# Kapitola 20 Monitorování hladiny léčiv

V praxi klinické laboratoře se velmi často stanovují v plazmě či v séru hladiny léků, za účelem terapeutického monitorování (*TDM, Therapeutic Drug Monitoring*), jehož cílem je

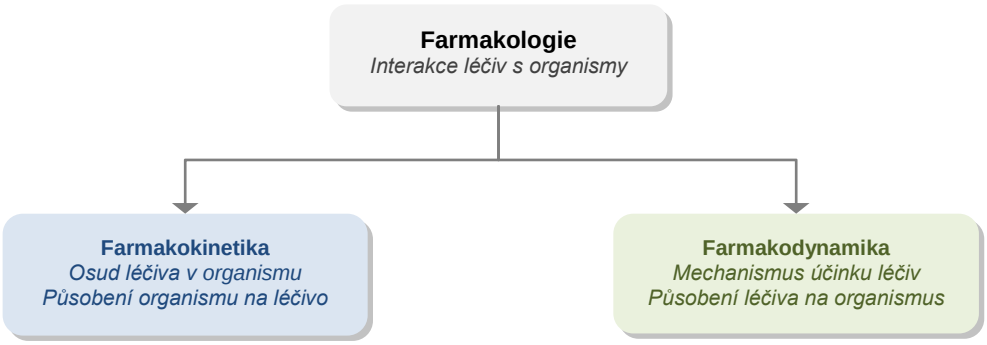
- určení dávkování léčiva,
- určení dávky antagonisty
- stanovení intoxikace a
- kontrola toxicity léčiv či kontrola dodržování farmakoterapeutického režimu nemocným.

Snižuje se tím nebezpečí předávkování či naopak poddávkování léčivy, což zkracuje celkovou dobu podávání léčiv (medikace) a zkvalitňuje farmakoterapii. Z laboratorního hlediska je k monitorování hladiny léčiv potřeba především vhodná a dostupná analytická metoda.

## 20.1. Základní pojmy z farmakologie

**Farmakologie** je vědní obor studující interakce léčiv s organismy. Tyto interakce jsou vzájemné – léčivo působí na organismus a současně je vystaveno účinkům organismu. Farmakologie má dvě základní součásti – farmakokinetiku a farmakodynamiku.

- *Farmakokinetika* se zabývá osudem léčiv v organismu (tj. působením organismu na léčivo). Předmětem jejího studia je absorpce, distribuce a metabolismus léčiva, jeho eliminace z organismu a v neposlední řadě též časový průběh koncentrace léčiva v různých tkáních a tělních tekutinách.
- *Farmakodynamika* se zabývá mechanismem účinku léčiv (tj. působením léčiva na organismus) a je proto považována za základ farmakologie




*Léčivem* se rozumí jakákoli látka nebo směs látek, které se podávají člověku nebo zvířeti k profylaxi, diagnóze, léčení nebo mírnění chorob či k ovlivnění fyziologických funkcí.

*Kompartment (*oddíl) je prostor, v jehož celém objemu jsou hodnoty různých parametrů charakterizujících pohyb a chování léčiva konstantní *(např. difúzní koeficient, stupeň disociace apod.).* Kompartment byl definován pro farmakokinetické analýzy a pro tyto účely se organismus považuje za *systém vzájemně propojených kompartmentů.*
*Za hlavní kompartmenty se považují*

- *plazma (IVT,* případně i krev),
- *intracelulární* a
- *extracelulární tekutina*,
- *tuková tkáň.*

## 20.2. Farmakokinetika

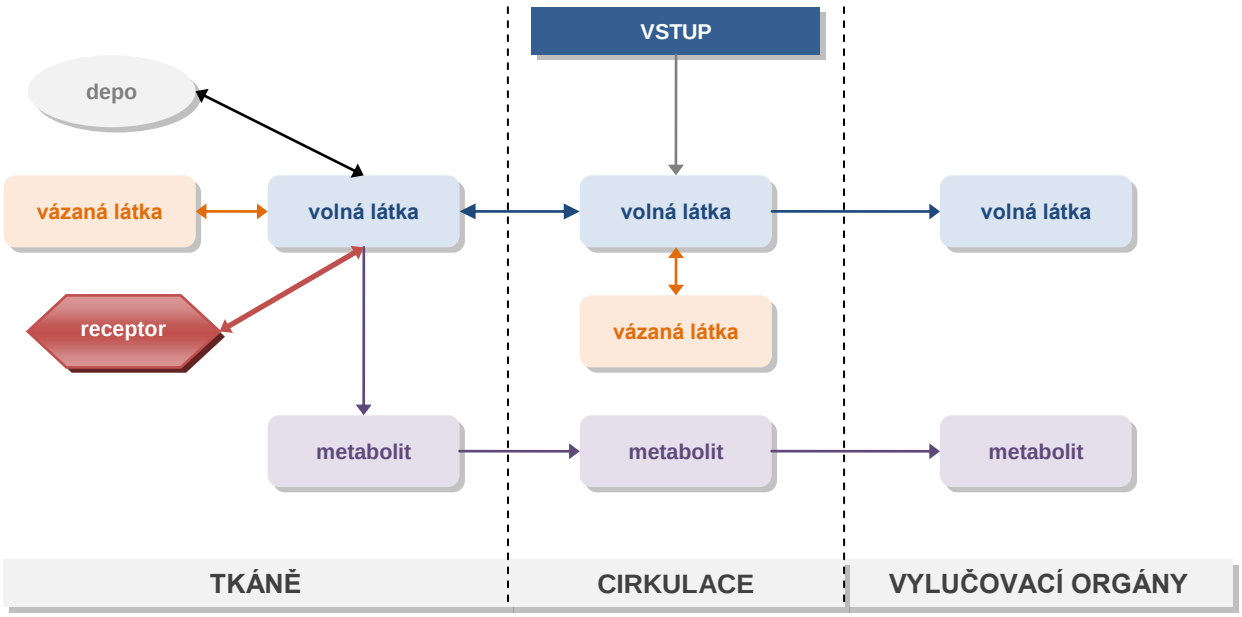
Farmakokinetika se zabývá především kvantitativními závislostmi vstupu léčiv do organismu, celkovou biologickou dostupností léčiva, jeho rozdělením čili distribucí a redistribucí v organismu, vlivem prvního průtoku játry, přeměnou čili biotransformací léčiva v játrech a eliminací ledvinami.
Obecné pochody, kterými látka v organismu prochází, tedy jsou

- *absorpce* (vstřebání; v některých pramenech se uvádí i termín *resorpce* ve stejném významu)
- *distribuce* (rozdělení v organismu)
- *eliminace* (odstranění látky = její metabolismus čili biotransformace a vyloučení).

Z fyzikálněchemického hlediska se látka opakovaně
- rozděluje mezi dvě či více fází
- adsorbuje či váže na bílkoviny
- prochází membránami (oddělujícími jednotlivé oddíly organismu).

Uvedené děje lze vyjádřit matematicky a farmakokinetickou analýzou lze určit *farmakokinetické parametry.*

**Osud látky v organismu**




**Legenda k obrázku:** Vlastní účinek je dán pouze molekulami působícími na *receptor* (tj. malým podílem celkového množství látky). Z jednoho prostředí do druhého přecházejí pouze *volné molekuly*. Vazbou na bílkoviny se tato schopnost dočasně ztrácí. Dočasně proto, že většinou je tato vazba reverzibilní. Vazba na bílkoviny prodlužuje (ale přitom zeslabuje) působení látky; je prodloužen a zpomalen i její metabolismus a vylučování. Míra prodloužení a zeslabení účinku látky závisí na stupni afinity látky k bílkovinám. Podrobněji je obrázek rozkreslen v Dodatku na *str.20-19.*

## 20.2.1. Prostup látek biologickými membránami

Mechanismus prostupu látek biologickými membránami je značně limitujícím faktorem pohybu látek v organismu. Nepolární látky, snadno rozpustné v lipidech, mohou difundovat buněčnými membránami. Rychlost absorpce ze střeva, průnik do centrálního nervového systému, rozsah a způsob eliminace a další farmakokinetické procesy budou tak do značné míry záviset na rozpustnosti léčiva v lipidech. Neionizované formy léčiva jsou lipofilnější než ionizované formy a snadněji procházejí lipoidními membránami. V ustáleném stavu dosahují stejné koncentrace ve všech orgánech. Stupeň ionizace přitom záleží na hodnotě pH v konkrétní tkáni. Různé formy léčiva se proto budou různě vstřebávat např. v žaludku a v duodenu, bude se lišit i celková (ionizovaná a neionizovaná) koncentrace léčiva v různých tělesných oddílech - kompartmentech. Rovněž vylučování ledvinami je ovlivněno hodnotou pH a lze proto ovlivněním pH moči ovlivnit i vylučování konkrétního léčiva.
Stručná zmínka o těchto dějích je v *Dodatcích* na konci kapitoly.

## 20.2.2. Vstup léčiva do organismu

Svůj význam má i forma podání léčiva, jejíž základní formy jsou dále vyčteny.

*Lokální podání:* aplikace na kůži, sliznice, do tělních dutin (výplachy). Používá se většinou pro místní účinek, někdy i pro celkový účinek po lokálním podání (využití dobré resorpce látky kůží, resorpce ze sliznic apod.).

*Celkové podání:* do organismu se vpravují léčiva, od nichž se očekává výrazný účinek až po resorpci, tj. po průniku do celého organismu. Léčivo může vstoupit do organismu po resorpci sliznicí trávicího ústrojí – *enterální* podání, nebo jinou cestou – *parenterální* podání.

