

VYUŽITÍ SIMULAČNÍCH MODELŮ PRO OPTIMALIZOVANOU FARMAKOTERAPII

Jiří Potůček, Jiří Douša, Marek Mateják, Jiří Kofránek

Anotace

Personalizovaná medicína je multidisciplinární obor, který využívá metod molekulární analýzy ke zjištění predispozic pacienta k onemocnění a případně optimální léčbě tohoto onemocnění. Zvláštní roli v oblasti personalizované medicíny hraje tzv. optimalizovaná farmakoterapie, tj. ta část personalizované medicíny, která se zabývá personalizovaným návrhem dávkování širokého spektra léčivých látek. Základem pro návrh optimalizovaného dávkování léčiva je znalost farmakokinetického, event. farmakodynamického simulačního modelu (dále jen PK/PD modelu) distribuce léčiva nebo jeho metabolitů v organismu.

Optimalizovaná farmakoterapie se zabývá návrhem správné léčivé látky tak, aby se koncentrace léčivé látky eventuálně jejich metabolitů pohybovala mezi minimální a maximální terapeutickou hladinou.

Klíčová slova

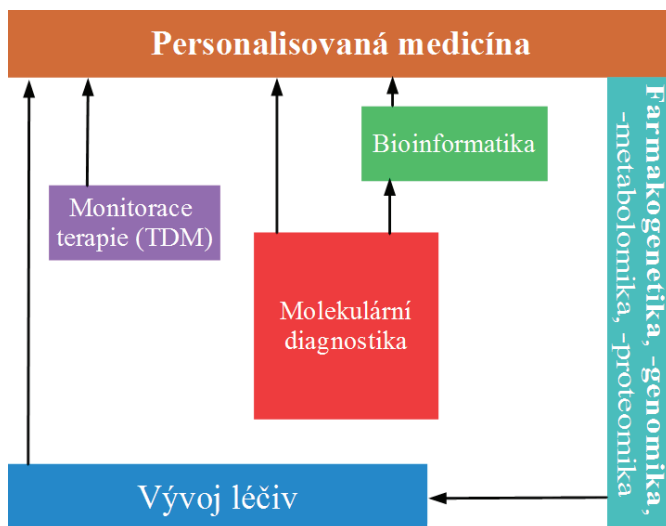
personalizovaná medicína, optimalizovaná farmakoterapie, farmakokinetika, farmakodynamika, farmakogenetika, PK/PD model (farmakokinetický/farmakodynamický model), optimalizace parametrů, genetický polymorfismus, lékové interakce, TDM (Therapeutic Drug Monitoring)

1. Úvod

Personalizovaná medicína je multidisciplinární obor využívající mj. metod molekulární analýzy k zjištění predispozic pacienta k onemocnění a případné optimální léčby tohoto onemocnění. Tento koncept také umožňuje predikovat, která léčiva budou pro pacienta bezpečná a účinná a eliminuje tak dosud užívanou metodu pokusu a omylu při hledání nejefektivnějšího léčiva. Umožňuje také nastavit optimální dávkovací režim.

Většina léčiv je v současné době vyvíjena, schvalována a uváděna na trh na základě jejich účinku ve většinové populaci a je předepisována skupině pacientů se stejnou diagnózou. Z důvodů 0,1 % rozdílu v lidské DNA, která je jinak mezi jedinci z 99,9 % totožná, však pacienti vykazují různé reakce na farmakoterapii. Například téměř 40 % pacientů léčených antidepresivy nebo až 75 % pacientů s onkologickým onemocněním nevykazuje adekvátní odpověď na léčbu. Mnoho autorů se tak shoduje, že je třeba individuálnějšího přístupu, než dosud zažitý koncept jednoho léčiva pro všechny pacienty se stejným onemocněním.

Personalizovaná medicína také umožňuje farmaceutickým společnostem vyvíjet nová efektivnější a cílenější léčiva s nižším výskytem vedlejších účinků na základě lepšího porozumění molekulárního základu onemocnění. Molekulární analýza usnadňuje vybírat vhodné pacienty do klinických studií a napomáhá tak schválení léčiva, které by se u velké populace jevilo jako neefektivní.



