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, sirolmus, 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 metabolizmus 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

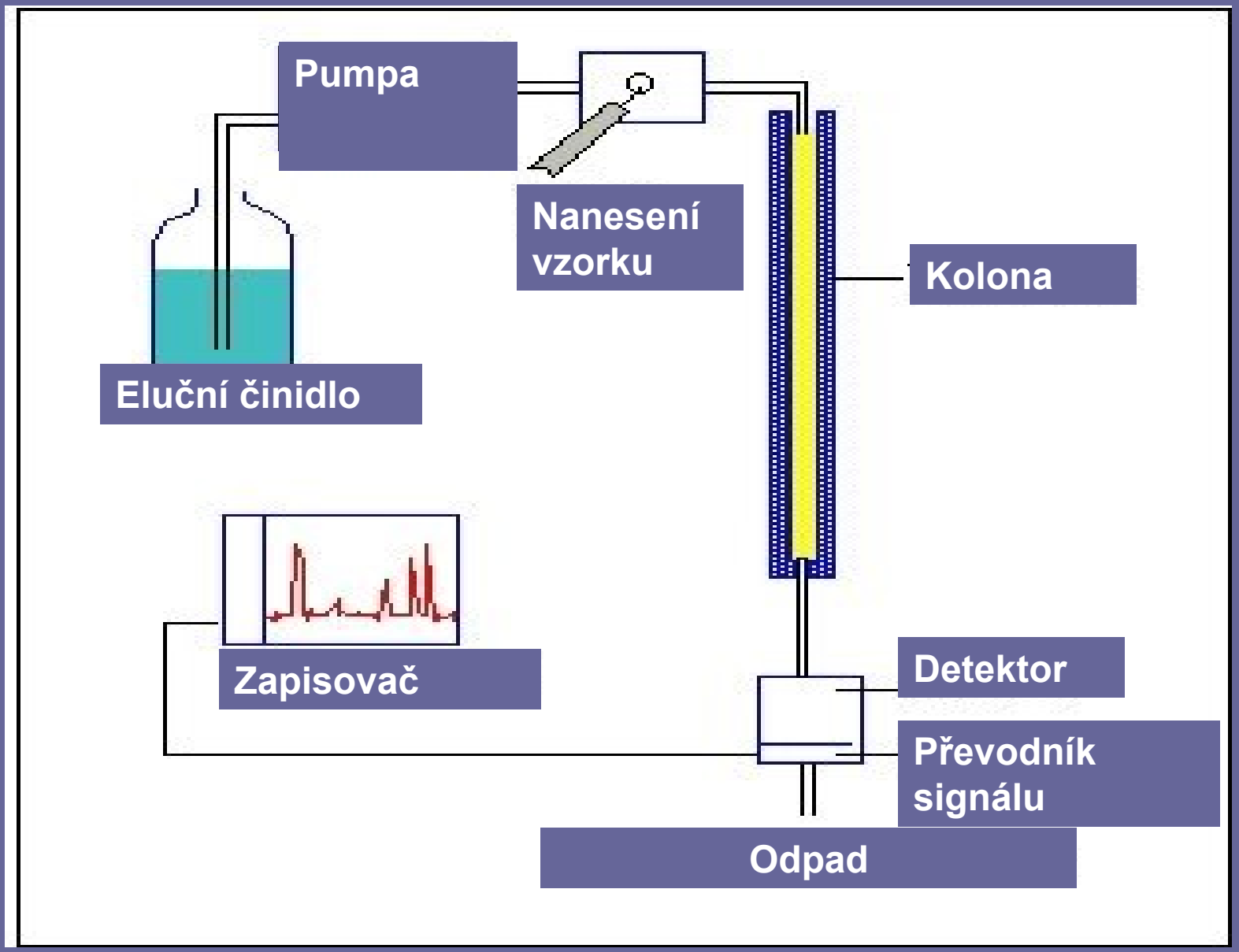
GC/MS

TLC