- *Enterální podání*
  - *sublingvální:* vstřebání některých léčiv (např. nitroglycerin) sliznicí ústní dutiny, což je pro tato léčiva rychlejší než ze žaludku a vzdálenějších částí trávicího ústroji; malé tablety se nechají rozpustit pod jazykem; léčivo obchází játra

  - *perorální:* léčivo se podává ústy, látka se resorbuje v trávicím ústrojí, přitom v žaludku nebývá resorpce významná, ale hrají zde důležitou roli jednak rozklad některých látek v kyselém prostředí žaludku, tyto látky je třeba chránit obalem, který se v žaludku nerozpouští a rozpouští se až v alkalickém prostředí střeva (tvrzená želatina, enterosolventní povlak) jednak lokální dráždění žaludeční sliznice přímým stykem s dráždivou látkou, což může vést k pocitu nevolnosti (nauzea) a zvracení – léčivo se musí v tomto případě podávat zředěné, nebo v roztoku s přísadou hlenovitých látek, podává se po jídle (ne nalačno); někdy naopak je podání nalačno výhodné – žaludeční obsah nebývá kyselý, je urychleno vstřebávání ze sliznic, látky se nevážou na části potravy atd.; látky resorbované z žaludku a z tenkého střeva procházejí játry kde mohou být metabolizovány a jejich účinek snížen

  - *rektální:* četná léčiva se rychle a dobře resorbují z rektální sliznice; léčivo obchází játra; používají se čípky nebo léčebné klyzma do 50 ml (větší množství tekutiny vyvolá defekační reflex)

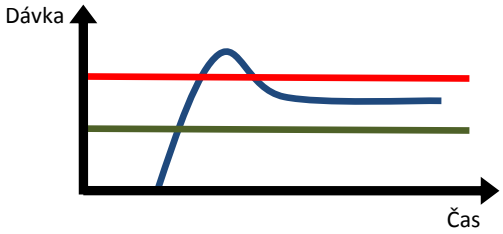
- *Parenterální podání*
  - *injekce:*
    - *intravenózní* (sterilní nepyrogenní vodné roztoky), nejrychlejší a nejintenzivnější účinek léčiva
    - *intramuskulární (*sterilní nepyrogenní roztoky, suspenze nebo emulze, vodné nebo olejové, nikoli lokálně dráždivé), o něco pomalejší a slabší účinek než při intravenózní aplikaci
    - *subkutánní* (sterilní, nepyrogenní, izotonické, nedráždící vodné roztoky), slabší a pomalejší účinek než při intramuskulární aplikace
    - *jiné:* (intrapleurální, intraarteriální, intraperitoneální, intralumbální, intraartikulární…), méně častější použití, např. pro lokální účinek látky (intraartikulární)

  - *inhalace:* plyn, pára nebo aerosol se dostávají do dýchacích cest a přestupuje alveolární stěnou či sliznicí bronchů přímo do krve; velmi rychlý účinek (podobně jak u intravenózního podání)

  - *iontoforéza:* z pacientova těla se vytvoří jedna elektroda, druhá elektroda se zavede do roztoku léčiva, které je disociováno na ionty; příslušná část těla se ponoří do roztoku léčiva a žádaný ion přechází neporušenou kůží do organismu

## 20.2.3. Absorpce/resorpce léčiva

Úplnost a rychlost absorpce do značné míry určuje rychlost nástupu, intenzitu a často i dobu trvání účinku léčiva. Absorpce závisí na (minimálně) těchto faktorech:



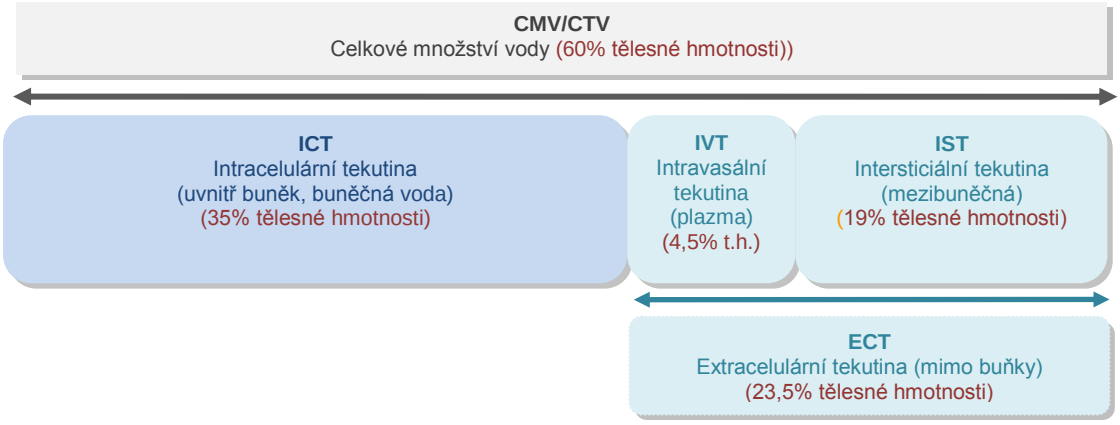

**Možný průběh ustalování hladiny léčiva** v krvi po jeho podání. Z obrázku je zřejmé, že vhodná doba odběru biologického materiálu je až po určité době, individuální pro každý lék a často i jedince.

- *Aplikační cesta:* detaily jsou uvedeny v odstavci *18.2.2*. výš; účinek léčiva se zpomaluje, zmírňuje a prodlužuje v tomto pořadí přívodných cest – intravenózní, inhalační, intramuskulární, rektální, subkutánní, perorální
- *Rozpustnost léčiva*: je zde přímá úměra mezi rozpustností léčiva a resorpcí a účinkem léčiva – čím pomaleji se léčivo rozpouští (tablety perorálně, suspenze intramuskulárně), tím pomalejší a protrahovanější je resorpce i účinek; nepřímá úměra panuje mezi velikostí částice a rozpustností – čím větší částice, tím pomaleji se rozpouští; tzv. *depotní přípravky* bývají buď suspenze těžko rozpustných solí nebo komplexů (parenterální podání), nebo olejové roztoky či suspenze (intramuskulární podání)), v obou případech na místě podání vytvářejí „skla“, „depo“ a díky zpomalenému rozpouštění a přecházení do oběhu mají dlouhodobý účinek
- *Koncentrace roztoku léčiva:* do určité míry platí, že čím vyšší koncentrační spád mezi podanou látkou a organismem (vysoká koncentrace léčiva), tím rychlejší resorpce; při velmi vysokých koncentracích léčiva se naopak resorpce zpomaluje
- *Prokrvení:* prokrvení podporuje resorpci
- *Velikost resorpční plochy:* čím větší resorpční plocha, tím rychlejší resorpce
- *Schopnost látky pronikat membránou* ovlivňuje resorpce u jiných než injekčních forem podání

## 20.2.4. Distribuce léčiva

Resorbované léčivo se v organismu rozděluje do různých kompartmentů, většinou se uvažují prostory ICT a ECT případně tuková tkáň: může se rozdělit buď pouze do plazmy (IVT), nebo do veškeré extracelulární tekutiny (ECT) či do veškeré tělesné vody (CMV/CTV).

**Rozdělení vody v organismu**




**Pro CTV, ICT a ECT platí přibližně tyto hodnoty** *(člověk s hmotností 75 kg):*

| CMV: | 45 l | CMV = celkové množství vody, též CTV = celková tělesná voda |
|---|---|---|
| ICT: | 27 l | ICT = intracelulární tekutina |
| ECT: | 17 l | ECT = extracelulární tekutina; ECT = IVT (intravazální tekutina) + IST (intersticiální tekutina |
| IVT: | 3 l | ***Poznámka:*** *veškerý objem IVT včetně ICT erytrocytů je asi 8,5% tělesné hmotnosti, v daném případě cca 6 l* |
| IST: | 14 l | |

Mezi množstvím látky rovnoměrně rozděleným v určitém prostoru a mezi její koncentrací platí jednoduchý vztah

$$V_d = M/C$$

kde M = absolutní množství přítomné látky, C = nalezená koncentrace látky a $V_d$ = je distribuční objem.

***Distribuční objem je jedním z farmakokinetických parametrů***
Je to poměr mezi absolutním množstvím přítomné látky a nalezenou koncentrací látky a může poskytnout důležitou informaci o rozdělení látky v organismu.

**Příklad:** Byly podány 4g látky, v plazmě byla nalezena koncentrace 0,1 g/l. Po dosazení do výše uvedeného vztahu vyplyne, že $V_d = 4/0,1 = 40$ [l]. V tomto případě došlo k rozdělení látky do prakticky veškeré tělesné vody.
Distribuční objem představuje *významnou biomatematickou konstantu*, ta v četných případech však ne zcela spolehlivě udává reálný prostor, ve kterém je látka homogenně rozdělena – tomu často brání řada procesů vedoucích k nerovnoměrnosti rozdělení v různých oblastech či oddílech (kompartmentech) organismu. V klinické praxi se uplatňuje při stanovení počáteční dávky. Čím větší je distribuční objem, tím menší je koncentrace dosažená po stejné dávce léčiva.

***Dalšími farmakokinetickým parametry jsou***

- *poločas eliminace*, který charakterizuje rychlost eliminace léčiva z organismu,
- *celková clearance*, která vyjadřuje množství plazmy nebo krve, které se úplně očistí od dané látky za jednotku času *všemi eliminačními cestami a*
- *biologická dostupnost*, která souhrnně označuje podíl účinné látky, který se dostává do systémového krevního oběhu.

***Rozdělení látek v organismu ovlivňují především tyto děje:***

- *vazba na bílkoviny krevní plazmy:* mnohá léčiva se s různou intenzitou vážou na krevní bílkoviny, zvláště na albumin; protože přes membrány mohou přestupovat pouze volné molekuly, je vazbou na bílkoviny zpomalen, prodloužen a oslaben jak účinek látky, tak i její metabolismus a vylučování; látky s výraznou vazbou na albumin se zdržují v plazmě (nález poměrně vysokých koncentrací) a není-li při stanovení rozlišena volná a vázaná forma látky, vycházejí při výpočtu distribučního objemu relativně nízké hodnoty

- *prostup do orgánů a vazba na orgány*: v IST jej poměrně nízká hladina bílkovin, takže látky, které mohou prostoupit do tohoto prostoru (volné nízkomolekulární látky) nejsou brzděny vazbou na bílkoviny a mohou působit na buněčnou membránu a pronikat do buňky; zde potom platí vše co již bylo řečeno o prostupu membránami – svou roli pro rozdělení látky v intracelulárním a extracelulárním prostoru a pro vazbu na lipoidní i bílkovinné struktury buňky zde hrají její lipofilie, ionizace a afinita ke tkáňovým bílkovinám; látka se může vázat na indiferentní struktury, rozpustit v buněčných lipidech, hromadit se v tukové tkáni aj.; tyto skutečnosti vedou k tomu, že se sice z nízké koncentrace látky v plazmě vypočítá velký distribuční objem (který může i značně překročit objem celého organismu), ale neodpovídá to reálnému prostoru, ve kterém je látka skutečně rozptýlena

- *přestup do dutin* (tzv. třetí či transcelulární prostor, TCT, asi 1,5% celkové tělesné hmotnosti; např. pleurální a peritoneální): mnohá léčiva (důležité u některých chemoterapeutik a antibiotik) pronikají do dutin špatně