Obrázek 1 – Vztah personalizované medicíny k ostatním oborům. Upraveno podle (Jain, 2009)

Praktickým lékařům pak umožňuje účinnější a bezpečnější využití stávajících léčiv.

Koncept personalizované medicíny je postaven na několika pilířích (Obr. 1). Nejdůležitějším z nich je již výše uvedená molekulární diagnostika, zejména pak technologie genotypizace SNP. Velký pokrok se v současné době odehrává také na poli sekvence DNA, která byla v minulosti velice nákladná. V lednu 2014 společnost Illumina® představila svůj nový přístroj HiSeqX Ten®, který prolomil hranici sekvence celého lidského genomu za méně než \$1000 a méně než 3 dny. Sekvenátor generuje necelé 2 TB dat na 1 genom.

Obrovské množství dat, která jsou produkována technologiemi molekulární diagnostiky, je třeba zpracovávat, analyzovat a uchovávat pomocí metod bioinformatiky.

Dnes již běžnou součástí terapie některými léčivými je sledování (monitorace) účinku a úprava jejich dávkování dle farmakokinetického principu, tzv. TDM **pomocí farmakokinetických respektive farmakodynamických simulačních modelů. Tento princip je hlavní náplní následujícího příspěvku.**

V neposlední řadě stojí personalizovaná medicína také na farmakogenetice, farmakogenomice, farmakometabolomice a farmakoproteomice, jež přispívají také k vývoji nových léčiv a bezpečnějšímu užívání léčiv stávajících.

2. Optimalizovaná farmakoterapie, TDM

Speciální roli v oblasti personalizované medicíny hraje tzv. optimalizovaná farmakoterapie, tj. ta část personalizované medicíny, která se zabývá personalizovaným návrhem dávkování širokého spektra léčivých látek, jinými slovy

jde o návrh dávkování léčiva personalizovaně pro určitého pacienta. Historicky vznikly první pokusy v tomto směru již v 60. až 80. letech minulého století například v rámci transplantačního programu v Institutu klinické a experimentální medicíny v Praze, Krči.

Nezbytnou a nedílnou součástí péče o nemocné po transplantacích solidních orgánů (ledvin, pankreatu, jater, srdce a plic) je imunosupresivní terapie; ta brání rejekci (odhojení) transplantovaného orgánu v důsledku imunitní reakce, ale bohužel současně také snižuje obranyschopnost organismu proti infekcím. Proto se v historii transplantací současně se zdokonalováním taktiky a techniky vlastních transplantačních výkonů hledala postupně i stále účinnější a bezpečnější imunosupresiva. První „chemická“ imunosupresiva, azathioprin a prednison, sice již v 60. letech minulého století umožnila transplantace zahájit, byla však spojena s celou řadou problémů. Zásadním přelomem se tak stalo až zavedení imunosupresiva cyklosporinu A, který byl objeven jako výsledek výzkumu firmy Sandoz v roce 1970. I s cyklosporinem však byly pro nás spojeny dva problémy.

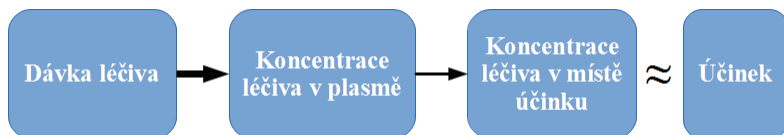
Tím prvním byla dostupnost embargovaného léku vyvinutého ve Švýcarsku, což se později podařilo překonat vývojem původního cyklosporinu českého. Na samém začátku stál profesor Jaroslav Weiser, insektolog z Entomologického ústavu ČSAV v Českých Budějovicích, který zkoumal, jak by se daly produkty vláknitých hub využít jakožto insekticidy. V roce 1985 předal svému postgraduálnímu studentovi Vladimíru Mathovi zbytky houby *Tolypocladium inflatum* a ten zjistil, že její produkt vyvolává stejné změny hmyzího organismu, jaké byly popsány po podání cyklosporinu nemocným po orgánových transplantacích. Chemik Alexandr Jegorov pak potvrdil, že chemická struktura česko-budějovického extraktu je stejná jako švýcarský cyklosporin. Později Vladimír Matha přešel do farmaceutické firmy Galena v Komárově a tam se podílel na zahájení průmyslové výroby českého cyklosporinu. Mezitím tým pod vedením imunologa Ivo Matla zahájil v IKEM klinické zkoušení českého cyklosporinu u pacientů po transplantaci ledviny či srdce. Prokázal, že výsledky léčby obou preparátů jsou stejné. Český cyklosporin byl dále zdokonalován a později zaregistrován v evropských zemích i v USA a dostal se na jejich trhy. Druhým světovým výrobcem cyklosporinu a prvním generickým producentem tekuté lékové formy se tak stala firma Galena, která je dnes začleněna do společnosti IVAX Pharmaceuticals s.r.o..

