

**Univerzita Karlova**

**1. lékařská fakulta**

Studijní program: Biomedicína  
Studijní obor: Preventivní medicína



**UNIVERZITA KARLOVA**  
1. lékařská fakulta

**MUDr. Karolína Hronová**

*Polymorfismus genů účastnících se v metabolismu léčiv jako potenciální cíl prevence  
závažných komplikací léčby u novorozenců a dětí*

*Polymorphism of drug metabolizing enzymes as a potential target of prevention of serious  
treatment complications in neonates and infants*

Disertační práce

Školitel: prof. MUDr. Ondřej Slanař, Ph.D.

Konzultant: MUDr. Pavla Pokorná, PhD.

Praha, 2018

**Prohlášení:**

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracoval/a samostatně a že jsem řádně uvedla a citovala všechny použité prameny a literaturu. Současně prohlašuji, že práce nebyla využita k získání jiného nebo stejného titulu

Souhlasím s trvalým uložením elektronické verze mé práce v databázi systému meziuniverzitního projektu Theses.cz za účelem soustavné kontroly podobnosti kvalifikačních prací.

V Praze, 13.6.2018

KAROLÍNA HRONOVÁ

**Identifikační záznam:** HRONOVÁ, Karolína. *Polymorfismus genů účastnících se v metabolismu léčiv jako potenciální cíl prevence závažných komplikací léčby u novorozenců a dětí. [Polymorphism of genes involved in drug metabolism as a potential target of prevention of serious treatment complications in neonates and infants]*. Praha, 2018, 84 s., 4 příl. Disertační práce. Univerzita Karlova v Praze, 1. lékařská fakulta, Farmakologický ústav. Vedoucí práce: Slanař, Ondřej.

## Abstrakt

**Úvod a cíle:** Bezpečnost analgosedativních léčiv zahrnuje lékové interakce, nežádoucí účinky, syndrom z odnětí a vznik závislosti na těchto lécích, tedy faktory významně ovlivňující morbiditu a mortalitu a jejichž prevence má zásadní význam pro zvýšení kvality péče o pediatrické pacienty. Cílem disertační práce bylo posouzení predikce účinnosti a bezpečnosti analgosedativních léčiv sufentanilu, midazolamu, tramadolu a antiepileptika kyseliny valproové u novorozenců a dětí na základě výskytu vybraných farmakogenetických biomarkerů potenciálně ovlivňujících tyto parametry. Dále byl posouzen výskyt lékových interakcí fenobarbitalu s ostatními analgosedativními léčivy.

**Metodika:** Základem disertace jsou dvě studie, provedené na Jednotce intenzivní a resuscitační péče Kliniky dětského a dorostového lékařství Všeobecné fakultní nemocnice v Praze, a jedna kazuistika. V první studii zaměřené na sufentanil, tramadol a midazolam byla celkem u 48 zralých novorozenců a dětí starších tří měsíců léčených jedním či více sledovanými léčivy  $\geq 48$  h zjišťována přítomnost polymorfismů v genech pro *CYP3A5*, *CYP2D6*, *OPRM1*, *ABCB1*, *COMT* a *PXR* a hodnocen klinický stav pomocí COMFORT-skóre a SOS skóre. U sedmidenní dívky s výskytem nežádoucího účinku kyseliny valproové byla provedena genotypizace *CYP2C9* a *CYP2C19*. Ve druhé studii byly celkem u 37 zralých novorozenců s hypoxicko ischemickou encefalopatií sledovány lékové interakce fenobarbitalu.

**Výsledky a závěr:** Homozygoti *COMTrs4680* dostávali signifikantně nižší hodinovou dávku sufentanilu než nositelé wild-type alely. Heterozygoté pro *rs1045642* u *ABCB1* dostaly nižší dávku tramadolu než variantní homozygoté a wild-type homozygoté. Wild-type homozygoté a heterozygoté pro *rs1045642* v *ABCB1* byly statisticky významně častěji nadměrně sedováni (COMFORT skóre  $< 11$ ) než variantní homozygoté. Incidence abstinčního syndromu byla diagnostikována u 23% novorozenců a 50% dětí. Doba riziková pro rozvoj syndromu z odnětí byla statistickým zhodnocením stanovena na 177 hodin trvání léčby sufentanilem. Nebyla nalezena žádná souvislost mezi genetickými polymorfismy a rozvojem syndromu z odnětí. Polymorfismus *CYP2C9* a *CYP2C19* patrně nebyl příčinou rozvoje encefalopatie u dívky léčené valproátem. Touto příčinou byla nejspíše kombinace antiepileptik a nezralost metabolismu novorozence. Ve studii zaměřené na fenobarbital nebyly zaznamenány významné na dávce závislé lékové interakce s analgosedativními léčivy, které by ovlivnily farmakokinetiku fenobarbitalu.

**Klíčová slova:** analgosedace, tramadol, sufentanil, midazolam, valproát, fenobarbital, genetický polymorfismus, lékové interakce

## Abstract

**Background and aims:** The safety of analgesedative drugs includes drug interactions, adverse effects, withdrawal syndrome and drug dependence are factors that significantly affect morbidity and mortality. Its prevention is critical for quality improvement of care in paediatric patients. The aim of the thesis was to evaluate the prediction of efficacy and safety of analgesedative drugs sufentanil, midazolam, tramadol and valproic acid in neonates and children based on the occurrence of selected pharmacogenetic biomarkers. The incidence of drug interactions of phenobarbital with other analgesedative drugs has also been evaluated.

**Methodology:** The thesis is based on two studies conducted on Intensive and Resuscitation Care Unit of the Clinic of Paediatric and Adolescent Medicine of the General University Hospital in Prague and on one case report. In the first study focused on sufentanil, tramadol and midazolam, the presence of polymorphisms in the *CYP3A5*, *CYP2D6*, *OPRM1*, *ABCB1*, *COMT* and *PXR* genes was investigated and the clinical status using COMFORT-skóre and SOS skóre monitored in 48 mature neonates and children over three months of age, treated with one or more of the drugs  $\geq 48$ h. *CYP2C9* and *CYP2C19* genotype was examined in a 7-day-old girl with an adverse effect of valproic acid. In the study of phenobarbital drug interactions, mature neonates with hypoxic-ischemic encephalopathy were included. In the second study, drug interactions of phenobarbital were studied in 37 mature neonates with hypoxic ischemic encephalopathy.

**Results and conclusion:** *COMTrs4680* homozygotes allele received a significantly lower hourly dose of sufentanil than carriers of wild-type allele. Heterozygotes for *rs1045642* in *ABCB1* received a lower dose of tramadol than both variant and wild-type homozygotes. Wild-type homozygotes and heterozygotes subjects for *rs1045642* in *ABCB1* were statistically significantly more over-sedated (COMFORT score  $< 11$ ) than variant homozygotes. The incidence of withdrawal syndrome was diagnosed in 23% of neonates and 50% of children. The risky period for the development of withdrawal syndrome was statistically evaluated for 177 hours of sufentanil infusion duration. There was no association between genetic polymorphisms and the development of withdrawal syndrome. The *CYP2C9* and *CYP2C19* polymorphisms probably did not cause the development of encephalopathy in a valproate-treated girl. This was probably due to multiple drug interactions and the immaturity of the neonate's metabolism. No dose-dependent drug interactions with analgesic drugs that would affect the pharmacokinetics of phenobarbital were observed in the second study.

**Key words:** analgesedation, tramadol, sufentanil, midazolam, valproic acid, phenobarbital, genetic polymorphism, drug interactions

# Obsah

Abstrakt .....	4
Abstract .....	5
1. Úvod .....	14
1.1 Polymorfismy vybraných genů a jejich vliv na účinnost a bezpečnost sledovaných léčiv v pediatrické populaci .....	14
1.1.1 Cytochrom P450 .....	15
1.1.2 Pregnan X receptor .....	18
1.1.3 Transportéry .....	19
1.1.4 $\mu$ -opioidní receptor 1 .....	21
1.1.5 Katechol-o-metyl transferáza .....	22
1.2 Vybraná léčiva používaná na dětské jednotce intenzivní a resuscitační péče Kliniky dětského a dorostového lékařství v Praze a vliv genetické predispozice .....	23
1.2.1 Midazolam .....	23
1.2.2 Tramadol .....	24
1.2.3 Sufentanil .....	26
1.2.4 Valproát .....	28
1.2.5 Fenobarbital .....	29
1.3.1 Syndrom z odnětí .....	30
1.3.2 Hyperamonémie jako závažný nežádoucí účinek valproátu .....	31
1.3.3 Monitorování účinku analgosedativních léčiv a syndromu z odnětí, možnosti prevence .....	33
2. Hypotézy .....	35
2.1 Účinnost a bezpečnost sledovaných léčiv .....	35
2.2 Farmakokinetika sledovaných léčiv .....	35
3. Cíle práce .....	35
4. Metodika .....	36
4.1 Charakteristiky studijní populace .....	36
4.1.1. Vstupní kritéria - účinnost a bezpečnost .....	36
4.1.2. Vstupní kritéria - farmakokinetika .....	36
4.1.3 Kritéria pro nezařazení-účinnost a bezpečnost .....	37
4.1.4 Kritéria pro nezařazení-farmakokinetika .....	37

4.2 Sledované parametry .....	37
4.2.1 Genotypizace .....	37
4.2.2 Sledování klinického stavu studijních subjektů .....	44
4.3 PK analýza.....	49
4.4 Statistické vyhodnocení dat.....	50
5. Výsledky.....	50
5.1 Účinek a nežádoucí účinky analgosedativních léčiv se zaměřením na sufentanil, tramadol a midazolam .....	50
5.1.1 Demografické charakteristiky studijní populace .....	50
5.1.2 Dávky léčiv a hodnoty naměřených skóre.....	51
5.1.3 Vliv jednotlivých genetických polymorfismů na analgosedativní účinek a dávkování léčiv .....	52
5.1.4 Vliv jednotlivých genetických polymorfismů na rozvoj syndromu z odnětí .....	54
5.2 Farmakokinetika sledovaných léčiv .....	57
5.2.1 Plazmatické hladiny VPA a genetický polymorfismus u 7 dní staré dívky s rozvinutou hyperamonémií po podání standardní dávky valproátu.....	57
Fenobarbital.....	58
5.2.2 Demografické charakteristiky studijní populace .....	58
5.2.3 Vliv lékových interakcí na úrovni metabolismu na farmakokinetické parametry fenobarbitalu.....	59
6. Diskuze.....	61
6.1 Dávkování sufentanilu, midazolamu a tramadolu, sledování terapeutického účinku a rozvoje syndromu z odnětí a vliv genetických polymorfismů .....	61
6.2 Farmakokinetika.....	65
6.2.1 Možné příčiny hyperamonémie po podání valproátu u 7 dní staré dívky .....	65
6.2.2 Fenobarbital.....	65
7. Závěr.....	66
8. Literatura .....	68
9. Seznam příloh.....	84

## Souhrn

Disertační práce je založena na dvou klinických studiích a jedné kazuistice. Cílem práce bylo ověřit, zda vybrané genetické polymorfismy genů ovlivňují bezpečnost a účinnost vybraných léčiv a dále ověřit vliv konkomitantního užití fenytoinu či analgosedativních léčiv na farmakokinetické parametry fenobarbitalu u novorozenců a dětí léčených na pediatrických jednotkách intenzivní péče. Znalost a pochopení těchto souvislostí je hypotetickým základem predikce účinnosti a prevence předávkování a nežádoucích účinků sledovaných léčiv.

V první studii zaměřené na tramadol, sufentanil a midazolam byl hodnocen soubor celkem 48 novorozenců a dětí. Bylo zjištěno, že v běžné praxi je i přes intenzivní sledování u většiny novorozenců nedostatečná/nadměrná hloubka analgosedace, zatímco u starších dětí je adekvátně dávkovaná terapie standardem. Pro predikci úspěšnosti léčby v této věkové skupině neměly polymorfizmy genů účastnících se metabolismu léků předpokládaný význam, pravděpodobně z důvodu ontogenetických změn ve studované populaci. Nebyla nalezena žádná souvislost mezi hloubkou analgosedace hodnocené pomocí COMFORT skóre a sledovanými genetickými polymorfismy. Bylo zjištěno, že SNP v genech *COMT*, *PXR* a *ABCB1* mohou ovlivnit dávkování analgosedativních léků. Kumulativní dávky sufentanilu a midazolamu, stejně jako trvání léčby, představují rizikové faktory pro rozvoj syndromu z odnětí. Délka trvání léčby sufentanilem 177 hodin nebo déle je nezávislým rizikem pro rozvoj tohoto syndromu.

Výsledky druhé studie čítající soubor 37 novorozenců s hypoxicko-ischemickou encefalopatií poukazují na fakt, že běžně používaná medikace v rámci intenzivní péče neovlivňuje farmakokinetiku fenobarbitalu.

Genetický polymorfismus v *CYP2C9* a *CYP2C19* nehrál ve zvýšených hladinách VPA u sedm dní staré dívky, a tedy i rozvoje hyperamonemické encefalopatie, žádnou významnou roli. Jako nejpravděpodobnější příčina se jeví lékové interakce vyplývající z trojkombinace antiepileptik ze skupiny silných induktorů cytochromu P450 současně s nezralostí metabolismu novorozené dívky. Novorozenci léčení pomocí VPA a induktory CYP by měli být přísně terapeuticky sledováni pro hladiny VPA a amoniaku vlivem variabilních ontogenetických změn farmakokinetiky.



## Summary

The thesis is based on two clinical studies and one case report. The aim of the work was to verify whether gene polymorphisms influence the safety and efficacy of selected drugs and to verify the effect of concomitant use of phenytoin or analgesedative drugs on pharmacokinetic parameters of phenobarbital in neonates and children treated in paediatric intensive care unit. Knowledge and understanding of these contexts is a hypothetical basis for prediction of efficacy and prevention of overdose and adverse drug reactions.

In the first study of tramadol, sufentanil and midazolam, a total of 48 neonates and children were evaluated. It has been found that, despite intensive monitoring in most neonates, there is insufficient / excessive intensity of analgosedation in the common practice, whereas in children, adequate therapy is a standard of care. To predict the success of treatment in this age group, the gene polymorphisms involved in drug metabolism did not have a presumed significance, probably due to ontogenetic changes in the studied population. No consistent association was found between the intensity of analgosedation evaluated by COMFORT score and the observed genetic polymorphisms. SNPs in the *COMT*, *PXR* and *ABCB1* genes have been shown to affect the dosage of analgesic drugs. Cumulative doses of sufentanil and midazolam, as well as the duration of treatment, are risk factors for the development of withdrawal syndrome. The duration of treatment with sufentanil for 177 hours or longer is an independent risk for the development of this syndrome.

The results of the second study involving 37 neonates with hypoxic-ischemic encephalopathy show that commonly used intensive care co-medication does not affect the pharmacokinetics of phenobarbital.

Genetic polymorphism in *CYP2C9* and *CYP2C19* did not play a significant role in elevated valproic acid levels in seven-day-old girls, and thus in the development of hyperammonaemic encephalopathy. The most likely cause is the drug interactions resulting from triple combinations of antiepileptics from the group of potent cytochrome P450 inducers along with immaturity of the neonate's metabolism. In neonates treated with valproic acid and cytochrome P-450 inducers ammonia level should be closely monitored due to variable ontogenetic changes in pharmacokinetics.