- *přestup do mozkomíšního moku:* přestupu látek obecně brání hematoencefalická bariéra (*BBB, viz kapitola 15)*, kterou procházejí prakticky pouze silně lipofilní látky; likvor se poměrně rychle tvoří i odtéká, takže vysoké koncentrace látek v mozku se dosahuje obtížně a mohou jí dosáhnout pouze látky velmi snadno prostupující membránou (důležité pro neurotropní léčiva, chemoterapeutika a antibiotika)

- *prostup placentou:* i zde existuje "placentární bariéra", kterou lépe pronikají lipofilní látky; prostup placentou je důležitý z hlediska možného ovlivnění embrya (např. teratogenní účinky látky) a plodu (např. útlum dechového centra forfinem)

- *biotransformace a vylučování látky*: vedou k postupnému snižování celkového původně podaného množství látky v organismu

- *uvolnění léčiva z orgánů:* metabolismem a vylučováním léčiva dochází ke snižování jeho koncentrace v krvi a k jeho přesunu z tkání do krve; ke snižování hladiny ve tkáni může přispívat i biotransformace léčiva přímo v konkrétním orgánu

- *odchylky od obvyklého charakteru průniku:* způsobené individuálními a patologickými faktory (zánět, změny pH, hypoproteinémie, obsah tuku v organismu); mohou značně ovlivnit účinnost léčiva

## 20.2.5. Metabolismus léčiva

Převážná většina léčiv se v organismu metabolizuje (dochází k „biotransformaci"), pouze některá se nemění a vylučují se nezměněna (éter). Nejvýznamnějším metabolickým orgánem jsou *játra,* metabolismus léčiv však může probíhat i v jiných orgánech (ledviny, plíce) a v krvi. Snížená funkce příslušného orgánu, zvl. porucha detoxikace v játrech (pacienti s jaterními chorobami) může vést k nahromadění léčiva a k intoxikaci organismu i při podávání nízkých dávek léčiva. Stejný efekt má ovšem i nedostatečná funkce např. ledvin.

Cílem biotransformace je tvorba hydrofilnějšího, polárnějšího metabolitu, který bude rozpustnější ve vodě, a který se bude snadněji vylučovat ledvinami, než původní, lipofilní látka. Většina přeměn je enzymových *(oxidace, redukce, hydrolýza, metylace, demetylace, konjugace – s kyselinou glukuronovou či sírovou, acetylace),* některé přeměny jsou neenzymové. Často je určitá látka metabolizována současně různými cestami. Většina biotransformačních oxidačních reakcí je katalyzována *cytochrom 450 monooxygenasovým systémem* lokalizovaným v játrech.

Biologická účinnost produktu bývá podstatně nižší než původní látky (bioinaktivace, „detoxikace").
V některých případech je tomu naopak a vlastní účinnou látkou je metabolit (bioaktivace).
Během metabolismu mohou metabolity léčiv fungovat jako *inhibitory* enzymových systémů pro jiné metabolické cesty. Jindy naopak metabolity působí jako *induktory* některých enzymů a zvyšují jejich tvorbu. Vesměs se jedná o enzymy s nízkou substrátovou specifitou, takže metabolizují kromě látky, která indukci vyvolala i látky jiné, např. další léčiva podávaná později a snižují tak jejich účinnost.

*Genetické podmíněné odchylky v metabolismu léčiv* mohou podstatně měnit účinnost látek. Polymorfismus metabolické cesty má za následek, že lze v populaci nalézt jedince, u kterých je příslušná enzymatická aktivita neaktivní (tzv. *pomalí metabolizátoři*, PM), jedince s neúplnou ztrátou aktivity enzymu (tzv. *intermediární metabolizátoři*, IM) a jedince s obvyklou aktivitou metabolické přeměny (tzv. *rychlí metabolizátoři,* EM). Kromě toho existují i jedinci zvaní *ultrarychlí metabolizátoři*, UM. U metabolizátorů PM se léčivo kumuluje v cílové tkáni, což se může projevit jako toxický a nežádoucí účinek léku. U metabolizátorů UM mohou naopak být koncentrace léčiva v cílové tkáni nižší než minimální účinné.

Metodami zaměřenými na odhalování genetického polymorfismu v metabolismu léčiv, jehož podstatou jsou genové mutace, popisem determinant, individualizací terapie, predikcí metabolické přeměny a odpovědí nemocného na konkrétní léčivo na základě znalostí o genetickém polymorfismu u jedince, se zabývá *farmakogenetika*. Významné místo mezi různými polymorfními enzymy zaujímá *cytochrom p450.*

## 20.2.6. Vylučování léčiva

V principu se léčivo může vyloučit ledvinami a trávicím ústrojím.

***Vylučování ledvinami je nečastější a nejvýznamnější způsob vylučování.***
Intenzita vylučování závisí na kombinaci základních dějů:

- *glomerulární filtrace:* neprocházejí látky vázané na bílkoviny plazmy a látky s molekulovou nad cca 65 000 (*viz kapitola 5*); koncentrace volné formy látky v moč se nemění, protože se látka vylučuje s odpovídajícím množstvím vody (klesá celkové množství, ne však koncentrace látky)
- *tubulární pasivní difuse*: po resorpci vody v tubulu dojde ke zvýšení látky v moči a na základě takto vzniklého koncentračního gradientu dochází k pasivní difusi (platí pro látky s dobrým prostupem biologickými membránami, tj. nedisociované, lipofilní)
- *tubulární aktivní resorpce:* aktivní zpětný transport s limitovanou kapacitou, může být snížen látkami soutěžícími o stejný transportní mechanismus
- *tubulární sekrece*: aktivní vylučování (mimo glomeruly) transportním mechanismem s omezenou kapacitou; vazba na bílkoviny není překážkou (nejde o filtraci přes bazální membránu); koncentrace látky v plazmě klesá, protože se přenáší samotná látka bez odpovídajícího množství vody, následkem je další uvolňování molekul látky z vazby na bílkoviny (zachování rovnovážné konstanty mezi volnou a vázanou formou látky)

***Obvyklé kombinace***

- prostá glomerulární filtrace
- glomerulární filtrace + pasivní zpětná difuse v tubulech
- glomerulární filtrace + aktivní zpětná resorpce v tubulech
- glomerulární filtrace + aktivní tubulární sekrece
- glomerulární filtrace + pasivní difuse + aktivní sekrece, případně + aktivní resorpce

*Vylučování ledvinami* bude ovlivněno zejména

- stavem funkce ledvin
- stavem cirkulace
- acidobazickými poměry
- podáním látky blokujícím některý aktivní transportní mechanismus

Při snížené funkci ledvin je nutno snížit dávkování léčiva (hrozba intoxikace, viz výš).
Úpravou pH moči či podáním diuretik lze urychlit eliminaci některých látek z organismu při intoxikacích (kyselé látky se lépe vylučují do alkalické moči a naopak).

***Trávicím ústrojím se vylučují látky, které se po perorálním podání vůbec neresorbovaly.***

Dále je to řada dalších látek, které se vylučují

- kyselým žaludečním sekretem (alkaloidy, zásadité látky)
- zásaditým střevním sekretem (slabě kyselé látky)
- sliznicí tlustého střeva (např. ionty těžkých kovů – z těchto důvodů mohou vyvolat kolitidu)
- žlučí (jen některé látky, např. tetracyklinová antibiotika, která navíc prodělávají enterohepatální cyklus, tj. po vyloučení žlučí se znovu resorbují znovu ze střeva, opět se vyloučí žlučí, atd.)

***Vylučování plícemi***
Touto cestou se vylučují plyny a páry těkavých kapalin (inhalační celková anestetika)

***Vylučování mlékem***
Látky dobře rozpustné v tucích a látky slabě zásadité (mléko je kyselejší než plazma). Důležité pro posouzení možnosti ovlivnění kojence.

***Jiné vylučovací cesty***
Slinami či slzami – omezený význam.

## 20.3. Farmakodynamika

Léčivo působí na různých úrovních: na celý organismus, na jednotlivé orgány a tkáně, na buňky a molekuly. Určujícím činitelem farmakologického působení je *koncentrace léčiva*.

**Účinky léků** mohou být *specifické* a *nespecifické.*

**Nespecifický účinek**
Látka působí na základě svých obecných fyzikálně-chemických vlastností, neexistují vyhraněné požadavky na určitou přesnou chemickou strukturu či konfiguraci molekuly takovéhoto farmaka.

***Příklady:*** látky nepropustné pro rtg paprsky lze využít jako kontrastní látky pro radiologii, látky s velkým aktivním povrchem se používají jako adsorbencia, těkavé liposolubilní látky mohou vyvolat narkózu a používají se proto jako narkotika atd.

**Specifický účinek**
Specifický účinek *(efekt)* je vyvolán působením farmaka na molekulární *receptor* pro danou látku. Receptory byly zmíněny v kapitole 14 v souvislosti s účinkem hormonů. (Receptory jsou biopolymery, nejčastěji proteiny). Receptor obecně přijímá *(recipuje)* molekulu účinné látky (farmaka, hormonu, transmiteru), dojde k jeho aktivaci (změna konformace makromolekuly, změna rozložení elektrických nábojů, apod.) a ke spuštění řetězce reakcí vyúsťujících v konečný fyziologický nebo farmakodynamický účinek. Přirozenými ligandy receptorů jsou různé endogenní látky jako jsou hormony, neurotransmitery, tkáňové hormony apod. Látky, které po navázání na receptor vyvolávají podobné účinky jako přirozené ligandy se nazývají *agonisté*, látky, které brání účinku endogenních působků se nazývají *antagonisté*. Terapeutický význam mohou mít obojí.

Receptory obsahují vysoce specificky uspořádaná vazebná místa, proto farmaka (obecně látky) působící tímto způsobem musí mít zcela určité chemické složení se specializovanými požadavky na rozložení substituentů, nábojů a na sterickou konfiguraci. Již velmi malé strukturní změny molekuly mohou velmi významně ovlivnit účinnost látky.

Receptor má tedy schopnost vázat molekuly specifické konfigurace a vyvolat zcela určitou biologickou odpověď. Účinek látky (farmaka) bude ovlivněn

- *afinitou k receptoru:* schopností vytvořit komplex látka-receptor; afinita k receptoru je důležitá zejména u antagonistů; vazba na receptor může být reverzibilní (kompetitivní antagonismus, léčivo soutěží o vazbu na receptor s endogenním působkem) nebo může být afinita ligandu tak vysoká, že se váže prakticky nevratně, v krajním případě se ligand může vázat na receptor kovalentní vazbou (irreverzibilní antagonismus)
- *vnitřní aktivitou:* schopností vyvolat na receptoru změny spouštějící příslušnou reakci.