Druhým problémem byla skutečnost, že i když cyklosporin neměl nežádoucí účinky na krvetvorbu jako dříve užívaná imunosupresiva, při nesprávném dávkování mohl mít toxické účinky na ledviny a játra. Proto bylo nutné zajistit jeho dávkování tak, aby se dosáhlo žádoucího účinku imunosupresivního, ale přitom nedocházelo k nežádoucím účinkům nefrotoxickým a hepatotoxickým. A právě k tomu mělo složit monitorování krevních koncentrací léku a optimalizace farmakoterapie na základě sledování farmakokinetiky cyklosporinu.

Účinek většiny reversibilně působících léčiv podle [1] obvykle koreluje s koncentracemi nevázaného léčiva v okolí příslušných receptorů (Obr. 2). Tyto koncentrace ale není možno průběžně sledovat. U řady léčiv však existuje

relativně těsná korelace mezi koncentrací léčiva v krevní plasmě (nebo séru či plné krvi) a účinkem, čehož je možno využít při terapeutickém monitorování léčiv (TDM).

TDM je podle [2] individuální úprava dávkování, podle stanovených koncentrací léčiva v plasmě (krevním séru, krvi) tak, aby ustálené koncentrace léčiva byly v rozmezí farmakoterapeutického okna.“ TDM je používáno rozhodnutí o optimalizaci a individualizaci farmakoterapie pacienta tak, aby léčba byla maximálně účinná a bezpečná. TDM je vhodné pro léčiva s velkou interindividuální variabilitou ve farmakokinetice, s úzkým terapeutickým rozmezím a obtížně kvantifikovatelnou odpovědí.



Obrázek 2 – Vztah mezi podanou dávkou, koncentrací léčiva a jeho účinkem.

Terapeutické monitorování hladin léčiv sestává ze dvou částí. Při první, analytické části jsou zjišťovány koncentrace léčiva ve vzorku pomocí vhodných metod – EMIT, FPA, RIA, ELISA, TLC, GC, HPLC nebo LC MS/MS. V druhé části se zpracovávají informace o pacientovi, aplikovaném léčivu, odebraném vzorku a výsledcích analýzy k provedení farmakokinetického (příp. i farmakodynamického) vyhodnocení a k predikci průběhu koncentrací léčiva po dalších aplikacích léčiva s cílem doporučení dalšího optimálního dávkování léčiva [1].

TDM je konziliární činnost, která vyžaduje znalosti farmakokinetiky, farmakodynamiky, lékových interakcí a lékové a klinické problematiky, provádí ho obvykle klinický farma-kolog, eventuálně klinický farmaceut.

Jak již bylo uvedeno, TDM je racionální u léčiv s klinicky špatně kvantifikovatelným účinkem, lineárním a reversibilním vztahem mezi koncentrací a účinkem, úzkým terapeutickým indexem + závažnou toxicitou, značnou variabilitou farmakokinetiky nebo mě-nících se funkcích hlavních eliminačních orgánů. Využití lze také pro hledání příčin selhání terapie nebo pro odhalení lékové interakce u kombinované farmakoterapie. Konkrétně se pak jedná o analgetika, antiepileptika, antibiotika, antiretrovirotika, bronchodilantancia, kardiaka, antiarytmika, imunosupresiva nebo psychofarmaka.

