $T_{1/2}$
- $C_{SS} = 10\mu\text{g/ml}$, dávka 100mg/h, jestliže zvýšíme dávku na 150mg/h, zvýší se C_{SS} na 15 $\mu\text{g/ml}$

2. Nelineární farmakokinetika



- Koncentrace se mění disproporcionálně ve vztahu k velikosti dávky
- 1. Příklad: fenytoin – v určitém okamžiku saturace mtb. enzymů → prudký vzestup koncentrace
- 2. Pokles koncentrace – změny ve vazbě na B (kys. valproová), autoindukce (karbamazepin) → úprava dávek velmi složitá, nutno titrovat, monitorovat

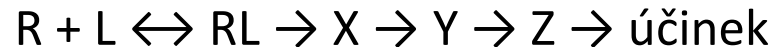
ZÁKLADY FARMAKODYNAMIKY

- Farmakodynamiku lze definovat jako studium většinou biochemických a fyziologických, ale i jiných účinků léčiv a mechanismem účinku těchto léčiv, tedy sledování toho „ co léčivo dělá s organismem“.
- Obecná farmakodynamika – zabývá se studiem a popisem obecně platných zákonitostí týkajících se účinků léčiv a jejich mechanismů
- Speciální farmakodynamika – zabývá se studiem a popisem účinků a jejich mechanismů u konkrétních skupin léčiv nebo u jednotlivých léčiv.
- Farmakodynamika je považována za základ farmakologie, ale nutno pamatovat, že účinnost léčiva závisí ve značné míře i na její farmakokinetice.
- Účinky léčiv jsou dány především specifickými interakcemi látek s biologickými systémy, které lze označit – receptorové mechanismy.
- Použití některých látek, př. rentgenově kontrastní látky, trávicí enzymy, osmoticky aktivní látky – je podmíněno pouze využitím jejich fyzikálně-chem. vlastností.

RECEPTORY

- Léčivo se musí v organismu navázat na reakčního partnera, aby vyvolala účinek. Vazebný partner = **RECEPTOR** = **proteinová makromolekula**, lokalizovaná v buněčné membráně nebo v buňce (cytosol, jádro).
- **LIGAND** = látka interagující s receptory (endogenní látky – hormony, růstové faktory, exogenní látky – léčiva)

- Obecná představa tohoto mechanismu – schématicky:



X,Y,Z....řada biochem. a fyziolog. změn

- Receptory jsou spřažené s tzv. **EFEKTOROVÝMI SYSTÉMY** (= komplex buněčných látek) - jsou aktivovány při obsazení receptoru určitou látkou a zajišťují přenos signálu a jeho transformaci na účinek.

- **Přenos signálu cytoplazmatickými receptory**
 - Některé látky (endogenní i exogenní) jsou velmi lipofilní, takže relativně snadno prostupují plazmatickou membránou do nitra buňky, kde se vážou na specifické cytoplazmatické nebo jaderné receptory.
 - Tyto receptory jsou obsazovány např. glukokortikoidy, mineralokortikoidy, pohlavními hormony, vitaminem D, hormony štítné žlázy. Jejich společným rysem je dlouhodobé působení, které nastává s určitou latencí a trvá hodiny až dny, což je podmíněno tím, že tyto látky stimulují transkripci genu v jádře
- **Přenos signálu membránovými receptory**
 - Velká část látek (hormony, neurotransmitery, exogenní léčiva) reaguje s receptory umístěnými v plazmatické membráně.
 - V důsledku aktivace těchto receptorů dochází k aktivaci efektorových systémů, což vede k tvorbě nitrobuněčných signálů (tzv. druhých posílů) nebo nahromadění některých iontů (Ca^{2+}) zodpovědných za konečné fyziologické a farmakologické účinky.