## Seznam použitých zkratek

A	adenin
ABCB1	transportér ATP-binding cassette ABCB1
aEEG	augumented electroencephalography
AMK	aminokyselina
C	cytosine
CL	clearance
COMT	katechol-o-metyltransferáza
CVVHD	kontinuální veno-venózní hemodialýza
CYP	cytochrom P450
DNA	deoxyribonukleová kyselina
EDTA	etylendiaminotetraoctová kyselina
EM	extenzivní metabolizátor
ESPNIC	European Society of Neonatal Intensive Care
FXR	farnesoid xenobiotic receptor
G	guanine
GABA	kyselina gama-aminomáselná
GR	glukokortikoidní receptor
g.t.	gestační týden
h	hodina
IM	intermediární metabolizátor
JIRP	Jednotka intenzivní a resuscitační péče
KDDL	Klinika dětského a dorostového lékařství
Kel	eliminační konstanta
kg	kilogram
l	litr
LXR	liver xenobiotic receptor
MDR 1	multidrug resistance receptor
mg	miligram
n	počet subjektů
NTCP	Na <sup>+</sup> -dependent taurocholate-cotransporting polypeptide
OATP	Na <sup>+</sup> independent anionic transporter
OCT 1	organic cationic transporter 1

OR	odds ratio
OPRM1	μ-opioidní receptor
PCR/RFLP	polymerase chain reaction/restriction fragment length polymorphism
PK	farmakokinetika (pharmacokinetics)
PMA	postmenstrual age
PM	pomalý metabolizátor
POR	cytochrom P450 oxidoreduktáza
PPAR	peroxime proliferator activated receptor
PXR	pregnan X receptor
RXR	retinoid xenobiotic receptor
SBS	State Behavioral Scale
SLC	solute carrier family
SNP	single nucleotide polymorphism
SOS	Sophia Observational Scale
T	thymin
T1/2	biologický poločas
UM	ultrarychlý metabolizátor
UPV	umělá plicní ventilace
UV	ultrafialový
Vd	distribuční objem
VPA	valproát, kyselina valproová
WAT-1	Withdrawal Assessment Tool version 1
WS	withdrawal syndrome (syndrom z odnětí)

## Seznam vlastních publikací

### Publikace, které jsou podkladem disertace

1. Hronova, K., Pokorna, P., Posch, L., Slanar, O. (2016). Sufentanil and midazolam dosing and pharmacogenetic factors in pediatric analgo-sedation and withdrawal syndrome. *Physiol Res*; 65 (Supplementum 4): S463-S72. **IF (2016) 1.461**
2. Sima, M., P. Pokorna, K. Hronova and O. Slanar (2015). Effect of co-medication on the pharmacokinetic parameters of phenobarbital in asphyxiated newborns. *Physiol Res* 64 Suppl 4: S513-519. **IF (2015) 1.643**
3. Pokorna P., Hronova K., Sima M., Slanar O., Klement P., van den Anker J.N., et al. (2017) Valproic acid-induced hyperammonemic encephalopathy in a full-term neonate: a brief review and case report. *Eur J Clin Pharmacol*.73(5):647-9. **IF (2016) 2.902**
4. Hronova, K., Pokorná, P., Šíma, M., Slanař O. (2018) Tramadol dosing in paediatric intensive care and its pharmacogenetics covariates. *Hong Kong J. Paediatr.*, under peer review **IF (2016) 0.172**

### Přehledové publikace:

1. Svetlik, S., K. Hronova, H. Bakhouché, O. Matouskova and O. Slanar (2013). Pharmacogenetics of chronic pain and its treatment. *Mediat. Inflamm.* 2013: 864319. **IF (2013) 2.417**
2. Hronova, K., M. Sima, S. Svetlik, O. Matouskova and O. Slanar (2014). Pharmacogenetics and immunosuppressive drugs. *Expert Rev Clin Pharmacol* 7(6): 821-835.

### Ostatní publikace:

1. Šíma, M., Hronová, K., Hartinger, J., Slanař, O., (2017). „A simulation of loading doses for vancomycin continuous infusion regimens in intensive care. *Infect Dis (Lond)*. 49(9):674-679 **IF (2016) 1.119**

*Motto: Práce v kolektivu vstřícných lidí naplňuje radostí...*

## **Poděkování**

Ráda bych jmenovitě poděkovala mému školiteli profesoru Ondřeji Slanařovi za projevenou důvěru při obnovení mého PhD. studia, za laskavé, vstřícné a trpělivé vedení disertační práce a mnoho velmi cenných odborných rad.

Velký dík rovněž náleží paní doktorce Pavle Pokorné za vstřícnost, klinické rady, přátelskou pomoc, podporu a lidský přístup ve všech aspektech náročného výzkumu.

Děkuji milým laborantkám Janě Plačkové a Karolíně Černé za ochotu a obětavou pomoc při zpracování velkého množství studijního materiálu.

Děkuji veškerému personálu Kliniky dětského a dorostového lékařství, všem lékařům a zdravotním sestřím pracujícím ve všestranně náročných podmínkách dětské jednotky intenzivní a resuscitační péče za nedocenitelnou spolupráci při provádění klinického výzkumu.

Děkuji všem kolegům za odbornou pomoc a inspirující spolupráci v přátelském prostředí.

Děkuji mým blízkým.

## 1. Úvod

### 1.1 Polymorfismy vybraných genů a jejich vliv na účinnost a bezpečnost sledovaných léčiv v pediatrické populaci

Farmakokinetiku, farmakodynamiku, účinnost a bezpečnost léčiv ovlivňuje celá řada enzymů, enzymatických komplexů, transkripčních faktorů, membránových receptorů, organických transportérů a mnoho dalších typů molekul, jejichž funkce může být významně ovlivněna existencí genetických polymorfismů. Genetické polymorfismy jsou nejčastěji bodové odchylky DNA, tzv. SNP (single nucleotide polymorphism), vzniklé záměnou či ztrátou jediné báze, jakožto stavebního kamene DNA, vedoucí k připojení jiné aminokyseliny do výsledného proteinu. Tato jediná aminokyselina může způsobit zásadní konformační změnu proteinu a snížit či zcela vyřadit jeho funkci.

Genetický polymorfismus se v metabolismu léčiv obecně nejspíše projeví, má-li sledované léčivo úzkou terapeutickou šíří, nebo způsobuje-li úplnou ztrátu funkce proteinu. Dávka léku vhodná pro rychlého metabolizátora je příliš vysoká pro pomalého metabolizátora a podání léku takovým pacientům v obvyklé dávce může vést k častějšímu výskytu toxických projevů či jiných nežádoucích účinků.

V současné době existuje mnoho studií dokumentujících vliv konkrétních polymorfismů určitých genů, například ze skupiny cytochromu P450, receptorů a enzymů na následný účinek analgosedativ u dospělých pacientů [Agrawal et al. 2010; Brussee et al. 2017; Fukuda et al. 2010; Hajj et al. 2017; Huang et al. 2011; Landau et al. 2008; Shih and Huang 2002; Stamer et al. 2003; Stamer et al. 2016; Tzvetkov et al. 2011; Wong et al. 2004; Yuan et al. 2011]. Podstatně méně klinických studií se zabývá souvislostí genetických polymorfismů a účinnosti a bezpečnosti léčiv u novorozenců a dětí [Allegaert et al. 2011]. Bezpečnost analgosedativ zahrnuje lékové interakce, nežádoucí účinky, syndrom z odnětí a vznik závislosti na těchto léčích, tedy faktory významně ovlivňující morbiditu a mortalitu a jejichž prevence má zásadní význam pro zvýšení kvality péče o pediatrické pacienty.

### 1.1.1 Cytochrom P450

Nadrodina cytochromu P450 (CYP), hemových proteinů katalyzujících mnoho lipofilních exogenních i endogenních látek je základním enzymovým komplexem biotransformační fáze I pro léčiva i jiná xenobiotika. Po navázání molekuly substrátu je tento komplex pomocí cytochrom P450 oxidoreduktázy (POR) enzymaticky redukován přeneseným elektronem z NADPH. Každá molekula POR na povrchu membrány jaterních mikrosomů je obklopena 10-15 komplexy cytochromu P450.

V závislosti na shodě řetězce aminokyselin (AMK) je komplex cytochromu P450 rozdělen do mnoha rodin a podrodin. Alespoň 40% shoda AMK vede ke klasifikaci enzymů v rámci jedné rodiny, označenou arabskou číslicí (např. *CYP3*), podrodina označená velkým písmenem značí vysoce příbuzné geny (*CYP3A*-až 85% shoda AMK) a následná arabská číslice (*CYP3A4*, *CYP3A5*) značí sekvenci genu v rámci řetězce DNA. Existuje 18 savčích rodin cytochromu P450 (CYP), které kódují 57 genů v lidském genomu. Rodiny CYP2, CYP3 a CYP4 obsahují mnohem více genů než ostatní 15 rodin. Většina genů z rodin CYP1, CYP2, CYP3 a CYP4 kóduje enzymy, které se podílejí na metabolismu eicosanoidů, a jsou indukovatelné různými environmentálními stimuly (tj. dietou, chemickými induktory, léky). [Nebert et al. 2013]. Určité podrodiny hrají ústřední roli v metabolismu xenobiotik a různých endogenních látek u lidí. Celková hladina CYP dosahuje ve fetálních játrech 30-60% hladiny dospělých, avšak jednotlivé izozymy vykazují specifickou ontogenezi, která znemožňuje zobecnění vývoje tohoto enzymového komplexu.

#### CYP3A

Rodina *CYP3A* patří z hlediska metabolismu xenobiotik mezi nejvýznamnější. Řadí se pod ní geny pro CYP3A4, CYP3A5, CYP3A7 a jen málo významnou CYP3A43 izoformu. 30-40% celkového množství jaterního a střevního CYP je tvořeno CYP3A4. CYP3A5 je hlavním zástupcem rodiny CYP3A v ledvinách a CYP3A7 je hlavní formou cytochromu P450 embryonálních, fetálních a neonatálních jater [Lacroix et al. 1997; Yang et al. 1994]. Nízké hladiny CYP3A4 byly u fetů spojené se zanedbatelnou aktivitou biotransformace testosteronu, po narození s postupným nárůstem na 30-40% dospělé aktivity u 3-měsíčních až ročních, až na 120% dospělé aktivity po jednom roce života dítěte. Gestační věk při narození (25 - 40 g.t.) a pohlaví nemá dle Lacroix et al. na vývoj CYP3A4 aktivity vliv. Aktivita CYP3A7 naopak po 7. dni narození dramaticky klesá až na 10% aktivity novorozence mezi 3. - 12. měsícem života [Lacroix et al. 1997]. Následně byl popsán prudký nárůst katalytické aktivity CYP3A7 (substrát

dehydroepiandrosteron) během prvních sedmi dnů po narození, s obdobně prudkým následujícím poklesem a postupným nárůstem aktivity CYP3A4 [de Wildt et al. 1999].

Z hlediska genetických polymorfismů byl zatím nejpodrobněji prozkoumán vliv nefunkční alely \*3 v genu pro CYP3A5, který se podílí na metabolismu midazolamu. Mutace, jež podmiňuje alelu \*3, vede k zanedbatelné expresi enzymu. Její rozložení v populaci se liší podle ras a etnik: u bělošské a asijské rasy dosahuje frekvence této alely až 85% (v rámci čínského etnika byly zjištěny velké rozdíly u jednotlivých podskupin [Lai et al. 2011]), u Afroameričanů dosahuje 55% [Min et al. 2004]. Pouhá třetina Američanů evropského původu má funkční enzym CYP3A5 [Ozawa et al. 2004]. Ve studii souvislosti tohoto genotypu a periferní neuropatie po léčbě vinkristinem u dětí s akutní lymfoblastickou leukémií pozorovali autoři vyšší riziko tohoto nežádoucího účinku u homozygotů \*3/\*3 [Egbelakin et al. 2011; Kayilioglu et al. 2017]. Ve vědeckých kruzích se dále spekuluje o imunopresivní terapii takrolimem upravené dle genotypu *CYP3A5*, neboť jeho variabilita ovlivňuje metabolismus tohoto léčiva. Výsledky studií však nehovoří zcela jednoznačně, že by takto řízená terapie přinášela markantní klinický benefit [Billing et al. 2017; Prytula et al. 2016]

## **CYP2C9**

V současnosti je popsáno více než **60** variantních alel genu CYP2C9 (<https://www.pharmvar.org/htdocs/archive/cyp2c9.htm>). Snížená funkce se nejspíše projeví u substrátů s malým terapeutickým rozmezím, např. u fenytoinu [Loughnan et al. 1977] [Bajpai et al. 1996]) a warfarinu [Chiba et al. 1980; Koukouritaki et al. 2004; Leff et al. 1986; Loughnan et al. 1977; Murry et al. 1999; Rettie et al. 1994; Scott et al. 1999]. Asi třetina kavkazské populace je nositelem alely \*2 nebo \*3, zatímco \*5 byla nalezena jen u Afroameričanů [Lee et al. 2002]. Alely \*2, \*3, \*4 a \*5 jsou spojeny se sníženou aktivitou CYP2C9 vůči S-warfarinu [Rettie et al. 1994; Tracy et al. 2002], a to bylo prokázáno i u pediatrické populace [Shaw et al. 2014; Zhang et al. 2017]. Zvýšené riziko krvácení při podávání warfarinu a toxicita po terapeutických dávkách fenytoinu se nejspíše projeví u jedinců s genotypem \*3/\*3 [Lee et al. 2002]. *CYP2C9*\*3 se ukazuje být pravděpodobným prediktivním faktorem závažných kožních nežádoucích účinků fenytoinu [Suvichapanich et al. 2015] a rozvoje rezistence vůči antiepileptické terapii u dětí [Seven et al. 2014].



## CYP2C19

U enzymu CYP2C19 bylo popsáno více než 35 variantních alel (<https://www.pharmvar.org/htdocs/archive/cyp2c19.htm>). Z těchto minimálně 5 vede k nulové funkci produktu. Fenotypově pomalí metabolizátoři jsou geneticky nejčastěji podmíněny alelami \*2 a \*3 (až 5% bělošské rasy a téměř čtvrtina asijské populace) [Goldstein 2001]. Klasickým substrátem CYP2C19 je antiepileptikum mephenytoin [Koukouritaki et al. 2004]. SNP a haplotypy *CYP2C19* mohou ovlivňovat odpověď na antiepileptickou terapii u dětí [Lopez-Garcia et al. 2017]. Alela \*17 podmiňuje ultrarychlý metabolismus CYP2C19. Věk a *CYP2C19* diplotyp jsou patrně spojeny s koncentracemi vorikonazolu a homozygoti *CYP2C19\*17* vykazují signifikantně nižší plazmatické koncentrace než homozygoti *CYP2C19\*1* [Cendejas-Bueno et al. 2016; Hicks et al. 2014].

## CYP2D6

*CYP2D6* je jedním z nejvíce prostudovaných genů, co se týče vlivu polymorfismů na metabolismus léčiv. V současné době je popsáno více než 120 variantních alel (<https://www.pharmvar.org/htdocs/archive/cyp2d6.htm>). Některé mutace vedou ke snížené či nulové funkci produktu genu. Z hlediska fenotypu lze populaci rozdělit na pomalé (2 nefunkční alely, např. \*3, \*4, \*5, \*6 typické pro bělošskou rasu)-PM, intermediální (2 alely \*10, \*17 typické pro asijskou rasu)-IM, rychlé (alespoň jedna funkční alela)-EM a ultrarychlé (duplikace až multiplikace funkčních alel)-UM metabolizátory [Raimundo et al. 2004; Sistonen et al. 2009; Sistonen et al. 2007]. V Evropě patří průměrně 7% bělošské rasy mezi takzvané PM (poor metabolizers) [Ozawa et al. 2004]. Dle současného poznání tento cytochrom využívá téměř 50 běžně užívaných léků, mnoho dalších léčiv působí jako jeho inhibitory či induktory (<http://medicine.iupui.edu/clinpharm/ddis/table.aspx>).