2.1 Farmakogenetika a farmakogenomika

Tento obor sleduje rozdíly v metabolických drahách, které mohou ovlivnit individuální odpověď na danou látku, její terapeutickou účinnost i její nežádoucí účinek. Dříve většina farmakogenetických pozorování byla zaměřena pouze na sledování rozdílů např. v koncentraci léčiva v krvi nebo odpad jejích metabolitů močí [3].

Farmakogenomika je odvětví farmakologie, které sleduje účinnost léků a jeho případnou toxicitu v korelaci s genetickou variabilitou osob, tzn. na úrovni genetických polymorfismů jednotlivých genů (např. SNP – single-nucleotide

polymorphisms). Z celkového odhadovaného počtu 11-15 milionů genetických polymorfismů u člověka tvoří přes 90 % právě SNP.

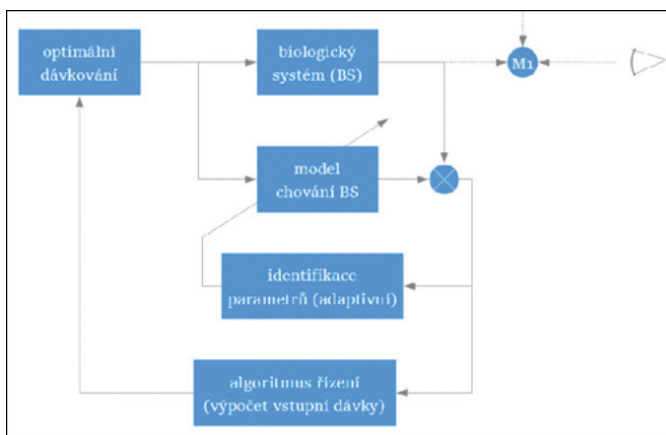
Farmakogenetika využívá aplikace genomických technologií pro objevy nových látek a detailnější charakteristiku již existujících látek. Tento přístup vede k optimalizaci terapie s ohledem na genotyp pacienta. Cílem je dosáhnout personalizované medicíny – “léčby šité na míru”. Zásadním farmakogenetickým cílem je nejen zvýšení účinnosti léčby, ale též její bezpečnosti [3].

Ačkoliv je známa příčina nemoci a účinek léku je cílen na příslušný proces, může se při léčbě objevit nečekáný negativní dopad na jiné oblasti organismu. V průběhu klinických testů jsou sledovány rozdíly v odpovědi léčených při stejné dávce u zhruba srovnatelných jedinců (pohlaví, věk, hmotnost, diagnóza). V rámci definované skupiny se může vyskytnout různá míra léčebného efektu (např. snížení krevního tlaku), nežádoucí projevy; v extrémním případě i život ohrožující účinek. Za značnou část individuální variability v reakci na léčivo jsou zodpovědné genetické faktory. První pozorování genetické variability při odpovědi na lék byla zaznamenána již okolo roku 1950 [4].

Paralelní stanovení exprese prakticky všech genů v daném vzorku ukázalo dynamickou povahu genomu. Na expresi genu se podílí mnoho regulačních pochodů a úprav na všech mezistupních realizace genetické informace (posttranskripční, posttranslační úpravy, na RNA závislá regulace exprese atd.). Genetické faktory ovlivňující efekt léčby jsou zejména zohledňovány u nemocí jako jsou nádorová onemocnění, kardiovaskulární choroby, neurologické poruchy, human immunodeficiency virus infekce (HIV), tuberkulóza, astma, diabetes a další.

2.2 Optimální farmakoterapie z hlediska teorie řízení

Proces optimální farmakoterapie lze vyjádřit následujícím blokovým schématem:



Obrázek 3 – Proces optimalizace farmakoterapie.