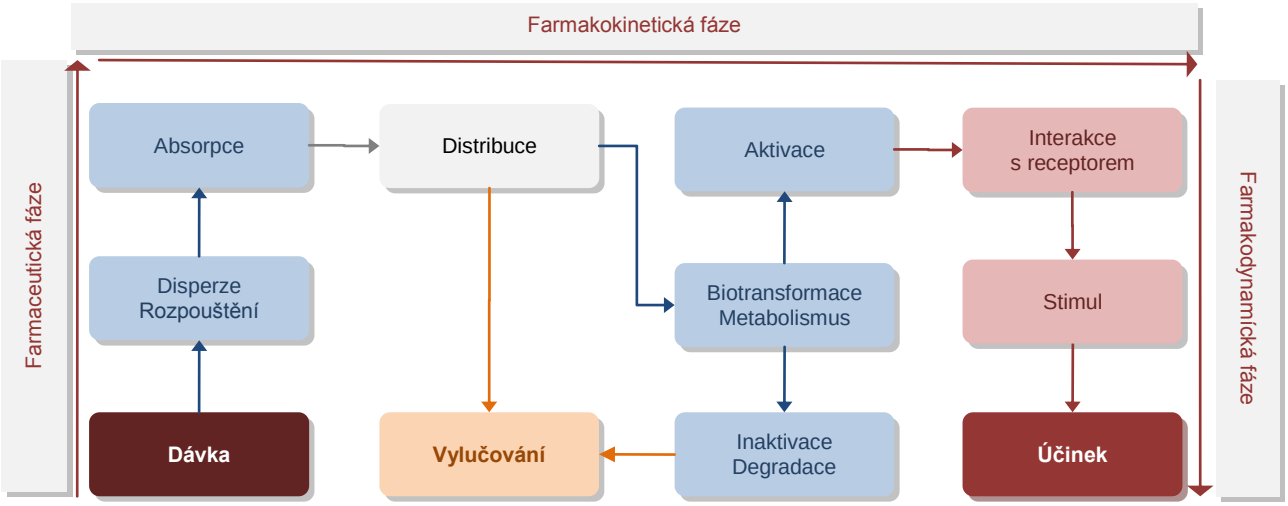
Rozdělení receptorů a způsob realizace účinku (u hormonů) je uvedeno v celku dostačující míře pro pochopení v kapitole 14, případně v kapitole 11. Jsou to především příklady spuštění řady biochemických reakcí, v daném případě (v kapitole 14) se jedná o (kladné) *ovlivnění aktivity enzymu* adenylátcyklázy prostřednictvím změny konformace receptoru vyvolané navázáním ligandu. Kromě aktivačních receptorů existují i receptory, které inhibují (prostřednictvím inhibičního G-proteinu) aktivitu adenylátcyklázy.

Podobně důležitým systémem je systém fosfolipázy C a fosfatidylinositolu. Aktivovaný membránový receptor prostřednictvím dalšího proteinu aktivuje fosfolipázu C na vnitřní straně membrány, která rozštěpí běžnou složku membrány fosfatidylinositol na diacylglycerol a inisitoltrifosfát. Ten vyplaví $Ca^{2+}$ z endoplazmatického retikula (buněčné depo). Zvýšená koncentrace $Ca^{2+}$ a diacylglycerolu aktivuje řadu nitrobuněčných enzymů, které fosforylací aktivují další nitrobuněčné proteiny a vedou ke konečné odpovědi (např. ke kontrakci hladkého svalu).

Jiné membránové receptory způsobí především *rychlé iontové přesuny* otevřením iontových kanálů a tím většinou změnu polarizace membrány.

Osud léčiva v organismu ukázaný na obr. 18-1 lze z jiného pohledu a podrobněji, spolu se vztahy k farmaceutické, farmakokinetické a farmakodynamické fázi a k mechanismu účinku léčiva, znázornit schématem na obr. 20-3. Přehled faktorů ovlivňujících koncentraci látky/farmaka v organismu je uveden v *Dodatku*.

**Osud léčiva v organismu II**




*Obrázek zpracován podle Hampl F., Paleček J.: Farmakochemie. 1. vyd. Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, Praha 2002. Str. 26. ISBN 80-7080-495-5*

## 20.4. Hlavní skupiny léčiv a metody jejich analýzy

Smyslem TDM je vytvořit objektivní základ pro racionalizaci dávkování léčby a pro individualizaci léčby, která přihlíží k odlišnostem jednotlivých nemocných. Nezanedbatelným aspektem je i kontrola dodržování farmakoterapeutického režimu nemocným.
Terapeutické monitorování hladin léčiv se používá u látek, které mají úzké terapeutické okno (omezený rozsah dávkování léčiva směrem nahoru i dolů), u léčiv jejichž klinický výstup je "kvantální" (vše nebo nic), u léčiv jejichž účinek může být výrazně ovlivněn genetickým polymorfizmem v biotransformaci a u léčiv, u kterých lze očekávat farmakokinetické interakce.
Monitorovat není třeba léčiva, výsledkem jejichž farmakologického působení je viditelný efekt. Jako příklady je možno jmenovat analgetika, antidiabetika, antihypertenziva, antitusika, diuretika či hypnosedativa.

### 20.4.1. Obecné požadavky na terapeutické monitorování léčiv

Monitorování léků není bez problémů a aby nedocházelo k mylné interpretaci výsledků, je třeba respektovat následující pokyny:

1. Jako každá analytická metoda používaná v laboratorní medicíně, i metoda aplikovaná na TDM musí dávat precizní a správné výsledky a musí podléhat vnitřní (IKK) i vnější (EHK) kontrole kvality.
2. Laboratoř informuje kliniky (typicky v laboratorní příručce) o terapeutických a toxických rozsazích, případně o používaných analytických metodách, účinných hodnotách/hladinách, o požadovaných objemech vzorků a o používaných odběrových nádobkách (srovnej např. kapitola 2, *str*. 2-2).
3. Laboratoř by také měla vydat pokyny (směrnice) s časovým rozvrhem odběru (ideálních) vzorků pro každou jednotlivou monitorovanou látku, kde uvede i dobu, kdy je koncentrace dané látky ustálená (*steady-state*). V závislosti na povaze léčiva či individuálních potřebách pacienta jsou často používány různé rozpisy.
4. Měl by být zaznamenáván čas a datum odběru vzorku a poslední dávky léku. Pro odhadnutí *steady-state* podmínek (ustáleného stavu) je potřeba znát délku časového období, po které byl pacient ve zvláštním individuálním režimu (dietě, životosprávě). Při zacházení se vzorkem je třeba brát v úvahu okolnosti, které mohou *in vitro* ovlivnit stabilitu léku ve vzorku (např. penicilin nebo heparin či aminoglykosidová antibiotika), nebo specifitu metody (např. hemolýza vzorku).
5. Je vhodné, aby laboratorní zpráva (výsledkový list) obsahovala všechna potřebná data nutná k interpretaci výsledku (mohou to být např. forma léčiva, frekvence a množství, koncentrace v plazmě, doba podání léku apod.).

## 20.4.2. Přehled léčiv

Terapeuticky monitorovaných léčiv není mnoho, patří mezi ně

**Antiepileptika:** farmaka používaná k symptomatické léčbě epilepsie; neléčí příčinu choroby, ale zvyšují práh pro vznik křečí (fenobarbital, fenytoin, kyselina valproová, karbamazepin, antiepileptika třetí generace)

**Antibiotika**: (gentamicin, netilmicin, tobramycin, amikacin, vankomycin),

**Cytostatika:** látky, které zastavují růst a množení buněk; používají se k chemoterapii zhoubných nádorů a hemoblastóz, některé také jako imunosupresiva (metotrexát při vysokodávkovém podávání, 5-fluorouracyl, deriváty platiny),

**Imunosupresiva:** látky potlačující na různých úrovních imunitní reakce organismu; imunologické preparáty, *glukokortikoidy* a cytostatika, případně některé jiné látky (cyklosporin A, cyklický peptid složený z 11 aminokyselin, produkt houby *Trichoderma polysporum*)**;** používají se při transplantacích orgánů a při léčbě autoimunitních onemocnění (cyklosporin, takrolimus, sirolimus/rapamycin, mykofenolát)

**Kardiovaskulární léčiva:** látky ovlivňující funkce srdce a cév, dělí se dále na

- ***Kardiotonika***, používaná pro zesílení kontrakcí dekompenzovaného myokardu (digoxin, digitoxin) a
- ***Antiarytmika/antidysrytmika***, používaná proti některým srdečním arytmiím (chinidin, prokainamid)

(do skupiny kardiovaskulárních léčiv dále patří i např. *venofarmaka*, *antitrombotika*i, atd.).

**Antiastmatika:** látky, které buď rozšiřují bronchy, nebo ovlivňují patogenetické faktory navozující bronchokonstrikci; používají se k léčbě bronchiálního astmatu (teofylin)

**Psychofarmaka** (viz též dodatek 18.5.3. na str. 18-19): používají se k léčbě psychických poruch; jsou to psychotropní látky, které mění duševní stav, rozpoložení pacienta, lze je dělit podle různých hledisek, např. na

- ***Neuroleptika*** (antipsychotika), léčba schizofrenie a některých dalších psychóz (flufenazin, haloperidol, chlorpromazin, klozapin, perfenazin, prochlorperazin, thioridazin, trifluoperazin).