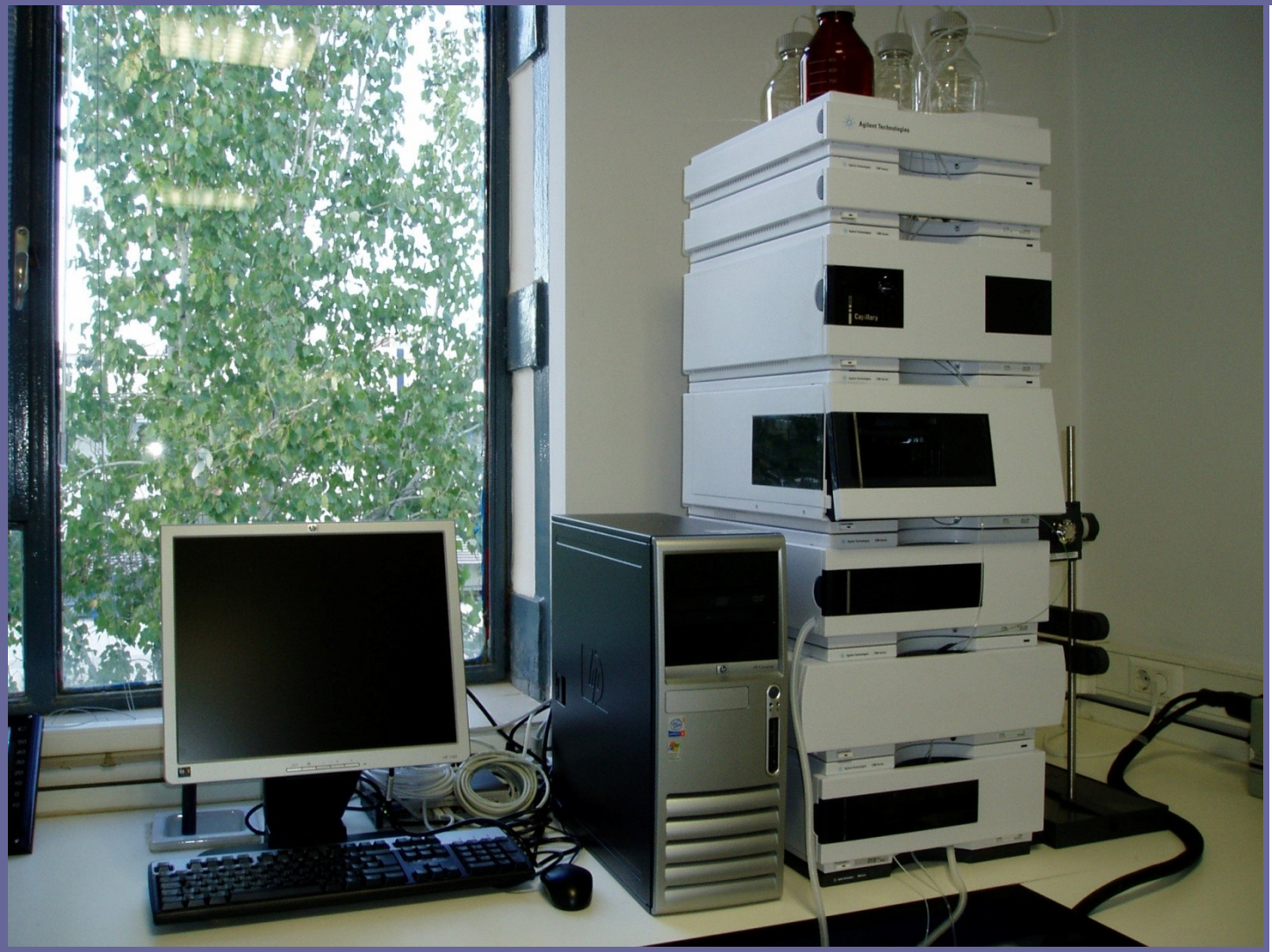
Techniky úpravy vzorků:

- 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 časné 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 C ……14 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)