Receptory mají 2 podstatné vlastnosti:

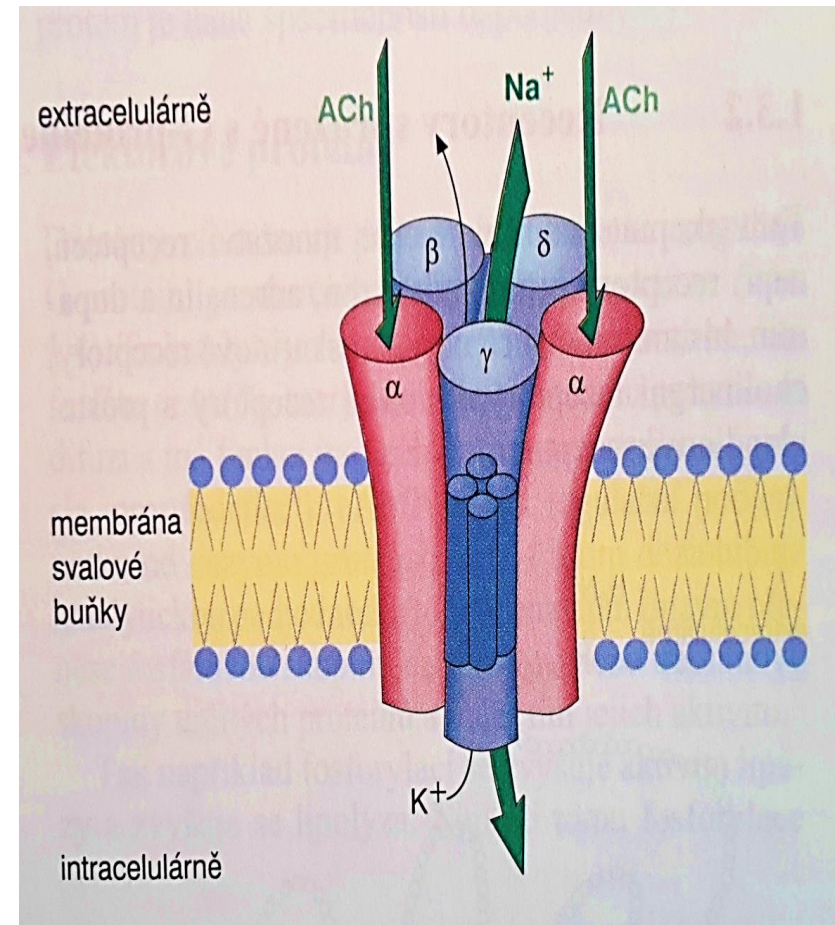
1. Nesou specifické vazebné místo, které umožňuje navázat pouze určitý neurotransmitter
2. Po vazbě transmittoru receptor změní konformaci, popř. funkční stav receptorového proteinu

Z hlediska stavby receptorového proteinu a transdukce signálu se dají rozlišit 4 typy receptorů:

- 1. Iontové kanály řízené ligandem**
- 2. Receptory spřažené s G-proteinem**
- 3. Receptory s enzymovou aktivitou**
- 4. Receptory regulující transkripci DNA**

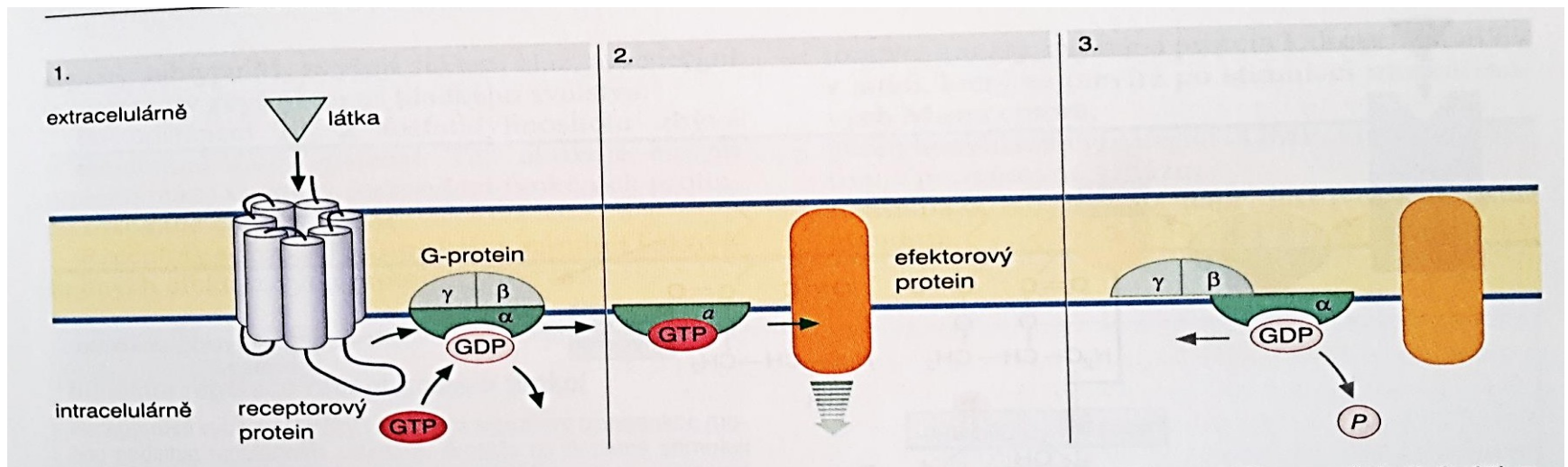
1. Receptory spřažené s iontovými kanály - receptor je přímo spřažen s efektem, kterým je iontový kanál