Toxicita léčiv u starších dětí závislá na koncentraci jako důsledek genetického polymorfismu CYP2D6 může být v této věkové kategorii předpokládána stejně jako je tomu u dospělých, včetně obdobných, potenciálně život ohrožujících následků [Neville et al. 2011; Sallee et al. 2000]. Nežádoucí účinky léčiv spojené s opožděnou maturací specifických procesů biotransformace je možno očekávat zejména u novorozenců. Jako příklad lze uvést soubor klinických symptomů (tachypnoe, tremor, zvýšený svalový tonus, zvýšená dráždivost, agitace, problémy se sáním) u novorozenců matek léčených inhibitory zpětného vychytávání serotoninu (SSRI) paroxetinem [Knoppert et al. 2006; Murray et al. 2007], fluoxetinem [Mhanna et al. 1997; Spencer 1993], fluvoxaminem, cilatopramem a sertralinem. Toxické projevy lze zřejmě připsat na vrub nezralosti tohoto cytochromu a s ní spojenou sníženou plazmatickou clearance

léciv [Klinger and Merlob 2008; Knoppert et al. 2006; Lane and Baldwin 1997; Spencer 1993]. U pomalých metabolizátorů byla pozorována zvýšená asociace u dětí s farmakorezistentní epilepsií oproti pacientům příznivě reagujícím na terapii.[Lopez-Garcia et al. 2017]. Zdá se, že polymorfismus CYP2D6 ovlivňuje rovněž plazmatickou koncentraci risperidonu u dětí s autismem [Vanwong et al. 2017].

Problematika dávkování léčiv u novorozenců se z hlediska ontogeneze a farmakogenetiky netýká pouze jich samotných. V literatuře jsou popsány případy fatálního předávkování kojeného novorozence aktivním metabolitem kodeinu (substrátu CYP2D6), který užívala jeho matka, fenotypem ultrarychlá metabolizátorka [Lam et al. 2014; Madadi et al. 2009].

### 1.1.2 Pregnan X receptor

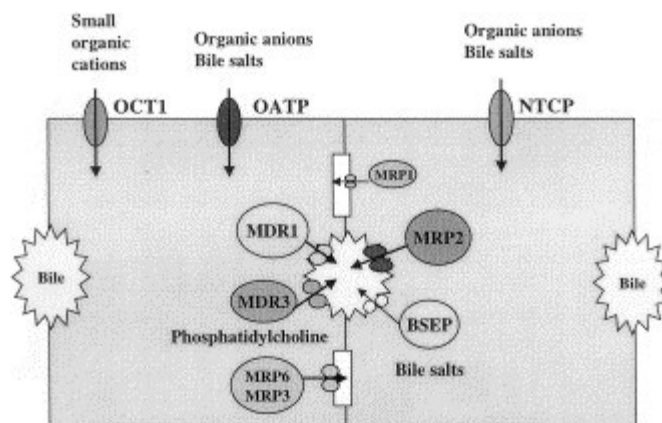
PXR, pregnan-X-receptor, patří společně s dalšími transkripčními faktory (CAR; constitutive androstane receptor, PPAR; peroxime proliferator activated receptor, LXR; liver xenobiotic receptor, FXR; farnesoid xenobiotic receptor, RXR; retinoid xenobiotic receptor) do skupiny takzvaných sirotčích nukleárních receptorů. Plní mimo jiné funkci senzoru toxických produktů metabolismu látek těla vlastních i exobiotik, za cílem usnadnit jejich eliminaci z organismu. PXR je transkripčním faktorem genů I. i II. fáze biotransformace, včetně *CYP3A*, dále pak *ABCB1* (viz dále) a jiných. Kromě tohoto, produkt *PXR* genu, jehož regulační působení je předmětem intenzivního badatelského pátrání, zasahuje do mnoha dalších metabolických pochodů [Sima and Slanar 2014].

Mezi substráty proteinu PXR patří například steroidní látky, antibiotika, antimykotika a žlučové kyseliny. Kulovitý tvar vazebné domény umožňuje jeho interakci se širokým spektrem hydrofobních substancí [Dussault and Forman 2002]. U lidí byl popsán synergický účinek glukokortikoidních receptorů (GR) zvyšující PXR-aktivovanou transkripci genu. Např. dexamethason indukce CYP3A4 i v nízkých koncentracích, které nejsou dostatečné pro PXR, zároveň ale aktivuje GR. Bylo zjištěno, že GR po aktivaci zvyšují expresi genů pro PXR a CAR a tyto receptory následně zprostředkovávají indukci CYP3A4 [Pascussi et al. 2001]. Tímto mechanismem dexamethason indukce také CYP2B6. Podání dexamethasonu v nízké dávce s některými ligandy PXR (rifampicin, fenobarbital, fenytoin, clotrimazol) vedlo, na rozdíl od podání samotného ligandu, k významnému zvýšení indukce CYP2B6 [Wang et al. 2003]. Z uvedeného vyplývá, že regulační mechanismy metabolismu xenobiotik jsou krajně složité a signalizační cesty jaderných receptorů se vzájemně protínají [Sima et al. 2013].

Co se týče souvislosti polymorfismu *PXR* a farmakokinetiky léčiv, význam *3'-UTR* formy je zmíněn v odstavci o midazolamu [Oleson et al. 2010]. Varianta *T44477C* byla signifikantně spojena s fenotypovými projevy *CYP3A4* [Lamba et al. 2008]. Varianty *A24622T* a *C24446T* byly dále spojeny s vyšší aktivitou vůči rekombinantním substrátům [Wang et al. 2007]. Dále byla zkoumána asociace polymorfismů genu, včetně haplotypů, a sklonu k zánětlivým střevním chorobám. Výsledky studií jsou protichůdné u dospělých i dětí [Amre et al. 2008; Dussault and Forman 2002; Glas et al. 2011; Lacher et al. 2009]. Další varianta, *7635G*, byla signifikantně spojena s nižšími hodnotami plazmatické koncentrace prednisolonu u příjemců renálního transplantátu [Miura et al. 2008]. *PXR* moduluje mimo jiné transkripci *ABCB1*. Haplotyp exonů *ABCB1 C3435T/G2677T/A/C1236T* pravděpodobně protektivním faktorem ve vzniku syndromu respirační tísně u předčasně narozených dětí, jejichž matkám byl podán dexametazon, substrát *PXR* [Haas et al. 2012]

### 1.1.3 Transportéry

Z hlediska metabolismu léčiv byly identifikovány 2 hlavní nadrodiny membránových transportérů-SLC-the solute carrier family a ABC-ATP-binding cassette (Obr. 1). ABC transportéry mají konzervativní katalytickou doménu pro hydrolýzu ATP a typicky zajišťují přenos substrátů z intracelulárního do extracelulárního kompartmentu.



**Obr. 1:** Transportéry jaterní buňky, *OCT 1*-organic cationic transporter 1, *NTCP*-příklad  $\text{Na}^+$  dependent anionic transporters ( $\text{Na}^+$ -dependent taurocholate-cotransporting polypeptide), *OATP*-příklad  $\text{Na}^+$  independent anionic transporters, *MDR 1*-multidrug resistance receptor (*ABCB1*), převzato z *Expression and regulation of hepatic drug and bile acid transporters*, Lecureur et al., 2000.

## ABCB1

Ve středu zájmu z hlediska farmakokinetiky léčiv se často objevuje *ABCB1* gen, dříve *MDR* (multidrug resistance receptor), prvně identifikovaný v nádorových buňkách (odtud název *MDR*). Tento gen podmiňuje vznik P-glykoproteinu, který je společně s cytochromem P-450 exprimován ve střevní sliznici a jiných tkáních (viz dále). Na lumenálnímu povrchu enterocytů funguje jako pumpa, která nasává xenobiotika do nitra enterocytu a opět je vypuzuje do střevního lumen-v nezměněné podobě, i ve formě metabolitu. Tímto zvyšuje pravděpodobnost jejich zpracování pomocí CYP3A před absorpcí do organismu. Zároveň udržuje intracelulární koncentraci léčiv na úrovni kapacity CYP3A. Jelikož P-gp<sup>-/-</sup> (knock-out) myši vykazují tendenci k rozvoji spontánní bakteriální kolitidy, tento protein hraje zřejmě úlohu v protekci sliznice vůči přirozeným střevním bakteriím [Guner et al. 2011]. Funkce efluxní pumpy může být bohužel silněji vyjádřena v nádorových buňkách. Zvýšená exprese v ložiscích vývojově vzniklé fokální kortikální dysplázie a gangliogliomu nalezená ve studii Aronica et al. je v souladu s teorií, že P-gp je možnou příčinou rezistence vůči farmakologické léčbě u epilepsie podmíněné těmito lézemi [Aronica et al. 2003]. P-glykoprotein byl nalezen v Sertolliho a Leydigových buňkách testes [Melaine et al. 2002], v buňkách placenty a dále rovněž v hematoencefalické bariéře. Ve všech těchto tkáních zřejmě plní ochrannou funkci daného orgánu (potažmo celého plodu) vůči škodlivému působení xenobiotik („gatekeeper“). Exprese placentálního transportéru a tudíž i jeho protektivní aktivita klesá s délkou těhotenství. Tento efekt je ještě silněji vyjádřen v případě infekce matky v tomto období. V CNS se uplatňuje v patogenezi novorozeneckého kernikteru [Ostrow et al. 2004]. Zdá se, že varianty tohoto genu odpovídají za lékové interakce dříve přisuzované cytochromu P-450. Význam polymorfismu byl u dětí zkoumán v mnoha různých souvislostech. Vzácná alela *rs2032583* byla identifikována jako protektivní faktor vůči rozvoji závislosti na kortikoidech u dětí léčených pro Crohnovu chorobu ( $n = 206$ ,  $P = 0.035$ , OR; 0.52), [Krupoves et al. 2011]. Alela *3435C* (polymorfismus *C3435T* v exonu 26 je vůbec nejstarším zdokumentovaným) byla spojena s vyšší toxicitou methotrexátu u dětí léčených pro osteosarkom ( $n = 60$ ,  $P = 0.027$ ) [Windsor et al. 2012]. Varianta *3435T* v kombinaci s alelou *G2677T/A* korelovala s rozvojem rezistence vůči kortikoidní terapii u dětí s nefrotickým syndromem [Jafar et al. 2011; Wasilewska et al. 2007; Wasilewska et al. 2006]. V homozygotní i heterozygotní podobě (*3435CT/TT*) u matek, jejichž stav vyžadoval perikoncepční farmakoterapii, a které během těhotenství neužívaly kyselinu listovou, vedl tento polymorfismus až k trojnásobnému riziku vzniku vrozené srdeční vady u jejich potomka ( $n = 283$ , 308 kontrol, OR; 2.8) [Obermann-Borst et al. 2011], v jiné studii se za podobných podmínek hovoří o asociaci genotypu a vzniku rozštěpu patra [Bliet et

al. 2009]. *C/C* genotyp této varianty byl v HIV pozitivní pediatrické skupině pacientů spojen s větším distribučním objemem indinaviru ( $n = 21$ ,  $P = 0.002$ ) a vyšší clearance nelfinaviru ( $n = 71$ ,  $P = 0.04$ ) oproti *C/T* a *T/T* genotypu [Curras et al. 2009; Saitoh et al. 2005]. Relativně silná asociace genotypu *2677GG* (OR; 6.8), *3435CC* (OR; 21.7) a haplotypu *2677G-3435C* (OR; 6.8) s kratší dobou přežití byla pozorována u dětí léčených pro akutní lymfoblastickou leukémií ( $n = 105$ ) [Yang et al. 2010], *3435 T/T* genotyp byl spojen s vyšším rizikem vzniku encefalopatie v důsledku protinádorové léčby oproti *C/T* a *C/C* genotypu u dětí s tímto onemocněním [Erdilyi et al. 2008]. Dále byla pozorována asociace variant *2677T* a *3435T* s farmakorezistentní epilepsií s nekonzistentním nálezem [Emich-Widera et al. 2014; Hung et al. 2007; Chouchi et al. 2017; Lazarowski and Czornyj 2011; Stasiolek et al. 2016]. Alela C1236T byla asociována se zvýšenou účinností myelosuprese u dětí s lymfoblastickou leukémií [Gervasini et al. 2017]. Anestetický účinek kombinace sevofluran-remifentanil byla účinnější u dětí po tonsilektomii, nositelů varianty *1236CC* genotype než u nositelů genotypu *CT+TT* [Shi et al. 2017]. Co se týče asociace *ABCB1* variant a různých chorob včetně epilepsie, střevních zánětlivých chorob, různých druhů rakoviny včetně akutní lymfoblastické leukémie u dětí, systémových chorob pojiva a jiných, výsledky jednotlivých studií (s výjimkou karcinomu prsu a ledviny) nejsou zcela konzistentní [Cizmarikova et al. 2015; Gregers et al. 2015; Grybauskas et al. 2015; Ieiri 2012; Kreile et al. 2014; Sheng et al. 2012; Sun et al. 2014; Wang et al. 2012].

#### 1.1.4 $\mu$ -opioidní receptor 1

Klinický účinek opioidů je zprostředkován  $\mu$ -opioidním receptorem a mnoho studií poukazuje na vliv polymorfismu *OPRM1 A118G* (rs1799971), [Camorcia et al. 2012; De Capraris et al. 2011; Fukuda et al. 2010; Khalil et al. 2017; Landau et al. 2008; Mamie et al. 2013]. Byla popsána redukce účinnosti následné signalizace po navázání agonisty (DAMGO)-efektivita spřažených G-proteinů dosahovala pouze 58% úrovně *AA* homozygotů [Oertel et al. 2009]. Rodičky, nositelky alely *G*, kterým byla aplikována spinální analgésie, obdržely signifikantně nižší dávky sufentanilu (25.2 ug vs. 20.2 ug) oproti ženám s genotypem *AA* ( $n = 57$ ), [Camorcia et al. 2012]. Nositelé alely *G* léčení pro pooperační bolest epidurální aplikací sufentanilu měli nižší VAS skóre (visual analogue scale), 24 hodin po zákroku oproti *AA* heterozygotům [De Capraris et al. 2011]. Meta-analýza poukazuje na signifikantní asociaci tohoto polymorfismu a sklonu k závislosti na opioidech u heterozygotů asijské rasy ( $n = 9385$ , *AG* vs. *GG*, OR: 0.69, 95% CI: 0.51–0.93,  $P = 0.01$ ), [Haerian and Haerian 2013]. Novorozenci s genotypem

*OPRM1 A118G AG/GG* strávili v nemocnici při léčbě neonatálního opioidního abstinčního syndromu signifikantně kratší dobu ( $n = 86$ ,  $\beta = -8.5$  dní; 95% CI, -14.9 až -2.1 dní;  $P = 0.009$ ) a vyžadovali méně terapeutických zásahů oproti nositelům *AA* genotypu (48% vs 72%; aOR, 0.76; 95% CI, 0.63 - 0.96;  $P = 0.006$ ), [Wachman et al. 2013]. Děti s nejméně jednou alelou *G* pro *OPRM1 (AG / GG)* měly vyšší pooperační skóre bolesti ve srovnání s genotypem *AA* [Lee et al. 2016]. V léčbě chronické bolesti nebyl dle meta-analýzy a rozsáhlé kohortové studie prokázán vliv tohoto polymorfismu na dávkování opioidů (oxycodonu, morfinu a fentanylu) u onkologických pacientů, z hlediska nežádoucích účinků léčby byla identifikována méně častá nauzea a zvracení u nosičů alely *G* [Klepstad et al. 2011; Walter and Lotsch 2009].

### 1.1.5 Katechol-o-metyl transferáza

Enzym katechol-O-metyl transferáza hraje ústřední roli v extracelulárním odbourávání dopaminu a noradrenalinu v CNS. *COMT Val158Met (G1947A, rs4680)* varianta vykazovala ve tkáních lidských mozků odebraných post mortem v homozygotní podobě o 38% nižší enzymatickou aktivitu oproti homozygotům pro divokou alelu [Chen et al. 2004; Lachman et al. 1996]. Vyšší hladiny dopaminu u této varianty jsou asociovány s nižšími hladinami enkefalinů, což následně vede k down-regulaci  $\mu$ -opioidního receptoru [Zubieta et al. 2003]. V asijské studii byla pozorována souvislost s intenzitou vnímání chronické bolesti a variantní alelou [Wang et al. 2015], dále pak s předoperační sensitivitou vůči bolest u onkologických pacientů [Yao et al. 2015]. U 40ti zdravých dobrovolníků byla pozorována asociace genotypu *COMT rs4680* a variability morfinové analgezie po kontaktu s algickou tepelnou stimulací [Nielsen et al. 2017].