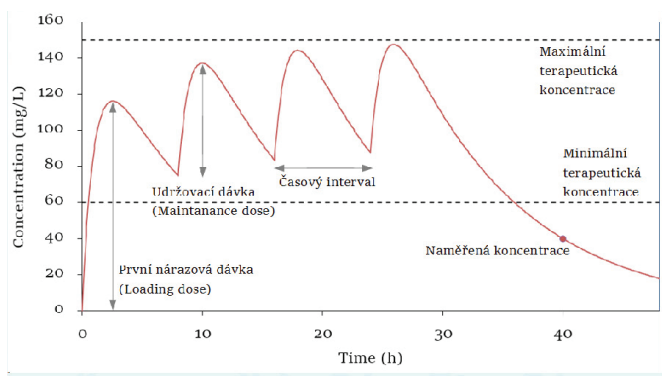
Jde tedy v podstatě o návrh výpočtu optimálního dávkování léčiva na základě farmakokinetických a farmakodynamických parametrů modelu distribuce léčiva v organismu

Jak vyplývá z klinické praxe, dávkování léčiv je ovlivněno:

1. farmakokinetickými a farmakodynamickými vlastnostmi distribuce léčiva v organismu a pomocí PK/PD lze navrhnout výpočet správné dávky léčiva tak, aby se koncentrace léčivé látky případně jejích metabolitů, se pohybovala v určitých mezích mezi minimálními dolní a maximálními horní hladinou koncentrace.
2. úprava dávky léčivé látky podle rychlosti metabolismu ovlivněné genetickou výbavou pacienta
3. úprava dávkování podle interakcí mezi podávanými léčivými látkami pacientovi

2.3 Dávkování léčiv na základě PK/PD modelu

Tento proces je výstižně popsán následujícím obrázkem:

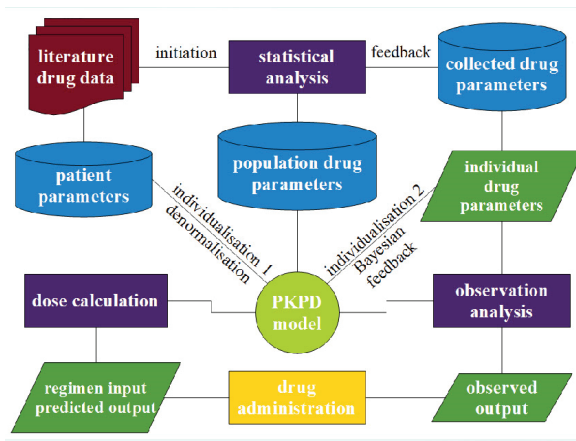


Obrázek 4 – Grafické znázornění terapeutických hladin c_{min} , c_{max} a průběhu koncentrace léčiva v krevní plazmě v závislosti na čase

Jde o výpočet první nárazové dávky (loading dose) a následně udržovací dávky (maintenance dose) léčivé látky včetně určení časového intervalu mezi jednotlivými látkami. Výsledná koncentrace léčivé látky včetně metabolitů se pak musí pohybovat mezi maximální a minimální terapeutickou koncentrací. Naměřená koncentrace (1-4 vzorky) pak potvrzují, zda byla dávka vypočtena pro sledovaného pacienta správně nebo je-li nutno provést korekci dávky.

Celý proces výpočtu optimální dávky na základě PK/PD modelů distribuce léčivé látky v organismu je popsán následujícím schématem (Obr 5).

Na základě literárních zdrojů eventuálně statistickým zpracováním sebraných lékových parametrů byla postupně vybudována populační databáze kinetických parametrů v normovaném tvaru nejčastěji používaných léčiv. Tyto populační parametry jsou v prvním kroku dosazeny do PK/PD modelu léčivé



Obrázek 5 – Proces výpočtu optimální dávky na základě PKPD modelu.

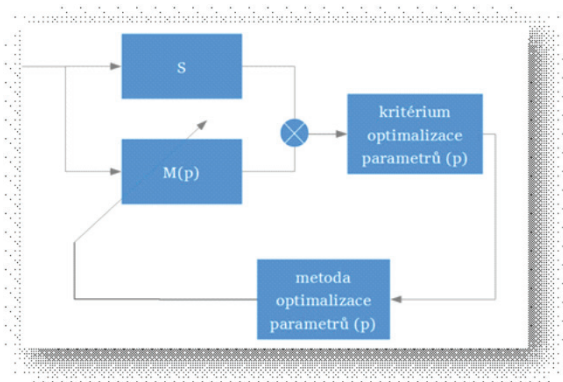
látky, které pacienti podáváme. Prvním krokem individualizace pro daného pacienta je takzvaná denormalizace parametrů tedy výpočet individuálních parametrů na základě přepočtu podle skutečné tělesné váhy, výšky, pohlaví, věku, eventuálně clearance kreatininu pacienta.