- **Př. Nikotinový cholinergní receptor** na motorické ploténce kosterního svalu
 - Je pentamer ve fosfolipidové membráně, složený ze 4 podjednotek
 - Středem pentameru probíhá transmembránový kanál
 - Po uvolnění ACh ze zakončení motorického nervu a po obsazení 2 podjednotek α se otevře iontový kanál.
 - Na^+ proudí do buňky, K^+ ven z buňky
 - Funkčně rozhodující je influx Na^+ : způsobí depolarizaci nervosvalové ploténky \rightarrow akční potenciál a jeho šíření.
 - Vzniká excitační potenciál na nervosvalové ploténce
 - K otevření iontových kanálů dojde teprve po navázání 2 molekul ACh.
- **Př. GABA interakcí s GABA_A -receptorem** – vytváří iontový kanál pro Cl^- . GABA zvyšuje průnik Cl^- do buňky \rightarrow hyperpolarizace \rightarrow vznik inhibičního postsynaptického potenciálu



2. Receptory spřážené s G-proteinem

- Tato skupina zahrnuje velké množství receptorů, např. receptory pro noradrenalin, adrenalin, dopamin, histaminové receptory, muskarinové, cholinergní, opioidní receptory
- Ve formě α -šroubovice 7x prochází fosfolip. matrix. Je zde umístěno vazebné místo pro transmitter
- Transdukci signálu zajišťuje – **G-protein**
 - Skládá se ze 3 podjednotek, za klidového stavu je na α -podjednotku vázán GDP.
 - Navázání transmitteru \rightarrow GDP se uvolní a naváže se GTP
 - α -podjednotka se uvolní od ostatních podjednotek a dostane se do styku s efektorovým proteinem a změní jeho funkční stav
 - α -podjednotka má také GTPázovou aktivitu (oddělení 1 fosfátové skupiny a vzniká opět GDP). Nato se α -podjednotka uvolní od efektorového proteinu a naváže opět spojení s podjednotkami β a γ . Situace se vrací do původního stavu.



Efaktorové proteiny:

- ADENYLÁTCYKLÁZA

- Může být aktivována pomocí G-proteinů stimulačních nebo inhibována (G-proteiny inhibiční)
- V dalších kaskádách působí adenylátcyklaza prostřednictvím cAMP a proteinkinázy A
- Katalyzuje tvorbu cAMP = intracelulární messenger
- cAMP působí na proteinkinázu A a ta dále fosforyluje určité proteiny a mění jejich aktivitu

- FOSFOLIPÁZA C

- uvolňuje IP3 = intracelulární messenger – stimuluje ER k výdeji kalciových iontů do cytosolu a zvyšuje tak sekreci žláz nebo tonus hladkých svalů (receptory M3 – sekrece žláz, α 1-receptory – zvyšují tonus hladkého svalstva
- Po odštěpení IP3 se uvolní diacylglycerol – aktivuje proteinkinázu C, který fosforylací funkčních proteinů ovlivňuje činnost buněk

- Iontové kanály, zejména protein kaliového kanálu v srdci, který se otevírá po stimulaci muskarinových M2-receptorů