Genotyp *COMT A158G AG/GG* byl, stejně jako *OPRM1 A118G*, asociován s kratší dobou hospitalizace a menší potřebou léčby dvěma a více léčivými nežli *AA* genotyp novorozenců léčených pro Neonatální abstinční syndrom [Wachman et al. 2013]. Matky s alelou *COMT rs4680 G* měly kojence se sníženým rizikem léčby dvěma léky pro Neonatální abstinční syndrom [Wachman et al. 2017]. Předčasně narozeným novorozencům s wild-type genotypem po intubaci trvalo déle dosažení skóre asociované s nulovou bolestí ve srovnání s kojenci s jednou či dvěma alelami *COMT rs4680 G* [Elens et al. 2016]. Ani pro tento genotyp nebyla nalezena asociace pro dávkování opioidů v léčbě chronické bolesti u onkologických pacientů kavkazské rasy [Klepstad et al. 2011; Walter and Lotsch 2009].

Byly identifikovány 3 haplotypy *COMT* nesoucí varianty alel *rs6269*, *rs4633*, *rs4818* a *rs4680*, které mohou být nalezeny až u 96% kavkazské populace [Diatchenko et al. 2006a;

Diatchenko et al. 2006b]. Tyto haplotypy byly asociovány s rozdílnými fenotypovými projevy ve vnímání bolesti u žen (n = 202, sledování rizikových faktorů rozvoje temporomandibulární poruchy-poruchy vnímání bolesti). Na základě vyhodnocení 5ti nalezených kombinací haplotypů byla určitému haplotypu přiřazena nízká citlivost na bolest, průměrná citlivost na bolest a výrazná citlivost na bolest [Diatchenko et al. 2005]. Překvapivě oba haplotypy spojené s nízkou i výraznou citlivostí na bolest obsahovaly val variantu *rs 4680*. Interakce mezi mutantní alelou *rs4680* a ostatními dle Nackleyho podmiňuje změny sekundární struktury mRNA a tímto může modifikovat translaci proteinu a skutečnou in vivo aktivitu COMT proteinu [Nackley et al. 2006]. Ženy s depresivní poruchou, nositelky haplotypu spojeného s výraznou citlivostí na bolest, měly signifikantně vyšší VAS během 7-týdenního sledování celkové bolesti (n = 193), [Fijal et al. 2010]. Haplotyp spojený s nízkou citlivostí na bolest byl asociován s dávkou opioidů užitých prvních 45 min u pacientů po ortopedické operaci [Henker et al. 2012]. Haplotyp spojený s výraznou citlivostí na bolest byl asociován s mírnou až těžkou bolestí hlavy a mírnou až těžkou nevolností u pacientů po automobilové nehodě [McLean et al. 2011]. V dlouhodobém sledování pacientů po operaci lumbálního výhřezu byla pozorována asociace alel *rs4633* a *rs4680* s terapeutickou redukcí bolesti [Omair et al. 2012].

## **1.2 Vybraná léčiva používaná na dětské jednotce intenzivní a resuscitační péče**

### **Kliniky dětského a dorostového lékařství v Praze a vliv genetické predispozice**

Celosvětově se pro analgosedaci na pediatrické jednotce intenzivní péče jako opioid první volby používá fentanyl (66%) a jako benzodiazepin první volby midazolam (86%) [Kudchadkar et al. 2014]. Mezi analgosedativní léčiva volby na jednotce intenzivní péče Kliniky dětského a dorostového lékařství Všeobecné fakultní nemocnice v Praze patří na základě klinické empirie midazolam jako hlavní zástupce skupiny benzodiazepinů, sufentanil jako zástupce opioidní terapie a tramadol, analgetikum se smíšeným mechanismem účinku, užívaný zejména k léčbě syndromu z odnětí. Valproát je antiepileptikum, které se na pracovišti používá jako lék třetí volby u novorozeneckých křečí.

#### **1.2.1 Midazolam**

Midazolam je běžnou součástí analgosedativní terapie na jednotkách intenzivní péče o děti a novorozence [Anderson and Larsson 2011] Novorozenci mají nezralé orgánové funkce a tedy vykazují tendenci k prodlouženému účinku midazolamu na dechové centrum. Pediatrickí pacienti mladší než 6 měsíců jsou obzvláště citliví na obstrukci a hypoventilaci dýchacích cest,

proto se doporučuje pečlivá titrace k dosažení klinického účinku a pečlivé sledování dýchací frekvence a saturace krve kyslíkem. Použití midazolamu, dokonce i v terapeutických dávkách, může vést k rozvoji fyzické závislosti. Prodloužené intravenózní podání, přerušování a zvláště prudké přerušování léčby může být doprovázeno abstinenčními příznaky včetně křečí [Fernandez-Carrion et al. 2013]. Midazolam je metabolizován v játrech prostřednictvím cytochromu CYP3A5 [Shih and Huang 2002; Wong et al. 2004] a je zároveň ABCB1 substrátem [Tollesander et al. 2003]. PXR a jeho polymorfismus je další gen, který může ovlivnit metabolismus midazolamu. Tento transkripční faktor hraje roli toxinového senzoru a aktivuje jak geny biotransformační fáze I, tak fáze II, včetně rodiny *CYP3A*, *MDR1* a dalších, jak uvedeno ve speciálním odstavci [He et al. 2006; Oleson et al. 2010].

Polymorfizmy *CYP3A* stejně jako nukleárního receptoru regulujícího jeho transkripci (PXR) mohou mít vliv na účinky midazolamu [de Jonge et al. 2015; Oleson et al. 2010; Seng et al. 2014]. Vliv deficitní alely *CYP3A5*\*3 na farmakokinetické parametry midazolamu se jeví jako pravděpodobný, ačkoliv nebyl většinou ve studiích potvrzen [Chan et al. 2016; Kharasch et al. 2007; Lepper et al. 2005; Oneda et al. 2009; Shih and Huang 2002; Tomalik-Scharte et al. 2008] s jedinou výjimkou [Wong et al. 2004]. U recipientů štěpu neexprimujících *CYP3A5* byl pozorován jistý vliv polymorfismu *CYP3A4*\*22 na clearance midazolamu, ovšem frekvence této alely je u bělošské populace velmi nízká [de Jonge et al. 2015]. V korejské studii nebyl pozorován vliv *ABCB1* polymorfismu, včetně haplotypu, na předoperační účinek midazolamu u dětí (n = 193), [Byon et al. 2012]. Ve dvou studiích byly určité polymorfismy *PXR* spojené s až o 70% vyšší orální clearance midazolamu u afro-amerického etnika [He et al. 2006; Oleson et al. 2010].

### 1.2.2 Tramadol

Tramadol, centrálně působící analgetikum, je 6000 krát méně účinný než morfin a 10krát méně účinný než kodein [Vazzana et al. 2015] a je považován za bezpečnou a spolehlivou složku analgosedace na neonatálních a pediatrických jednotkách intenzivní péče [Allegaert et al. 2005a; Allegaert et al. 2011; Allegaert et al. 2013; Allegaert et al. 2008a; Allegaert et al. 2005b; Allegaert et al. 2009c; Batra et al. 1999; Demiraran et al. 2005; Gunes et al. 2004; Ozcengiz et al. 2001; Prosser et al. 1997; Senel et al. 2001; Smits et al. 2012]. Tramadol je pro svůj jedinečný farmakologický profil výhodnější než jiné typické opioidní látky, protože vykazuje nižší výskyt nežádoucích účinků i potenciál zneužití [Andurkar et al. 2012; Modi et al. 2013]. Stále častěji se tato látka používá v léčbě závislosti na opioidech [Dunn et al. 2017; Chawla et al. 2013;



Ziaaddini et al. 2015]. Využití nalézá rovněž v léčbě syndromu z odnětí po léčebném užívání opioidů [Lofwall et al. 2013]. Použití tramadolu v pediatrické praxi je tedy dobře zavedeno, nicméně strukturované studie zaměřené na individuální dávkovací režimy jsou stále zapotřebí. Pozornost si toto léčivo z důvodu bezpečnosti zaslouží i díky potenciálnímu vlivu genetických polymorfismů, zejména ze skupiny CYP2D6, jehož je tramadol substrátem. Jak bylo prokázáno u kodeinu, rovněž dobře zavedené molekuly, vliv *CYP2D6* polymorfismu může mít u jedinců s určitými variantami katastrofální následky, v důsledku se kodein již nedoporučuje dětem mladším 12 let kvůli nejistotě aktivity CYP2D6.

Tramadol se vyrábí jako racemická směs s významnými rozdíly ve vazbě, aktivitě a cílových receptorech obou enantiomerů [Casella et al. 2013; Chandra et al. 2012]. (+) - enantiomer má vyšší afinitu k opioidním receptorům a přednostně inhibuje vychytávání serotoninu a zvyšuje uvolňování serotoninu, zatímco (-) enantiomer inhibuje zpětný příjem noradrenalinu [Garcia-Quetglas et al. 2007]. Tramadol je metabolizován v játrech prostřednictvím enzymů cytochromu P450 2D6, 2B6 a 3A4, přičemž O-demetyltramadol (M1) a N-demetyltramadol (M2) jsou hlavní metabolity fáze I [El-Sayed et al. 2013; Ing Lorenzini et al. 2012; Lavasani et al. 2013]. Metabolit M1 je považován za nejvíce farmakologicky aktivní. Je až 6krát analgeticky účinnější než samotný tramadol, s 200krát vyšší afinitou k  $\mu$ -opioidnímu receptoru [Lee et al. 2013]. V 2. fázi biotransformace podléhá tramadol glukuronidaci a sulfataci.

K variabilitě účinnosti, nežádoucích účinků a farmakokinetických parametrů tramadolu potenciálně přispívají genetické polymorfismy v genech pro *CYP2D6*, *CYP2B6*, dále pro efluxní transportér *ABCB1* a cílový,  $\mu$ -opioidní receptor (*OPRM1*) [Somogyi et al. 2015].

Cestou CYP2D6 vzniká již zmíněný nejdůležitější metabolit tramadolu. Polymorfismus *CYP2D6* je v souvislosti s metabolismem tramadolu nejdéle zkoumán [Leppert 2011; Zhou 2009a; Zhou 2009b]. Až 2.5x vyšší clearance tohoto léku byla naměřena u ultrarychlých (UMs) a extenzivních metabolizátorů (EMs) ve srovnání s pacienty se středně rychlým metabolismem (IMs) [Gan et al. 2007; Li et al. 2010]. Allegaert et al. sledoval koncentraci tramadolu a jeho metabolitu M1 u novorozenců a výsledky porovnával s měřením u dětí a dospělých. 50% clearance dospělých dosahovali novorozenci ve 44. týdnu postmenstruačního věku, 90% pak ve 100. týdnu PMA, na stejné úrovni jako roční kojenci. Přeměna tramadolu na metabolit M1 nezávisela pouze na postmenstruačním věku (52.7% variability), ale také na individuální aktivitě CYP2D6 závislé na polymorfismu (6.4% variability) [Allegaert et al. ; Allegaert et al. 2009b].

Transportér *ABCB1* (gen pro P-glykoprotein) a organický kationický transportér 1 (*OCT1* neboli *SLC2A1* gen) hrají dle výsledků recentních studií v metabolismu tramadolu potenciálně důležitou roli [Matouskova et al. 2011; Slanar et al. 2012; Tzvetkov et al. 2012; Tzvetkov et al. 2011]. *ABCB1* podmiňuje vznik P-glykoproteinu, který je společně s cytochromem P-450 exprimován ve střevní sliznici a jiných tkáních. Na lumenální povrchu enterocytů funguje jako pumpa, která nasává xenobiotika do nitra enterocytu a opět je vypuzuje do střevního lumen-v nezměněné podobě nebo ve formě metabolitu. Tímto zvyšuje pravděpodobnost jejich zpracování pomocí CYP3A před absorpcí do organismu. Zároveň udržuje intracelulární koncentraci léčiv na úrovni kapacity CYP3A. Matoušková et al. pozorovala signifikantně vyšší hladiny M1 metabolitu v moči zdravých dobrovolníků, heterozygotů pro *ABCB13435CC* oproti genotypu *3435CT/TT* ( $n = 65$ ,  $P = 0.016$ ) [Matouskova et al. 2011]

Metabolit M1, přesněji jeho (-) enantiomer, zprostředkovává analgetický účinek tramadolu vazbou na  $\mu$ -opioidní receptor (gen *OPRM1*). Polymorfismus v genu *OPRM1A118G* ovlivňuje vnímání bolesti a rovněž účinek a vznik nežádoucích účinků opioidů a je podrobněji rozepsán v části věnované sufentanilu. Z hlediska účinku tramadolu bylo pozorováno, že pacienti s osteoartritidou kolen, homozygoté pro divokou alelu *OPRM1 118A* podmiňující vyšší expresi ( $n = 160$ ,  $P = 0.024$ ) receptoru v centrálním nervovém systému, mají signifikantně vyšší riziko nauzey a zvracení při léčbě tramadolem oproti nositelům mutantní alely [Kim et al. 2010]. Pacienti s oxaliplatinou indukovanou bolestí léčení tramadolem vykazovaly po léčbě nižší VAS (visual analogue scale), pokud se jednalo o nositele genotypu *AA* ( $n = 96$ ,  $P \leq 0.001$ ) [Liu and Wang 2012].

### 1.2.3 Sufentanil

Sufentanil je syntetický opioid podobný fentanyl, 5 – 10x účinnější než fentanyl a až 1000x účinnější než morfin, řadí se tedy mezi silně působící opioidy. Je indikován jako samostatné anestetikum u ventilovaných pacientů, s důrazem na zvýšenou opatrnost při podávání dětem do 2 let pro malé testované soubory (SÚKL SPC 111098). Výsledky dostupných studií léčbu sufentanilem v této věkové kategorii podporují [Agrawal et al. 2003; Arnold et al. 1991; Jacqz-Aigrain and Burtin 1996; Li et al. 2013; Lili et al. 2012; Roback et al. 2005; Schmidt et al. 2010]. Společnou vlastností opioidů je působení prostřednictvím opioidních receptorů- $\mu$ ,  $\kappa$  a  $\lambda$ . Největší význam z hlediska analgetického působení má centrálně uložený  $\mu$ -opioidní receptor.

Léčba může být provázena všemi nežádoucími účinky, které obecně s opioidy souvisí – nauzea, zvracení, útlum dechového centra, obstipace a syndrom z odnětí [Schug et al. 1992].

V posledním desetiletí byl v souvislosti s léčbou bolesti a užíváním opioidů hojně zkoumán polymorfismus genu pro  $\mu$ -opioidní receptor *OPRM1 A118G* [Matic et al. 2017a]. Dle meta-analýzy a zejména rozsáhlé kohortové studie nebyl prokázán vliv tohoto polymorfismu na dávkování opioidů (oxycodonu, morfinu a fentanylu) u chronické bolesti, z hlediska nežádoucích účinků léčby byla identifikována pouze méně častá nauzea a zvracení u nosičů alely *G* [Klepstad et al. 2011; Walter and Lotsch 2009]. U akutní bolesti však jedinci homozygotní pro *OPRM1 118AA* vyžadovali menší dávky opioidu ve srovnání s homozygotními pro *OPRM1 118GG* [Choi et al. 2017].

V obou zmíněných meta-analýzách též nebyl prokázán vliv polymorfismu *rs4680* dalšího kandidátního genu pro katechol-O-metyl transferázu (*COMT*), [Choi et al. 2017; Klepstad et al. 2011].