- látky upravující patologicky změněnou náladu
  - ***Antidepresiva***, odstraňují patologický smutek, působní příznivě u depresí (amitriptylin, desipramin, fluoxetin, imipramin, klomipramin, maprotilin, nortriptylin, paroxetin, sertralin)
  - ***Antimanika***, působí převážně u mánií upravují patologicky nadnesenou náladu (lithium, tj. uhličitan lithný)

- Anxiolytika, látky upravující strach a psychické napětí, odstraňují pocity psychického napětí a strachu

- Látky povzbuzující psychické funkce
  - *psychostimulancia*, stimulují duševní funkce a zrychlují tok myšlenek, působí centrálně dráždivě, mohou vyvolávat euforii a toxikomanii
  - *nootropní látky* (neurodynamika), pozvolna zlepšují porušené duševní funkce (jsou to látky kvalitativně, nikoliv kvantitativně, měnící stav vědomí)

- Psychodysleptika, látky indukující psychotické stavy
  - psychotomimetika či halucinogeny, vyvolávají příznaky podobné schizofrenii (experimentální a toxikologický význam)
  - dysforika, zhoršují patologicky nadnesenou náladu, někdy se užívají k léčbě mánii

**Antiretrovirotika:** látky používané k léčení chorob způsobených retroviry (indinavir, nelfinavir, saquinavir)

***Poznámka:*** *zvýrazněným (tučným) písmem jsou označeny skupiny látek, které se terapeuticky monitorují*

## Obvyklé terapeutické rozmezí léčiv

| Léčivo | Obvykle doporučované rozmezí [mg/l] | | Doba nástupu ustáleného stavu |
|---|---|---|---|
| | minimální účinná koncentrace | maximální bezpečná koncentrace | |
| **Aminoglykosidová antibiotika** | | | |
| Amikacin | 3 - 5 | 20 – 30 | 8 hodin |
| Gentamicin | 1 – 2 | 5 – 10 | 8 hodin |
| Netilmicin | 1 – 2 | 5 – 10 | 8 hodin |
| Tobramycin | 1 - 2 | 5 - 10 | 8 hodin |
| **Antiarytmika** | | | |
| Amiodaron | 1,0 – 2,5 | | >1 měsíc |
| Disopyramid | 2 – 5 | | 24 hodin |
| Chinidin | 1 – 5 | | 24 hodin |
| Lidokain | 1,5 – 5 | | 12 hodin |
| Mexiletin | 0,5 – 1,9 | | 2 dny |
| Prokainamid | 3,6 – 10 | | 16 hodin |
| Sotalol | 1 – 2,5 | | 48 hodin |
| **Antiepileptika** | | | |
| Ethosuximid | 50 – 100 | | 8 dnů |
| Fenobarbial | 15 – 40 | | 2 týdny |
| Fenytoin | 10 – 20 | | >2 týdny |
| Karbamazepin | 5 – 12 | | 2 týdny |
| Klonazepam | 0,025 – 0,075 | | 5 dnů |
| Kyselina valproová | 50 – 100 | | 40 hodin |
| Primidon | 5 – 15 | | 2 dny |
| **Psychofarmaka** | | | |
| Amitriptylin | 0,1 – 0,25 | | 3 dny |
| Haloperidol | 5,2 – 15 | | 3 dny |
| Imipramin | 0,12 – 0,3 | | 2 dny |
| Lithium | 5,5 – 7 | | 3 dny |
| Nortriptylin | 0,05 – 0,15 | | 5 dnů |
| **Ostatní** | | | |
| Cyklosporin | 0,08 – 0,25 | | 3 dny |
| Digoxin | 0,001 – 0,002 | | 7 dnů |
| Salicyláty | 150 - 300 | | 2 – 5 dnů |
| Theofylin | 10 - 20 | | 36 hodin |

*Podle prof. MUDr. František Perlík, DrSc., Využití analytických metod ve farmakologii* v *Klinická a toxikologická analýza, Praha 2008, PCI, JPD3.*

## 20.4.3. Přehled metod používaných k monitorování hladiny léčiv

Rozvoj monitorování léčiv (TDM) byl podmíněn rozvojem rychlých, citlivých a specifických analytických technik. V tabulce na následující straně je uveden výčet léků a metod užívaných k jejich monitorování. Seznam není vyčerpávající a má podat pouze stručný přehled o používaných metodách.

### Přehled metod používaných k monitorování hladiny léčiv

| Léčivo | GLC | HPLC | IA | Poznámka |
|---|---|---|---|---|
| ***Antiepileptika*** | | | + | |
| Fenobarbital | | | + | |
| Fenytion | + | + | + | Mohou být analyzovány společně metodami GLC nebo HPLC nebo individuálně metodami imunoanalýzy |
| Karbamazepin | | | + | |
| Etosuximid | | | + | |
| Kyselina valproová | + | | + | Neisotopové imunoanalýzy (*EMIT*) |
| Bromid | | | | UV/VIS zlatého komplexu (reakce KBr s AuCl) při 440 nm |
| Mefobarbital | + | + | | |
| Sukcinamidy | + | + | | |
| Klonazepam | + | | | |
| ***Kardiovaskulární léčiva*** | | | | |
| Digoxin | | | + | IA včetně *RIA* |
| Chinidin | + | + | + | |
| Prokainamid | + | + | + | |
| ***Antiastmatika*** | | | | |
| Theofylin | | + | + | Existuje i UV/VIS (nedoporučená) metoda |
| ***Antibiotika*** | | | | |
| Aminoglykosidy:<br>Amikacin<br>Gentamicin<br>Kanamycin<br>Tobramicyn | | | + | *MEIA* i *FPIA* |
| Chloramfenikol | + | + | | Před rokem 1980 (nástup kapalinové chromatografie a imunoanalýzy) se antibiotika stanovovala pomocí bioanalýzy |
| ***Sulfonamidy*** | + | | | |
| ***Psychofarmaka*** | | | | |
| Litium | | | | FLM (plamenová fotometrie), AAS (atomová absorpční spektrometrie), ISE (ion selektivní elektroda) |
| Tricyklická a tetracyklická antidepresiva | + | + | | Terapeutická koncentrace těchto látek je 10 – 100x menší než ostatních známých monitorovaných farmak, takže analytická metoda musí být dostatečně citlivá (GLC se používá v kombinaci s hmotovou spektrometrií); musí být i dostatečně selektivní, protože je třeba stanovovat i metabolity a navíc jsou to látky strukturálně podobné jiným medikamentům (např. antihistaminikům), se kterými mohou interferovat; HPLC byla upravena pro tricyklická antidepresiva, ale má určité problémy se selektivitou |
| ***Cytostatika*** | | | | |
| Metotrexát | | + | + | *EMIT* i *RIA* |
| ***Imunosupresiva*** | | | | |
| Cyklosporin | | + | | První metodou stanovení cyklosporinu byla RIA |

*Vysvětlivky k tabulce:*

| | | | |
|---|---|---|---|
| ***IA*** | *obecně znamená imunoanalytickou metodu* | + | *znamená možnost použití dané metody* |
| ***GLC a HPLC*** | *metody plynové a kapalinové chromatografie* | | |
| ***RIA*** | *isotopová imunoanalýza* | | |
| ***UV/VIS*** | *spektrofotometrické metody* | | |

## Stručný popis vývoje užívání jednotlivých metod a technik v TDM,
doplněný obrázky s ukázkami některých přístrojů a analyzátorů.

**Původní *spektrofotometrické metody* (UV/VIS)** byly následovány *metodami plynové chromatografie* (GLC), které umožnily odlišit původní látku od metabolitu/ů, od jiných současně podávaných léčiv i od endogenních působků. Technika GLC navíc umožnila rozlišit a kvantitativně zhodnotit i několik látek v rámci jedné lékové skupiny. Hlavní nevýhodou této techniky byla náročná komplexní instrumentace (přístroj) a potřeba zkušeného specialisty v oboru, a také požadavek na poměrně velký objem analyzovaného vzorku. Pokroky v instrumentaci (kapilární kolony, citlivé detektory) umožňují v současnosti rutinně zpracovávat mikrolitrová množství plazmy.

***Kapalinová chromatografie o vysokém výkonu* (*High Performance Liquid Chromatography*, HPLC)** nabízí širokou univerzálnost s nízkou náročností na přípravu vzorku. Je to technika dostatečně citlivá a specifická, vyžadující malé množství vzorku a s relativně jednoduchou obsluhou zařízení. To z ní dělá zajímavou alternativou ke GLC. Byly vypracovány i metody HPLC k současnému stanovení různých typů látek a rovněž tak jejich metabolitů. Ve velkých a specializovaných laboratořích je to rutinně používaná metoda.

***Techniky radioimunoanalýzy* (RIA)** umožnily kvantifikaci látkových množství v řádech mikrogramů v litru, v mikrolitrových vzorcích séra. Tyto metody se pro stanovení léčiv z mnoha důvodů (náročnost na zařízení, radioaktivní materiál, krátká doba exspirace, aj.) příliš nerozšířily a pro stanovení léčiv se používá pouze omezený počet těchto metod, které se provozují pouze ve specializovaných laboratořích.

***Neisotopové metody homogenní imunoanalýzy*** *(*kapitola 10, *str.* 10-10) disponují sice složitou, ale na obsluhu nenáročnou instrumentací, nevyžadují velká množství vzorku, jsou dostatečně citlivé a specifické a byly vypracovány pro stanovení velkého množství různých látek včetně farmak. To umožnilo prakticky všem laboratořím provádět TDM, aniž by bylo nutno personál laboratoří příliš rozsáhle školit (k obsluze přístrojů). Interpretaci výsledků by však měl vždy realizovat klinický farmakolog.
Tyto techniky s využitím moderních analyzátorů (např. Architect/Abbott, Cobas/Roche, Centarur/Siemens, Immulite/Siemens aj.) mají relativně široké zastoupení ve velkém počtu laboratoří.

Prakticky všechny uvedené metody se v různé míře používají v různých laboratořích. Konkrétní pracovní postup u konkrétního farmaka je vždy záležitostí konkrétní laboratoře a jejích analytických postupů popsaných ve standardních operačních postupech (*SOP*).

Mnoho látek včetně léčiv se dá stanovit metodami imunoanalýzy na různých analyzátorech, jak již bylo uvedeno a stačí nahlédnout do nabídek a ceníků jednotlivých firem a takto snadno shlédnout celé portfolio metod, které jsou k uživatelům k dispozici. Nabídky jednotlivých firem se liší. Příbalové letáky k diagnostickým soupravám obsahují všechny potřebné informace od sběru biologického materiálu, přes analytiku po interpretaci výsledku. Chromatografické metody a imunoanalytické metody na mikrodestičkách (ELISA) vyžadují podrobnější specializovaný zácvik a erudici obsluhujícího personálu.

***Současným trendem* v přístrojové technice je *miniaturizace*,** za účelem snížení potřeby a spotřeby biologického materiálu a snížení nákladů na analýzu. Ne vždy je miniaturizace stávajících metod snadná, přesto již teď existují snahy přejít od „mikro“ k „nano“ přístrojům a analýzám, minimálně tam, kde je to, alespoň v předpokladech, možné. Příkladem miniaturizace klasické metody je např. *kapilární elektroforéza*.

Jiným příkladem miniaturizace jsou *čipové technologie*. Příklad přístrojů s čipovou technologií fy Randox a čipu pro stanovení drog (včetně některých léčiv) je uveden v kapitole 17, *Toxikologie.*

Dále se hledá využití metod známých, ale v dané problematice nevyužívaných, či dostatečně nevyužívaných. Příkladem může být *vibrační spekrtoskopie* (infračervená, Ramanova), což je technika nevyžadující činidla, ale pouze přístroj. Tyto metody by mohly zpřístupnit *neinvazivní měření*, což je měření hladin analytu (v daném případě léčiva a jeho metabolitů) přímo v tkáni. Vzhledem ke komplikované matrici je to doposud nevyřešený úkol.