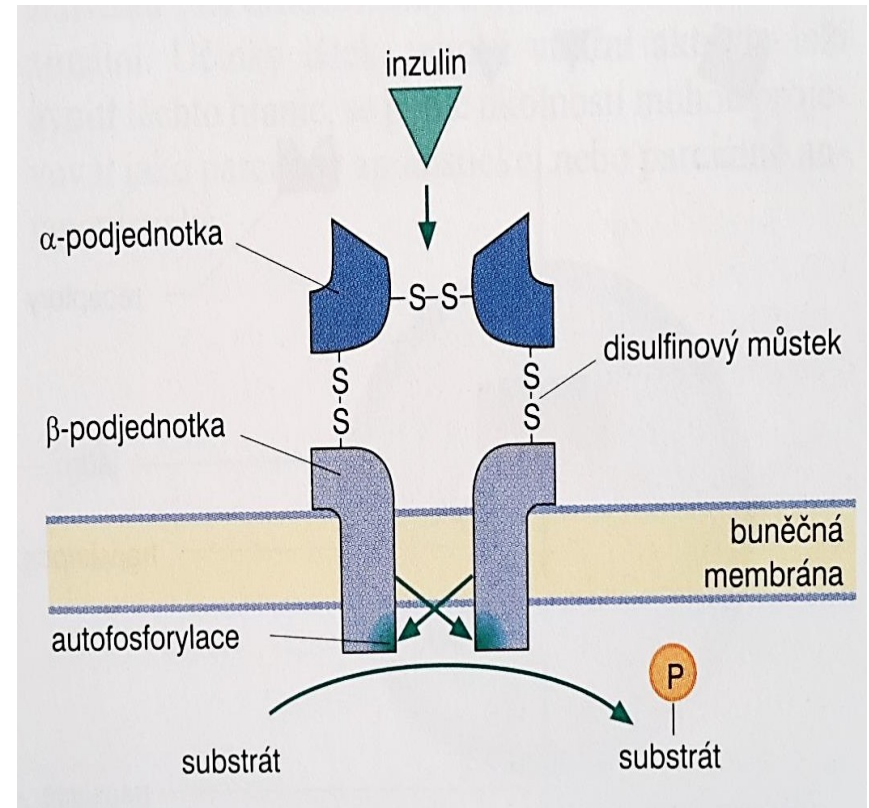
- FOSFOLIPÁZA A2 – uvolňuje kys arachidonovou pro syntézu prostaglandinů