V několika studiích byla zkoumána souvislost kombinace dvou polymorfismů obou genů, *OPRM1 A118G* i *COMT G1947A (rs4680)*, s dávkováním opioidů. Nositelé genotypu *OPRM1 118AA* a *COMT 1947AA* vyžadovali nejnižší dávku morfinu k dosažení úlevy od bolesti [Reyes-Gibby et al. 2007]. Oproti tomu, pacienti na paliativní terapii s chronickou bolestí s kombinovaným genotypem *OPRM1 118AG/GG* a *COMT 1947AA* vyžadovali o 50% vyšší dávky pro dostatečnou analgézi [Matic et al. 2017b]. Ve studii Kolesnikova et al. heterozygoté *OPRM1 A118G* a zároveň *COMT G1947A* potřebovali signifikantně nižší množství morfinu k tlumení akutní bolesti 48 hodin po operačním zákroku oproti homozygotům *OPRM1 118AA*. Zároveň pouze 2% pacientů z této skupiny vyžadovala terapii nauzey, nauzea a sedativní efekt morfinu byly v této skupině méně časté [Kolesnikov et al. 2011]. Interakce *OPRM1* s *COMT* rovněž pravděpodobně přispívá k variabilitě pooperační bolesti a konzumace opiátů u pacientů s ortopedickým traumatem. Pacienti *COMT 1947AA* a *OPRM1 118AA/GA* nebo homozygoté *COMT rs4633* a *OPRM1 118AG/GG* konzumovali největší množství opioidu ve srovnání s těmi, které měli jiné kombinace genů. Pro pooperační bolest byla zjištěna významná interakce mezi *OPRM1* a haplotypem nízké sensitivity na bolest pro *COMT*, tzv. LPS haplotyp; low pain sensitivity haplotyp GCGG pro polymorfismy *rs6269*, *rs4633*, *rs4818* a *rs4680*, blíže [Diatchenko et al. 2005]. U pacientů bez kopií LPS haplotypu byla *OPRM1 118AA* varianta významně spojena s vyššími skóre bolesti ve srovnání s variantou *AG/GG*. Opačný trend byl však pozorován u pacientů s alespoň jednou kopií LPS haplotypu [Khalil et al. 2017].

Na rozdíl od morfinu sufentanil patrně není substrátem transportéru ABCB1 [Wandel et al. 2002].

#### 1.2.4 Valproát

Kyselina valproová (kyselina 2-propylvalerová dipropyl-octová, VPA), volná forma valproátu sodného, se používá jako léčivo třetí volby v léčbě neonatálních křečí [Clancy 2006; Gal et al. 1988].

Antiepileptický efekt VPA je podmíněn potenciací inhibiční aktivity kyseliny gamma-aminomáselné, hlavní inhibičního neurotransmiteru (GABA) prostřednictvím několika mechanismů, včetně inhibice degradace GABA, inhibice GABA transaminobutyrátu (ABAT), zvýšené syntézy GABA a sníženého metabolického obratu. Navíc VPA zeslabuje excitaci zprostředkovanou N-methyl-D-aspartátem a blokuje Na<sup>+</sup> kanály, Ca<sup>2+</sup> kanály (napětí typu CACNA1 typu C, D, N a F) [Chateauvieux et al. 2010].

Dávkování VPA u novorozenců a farmakokinetika (PK) VPA [Alfonso et al. 2000; Gal et al. 1988; Uberall et al. 2000; Yu et al. 2003] a jiných antikonvulzivních léčiv jsou uvedena v systematickém přehledu založeném na 19 studiích PK (celkem 7 antikonvulzivních léčiv). Prospektivní randomizované kontrolní studie nebyly provedeny [Tulloch et al. 2012].

Do VPA biotransformace je zapojeno mnoho metabolických drah a v současné době je známo více než 50 metabolitů mateřského léčiva [Tabatabaei et al. 1999]. Relativní přínos každé jednotlivé metabolické cesty k celkovému metabolismu VPA byl přibližně odhadnut u dospělých pacientů v monoterapii: (1) 30-50% dávky se objeví v moči jako glukuronid; (2) mitochondriální b-oxidace typicky představuje více než 40% dávky; (3) méně než 15-20% dávky je eliminováno jinými oxidačními mechanismy prostřednictvím izoformy CYP [Silva et al. 2008].

Případ hyperamonémie vzniklé VPA u dívky starší 10 dnů se dvěma ztrátami funkčních mutací u CYP2C9 (CYP2C9 \*3/\*3) dokumentuje potenciální vliv genetického polymorfismu na vznik tohoto nežádoucího účinku [Nagy et al. 2015]. Ve studii provedené na 99 pediatrických pacientech vedlo dávkování dle predikce CYP2C9 aktivity na základě přítomnosti či nepřítomnosti mutantních alel k významnému snížení počtu subjektů, u nichž byla plazmatická koncentrace VPA mimo terapeutické rozmezí. Ve skupině s rutinní diagnostikou CYP genotypu byla navíc snížena incidence hyperamonémie [Budi et al. 2015].

Přestože CYP2C19 je citován jako cytochrom přispívající k metabolismu VPA, [Samer et al. 2013], patrně se na něm nepodílí přímo. Bezpečnost a účinnost VPA však teoreticky může

ovlivnit cestou biotransformace pohlavních hormonů, testosteronu a progesteronu. Tyto hormony mají regulační vliv na příjem potravy a energetickou rovnováhu. Zatímco nebyl nepozorován žádný efekt CYP2C19 polymorfismu na farmakokinetické parametry VPA [Ogusu et al. 2014], u pacientek s epilepsií byla nalezena signifikantní asociace polymorfních alel s VPA-indukovaným váhovým přírůstkem [Noai et al. 2016].

### 1.2.5 Fenobarbital

Fenobarbital je lékem první volby v terapii křečí v důsledku hypoxicko-ischemické encefalopatie u novorozenců po asfyxii [Hall et al. 1998]. Pro toto léčivo je typická velká interindividuální variabilita farmakokinetických parametrů, u novorozenců navíc dále podmíněná maturací organismu a postnatálními změnami ve složení těla [Alcorn and McNamara 2003]. Nejčastěji uváděné kovariáty farmakokinetiky fenobarbitalu jsou hmotnost a gestační stáří (případně postnatální věk), [Shellhaas et al. 2013; Touw et al. 2000; Yukawa et al. 2011].

Dávkování fenobarbitalu se v klinické praxi obvykle řídí dle tělesné hmotnosti. Nárazová dávka podaná intravenózně se pohybuje v rozmezí 15 – 20 mg/kg (v případě potřeby do dosažení koncentrace maximálně 40 mg/l), [Gilman et al. 1989], následuje udržovací dávka v rozmezí 3 – 4 mg/kg/den [Fischer et al. 1981]. V průběhu terapie se dávky upravují na základě dosažených plazmatických koncentrací a podle klinické odpovědi.

Komkomitantní medikace může ovlivňovat farmakokinetické parametry fenobarbitalu. Fenytoin ze skupiny antiepileptik je příkladem léčiva, které může působit na metabolismus fenobarbitalu ve smyslu inhibice i indukce, v závislosti na délce konkomitantní terapie (Encinas et al., 1992). Obě léčiva kompetují o metabolickou cestu CYP2C9 a CYP2C19, což může zapříčinit zvýšené hladiny fenobarbitalu. Fenytoin je zároveň silným induktorem CYP, proto při dlouhodobějším konkomitantním užívání obou látek může dojít naopak k poklesu plazmatické hladiny fenobarbitalu [Brodie et al. 2013; Patsalos et al. 2008].

## 1.3 Závažné nežádoucí účinky a monitorování účinku sledovaných léčiv

### 1.3.1 Syndrom z odnětí

Tento důsledek léčby se často projevuje po dlouhodobém podávání opioidů, midazolamu a eventuelně tramadolu u dětí i dospělých [2003; Birchley 2009; da Silva et al. 2016b; Dunn et al. 2017; Fernandez-Carrion et al. 2012; O'Mara et al. 2010; Ripamonti et al. 2004].

Až u 57% dětí, kterým jsou podávány opioidy a midazolam na jednotkách intenzivní péče, se syndrom z odnětí objeví [Fernandez-Carrion et al. 2012; Katz et al. 1994]. Dle dostupných klinických studií je závislý na délce a celkové expozici fentanylu a midazolamu s nárůstem výskytu po 5 dnech kontinuální infuze [Arnold et al. 1990; Dominguez et al. 2003; French and Nocera 1994; Grant et al. 2013; Katz et al. 1994]. Doprovodných symptomů je mnoho, některé vyžadují intenzivní péči, neboť pacienta ohrožují na zdraví i na životě. Bývají rozděleny do 3 kategorií - gastrointestinální obtíže, obtíže vyplývající z aktivace sympatiku a obtíže vyplývající ze stimulace centrálního nervového systému. Ze závažných projevů, dle podrobného literárního přehledu, trpí po skončení terapie 35 - 75% dětí křečemi, až 50% vážnou insomnií, až 35% hypertenzí a až 48% novorozenců tachypnoe [Birchley 2009].

Chronická stimulace opioidních receptorů při podávání opioidů způsobuje jejich desenzitizaci a down-regulaci [Carr and Todres 1994]. Přerušení podávání opioidů vede k syndromu z odnětí z důvodu rebound uvolnění neurotransmiterů, které zvýšeně stimulují nervový systém v mnoha částech mozku [Corbett et al. 2006].

GABA-kyselina  $\gamma$ -aminomáselná je inhibiční neurotransmitter. Benzodiazepiny modulují senzitivitu GABA<sub>A</sub> receptorů, hyperpolarizací neuronu navozují sedaci a anxiolýzu. Klinicky často pozorovaný vznik tolerance a závislosti není doposud plně vysvětlen. Přerušení dlouhodobého podávání benzodiazepinů snižuje efektivitu GABA na GABA<sub>A</sub> receptorech, s následnou desinhibicí centrálního nervového systému [Bateson 2002].

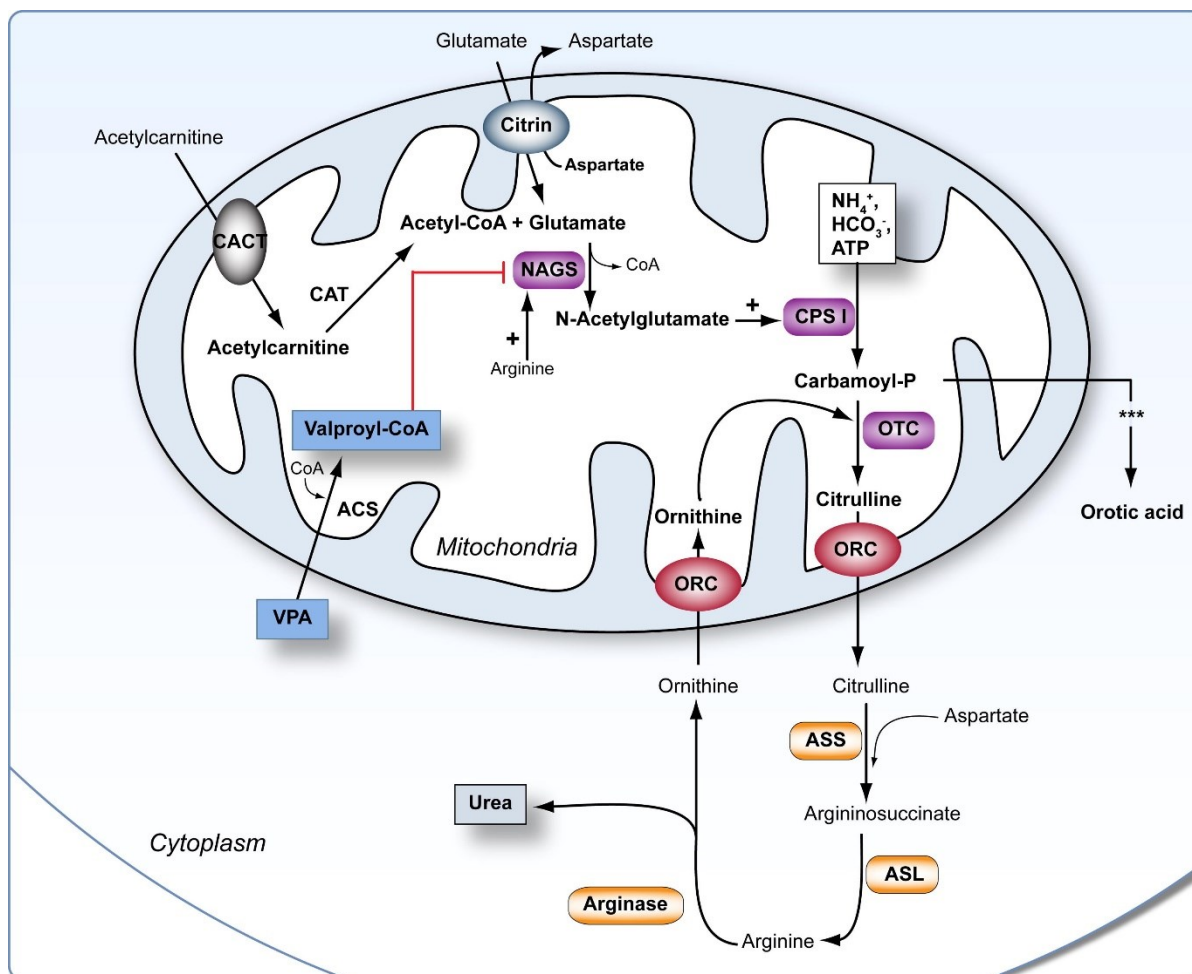
Přestože příznaky syndromu z odnětí jako jsou úzkost a nepokoj, autonomní dysfunkce, abdominální křeče, průjem, nespavost, migrenické bolesti hlavy, myoklonická aktivita končetin a syndrom neklidných nohou se mohou objevit i po běžných dávkách tramadolu [Allegaert et al. 2009a; Hartenstein et al. 2010; Li et al. 2012; O'Mara et al. 2010] [Barsotti et al. 2003; Freye and Levy 2000; Park et al. 2014; Thomas and Suresh 2000], stále častěji se tato látka využívá v léčbě již vzniklého syndromu z odnětí silných opioidů [Lofwall et al. 2013; Sarkar et al. 2017].

Účinná prevence syndromu z odnětí je důležitou součástí léčebné strategie. Pochopení vlivu genetických polymorfismů v rozvoji tohoto stavu může v této strategii významně přispět.

### **1.3.2 Hyperamonémie jako závažný nežádoucí účinek valproátu**

Hyperamonémie je běžný nežádoucí účinek VPA. Přestože spadá do kategorie závažných nežádoucích účinků, většina pacientů zůstává asymptomatických. Klinické symptomy zahrnují encefalopatii, zmatenost, nauzeu a zvracení. [Perucca 2002]

Hyperamonémie se může projevit zcela nezávisle na hepatotoxických účincích VPA. Produkty VPA  $\omega$ -oxidace inhibují mitochondriální karbamoylfosfát-syntetázu I, což je první a rychlost syntézy regulující enzym nezbytný pro eliminaci amoniaku v cyklu močoviny v játrech. [Sztajnkrzyca 2002]. Jeho transkripce je ovlivněna epigenetickými mechanismy [Liu et al. 2011]. Lze předpokládat, že tímto vlivem může být i VPA [Horiuchi et al. 1993; Verbiest et al. 1992]. Dále, metabolit VPA, valproyl-CoA, inhibuje další enzym cyklu močoviny N-acetylglutamát syntázu v mitochondriích krysích hepatocytů (Obr. 2) [Aires et al. 2011]. Hyperamonémie se nejspíše projeví u jedinců na kombinační antiepileptické terapii s dalšími dvěma a více antikonvulzivy [Yagi et al. 2010], v monoterapii pak například u jedinců s deficitní funkcí karbamoylfosfát-syntetázy I [Horiuchi et al. 1993; Verbiest et al. 1992].