## Některé analyzátory využívané k TDM

**Analyzátor Dimension® RxL (Dade Behring) a Advia Centarur (Bayer, dnes Siemens)**

*Na obrázku jsou ukázány příklady analyzátorů umožňujících TDM: Dimension® RxL (vlevo) a Advia Centaur (vpravo). Původní dodavatelé analyzátorů,firmy Dade Behring (Dimension) a Bayer (Advia) jsou součástí Siemens Medical Solution Diagnostics umožňující TDM.*

**Plynový chromatograf AGILENT 7890A a plynový chromatograf AGILENT 6850 Series II**

**Plynový chromatograf Kapalinový chromatograf LC5000**

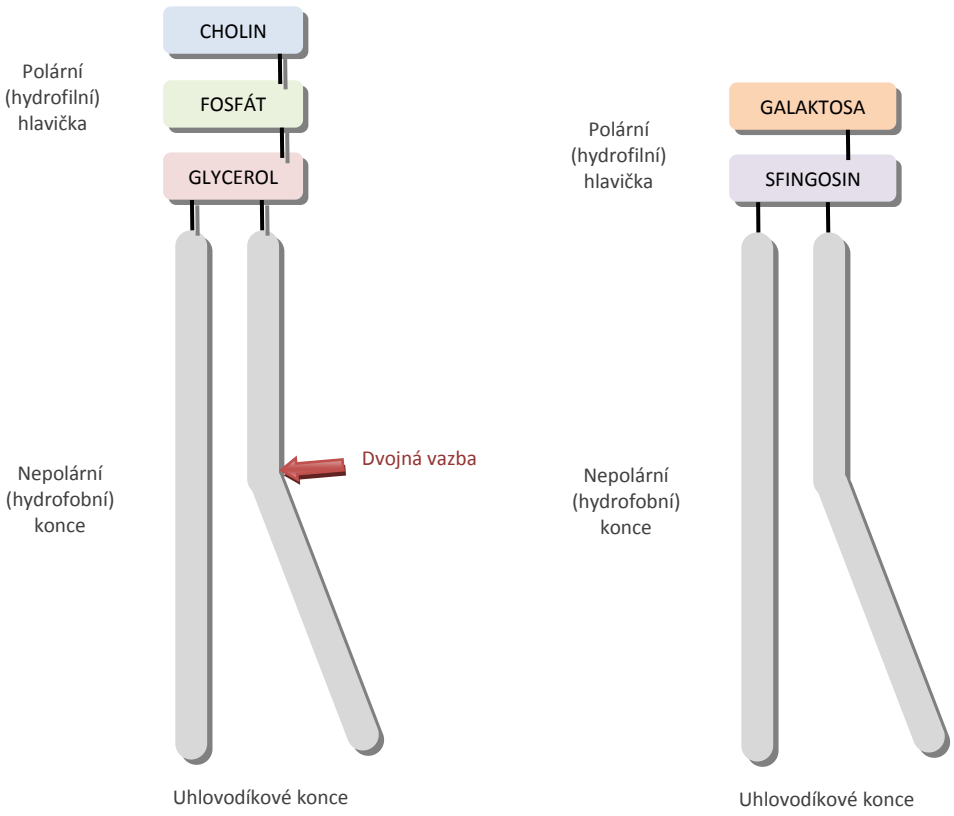
*Natřech obrázcích jsou uvedeny příklady plynových chromatografů, na obr.vpravo dole (zelený) je uveden příklad chromatografu kapalinového.*

## 20.5. Dodatky

### 20.5.1. Principy prostupu látek membránami

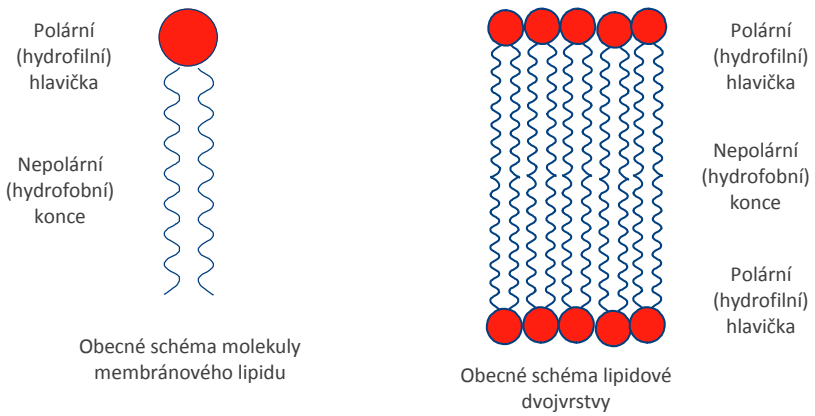
Vzhledem k zaměření tohoto textu se omezíme pouze na stručný popis membrány živočišné buňky. Základní architekturou buněčné membrány je lipidová dvojvrstva, obsahující *amfipatické* (s částí hydrofilní i hydrofobní) molekuly lipidů.

**Schematické znázornění molekul některých membránovýchl ipidů - fosfatidylcholinu a *galaktocerebrosidu***



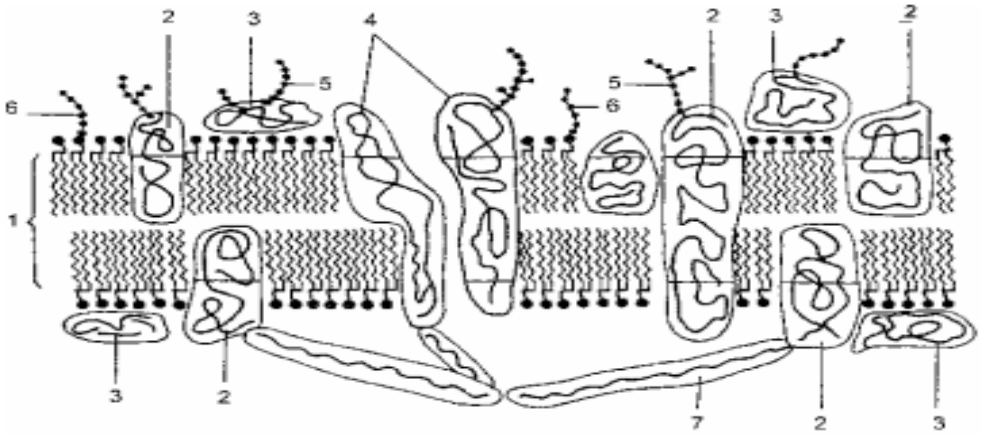

Na obrázku je schematicky znázorněna molekula konkrétního membránového lipidu – fosfatidylcholinu (vlevo) a galaktocerebrosidu (vpravo). Záměnou cholinu za serin dostaneme fosfatidylserin, další typický membránový protein. Obecná schematická molekula membránového lipidu spolu s částí lipidové dvojvrstvy je znázorněna na obrázku 18-9.

**Schematické znázornění membránového lipidu a lipidové dvojvrstvy**



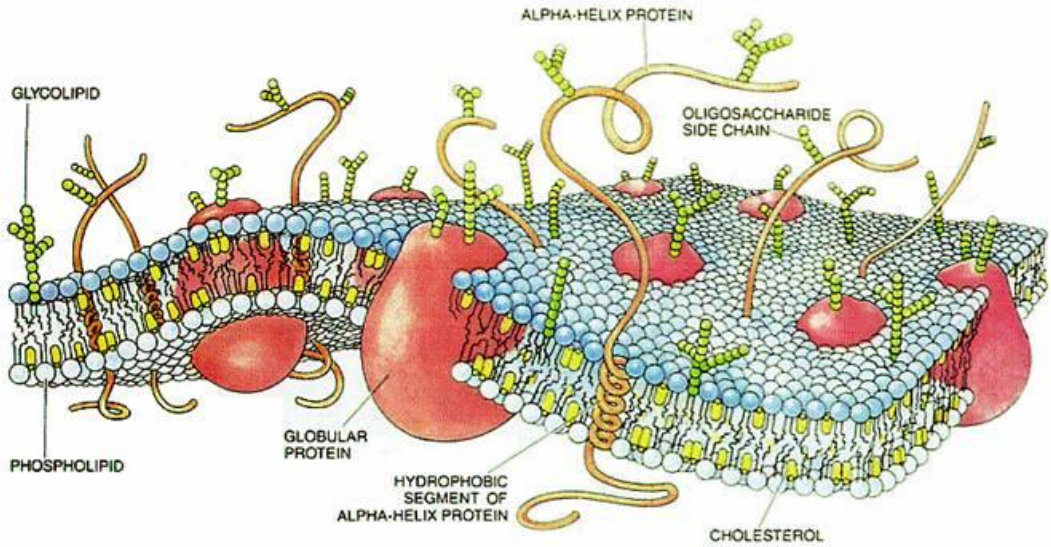
Polární části molekul v lipidové dvojvrstvě zasahují do mezibuněčného a vnitrobuněčného prostoru, uvnitř dvojvrstvy je nepolární část. Mezi uhlovodíkovými řetězci se ještě nacházejí molekuly esterů cholesterolu. Membrána ovšem není tak jednoduchá jak je naznačeno. Na dvojvrstvu nasedají (vazba na lipid či jiný protein), zasahují do ní či jí přímo prostupují, často i na několikrát, molekuly proteinů. Z extracelulární strany jsou upravovány vazbami sacharidů, které se vážou i na mnohé lipidy a tvoří tak vedle *glykoproteinů* (s krátkými sacharidovými řetězci) i *glykolipidy*. Některé membránové proteiny vážnou jeden či více dlouhých sacharidových řetězců a tvoří tzv. *proteoglykany*. Sacharidy v glykoproteinech, proteoglykanech i glykolipidech se nacházejí, jak již bylo naznačeno, na necytosolové straně membrány a tvoří sacharidový plášť zvaný *glykokalyx*, který chrání povrch buňky před mechanickým a chemickým poškozením. Vazbou vody v oligo- a polysacharidech dostává buňka slizovitý povrch usnadňující pohyb např. leukocytům i zabraňující např. lepení krvinek k sobě a ke stěnám cév.
Spodní strana membrány (dvojvrstvy) je vyztužena sítí vláknitých bílkovin, tzv. *buněčného kortexu* (cortex, lat. = kůra). Buněčný kortex je připojen k vnitřnímu (cytozolovému) povrchu membrány. (Hlavní složkou buněčného kortexu lidských erytrocytů je bílkovina *spektrin*). Prostupující proteiny – transmembránové proteiny – v mnoha případech tvoří složité útvary, kanály, umožňující výměnu důležitých molekul mezi vnitřkem a vnějškem buňky a umožňují a podporují tak metabolismus buňky, jindy jsou součástí *receptorů*. Další membránové proteiny mohou fungovat jako přenašeče (sodná pumpa), spojníky (integriny), enzymy ap. Celá membrána má charakter „spoutané kapaliny“, ve které její součásti mohou do jisté míry volně měnit pozici.