V následném kroku je vypočtena první doporučená dávka léčivé látky a ta je pacientovi podána. Následuje vlastní monitoring hladiny léčivé látky, eventuálně jejích metabolitů v plasmě (je naměřena koncentrace v minimálně jednom, ideálně ve čtyřech nebo i více časech).

Dalším krokem je výpočet individuálních kinetických parametrů z naměřených hodnot jednou ze zvolených metod optimalizace (nejčastěji tzv. Marquartova metoda). Výsledkem jsou pak individuální kinetické parametry pacienta, které jsou zařazeny do PK/PD modelu a na jeho základě je pak vypočtena individuální dávka pro našeho pacienta. Ta je pak personalizovanou dávkou léčivé látky pro našeho pacienta.

Máme-li k dispozici statistické charakteristiky (průměrná hodnota, směrodatná odchylka...) k jednotlivým kinetickým parametrům, můžeme provádět výpočet individuálních parametrů podle Bayese viz Obr. 6.

Pro terapeutické monitorování lékových hladin je kromě analytických metod velmi důležitý vhodný farmakokinetický software. Pomáhá k rychlému určení individuálních farmakokinetických parametrů a k predikci dalšího vývoje koncentrace léčiva. Každý farmakokinetický software přepočítává v jednotlivých iteracích diferenciální rovnice určující matematický model léčiva podle vložených dat pomocí tzv. metody nejmenších čtverců. Využívá li vybraný farmakokinetický software Bayesovu metodu odhadu individuálních hodnot farmakokinetických parametrů, stačí k provedení výpočtů a spolehlivé predikci jen malý počet měření a snižuje se možnost hrubé chyby v odhadu farmakokinetických parametrů.

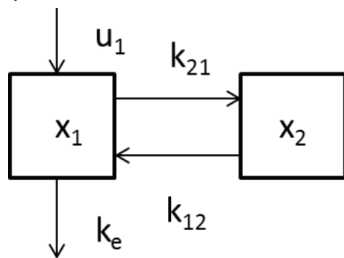


Obrázek 6 – Výpočet individuálních parametrů s využitím metody podle Bayes.

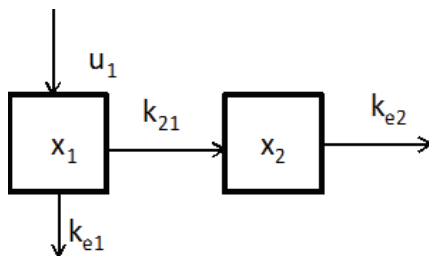
2.4 Úprava dávky léčivé látky podle rychlosti metabolismu

Rychlost metabolismu léčivé látky byla určována optimalizací parametrů kinetického modelu na základě měření hladiny metabolitů v plasmě. Schematicky lze tuto metodiku vyjádřit obrázkem č. 6.

Jde o optimalizaci parametrů zejména rychlostí metabolismu, modelu na základě měření koncentrace metabolitu v plasmě a při zvoleném kritériu optimalizace a metody optimalizace. V nejčastějším případě je kinetika léčiva v plasmě včetně metabolitů popsána tímto schématem.



Obrázek 7 – A: Znárodnění výměny látky mezi kompartmenty



Obrázek 8 – B: Vylučování metabolitů žlučí, stolicí

V případě A jde o metabolity, které se vrací zpět do plasmy. V případě B jde o metabolismus rychlosti k_{21} s vylučováním metabolitů i jinou cestou (žlučí, stolicí).

Rychlost metabolismu jsme určovali optimalizací podle schématu na základě skutečných hladin léčivé látky či metabolitu.

Při dostatečném počtu zpětných odběrů vzorků lze TDM využít i k diagnostice specifického metabolismu léčiv (metabolického fenotypu). Tato informace je však známa až po podání léčiva, aposteriorně. Pacienti s fenotypem ultrarychlého nebo pomalého metabolismu jsou tak v tomto případě ohroženi selháním léčby nebo vedlejšími účinky a toxicitou. Specifický metabolismus léčiv může být identifikován a priori genotypizací nebo fenotypizací..