**Obr. 2:** Schematické znázornění potenciálních účinků kyseliny valproové (VPA) a valproyl-CoA na aktivitu N-acetylglutamátsyntázy a interference s cyklem močoviny [Aires et al. 2011].

Dávkování VPA u novorozenců a farmakokinetika VPA a dalších 7 antikonvulzivních léčiv jsou hlášeny v systematickém přehledu založeném na devíti PK studiích [Alfonso et al. 2000; Clancy 2006; Gal et al. 1988; Yu et al. 2003]. Nicméně, prospektivní randomizované kontrolní studie v pediatrické praxi nebyly provedeny.

Terapeutické koncentrace VPA (CpIVPA) se pohybují v rozmezí od 50 do 100 mg/l (347 - 750  $\mu\text{mol/l}$ ), z toho 5-18% odpovídají volné frakci VPA (Hermida 2005). Toxické metabolity mohou vést k hyperamonemické encefalopatii vyvolané VPA a k hepatotoxicitě vyvolané VPA [Lheureux et al. 2005] zejména u malých kojenců [Ghodke-Puranik et al. 2013; Price et al. 2011]. Jak zmíněno výše, existuje několik mechanismů hyperamonémie vyvolané VPA [Silva et al. 2008; Sztajnkrycer 2002; Tseng et al. 2014], ale u novorozenců nejsou k

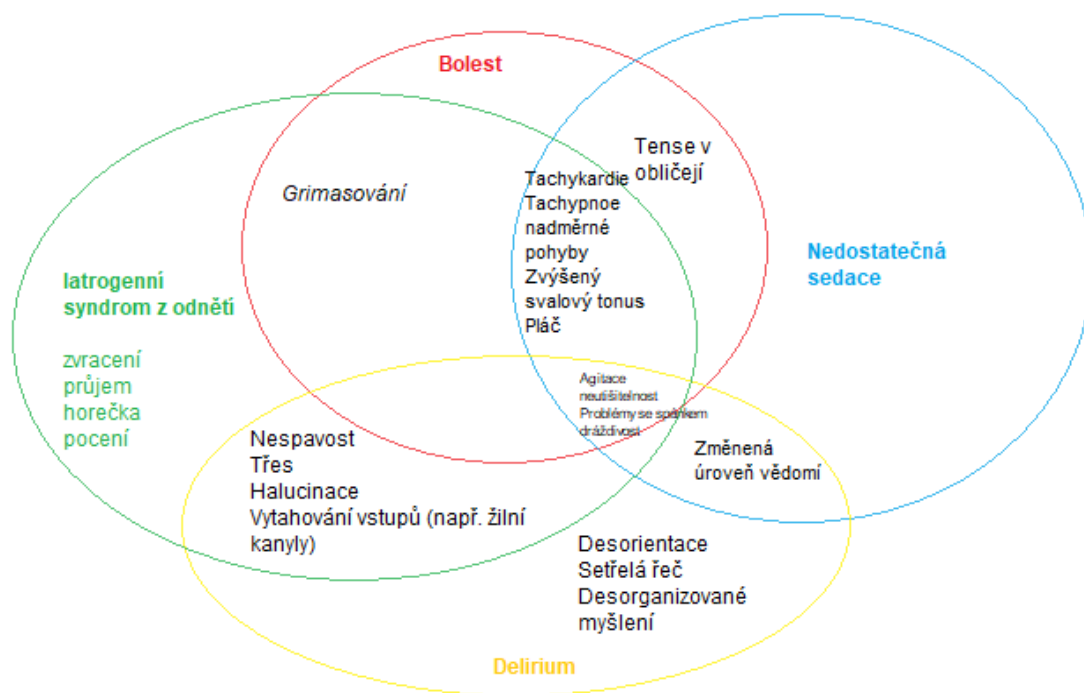


dispozici žádné údaje. U 50% novorozenců však hyperamonémie vyvolaná VPA vede k přerušení léčby [Tulloch et al. 2012].

### **1.3.3 Monitorování účinku analgosedativních léčiv a syndromu z odnětí, možnosti prevence**

Studie ukazují, že lepší klinické výsledky většiny pacientů na JIP (kriticky nemocných dospělých) jsou asociované s léčbou zajišťující komfort pacientů zároveň s mírnou sedací [Barr et al. 2013; Brattebo et al. 2002]. Implementace protokolů k monitorování analgosedace vedlo k významným změnám v klinické praxi a k zlepšení výsledků léčby [Arabi et al. 2007].

Přestože v současné době existuje pro hodnocení hloubky sedace a intenzity bolesti u dětí více než 45 klinických nástrojů a přístupů, včetně fyziologických a zobrazovacích technik, žádná z těchto metod ve skutečnosti doposud nepředstavuje zlatý standard, kterým v případě bolesti zůstává subjektivní výpověď dítěte. Dotazníková hodnocení se pro svou jednoduchost, relativně nízkou cenu a univerzálnost používají nejčastěji. Dotazník v pravidelných intervalech vyplňuje ošetřující personál. Výsledné skóre pak představuje míru komfortu pacienta. Vzhledem k mnoha proměnným, které ovlivňují vnímání bolesti, je však toto skóre stále pouze orientační. Symptomy aktivace sympatického nervového systému nevznikají pouze na základě bolestivého impulsu, ale z různých příčin, proto je vždy třeba hodnotit celkový stav pacienta [Dorfman et al. 2014], (Obr. 3).



**Obr. 3:** Překryv behaviorálních znaků u bolesti, sedace, syndromu z odnětí a deliria, upraveno a přeloženo z [van Dijk et al. 2012]

Základním opatřením v prevenci nežádoucích účinků léčby midazolamem je titrace malými dávkami do dosažení klinického účinku a pečlivé monitorování dechové frekvence a krevní saturace (doporučení SÚKL). Vzhledem k riziku rozvoje syndromu z odnětí jsou u pacientů rovněž po ukončení terapie monitorovány fyziologické funkce a ošetřujícím personálem sledováno jejich chování. Známými rizikovými faktory vzniku syndromu z odnětí jsou kumulativní dávky léčiv (40 mg/kg midazolamu, 0.48 mg/kg fentanyl-silného opioidu) a délka podání léčiv (5.75 dní u obou léčiv) [Fernandez-Carrion et al. 2012]. Nejsou přesně známy příčiny, proč se u některých pacientů nežádoucí účinky včetně tohoto syndromu projeví a u některých nikoliv. Genetická variabilita v metabolismu léčiv je pravděpodobným původcem tohoto rozdílu.

Dle prohlášení společnosti ESPNIC (European Society of Neonatal Intensive Care) je k hodnocení sedace navrženo u pediatrických pacientů používat následující skórování: COMFORT, COMFORT-B a State Behavioral Scale (SBS). Pro hodnocení syndromu z odnětí je doporučeno používat Withdrawal Assessment Tool version 1 (WAT-1) nebo Sophia Observational Scale (SOS) [Harris et al. 2016].

## 2. Hypotézy

### 2.1 Účinnost a bezpečnost sledovaných léčiv

Polymorfismy genů *CYP2D6*, *ABCB1*, *COMT* a *OPRM1* ovlivňují hloubku analgosedace, výskyt syndromu z odnětí a dávkování léčiva u studijních subjektů užívajících tramadol.

Polymorfismy genů *CYP3A5* a *PXR* ovlivňují hloubku analgosedace, výskyt syndromu z odnětí a dávkování léčiva u studijních subjektů užívajících midazolam.

Polymorfismy genů *CYP2D6*, *ABCB1*, *COMT* a *OPRM1* ovlivňují hloubku analgosedace, výskyt syndromu z odnětí a dávkování léčiva u studijních subjektů užívajících sufentanil.

### 2.2. Farmakokinetika sledovaných léčiv

Polymorfismy v genech pro *CYP2C19* a *CYP2C9* ovlivňují plazmatickou koncentraci valproátu a tím zapříčiňují u dětí častější výskyt jeho nežádoucího účinku, hyperamonémie.

Konkomitantní užití fenytoinu či analgosedativních léčiv ovlivňuje farmakokinetické parametry fenobarbitalu u novorozenců a dětí.

Znalost a pochopení těchto souvislostí je hypotetickým základem predikci účinnosti prevence předávkování a nežádoucích účinků sledovaných léčiv.

## 3. Cíle práce

Primárním cílem disertační práce bylo posoudit možnosti predikce účinnosti a bezpečnosti analgosedace v pomoci sledování polymorfismu genů *CYP2D6*, *CYP3A5*, *ABCB1*, *PXR*, *COMT* a *OPRM1* či jiných faktorů ovlivňující farmakokinetiku léčiv u novorozenců a dětí.

Sekundárním cílem bylo posoudit možnosti prevence předávkování léčiv na základě polymorfismu těchto genů či výskytu lékových interakcí ovlivňujících metabolismus u novorozenců a dětí.

## **4. Metodika**

### **4.1 Charakteristiky studijní populace**

#### **4.1.1. Vstupní kritéria - účinnost a bezpečnost**

##### **Sufentanil, tramadol a midazolam**

Do prospektivní, observační studie byli postupně zařazováni donošení novorozenci a děti hospitalizované na Jednotce intenzivní a resuscitační péče (JIRP) ve Všeobecné fakultní nemocnici a 1. LF UK Praha, které v rámci komplexní terapie závažného onemocnění dostávaly rovněž kontinuální intravenózní analgosedaci léčivými tramadolem a/nebo midazolamem a/nebo sufentanilem. Protokol studie byl schválen Etickou komisí Všeobecné fakultní nemocnice a 1. LF UK v Praze (FWA 00003027). Děti i novorozenci byli zařazeni do studie po získání písemného informovaného souhlasu od jednoho rodiče a svědka (zdravotní sestra). Pacienti byli léčeni v souladu s mezinárodními doporučeními pro sedaci na dětských jednotkách intenzivní péče [Poh et al. 2014]. Mezi vstupní kritéria nutná pro přijetí do studie patřil věk  $\geq 36$  gestačních týdnů (g.t.) u novorozenců a věk  $\geq 3$  měsíce až 18 let věku u dětí. Dále kontinuální analgosedace jedním či více sledovanými léčivými  $\geq 48$  h.

#### **4.1.2. Vstupní kritéria - farmakokinetika**

##### **Valproát**

Sedmidenní dívka byla vyšetřena na přítomnost polymorfismů v metabolismu valproátu z důvodu podezření genetického polymorfismu jako možné příčiny náhle rozvinuté závažné encefalopatie vzniklé v důsledku hyperamonémie, málo obvyklého nežádoucího účinku léčby valproátu. Publikace případu byla schválena Etickou komisí Všeobecné fakultní nemocnice a 1. LF UK v Praze.

##### **Fenobarbital**

Do prospektivní studie byli zařazeni novorozenci léčení na Jednotce intenzivní a resuscitační péče (JIRP) ve Všeobecné fakultní nemocnici a 1. LF UK Praha, léčení fenobarbitalem od ledna 2006 do prosince 2013. Protokol studie byl schválen Etickou komisí Všeobecné fakultní nemocnice a 1. LF UK v Praze. Novorozenci byli zařazeni do studie po získání písemného informovaného souhlasu od jednoho rodiče a svědka (zdravotní sestra). Vstupními kritérii bylo stáří novorozence (pouze zralí, starší 37.g.t.), přítomnost hypoxicko-ischemické encefalopatie a terapie fenobarbitalem.

### 4.1.3 Kritéria pro nezařazení-účinnost a bezpečnost

#### Sufentanil, tramadol a midazolam

Vylučující kritéria zahrnovala vrozenou vadu neslučitelnou se životem, akutní renální selhání definované jako vstupní hodnota sérové kreatininémie  $\geq 133 \mu\text{mol/l}$  ( $\geq 1.5 \text{ mg/dl}$ ) s oligurií (výdej moče  $< 1 \text{ ml/kg/h}$ ) podle kritérií syndromu zánětlivé odpovědi [Akcan-Arikan et al. 2007], jedince s významnou poruchou jaterních funkcí (kritéria dle Goldsteina), [Goldstein et al. 2005], novorozence narozené před 36. g.t., novorozence a děti s podezřením na či s prokázanou závažnou dědičnou poruchou metabolismu a novorozenci a děti, jejichž rodiče nepodepsali informovaný souhlas.

### 4.1.4 Kritéria pro nezařazení-farmakokinetika

#### Fenobarbital

Mezi vylučující kritéria pro zařazení do fenobarbitalové studie patřil neonatální abstinenční syndrom, intrakraniální krvácení, těžká kongenitální abnormalita, encefalopatie v důsledku jiných příčin a novorozenci, jejichž rodiče nepodepsali informovaný souhlas.

## 4.2 Sledované parametry

### 4.2.1 Genotypizace

V rámci dizertační práce jsem se zaměřila na stanovení vybraných polymorfismů pro *CYP3A5*, *CYP2D6*, *CYP2C9*, *CYP2C19*, *OPRM1*, *ABCB1*, *COMT* a *PXR*.

#### Odběr vzorku a izolace DNA z krve

Během běžných odběrů na oddělení JIRP KDDL bylo odebráno 200 mikrolitrů venózní krve do zkumavky s přídatkem EDTA. Vzorky krve byly poté zmrazeny na  $-20^{\circ}\text{C}$  a transportovány do laboratoře k následné izolaci DNA, která byla provedena na komerčně dostupném kitu DNA-QIAmp Blood Mini Kit. Vzorky byly inkubovány při  $56^{\circ}\text{C}$  v mikrozkušavkách za přítomnosti 20  $\mu\text{l}$  QIAGEN proteázy a 200  $\mu\text{l}$  AL pufru po dobu 10ti minut. Poté po přidání 200  $\mu\text{l}$  96%

ethanolu ke směsi do každé zkumavky byly vzorky přeneseny do plastové soupravy QIAmp Minin Column s filtrem a centrifugovány (EPPENDORF mini Spin, Plus) po dobu jedné minuty při 8000 otáčkách/min. Následně byl produkt z každé zkumavky zachycen na filtr, který byl vložen do spodní nádoby Collection Tube, filtrát byl znehodnocen. Po nanesení 500 µl AW1 pufru byl filtr centrifugován opět jednu minutu při 8000 otáčkách/min a následně přenesen do nové mikrozkušavky. Následně byl filtr v přítomnosti 500 µl AW2 opět centrifugován, tentokrát po dobu 6 minut při 14 000 otáčkách/min. Poté byl filtr přenesen do čisté zkumavky a v přítomnosti 200 µl AE pufru byla směs ponechána dalších 6 minut při pokojové teplotě, vzápětí byla centrifugována opět jednu minutu při 8000 ot./min. Finální DNA produkt nacházející se ve výsledném filtrátu byl poté uchován při teplotě 4°C v chladicím zařízení (Electrolux ERB 4252).

### Genotypizace CYP3A5

Metodika polymerase chain reaction/restriction fragment length polymorphism (PCR/RFLP) ke stanovení polymorfismů *CYP3A5* byla zvolena modifikací dříve popsaného postupu dle van Schaika et al. [van Schaik et al. 2002].

SNP	Název primeru	Sekvence	Restrikční enzym
<i>rs2836508</i>	2S 2R	5'-CTC CAT TTC CCT GGA GACTTG-3' 5'-CTGTTTCTTTCCTTCCAGGC-3'	TasI (Fermentas)
<i>rs776746</i>	3S 3R	5'-CATGACTTAGTAGACAGATGAC-3' 5'-GGTCCAAACAGGGAAGAAATA-3'	Ssp1 (Fermentas)

Detekce polymorfismu *rs776746 CYP3A5\*3 (A6986G)* byla založena na amplifikaci 293-bp fragmentu DNA pomocí metody polymerase chain reaction (PCR) v thermocyleru (Thermal Cycler, MyCycler, BIORAD, USA) s teplotou inciální denaturace 94°C po dobu 2 minut, následně 35 cyklů 30s denaturace při 95°C, 60s annealing 52.4°C a elongace 90s při 72°C, s následnou závěrečnou elongací 7 minut při 72°C. Produkt PCR byl inkubován 16 hodin při 37°C spolu s restrikčním enzymem Ssp1 (Fermentas). V případě nepřítomnosti mutace vznikaly při štěpení 3 fragmenty o velikosti 18, 125 a 20 bp. Byla-li mutace přítomna, zaniklo tím jedno štěpné místo, vznikly tedy 2 fragmenty, 168 a 125 bp. Produkty byly vizualizovány

pomocí ethidium bromidu pod UV lampou (Gel Logic 212-Pro) po provedení elektroforézy (Biorad Sub-cell 192) na 3.5% agarózovém gelu při napětí 120 V po dobu 2.5 hodin.