## Struktura biologické membrány




**Struktura membrány.** Lipidová dvojvrstva (1) s integrálními (2) a periferními (3) bílkovinami. Příklad transmembránové integrální bílkoviny (4) vytvářející kanál v membráně. Na vnější straně membrány jsou vázány sacharidy na bílkoviny (5) a na polární části některých lipidů (6). Vnitřní strana membrány bývá zpevněna vláknitými bílkovinami (7).
*Obrázek převzat z Hampl F., Paleček J.: Farmakochemie. 1. vyd. Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, Praha 2002. Str. 24. ISBN 80-7080-495-5*

## Struktura buněčné membrány

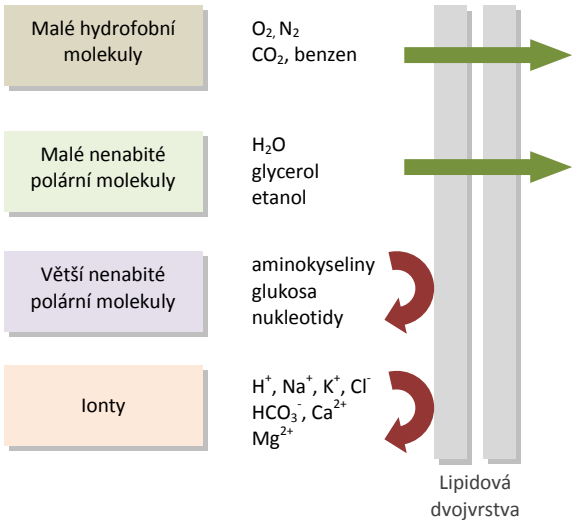



*Zdroj:*

*Wikipedia, the free encyclopedia*

Základní funkcí buněčné membrány je fungovat jako překážka, která reguluje průchod molekul do buňky a z buňky. Hydrofobní vnitřek lipidové dvojvrstvy vytváří bariéru pro většinu hydrofilních molekul. Základní vlastnosti lipidové dvojvrstvy z hlediska propustnosti jsou ukázány na obr. 19-12.

### (Ne)prostupnost lipidové dvojvrstvy pro molekuly a ionty




*Podle Alberts, Bray, Johnson, Lewis, Raff, Roberts a Walter, Základy buněčné biologie, Espero Publishing, Ústí nad Labem, 2. vydání*

Kromě fyzikálně-chemických vlastností molekul má na jejich prostup membránou vliv (zejména na rychlost prostupu) i koncentrační spád a potenciál na membráně (obecně je extracelulární část membrány nabita záporně, cytozolová část membrány je nabita kladně) či jejich kombinace, *elektrochemický potenciál*.

**Prostup biologickou membránou může realizován**

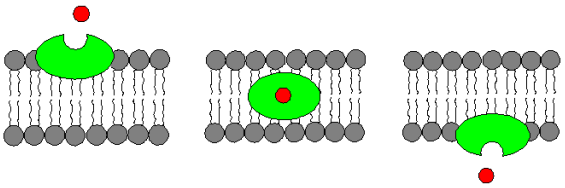
- *pasivními mechanismy*, kdy není nutný přívod energie
- *aktivním transportem* kdy je nutný přívod energie (formou štěpení ATP)

***Pasivní transportní mechanismy*** jsou *prostá* a *usnadněná difúze*.
Výsledná difúze látky difundující **pasivní difúzí** bude podmíněna

- *koncentračním spádem* látky přes membránu
- *elektrickým potenciálem* přes membránu
- *koeficientem permeability* látky pro membránu (rozpustnost v hydrofobním tj. lipofilním jádře membránové dvojvrstvy – látky dobře rozpustné v tucích rychle proniknou membránami; naopak v nepřímé úměře jsou rozpustnost v této vrstvě a počet vodíkových vazeb, které musí být přerušeny, aby byla látka z vnější vodné fáze přemístěna do hydrofobní dvojvrstvy; podobně elektrolyty s velkou nábojovou hustotou, které následkem hydratace elektrostatickými silami tvoří velký hydratovaný obal, špatně pronikají membránami)
- *gradientem hydrostatického tlaku* přes membránu (důsledkem je zřejmě volný prostup vody a malých nepolárních molekul)
- *teplotou*.

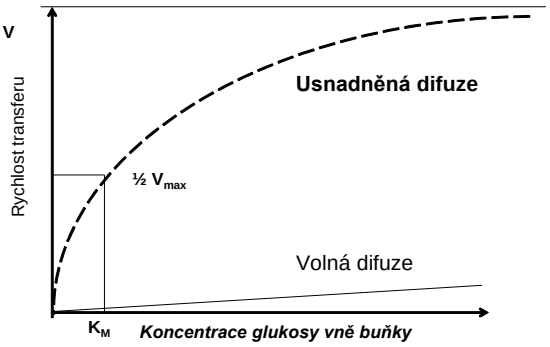
Již zmíněné *transmembránové kanály* jsou struktury připomínající póry, složené z proteinů, mají průměr asi 5-8 nm a jsou celé negativně nabité. Tvoří selektivní kanály pro průchod iontů (byly popsány specifické kanály pro $Na^+$, $K^+$ a $Ca^{2+}$) a jejich propustnost závisí na rozměrech, stupni hydratace a velikosti nábojové hustoty iontu. Kanály jsou různě aktivní a aktivita kanálu pro jeden ion může být regulována jiným iontem (např. snížení koncentrace $Ca^{2+}$ v extracelulární tekutině zvýší difusi $Na^+$, což ovlivní membránu a může být příčinou svalových křečí a jiných jevů při snížené hladině sérového $Ca^{2+}$). Kanály jsou obecně uzavíratelné a uzávěry jsou řízeny při otevírání nebo uzavírání, a to buď specifickými molekulami, které se vážnou na receptor a otevírají tak kanál (kanály ovládané ligandy), nebo napětím (kanály se otevírají nebo zavírají v závislosti na změně membránového potenciálu). Jiné kanály se zavírají a otvírají zcela náhodně.

Některé bakterie produkují **ionofory**, což jsou látky rozpustné v tucích, které fungují jako přenašeče iontů (viz obrázek vpravo) přes membránu nebo vytvářejí v membráně kanál, kterým mohou látky přes membránu proniknout. Mikrobiální toxiny tvoří v membránách velké póry, jimiž mohou procházet makromolekuly do nitra buňky.



Ionofor

Kromě pasivní difuse existuje i **difuse usnadněná,** kdy určité látky difundují přes membránu po elektrochemickém spádu rychleji, než odpovídá jejich velikosti, náboji nebo rozdělovacímu koeficientu. Děj se vysvětluje tzv. „ping-pong mechanismem“: *proteinový přenašeč* obsahuje specifická vazná místa pro určité látky. Při vysoké koncentraci se molekuly látky na tato místa navážou („pong“ stav přenašeče), změní se konformace přenašeče („ping“ stav přenašeče) a dojde k přenosu látky. Proces je reverzibilní. Do děje mohou zasahovat hormony (*mění počet dostupných přenašečů: např. inzulín mobilizuje počet dostupných přenašečů pro glukosu z nitrobuněčných zásob*).

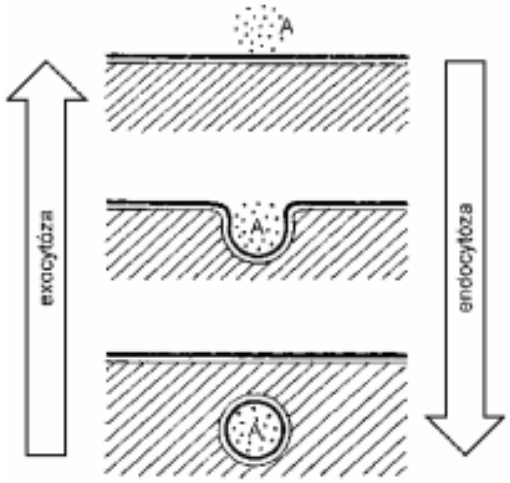



Volná a usnadněná difuse

***Aktivní transportní mechanismy***
se vyznačují selektivitou a omezenou kapacitou. Přenos je zprostředkován specializovanými membránovými strukturami, jako jsou transportní proteiny, iontové kanály (pro přenos léčiva spíše výjimečně, např. uhličitan lithný) apod. a vyžadují přísun energie ve formě ATP. Typickým aktivním transportním mechanismem je *sodíková pumpa* (viz Kapitola 8, str. 8-4). V případě sodno-draselné pumpy se jedná o enzymový přenos: enzymový systém na jedné straně membrány látku naváže a na druhé ji uvolní i proti koncentračnímu spádu - enzym $Na^+$-$K^+$-ATPáza udržuje vně buňky $Na^+$ a uvnitř buňky $K^+$.

Výměna látek mezi buňkou a okolím se dále děje pomocí ***exocytózy*** a ***endocytózy***.
V eukaryontních buňkách existuje neustálý proud váčků, které pučí ze sítě Golgiho aparátu a fúzují s plazmatickou membránou. Tak se nově vytvořené lipidy a proteiny stávají součástí plazmatické membrány (růst membrány před dělením buňky), případně se (na vnější signál) uvolňují z povrchu buňky do extracelulárního prostoru (*sekrece)*. Uvolňují se tak mnohé hormony, např. inzulín, když vnějším signálem (pro β-buňky slinivky břišní) je vzrůst koncentrace glukózy v krvi.

## Exocytóza, endocytóza, pinocytóza a fagocytóza




*Obrázek převzat z Hampl F., Paleček J.: Farmakochemie. 1. vyd. Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, Praha 2002. Str. 25. ISBN 80-7080-495-5*

***Exocytóza:*** většina buněk uvolňuje makromolekuly do okolí exocytózou. Složky syntetizované v Golgiho aparátu jsou přeneseny ve vesikulách do plasmatických membrán. Signálem pro tento děj bývá hormon.