- Guanylátcykláza vytvářející cGMP, které zase aktivuje proteinovou kinázu

3. Receptory s enzymovou aktivitou

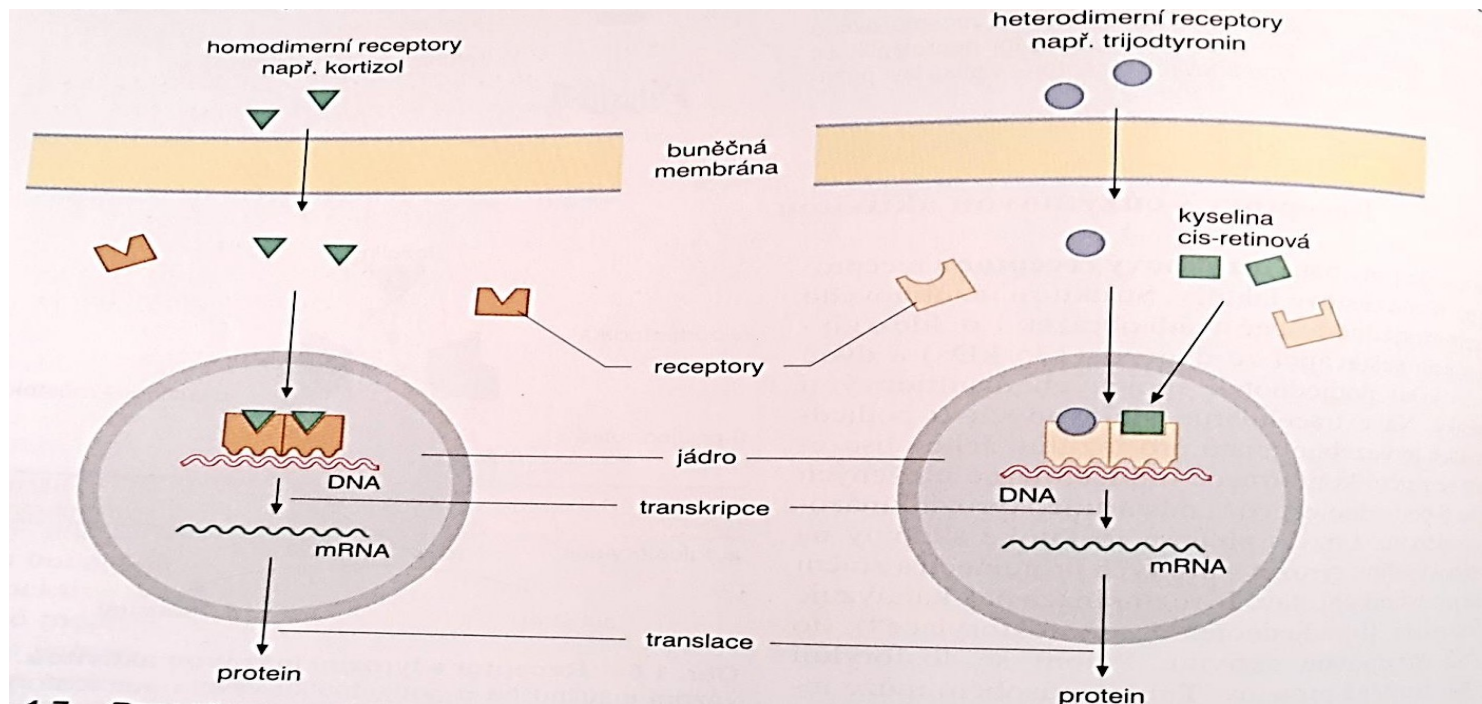
- Př. Inzulínový receptor (a receptory pro různé růstové faktory)
 - Jde o glykoprotein sestávající ze 2 podjednotek α a dvou β
 - Na extracelulárně lokaliz. α podjednotkách je vazebné místo pro inzulín
 - Navázáním inzulínu se změní konformace intracelulárně uložených β -podjednotek, což odstartuje **tyrozinkinázovou aktivitu**
 - Tyrozinkináza katalyzuje fosforylaci β -podjednotek (autofosforylace). Potom se fosforylují i další buněčné proteiny

Inzulínový receptor



4. Receptory regulující transkripci DNA

- Od ostatních se liší svou lokalizací – **cytosol nebo buněčné jádro**
- Ligand musí být dostatečně hydrofobní nebo musí využít některý transportní systém
- Receptory mají 2 specifická vazebná místa – jedno pro vazbu ligandu, druhé má schopnost připojit se k promotorové oblasti určitých genů
- Komplexy ligandu s receptorem figurují jako transkripční faktory a mohou stimulovat nebo inhibovat expresi genů. Změny exprese přenesou mRNA (transkripce) na syntézu proteinů na ribozomech (translace).
- Celý tento pochod je časově náročný (hodiny)



Další (nereceptorové) mechanismy působení látek - příklady

- **Ovlivnění iontových kanálů**

- Blokace sodíkových kanálů – lokální anestetika
- Blokáda napěťově řízených vápníkových kanálů - blokátory kalciových kanálů
- Průnik draslíkovými kanály – antiarytmika

- **Ovlivnění Na^+/K^+ -ATPázy**

- Blokáda srdečními glykosidy

- **Ovlivnění $\text{Na}^+/\text{K}^+/\text{2Cl}^-$ kotransportéru**

- V Henleově kličce v ledvinách – furosemid

- **Ovlivnění protonové pumpy v žaludku**

- Inhibitory protonové pumpy – omeprazol, pantoprazol..

- **Zvýšení nabídky substrátu**

- Podávání levodopy, z níž se v organismu vytváří dopamin – léčba parkinsonovy choroby

- **Blokáda degradace bioaktivní látky**

- Inhibice acetylcholinesterázy selektivními inhibitory (neostigmin, pyridostigmin,..)