Detekce polymorfismu *rs2836508 CYP3A5\*2 (C27289A)* byla založena na amplifikaci 269-bp fragmentu DNA PCR s teplotou iniciální denaturace 94°C po dobu 2 minut, následně 35 cyklů 30s denaturace při 95°C, 60s annealing 57.2°C a elongace 90s při 72°C, s následnou závěrečnou elongací 7 minut při 72°C. Produkt PCR byl inkubován 16 hodin při 37°C spolu s restričním enzymem *TasI* (Fermentas). V případě nepřítomnosti nebyl iniciální fragment štěpen, při přítomnosti mutace by se rozštěpil na fragmenty o velikosti 182 a 87 bp.

### Genotypizace CYP2C9 a CYP2C19

Polymorfismy v genu *CYP2C9* a *CYP2C19* byly stanoveny metodou StripAssay (ViennaLab). V prvním kroku byla provedena PCR reakce izolované DNA za přítomnosti biotynilovaných primerů a *Taq* polymerázy, 94°C po dobu 2 minut, následně 35 cyklů 15s denaturace při 94°C, 30s annealing 58°C a elongace 30s při 72°C, s následnou závěrečnou elongací 3 minuty při 72°C. Následně byla 30 min při teplotě 45°C provedena hybridizace amplifikovaných produktů na testovací proužky s imobilizovanými paralelně navázanými oligonukleotidovými sondami. Navázané fragmenty DNA byly vizualizovány pomocí streptavidin-alkalické fosfatázy a barevné substance.

### Genotypizace CYP2D6

V následující tabulce jsou uvedeny PCR primery a restriktázy použité v analýze polymorfismů genu *CYP2D6* dle standardních operačních postupů, založených na dříve validovaných metodách:

SNP	Název primeru	Sekvence	Restriční enzym
<i>CYP2D6*3</i>	P51 D2	5'-GCTGGGGCCTGAGACTT 5'-GGCTGGGTCCCAGGTCATAC	BsaAI (Ppu21I) (Fermentas)
<i>CYP2D6*4, *6</i>	P*3 P2	5'-CCTGGGCAAGAAGTCGCTGGACCA 5'-GAGACTCCATCGGTCTCTCG	BstNI (Thermo)
<i>CYP2D6 XN</i> (duplikace)	Cyp17 CyP32	5'-TCCCCCACTGACCCA ACTCT 5'-CACGTGCAGGGGACCTAGAT	na

V případě stanovení polymorfismu CYP2D6 byly provedeny 2 následující PCR amplifikace:

1. Amplifikace LA pomocí LA polymerázy (Top Bio), přístroj (Thermal Cycler, MyCycler, BIORAD, USA)

2. Následná PCR LA produktu pomocí klasické Taq polymerázy

1. LA amplifikace byla zahájena iniciální denaturací 94°C po dobu 2 minut, s následnou cyklickou denaturací 20 při 94°C, 70 s annealing při 57°C a závěrečnou elongací 7 min při 68°C.
2. PCR pro alely \*3, \*4 a \*6 probíhala za iniciální denaturace 94°C po dobu 2 minut, následně 25 cyklů 30s denaturace při 95°C, 20s annealing 60°C a elongace 60s při 72°C, s následnou závěrečnou elongací 7 minut při 72°C.
3. PCR pro stanovení duplikace genu byla provedena následovně: LA amplifikace byla zahájena iniciální denaturací 94°C po dobu 2 minut, s následnou cyklickou (x35) denaturací 20 při 94°C, 105 s annealing při 57°C a závěrečnou elongací 7 min při 68°C.

RFLP alely \*3 bylo provedeno pomocí restriktázy BsaAI 16 hod při 37°C. Fragment 201 bp byl v případě přítomnosti mutace rozštěpen na 181bp a 20 bp. RFLP alel \*4, \*6 probíhalo pomocí enzymu BstNI opět 16 hod při 37°C. V případě alely \*4 se zánikem vazebného místa byly vizualizovány fragmenty o délce 353 bp. V případě alely \*6 na došlo ke vzniku dalšího vazebného místa za vzniku fragmentů 190 bp, 139 bp a 23 bp.

Fragmenty pozorované u duplikace odpovídaly 3600 bp a byly vizualizovány po provedení elektroforézy (Biorad Sub-cell 192) na 1% gelu pomocí UV lampy (Gel Logic 212-Pro).

### Genotypizace PXR

V následující tabulce jsou uvedeny PCR primery (VBC-Genomics) a restriktázy (Fermentas) použité v analýze polymorfismů genu *PXR* rovněž dle standardních operačních postupů, založených na dříve validovaných metodách:

SNP	Název primeru	Sekvence	Restriktivní enzym
<i>rs1054191</i>	3'UTRdef SmuF 3'UTRdef SmuR	5'-TGTTTAACTGATTGTCAGCGTAG 5'-TCTTCCGAGCTGCTTTGT	SmuI (Fermentas)



<i>rs3814055</i>	Ups MuF	5'-TTTTTGGCAATCCGAGATT	HinfI
	Ups R	5'-TAAAAGGCAAACAAGTACAAGC	(Fermentas)
<i>rs2276706</i>	int1 F	5'-AAGGGCTCAGTTTCTCCACA	HphI
	int1 R	5'-TAGAGGCATGAACCACCACA	(Fermentas)
<i>rs6785049</i>	int5 F	5'-TTCAGTGGAGACCCAGCTCT	HphI
	int5 R	5'-GGAGCAGCTCATGGACAGAT	(Fermentas)

PCR pro polymorfismy *PXR rs1054191 (G10799T/A)*, *rs3814055 (C-25385T)*, *rs2276706 (C-24113T)* a *rs6785049 (A7635G)* probíhala téměř identicky s teplotou inciální denaturace 94°C po dobu 2 minut, následně 35 cyklů (40 pro *rs3814055*) 30s denaturace při 94°C, 90s annealing 53.5°C pro *rs3814055*, 45s annealing 61°C pro alelu *rs1054191*, 45s annealing 65°C pro alelu *rs2276706* a 45s annealing 63°C pro alelu *rs6785049* a elongace 60s při 72°C, s následnou závěrečnou elongací 7 minut při 72°C (Thermal Cycler, MyCycler, BIORAD, USA).

Produkty PCR byly inkubovány 16 hodin při 37°C spolu s restriktčním enzymi. Pozorované fragmenty jsou shrnuty v následující z tabulce:

Mutace	Restriktáza	Fragment wild type	Mutantní alela
<i>rs1054191</i>	SmaI (Fermentas)	354bp, 204bp	558 bp
<i>rs3814055</i>	HinfI (Fermentas)	107bp, 17bp	124bp
<i>rs2276706</i>	HphI (Fermentas)	311bp	194bp, 117bp
<i>rs6785049</i>	HphI (Fermentas)	404bp	331bp, 73bp

Produkty byly vizualizovány pomocí ethidium bromidu pod UV lampou (Gel Logic 212-Pro) po provedení elektroforézy (Biorad Sub-cell 192) na 3.5% agarózovém gelu při napětí 100 V po dobu 2 hodin (*rs3814055*), resp. 1.15 hodin (*rs1054191*), 65 minut (*rs2276706*, *rs6785049*) na 3% gelu.

### Genotypizace ABCB1

PCR primery a restriktázy použité v analýze polymorfismů ABCB1 jsou shrnuty v následující tabulce:

SNP	Název primeru	Sekvence	Restrikční enzym
<i>rs1045642</i>	MDR 11	5'-TGT TTT CAG CTG CTT GAT GG	Bsp1431 (Fermentas)
	MDR12	5'-TGT TTT CAG CTG CTT GAT GG	
<i>rs2032582</i>	MDR 9	5'-TGC AGG CTA TAG GTT CCA GG	BshNI = BanI
	MDR 10	5'-TGC AGG CTA TAG GTT CCA GG	(Fermentas)
	MDR 10A	5'-TTT AGT TTG ACT CAC CTT CCC G	Bsp1431 (Thermo)

PCR pro polymorfismy *rs1045642 ABCB1 (C3435T)* a *rs2032582 ABCB1 (G2677A/T)* probíhala téměř identicky s teplotou inciální denaturace 94°C po dobu 2 minut, následně 35 cyklů 30s denaturace při 94°C, 120s annealing 60°C pro *rs1045642* a 45s annealing 60°C pro alelu *A* a 60s annealing 60°C pro alelu *T* polymorfismu *rs2032582* a elongace 60s při 72°C, s následnou závěrečnou elongací 7 minut při 72°C (Thermal Cycler, MyCycler, BIORAD, USA).

Produkt obou PCR byl inkubován 16 hodin při 37°C, u *rs1045642* spolu s restrikčním enzymem Bsp1431 (Fermentas) a alelu *T* u *rs2032582* a BanI (Fermentas) pro alelu *A*. Pozorované fragmenty jsou shrnuty v následující z tabulce:

Mutace	Restriktáza	Fragment wild type	Mutantní alela
<i>rs1045642</i>	Bsp1431	158 bp, 39 bp	197 bp
<i>rs2032582 alela A</i>	BanI	220 bp	206 bp, 14 bp
<i>rs2032582 alela T</i>	Bsp1431	198 bp, 24 bp	224 bp

Produkty byly vizualizovány pomocí ethidium bromidu pod UV lampou (Gel Logic 212-Pro) po provedení elektroforézy (Biorad Sub-cell 192) na 3.5% agarózovém gelu při napětí 120 V po dobu 2 hodin (*rs1045642*), resp. 3.5 hodin (*rs2032582 alela A*), resp. 2.75 hodin (*rs2032582 alela T*).

## Genotypizace OPRM1

SNP	Název primeru	Sekvence	Restrikční enzym
<i>rs1799971</i>	118F	5'-AACACATACATGACCAGGAAGT-3'	Bsh 1236 I (Thermo)
	118R	5'-GGTCAACTTGTCCCACTTAGATC-3'	

PCR amplifikace fragmentu o 224 bp pro jedinou stanovovanou alelu *OPRM1* probíhala za následujících podmínek; inciální denaturace 94°C po dobu 2 minut, následně 35 cyklů 30s denaturace při 95°C, 60s annealing při teplotě 61°C a elongace 60s při 72°C, s následnou závěrečnou elongací 7 minut při 72°C (Thermal Cycler, MyCycler, BIORAD, USA).

Navazující restrikce pomocí enzymu Bsh 1236 I probíhala 16 hodin při teplotě 37°C. Bylo-li přítomno štěpné místo díky přítomnosti mutace, pak byl původní fragment rozštěpen na 200bp a 24 bp. Produkty byly vizualizovány pomocí ethidium bromidu pod UV lampou (Gel Logic 212-Pro) po provedení elektroforézy (Biorad Sub-cell 192) na 3.5% agarózovém gelu při napětí 120 V po dobu 3.5 h.

## Genotypizace COMT

Pro stanovení přítomnosti polymorfismu *COMT* byly použity PCR primery a restrikční endonukleázy, jak uvedeno v tabulce, na základě metodiky starších publikací [George et al. 2008; Redden et al. 2005].

SNP	Název primeru	Sekvence	Restrikční enzym
<i>rs4633</i>	Primer S	5': 5'-TATCGGCTGGAACGAGTTCAT	Fast Digest BsaAI (Thermo Scientific)
	Primer R	3': 5'-CTTCTGCTCGCAGTAGGTGTC	
<i>rs4818</i>	Primer S	5': 5'-CAACCCTGCACAGGCAAGAT	BclI (Fermentas)
	Primer R	3': 5'-GCCCTTTTCCAGGTCTGACA	
<i>rs4680</i>	Primer S	5': 5'-CTGTGGCTACTCAGCTGTG	Hin1II (Fermentas)
	Primer R	3': 5'-CCTTTTCCAGGTCTGACAA	

Pro SNP *rs4633* a *rs4818* byly použity standardní podmínky PCR s teplotou inciální denaturace 94°C po dobu 2 minut, následně 35 cyklů 30s denaturace při 95°C, 90s annealing 55°C a elongace 90s při 72°C, s následnou závěrečnou elongací 7 minut při 72°C. Produkt

PCR u SNP *rs4633* o délce 161 bp byl inkubován 16 hodin při 37°C spolu s restriční enzymem BsaAI (New England Biolabs), štěpením při přítomnosti polymorfismu vznikaly dva fragmenty velikosti 79 a 82 bp. Produkt PCR u SNP *rs4818* o délce 261 bp byl inkubován 16 hodin při 5°C spolu s restriční enzymem Bcl (Fermentas). Fragmenty byly vizualizovány standardním způsobem po provedení 3 hodinové elektroforézy na 4% agarózovém gelu při napětí 100V.

Pro SNP *rs4680* byly použity podmínky PCR s teplotou inciální denaturace 94°C po dobu 2 minut, následně 35 cyklů 30s denaturace při 95°C, 60s annealing 52.4°C a elongace 60s při 72°C, s následnou závěrečnou elongací 7 minut při 72°C (Thermal Cycler, MyCycler, BIORAD, USA). Produkt PCR u SNP *rs4680* o délce 169 bp byl inkubován 16 hodin při 37°C spolu s restriční enzymem Hin1III (Fermentas), a se vznikem fragmentů 114, 23 a 32 bp pro alelu s vysokou aktivitou a 96, 23, 32 a 18 bp pro alelu s nízkou aktivitou. Produkty byly vizualizovány pomocí ethidium bromidu pod UV lampou (Gel Logic 212-Pro) po provedení elektroforézy (Biorad Sub-cell 192) na 3.5% agarózovém gelu při napětí 100 V. Fragmenty byly vizualizovány standardním způsobem po dobu 2.5 hodin.

#### 4.2.2 Sledování klinického stavu studijních subjektů

##### **COMFORT B-skóre/COMFORT-Neo skóre a sledování účinku analgosedace**

Ke sledování účinku analgosedace byly použity dotazníky COMFORT-Neo scale (Obr. 4) u novorozenců do 28. dne života a COMFORT-B (Obr. 5) u dětí nad tři měsíce věku [Ista et al. 2005]. Hodnocení osmi parametrů u COMFORT-B a šesti parametrů u COMFORT-Neo (jeden z parametrů alternativně dle přítomnosti spontánního dýchání či umělé plicní ventilace) bylo prováděno každé 3 hodiny ošetřujícím personálem na základě 2-minutového pozorování. COMFORT skóre < 11 poukazovalo na příliš hlubokou sedaci, COMFORT skóre > 22 na sedaci nedostatečnou, jak bylo dříve stanoveno a validováno ve studiích Monique van Dijk [van Dijk et al. 2000; van Dijk et al. 2009].