2.5 Genetický polymorfismus

Genetická predispozice jedince je zodpovědná za změny aktivity enzymů metabolizujících léčiva a jsou příčinou významného zdroje odlišnosti farmakokinetických parametrů léčiv mezi jedinci, které mohou způsobovat odlišné terapeutické odpovědi pacientů. Jde o vrozené změny deoxyribonukleové kyseliny (DNA) vedoucí k absenci, nemožnosti indukce a nebo i ke tvorbě forem cytochromů P450 (CYP450), které mají pozměněnou katalytickou aktivitu. Individuální rozdíly mezi jednotlivci mohou být značné od selhání terapie až po projevy toxicity a výrazný výskyt lékových interakcí. Variabilita metabolické aktivity je způsobena přítomností několika typů alel pro daný enzym, které předurčují různou aktivitu kódovaného enzymu [5]. Na základě metabolické aktivity zjištěné pro jednotlivé formy CYP450 jsou pozorovaní jedinci rozdělováni do čtyř kategorií. V populaci se tak vyskytují alely, u jejichž nositelů můžeme předpokládat rychlý - normální metabolismus substrátů daného enzymu (rychlí metabolizátoři, extensive metabolizers, EM), duplikace nebo amplifikace funkčního genomu se klinicky projeví urychlením metabolismu a takové jedince označujeme jako ultrarychlé metabolizátory (ultrarapid metabolizers, UM). Přítomnost jedné defektní alely se fenotypizuje jako středně rychlý metabolizátor (intermediate metabolizers, IM). Alely, které způsobují značné snížení metabolické kapacity enzymu u jejich nositelů označujeme jako pomalí metabolizátoři (poor metabolizers, PM). Polymorfismus CYP450 se podstatně liší u jednotlivých lidských ras [4].

3. Závěr

V tomto příspěvku jsme shrnuli, jak mohou simulační modely přispět k návrhu dávkování léčiv zejména pro nemocné s ledvinným a jaterním selháním. Jak bylo uvedeno, základem této metodiky je výpočet dávkování léčiv na základě PK/PD modelů. V případě metabolitu jsme v minulosti postupovali složitějším způsobem, kdy rychlost metabolismu byla jedním z výsledných parametrů optimalizačního procesu, tj. výpočtu farmakokinetickým (farmakodynamických) parametrů simulačního modelu na základě měření koncentrace léčiva, eventuálně jeho metabolitů v plasmě nebo v moči. Vzhledem ke zlevňování gene-

tických vyšetření se však rychlost metabolismu, zejména u léčivých látek, které podléhají genetickým polymorfismům - viz podkapitola 2.5 - bude v budoucnu určovat právě z těchto genetických vyšetření a odpadnou tak vícenásobná měření hladin metabolitů v plasmě, která byla pro pacienta velmi stresující. Navíc už první podání léčiva bude dávkování korigováno jeho fenotypem.

Literatura

- [1.] ŠEDIVÝ J., TESFAYE H.: Úvodní text ke školení v terapeutickém monitorování hladin léčiv s příklady. MEDIWARE a.s., Praha, 2013. Nepublikovaný dokument.
- [2.] MARTÍNKOVÁ J. et al.: *Farmakologie pro studenty zdravotnických oborů*. 1. vydání. Praha: Grada, 2007, 380 s. ISBN 978-80-247-1356-4.
- [3.] ATKINS, G. L. *Multicompartment Models for Biological Systems*. London: Methuen & Co. Ltd., 1969
- [4.] BEST, CH. H., TAYLOR, N. B. *The Physiological Basis of Medical Practice*. 6th Ed. Bailliere Fidal & Cox, London, 1955
- [5.] JAIN K. K.: *Textbook of Personalized Medicine*. Springer, 2009. 430 s. ISBN 978-1-4419-0768-4.

Kontakt:

Jiří Potůček

Jiří Douša

Marek Mateják

Jiří Kofránek

MEDIWARE a.s.

Evropská 655/116

160 00 Praha 6 – Dejvice

1. LF UK

Ovocný trh 3/5

116 36 Praha 1