- **Působení antibiotik a chemoterapeutik**

- Postihují metabolismus a funkci mikroorganismů

Receptorové mechanismy

- **AFINITA**

- Charakterizuje schopnost látky vázat se při určité koncentraci na daný receptor

- **VNITŘNÍ AKTIVITA**

- Maximální agonistický účinek
- Vyjadřuje schopnost látky vyvolat na receptoru změny spouštějící příslušnou reakci a lze ji charakterizovat maximálním dosažitelným účinkem dané látky
- Její velikost se určuje arabskými číslicemi (max. účinnost = 1)
- Dle kvantitativních hodnot vnitřní aktivity se látky označují jako:

- **AGONISTA**
- **ANTAGONISTA**
- **PARCIÁLNÍ AGONISTA**

AGONISTÉ

- Jsou látky, které se vážou na receptor (mají vysokou afinitu a vysokou vnitřní aktivitu)
- Agonista s vnitřní aktivitou blízkou hodnotě 1 se označuje jako plný agonista

ANTAGONISTÉ

- Interagují s receptory a inhibují tím účinek agonistů, ale sami o sobě žádný vlastní účinek neiniciují

1. Kompetitivní antagonistá

- Reversibilně se váže na stejné receptory jako agonista, ale neaktivuje je (mají vysokou afinitu , nemá vnitřní aktivitu)
- Blokuje v závislosti na koncentraci část receptorů, takže agonista ztrácí na účinnosti
- Vysoká koncentrace antagonisty účinky agonisty zcela blokuje a naopak
- Koncentrace agonisty, potřebná k vyvolání daného účinku v přítomnosti určité koncentrace kompetitiv. Antagonisty, je větší než koncentrace agonisty, která je potřebná k vyvolání téhož účinku v nepřítomnosti antagonisty
- Příklad: Acetylcholin – atropin , histamin - antihistaminika

2. Nekompetitivní antagonist

- Ireversibilně se váže na stejný receptor jako agonisté
- Zvýšeným přívodem agonisty se antagonistický účinek nedá překonat
- Ireversibilní antagonisté snižují maximální efekt, jenž může agonista dosáhnout (ani vysoká koncentrace agonisty nemůže vyvolat odpověď srovnatelnou s předchozí maximální odpovědí)

3. Alosterický antagonismus

- Váže-li se antagonist v sousedství vlastní vazebné oblasti receptoru, může změnit specifickou sterickou konformaci receptorového proteinu natolik, že agonista mu již svým sterickým uspořádáním neodpovídá optimálně a že jeho účinnost je oslabena

4. Funkční antagonismus

- Agonista a antagonist působí na rozdílné cílové struktury, jejichž protichůdné účinky se však projevují na témže orgánu

5. Chemický antagonismus

- Chemická reakce mezi zúčastněnými látkami: heparin/protamin

PARCIÁLNÍ AGONISTÉ

- Vyvolávají nižší odpověď při plném receptorovém obsazení než čisté agonisté
- Mají malý agonistický účinek (>0 a <1) při samostatném působení a při současném působení se silnějšími agonisty kompetitivně antagonizují jejich účinky
- Mají malou vnitřní aktivitu, ale afinita je vysoká

TERAPEUTICKÉ MONITOROVÁNÍ LÉČIV (TDM)

- **TDM je multidisciplinární obor**
 - Zahrnuje klinickou farmakologii a klinickou farmacii, klinickou biochemii, klinickou patologii, klinickou toxikologii, analytickou chemii a další odvětví medicíny
 - Je to interdisciplinární obor
- TDM = praktická aplikace farmakokinetických a farmakodynamických principů, jež **slouží k optimalizaci farmakoterapie u konkrétního pacienta**
- Při TDM se měří koncentrace léčiva (příp. jeho metabolitů) v krevních vzorcích pacienta odebraných v definované časovém intervalu od poslední podané dávky léčiva.
- Na základě naměřených hodnot, při zvážení klinického stavu pacienta a s přihlédnutím k farmakokinetice léčiva se optimalizuje další dávkování léčiva tak, aby jeho účinnost a bezpečnost byla co nejvyšší.
- **Cílem TDM je optimalizace dávkového režimu (= stanovení vhodné dávky a dávkového intervalu)**
- TDM je účinný **nástroj nákladové efektivity**
- Historie...