***Endocytóza*** je proces, kterým buňky přijímají velké molekuly. Všechny eukaryontní buňky nepřetržitě pohlcují části svých plazmatických membrán. Když dojde ke vchlípení úseku membrány utvoří se vezikuly, které v sobě uzavírají nepatrný objem extracelulární tekutiny. Vezikula se odštípne a splyne s jinou membránou a tak zajistí transport svého obsahu do jiného buněčného oddílu nebo zpět mimo buňku.

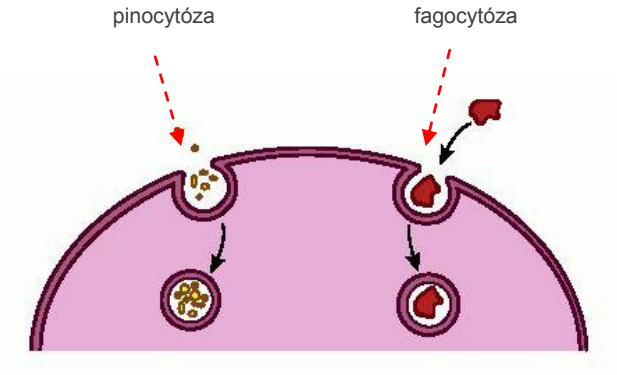
Opačným pochodem, endocytózou, přijímají buňky kapalinu a velké i malé molekuly. Materiál, který má být pohlcen se postupně uzavře do malé části plazmatické membrány, která vypučí dovnitř a poté je *endocytotický váček* odškrcen a dopraven k lyzosomům, kde je stráven a buňka může vzniklé metabolity využít. Celý proces je ovšem podstatně složitější než je zde popsáno. Mnohé látky se dostávají do buňky touto cestou řízeně, přes receptory tzn., že endocytotický váček se vytvoří až s látkou navázanou na příslušný receptor (Fe, LDL...), jiné, pohříchu, zcela neřízeně, což je zvl. nepříjemné v případě virů (např. je to známá cesta HIV do buňky).

Existují dva obecné typy endocytózy:

- „buněčné pití“ – *pinocytóza* a
- „buněčné pojídání“ – *fagocytóza*.

Rozdíl je ve velikosti váčků**.**

**Pinocytóza a fagocytóza**




***Pinocytóza*** je proces, při kterém buňka přijímá tekutinu i s jejím obsahem. Jsou jí schopny všechny buňky.Velikost váčků je v průměru <150 nm.

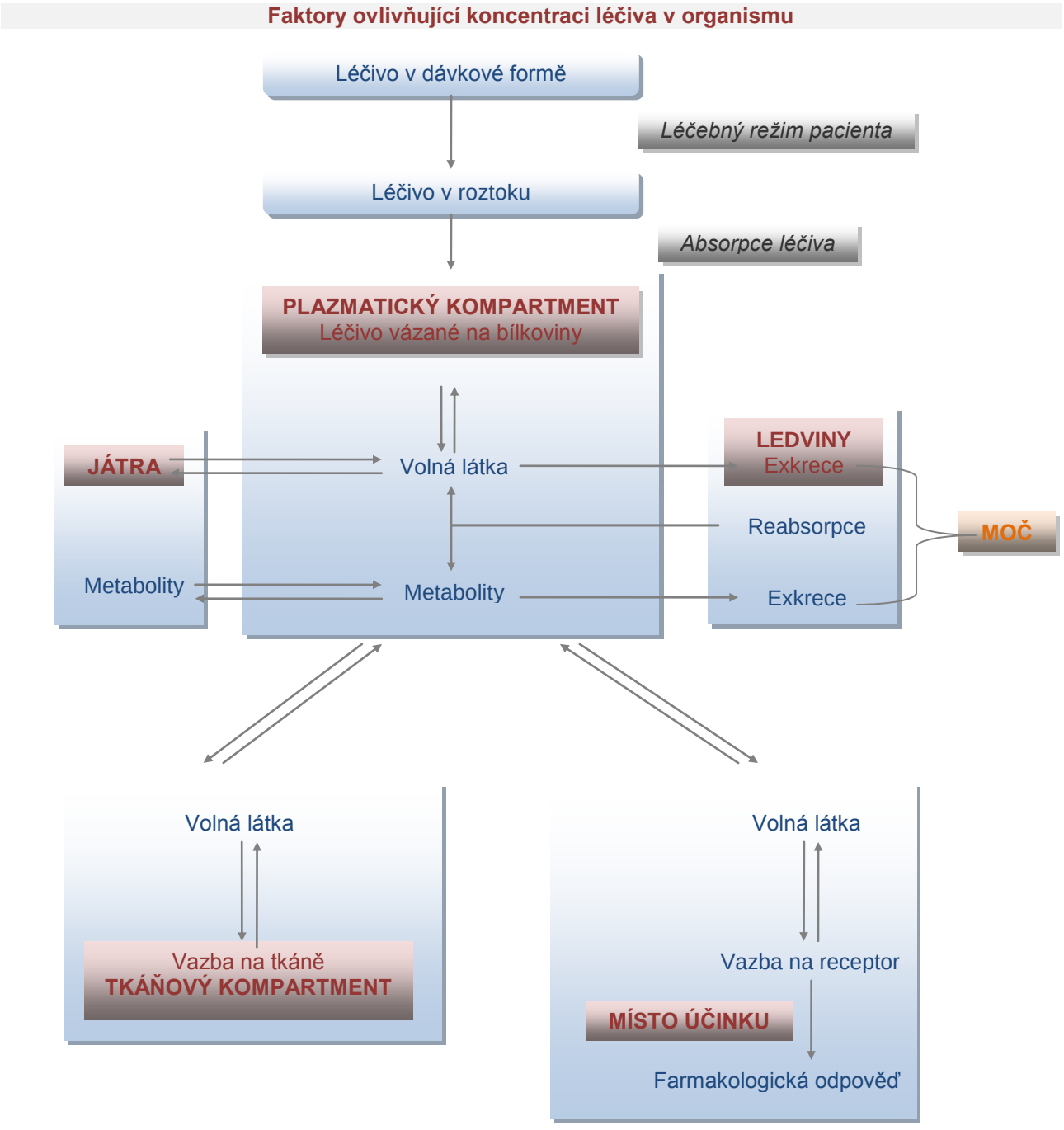
Existují dva typy pinocytózy

- *pinocytóza ve fluidní fázi* (neselektivní příjem látky do malých vezikul v závislosti na její koncentraci v mimobuněčné tekutině) a
- *resorpční pinocytóza* (selektivní proces zprostředkovaný receptorem, odpovědný hlavně za příjem makromolekul pro něž je na plazmatické membráně omezený počet vazebných míst).

***Fagocytóza*** nastává pouze ve specializovaných buňkách (makrofágy a granulocyty). Dochází při ní k pohlcování velkých částic (viry, bakterie, buňky a jejich zlomky). Velikost váčků zvaných *fagosomy* je obecně v průměru >250 nm. Je zřejmé, že v tomto případě není na prvním místě příjem „potravy“, ale ochrana před infekcí.

Při úvahách o distribuci léčiva v organismu je třeba si uvědomovat (kromě jiného) všechny možnosti ovlivnění jeho (či jeho metabolitů) přenosu přes membrány.

## 20.5.2. Faktory ovlivňující koncentraci léčiva v organismu




**Legenda:**
***Absorpce***: Léčivo musí být v takové formě, aby mohlo být absorbováno z gastrointestinálního traktu či jiného místa aplikace
***Metabolismus:*** Léčivo je převedeno na rozpustnější složku (metabolit), která může být farmakologicky aktivní nebo neaktivní. Metabolismus může probíhat i v jiných tkáních než jsou játra.
***Exkrece:*** Látka a její metabolity ve vodě rozpustné jsou obvykle vylučovány močí. Vylučování může probíhat i žlučí, stolicí, slinami a vydechovaným vzduchem.
***Ukládání v tkáních:*** Látka může být skladována v tkáních, které na ni nevykazují žádnou farmakologickou odpověď; vedlejší účinky se mohou objevit při interakci se specifickým fyziologickým systémem
***Místo účinku:*** Volná látka se váže na receptor a vykazuje farmakologický účinek. Počet a typ receptorů na které se látka váže určuje intenzitu a dobu trvání pozorované odpovědi.

Podle *Tietz Textbook of Clinical Chemistry, second edition, W.B.Saunder Company, 1994*

*(Obrázky 19-3 a 19-4 podle Alberts, Bray, Johnson, Lewis, Raff, Roberts, Walter: Základy buněčné biologie, Espero Publishing)*

## 20.5.3. Psychofarmaka

Obvyklé dělení psychofarmak je do tří základních skupin, kde léčiva v první skupině ovlivňují stav vědomí, ve druhé afektivitu a ve třetí psychické integrace. Psychofarmaka působí jak na kvalitativní tak na kvantitativní aspekt vědomí, a to buď ve smyslu pozitivním (+) nebo negativním (-). Celkem lze psychofarmaka zařadit do 8 podskupin, jak ukazuje následující tabulka:

| Skupina | Ovlivnění | Psychofarmaka |
|---|---|---|
| **I. stav vědomí** | | |
| *a) kvalita* | (+) | nootropní léčiva a kognitiva |
| | (-) | delirogeny |
| *b) kvantita* | (+) | stimulancia |
| | (-) | hypnotika |
| | | |
| **II. afektivita** | (+) | antidepresiva (včetně anxiolytik) |
| | (-) | dysforika |
| | | |
| **III. integrace** | (+) | neuroleptika, serotonin-dopaminová antipsychotika |
| | (-) | halucinogeny |

OBSAH:

Kapitola 20 Monitorování hladiny léčiv ..... 20-1
20.1. Základní pojmy z farmakologie ..... 20-1
20.2. Farmakokinetika ..... 20-1
20.2.1. Prostup látek biologickými membránami ..... 20-2
20.2.2. Vstup léčiva do organismu ..... 20-2
20.2.3. Absorpce/resorpce léčiva ..... 20-3
20.2.4. Distribuce léčiva ..... 20-4
20.2.5. Metabolismus léčiva ..... 20-5
20.2.6. Vylučování léčiva ..... 20-6
20.3. Farmakodynamika ..... 20-7
20.4. Hlavní skupiny léčiv a metody jejich analýzy ..... 20-8
20.4.1. Obecné požadavky na terapeutické monitorování léčiv ..... 20-8
20.4.2. Přehled léčiv ..... 20-9
20.4.3. Přehled metod používaných k monitorování hladiny léčiv ..... 20-11
20.5. Dodatky ..... 20-14
20.5.1. Principy prostupu látek membránami ..... 20-14
20.5.3. Psychofarmaka ..... 20-20