Možnosti klinického použití TDM

- **Indikace TDM není nutný pro všechna léčiva**
- Existují však léčiva s tzv. úzkým terapeutickým rozmezím, u nichž je rozdíl mezi účinnou a toxickou koncentrací velmi úzký

antibiotika	amikacin, gentamicin, netilmicin, tobramycin, vankomycin
antidepresiva	lithium
antiepileptika	etosuximid, primidon, valproát, karbamazepin, fenytoin, lamotrigin, ...
bronchodilatancia	theofylin
cytostatika	methotrexat, busulfan
imunosupresiva	cyklofosfamid, mykofenolát, sirolimus, takrolimus
kardiotonika	digoxin
antimykotika	vorikonazol, posakonazol

Odběr vzorků

- pro realizaci TDM potřebujeme vzorky biologického materiálu a nezbytné údaje o pacientovi
- Vzorek – plazma, sérum, krev, slina, moč, mozkomíšní mok, žluč, peritoneální tekutina/dialyzát
- Správně označené vzorky + neprodleně odeslat do laboratoře , zpracovat, analyzovat
- Vzorky musí být odebrány ze správného místa, do správného kontejneru
- **Vzorek krve – odebrán z jiné žíly, než do které byl lék aplikován**

Dle doby odběru vzorku od podání rozlišujeme:

- Tzv. trough - vzorek odebraný bezprostředně před aplikací další dávky
- Tzv. peak – vzorek odebraný 30 min. – 2 hod. po ukončení infuze nebo 2 – 8 hod. po p.o. aplikaci
- Tzv. random – vzorek odebraný kdykoliv (často naléhavý – k odhalení toxicity)
- Většina léčiv – trough (popř. peak)
- Through – slouží jak k odhalení toxicity, tak ke zjištění nedostatečné optimální koncentrace
- **Důležitý je čas odběru vzorku!!!**

Údaje nezbytné pro správnou interpretaci TDM

- Identifikace subjektů (zařízení, žadatel)
- typ požadavku (urgence, důvod)
- Diagnóza/ problém
- Typ vzorku
- Datum
- Přesný čas odběru vzorku
- Hmotnost, výška, váha, pohlaví pacienta
- Současná léčba (stav nemoci)
- Schéma dávkování (aplikační cesta, dávka, dávkovací interval)
- Parametry renálních funkcí včetně dialýzy
- Současně aplikované léky

Metody analýz při TDM

- Akreditované laboratoře
- Analytické metody pro zjištění plazmatických koncentrací léků musí být dostatečně citlivé, aby umožnily stanovení i minimální přítomnosti dané substance ve zvoleném vzorku
- Analytické metody – přesné a precizní!
- Analytický proces by měl být dostupný, jednoduchý, rychlý a nákladově efektivní

- Mnoho lékových analýz se provádí automatizovanými imunochemickými stanoveními.
- Některé lékové analýzy ale stále vyžadují použití manuálně kontrolovaných metod, jako je vysoko účinná kapalinová či plynová chromatografie (HPLC, GC)

Postanalytická fáze

- Klinické posouzení výsledků – vyžaduje fundamentální, praktické, analytické a medicínské dovednosti
- Pouze číslo dodané z laboratoře – nic neznamena – k interpretaci je nutná znalost farmakokinetických/farmakodynamických pochodů

Doporučení k monitorování některých léčiv z hlediska času odběru vzorku		
lék	Čas dosažení ustáleného stavu	Doporuč. k monitorování a čas odběru
digoxin	5 – 7 dnů	Trough – odběr za více než 6 hod.po dávce
theofylin	3 dny	Peak (záleží na aplikační cestě)
valproát	2 – 4 dny	Trough – odběr těsně před podání dávkou
vankomycin	20 – 30 hod.	Trough – odběr těsně před podání dávkou
fenytoin	1 – 5 týdnů	Trough – odběr těsně před podání dávkou

Pohled na terapeutická rozmezí

- Terapeutické rozmezí = rozmezí mezi minimální účinnou a potenciálně toxickou koncentrací . Jsou pouze orientační, nelze je považovat za neměnná
- Léčíme pacienta jako celek, ne pouze laboratorní hodnoty, čísla!
- Terapeutická rozmezí se mohou u jedinců lišit!
- Někteří jedinci mohou dosáhnout léčebného účinku jiný při mnohem nižší koncentraci nebo se u nich mohou naopak objevit nežádoucí účinky, aniž by byla překročena horní hranice terapeutického rozmezí.