Datum:

Štítek

COMFORT Neo Scale															
Bdělост	hluboký spánek (zavřené oči, negrimasuje)	1													
	lehký spánek (zavřené oči, grimasuje)	2													
	klidná bdělост (otevřené oči, negrimasuje)	3													
	aktivní bdělост (otevřené oči, grimasuje)	4													
	bdělý a hyperreaktivní	5													
Klid/neklid	klidný (fyziologické projevy)	1													
	lehce neklidný	2													
	neklidný	3													
	velmi neklidný	4													
	neutišitelný/nezklidnitelný	5													
Dýchání (pouze při UPV)	spontánně nedýchá	1													
	dýchá spontánně, neinterferuje	2													
	neklid, občas interferuje	3													
	dýchá proti ventilátoru nebo kašle	4													
	pere se s ventilátorem	5													
Pohyby	žádné pohyby	1													
	občas lehké pohyby	2													
	časté lehké pohyby	3													
	důrazné pohyby končetin	4													
	důrazné pohyby končetin, hlavou i trupem	5													
Pláč (spontánní ventilace)	nepláče	1													
	slabý pláč (tichý, slzy bez křiku)	2													
	pláč (slzy a slabý, nestálý zvuk)	3													
	silný pláč (slzy a silný zvuk)	4													
	intenzivní pláč (slzy a křik)	5													
Sval.tonus	relaxovaný, tonus žádný	1													
	snížený tonus	2													
	normální tonus	3													
	zvýšený tonus a flexe prstů	4													
	svalová rigidita a flexe prstů	5													
Výraz tváře	zcela uvolněný, otevřená ústa	1													
	normální tonus	2													
	napětí některých svalů - občas stažení obočí a kolem očí	3													
	napětí všech svalů - neustále stažení obočí a kolem očí	4													
	svaly v grimase, zkrivený obličej	5													

Celkem  
Podpis sestry:

--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--

Obr.4: COMFORT-Neo scale



**Ošetrovatelská dokumentace - COMFORT B Scale\***

KLINIKA: KDDL - Jedinotka intenzivní péče

\*M. van Dijk et al./Pain 84 (2000) 367-377

Datum:

štítek

COMFORT B scale										
Bdělost	hluboký spánek	1								
	lehký spánek	2								
	ospalost	3								
	bdělý a pozorný	4								
	zvýšeně pozorný	5								
Klid/neklid	klidný	1								
	lehce neklidný	2								
	neklidný	3								
	velmi neklidný	4								
	vyděšený	5								
Dýchání (pouze při UPV)	nekašle, spontánně nedýchá	1								
	dýchá spontánně, neinterferuje	2								
	občas kašle, občas interferuje	3								
	pravidelně kašle, dýchá proti	4								
	pere se s ventilátorem, dusí se	5								
Pláč (spontánní ventilace)	klidné dýchání, nepláče	1								
	vzlykání, lapavé dýchání	2								
	nárek, sténání	3								
	pláč	4								
	silný pláč, křik, jekot	5								
Pohyby	žádné pohyby	1								
	občas lehké pohyby	2								
	časté lehké pohyby	3								
	důrazné pohyby končetin	4								
	důrazné pohyby i hlavou a trupem	5								
TK	pod normou	1								
	v normě stálý	2								
	občas se zvýší o 15% (1-3x)	3								
	často se zvýší o 15% a více	4								
	stále zvýšený o více než 15%	5								
AS	pomalejší než norma	1								
	v normě stálý	2								
	občas se zvýší o 15% (1-3x)	3								
	často se zvýší o 15% a více	4								
	stále zvýšená o více než 15%	5								
Sval. tonus	relaxovaný, tonus žádný	1								
	snižovaný tonus	2								
	normální tonus	3								
	zvýšený tonus a flexe prstů	4								
	svalová rigidita a flexe prstů	5								
Výraz tváře	zcela uvolněný	1								
	normální tonus	2								
	patrné napětí některých svalů	3								
	patrné napětí všech svalů	4								
	svaly v grimase, zkrivený obličej	5								

Celkem

Podpis sestry:

*Obr.5: COMFORT-B scale*

### **Sophia Observational Scale (SOS) a sledování syndromu z odnětí**

Symptomy syndromu z odnětí byly systematicky vyhodnocovány od 5. dne podávání kontinuální analgosedace dle validovaného dotazníku Sophia Observational Scale (Obr. 6). Celkem bylo hodnoceno 15 možných symptomů společně se srdeční akcí a dechovou frekvencí. Skóre symptom bylo rovněž zaznamenáno každé tři hodiny. Skóre vyšší nebo rovno 4 po tři po sobě následující pozorování bylo považováno za indikativní pro výskyt syndromu z odnětí. [Ista et al. 2013; Ista et al. 2009a; Ista et al. 2009b].





## **Fenobarbital**

Fenobarbital (Luminal inj., Desitin Arzneimittel GmbH, Hamburg, Německo), byl podán intravenózně formou nárazové dávky v rozmezí 10 - 20 mg/kg po dobu 15 minut, do maxima 40 mg/kg/den (vizte Úvod). Udržovací dávka fenobarbitalu byla podávána dvakrát denně intravenózně v rozmezí 1 - 3 mg/kg. Novorozenci bez odezvy na aEEG (amplitude integrated electroencephalography) na maximální dávku fenobarbitalu obdrželi nadále iv fenytoin v nárazové dávce 15 – 20 mg/kg (Epanutin inj., Hameln Pharmaceuticals GmbH, Hameln, Německo) s následující iv dávkou udržovací 2.5 - 4 mg/kg podanou dvakrát denně nebo midazolam v kontinuální intravenózní infúzi (Midazolam Torrex inj., Chiesi Pharmaceuticals GmbH, Vídeň, Rakousko) v dávce 0.05 - 0.3 mg/kg i.v. až do vymizení klinických nebo subklinických křečí na aEEG.

Krevní vzorky pro stanovení plazmatické koncentrace byly odebrány z arteriální krve 2-3, 24, 48, 72 a 96 h po podání nárazové dávky fenobarbitalu.

### **4.3 PK analýza**

Individuální PK parametry sledovaných léčiv - distribuční objem (Vd) a eliminační konstanta (Kel) byly spočteny v jednodokompartmentovém PK modelu založeném demografických a klinických datech pomocí programu MWPharm 3.01 software (MediWare, Praha, Česká republika).

Plazmatická koncentrace fenobarbitalu byla měřena fluorescenční polarizační metodou (FPIA, AxSYM Phenobarbital, Abbott laboratories, Abbott Park, USA) nebo kvantitativní enzymatickou metodou (CEDIA® Phenobarbital II, Microgenics Corporation, Fremont, USA).

Populační model fenobarbitalu byl individualizován, aby výsledná simulace maximálně korelovala s PK křivkami individuálních hodnot koncentrací všech pacientů. Ostatní PK parametry-clearance (CL) a biologický poločas (T1/2) byly spočteny pomocí vzorce:  $CL = Kel \cdot Vd$  a  $T1/2 = \ln 2 / Kel$ .

Veškerá konkomitantní medikace, včetně normalizované kumulativní dávky (na kg hmotnosti), byla pečlivě zaznamenána u všech pacientů v průběhu celé studie a následně byl vyhodnocen vliv analgosedativní terapie na PK parametry fenobarbitalu. Byly zhodnoceny potenciální lékové interakce závislé i nezávislé na dávce.

#### 4.4 Statistické vyhodnocení dat

Deskriptivních statistických metod bylo využito k popisu demografických dat sledované populace. 2 x 2 kontingenční tabulky ( $\chi^2$  test) byly použity pro porovnání frekvencí jednotlivých alel. 3 x 3 kontingenční tabulky byly použity pro posouzení Castle-Hardy-Weinberg ekvilibria u studovaných polymorfismů. Jednocestná ANOVA analýza byla použita ke stanovení rozdílů mezi jednotlivými genotypy v souvislosti s dávkami, délkou terapie a hodnotou COMFORT-skóre. Pro porovnání mediánu kumulativních dávek, dávek vztažených na kg a hodinu a délky terapie analgosedativními léčivy mezi sledovanými skupinami byl použit Mann-Whitney test. P-hodnota menší než 0.05 byly považována za mez statistické signifikance.

Za účelem objasnění vývoje syndromu z odnětí byla aplikována multivariační logistická regrese s celkovou dávkou sufentanilu, midazolamu, dobou léčby sufentanilem a midazolamem jakožto vysvětlující proměnné v podskupinách novorozenců a dětí starších 3 měsíců věku, které dostávaly obě léčiva současně. Logistická regresní analýza byla provedena metodou Wald forward stepwise method, postup pro zařazení a vyloučení parametru byl nastaven na 0.05 a 0.15. Analýza křivky ROC byla provedena pro identifikaci hodnoty, která nabízí nejlepší sensitivitu a specificitu. Byl použit statistický balíček Dell STATISTICA verze 12.

Průměry deskriptivních parametrů, směrodatné odchylky, mediány PK parametrů fenobarbitalu a vliv komedikace na PK parametry fenobarbitalu byl spočten a vyhodnocen pomocí programu GraphPad Prism 3.02 (GraphPad Software, Inc., La Jolla, USA). 95 % konfidenční intervaly (CI) pro mediány byly spočteny metodou Bonett and Price (2002).

### 5. Výsledky

#### 5.1 Účinek a nežádoucí účinky analgosedativních léčiv se zaměřením na sufentanil, tramadol a midazolam

##### 5.1.1 Demografické charakteristiky studijní populace

Vstupní i vylučovací kritéria splnilo celkem 18 dětí a 30 novorozenců narozených ve 36. - 42. gestačním týdnu (Tab. 1) se širokým spektrem základních diagnóz. Všechny subjekty byly kavkazské rasy. U pacienta číslo 26 došlo ke znehodnocení DNA vzorku, proto u něj byl stanoven genotyp jen u omezeného počtu genů. Demografické parametry novorozenců a dětí jsou uvedeny v tabulce 1. Dvacet pět novorozenců bylo přijato z důvodu respiračního selhání (v důsledku perinatální asfyxie, pneumonie RSV (respiratory syncytial virus) či jiného původu, aspirace amniotické tekutiny), čtyři trpěli sepsí a jeden meningoencefalitidou. Pro základní diagnózu pneumonii/respirační selhání bylo hospitalizováno celkem sedm dětí, pro popáleniny

pět dětí, pro rozvoj akutní myokarditidy dvě děti a z důvodu dehydratace, dvě z důvodu atrofie mozku, pro sepsi a dehydrataci po jednom dítěti.

Dvacet čtyři novorozenců a sedm dětí bylo propuštěno v celkově klinicky příznivém stavu, dva novorozenci a deset dětí bylo po stabilizaci životních funkcí přeloženo na jiné oddělení k pokračování léčby, následná prognóza dvou novorozenců byla celkově nepříznivá, dva novorozenci a jedno dítě zemřelo.

<b>Parametr</b>	<b>Novorozenci (N = 30)</b>	<b>Děti (N = 18)</b>
<b>Pohlaví (M/Ž)</b>	17/13	13/5
<b>PMA (weeks), median (rozmezí)</b>	40 (37 - 42)	124 (48 - 730)
<b>Hmotnost (kg), median (rozmezí)</b>	3.37 (2.45 - 4)	12 (3.4 - 50)
<b>Apgar skóre 1. min, median (rozmezí)</b>	4.5 (0 - 10)	-
<b>Apgar skóre 5. min, median (rozmezí)</b>	7 (1 - 10)	-
<b>Apgar skóre 10. min, median (rozmezí)</b>	8 (3 - 10)	-
<b>Spont. porod (n/N)</b>	13/30	-

*Tab.1: Základní demografické parametry sledovaného souboru.*

### 5.1.2 Dávky léčiv a hodnoty naměřených skóre

Kromě sufentanilu a midazolamu pacienti dostali medián (rozmezí) 0.25 mg/kg/h (0.03 – 0.34 mg/kg/h) hodinové dávky, tj. medián (rozmezí) 6.0 mg/kg/den (0.72 - 8.16 mg/kg/den) tramadolu (13 novorozenců, 14 dětí) a medián (rozsah) 0.24 mg/kg/h (0.03 - 1.06) hodinové dávky, tj. medián (rozmezí) 5.76 mg/kg/den (0.72 - 25.4 mg/kg/den rozdělených ve dvou nebo třech denních dávkách) fenobarbitalu (28 novorozenců, 15 dětí). Někteří pacienti také dostali během hospitalizace další analgosedativní léčiva: klonidin (dva novorozenci a šest dětí), ketamin (pět dětí) nebo chloralhydrát (čtyři děti).

Novorozenci dostávali sufentanil významně kratší dobu než děti starší tří měsíců, zároveň byl i jejich medián kumulativní dávky sufentanilu numericky nižší, ačkoliv statisticky nesignifikantní ( $P = 0.11$ ). Mezi novorozenci a dětmi nebyl zjištěn žádný významný rozdíl dávkování a trvání léčby midazolamem (Tab. 2). Hodinová dávka sufentanilu byla podobná u obou skupin.

<b>Analgo-sedativní léčivo</b>	<b>Novorozenci (N = 30)</b>	<b>Děti (N = 18)</b>
<b>P.p. sufentanil</b>	26/30	17/18
<b>P.p. midazolam</b>	23/30	14/18
<b>Kumulativní dávka sufentanilu (µg/kg)</b>	28.23 (5.10 - 280.40)	63.44 (4.50 - 918.52)
<b>Kumulativní dávka midazolamu (mg/kg)</b>	12.63 (2.12 - 51.25)	12.47 (2.83 - 41.36)
<b>Celková doba podávání sufentanilu (h)</b>	109 (55 - 790)*	182 (22 - 885)
<b>Celková doba podávání midazolamu (h)</b>	105 (7 - 625)	111 (2 - 398)
<b>Sufentanil dávka µg/kg/h</b>	0.24 (0.07 - 1.96)	0.35 (0.10 - 1.04)
<b>Midazolam dávka mg/kg/h</b>	0.11 (0.05 - 0.35)	0.14 (0.07 - 0.29)

*Tab.2: Dávkování analgo-sedativních léčiv*

Vyšší hodnoty SOS skóre byly zaznamenány v podskupině dětí. COMFORT skóre <11 bylo registrováno téměř u poloviny novorozenců, zatímco nadměrná sedace byla relativně vzácně pozorována u dětí starších tří měsíců. Pouze výjimečně bylo registrováno COMFORT skóre nad 22 u novorozenců (Tab. 3).

<b>Dotazník</b>	<b>Novorozenci (N = 30)</b>	<b>Děti (N = 18)</b>
<b>SOS skóre</b>	1 (0 - 17)*	2 (0 - 12)
<b>COMFORT NEO/B skóre</b>	11 (2 - 26)	16 (5 - 31)
<b>COMFORT NEO/B &gt; 22/n</b>	2/2278	99/2008
<b>COMFORT NEO/B &lt; 11/n</b>	1117/2278	46/2008

*Tab.3: Hodnoty COMFORT a SOS skóre u novorozenců a dětí, hodnoty v mediánu (rozmezí),  
\* P < 0.05 vs. děti.*

### **5.1.3 Vliv jednotlivých genetických polymorfismů na analgo-sedativní účinek a dávkování léčiv**

Frekvence jednotlivých sledovaných alel u obou podskupin dokromady jsou uvedeny v tabulce 4.

Gen	Polymorfismus	RS číslo	Skutečná frekvence alel
<i>CYP3A5</i>	<i>C27289A (CYP3A5*2)</i>	<i>rs28365083</i>	0.00
	<i>A6986G (CYP3A5*3)</i>	<i>rs776746</i>	0.95
<i>OPRM1</i>	<i>A118G</i>	<i>rs1799971</i>	0.11
<i>ABCB1</i>	<i>C3435T</i>	<i>rs1045642</i>	0.50
<i>ABCB1</i>	<i>G2677T/A</i>	<i>rs2032582</i>	0.45
<i>PXR</i>	<i>G10799A</i>	<i>rs1054191</i>	0.15
<i>PXR</i>	<i>C-25385T</i>	<i>rs3814055</i>	0.37
<i>PXR</i>	<i>C-24113T</i>	<i>rs2276706</i>	0.37
<i>PXR</i>	<i>A7635G</i>	<i>rs6785049</i>	0.66
<i>COMT</i>	<i>C186T</i>	<i>rs4633</i>	0.49
<i>COMT</i>	<i>C408G</i>	<i>rs4818</i>	0.36
<i>COMT</i>	<i>G472A</i>	<i>rs4680</i>	0.50
<i>CYP2D6</i>	<i>2549delA (CYP2D6*3)</i>	<i>rs35742686</i>	Nenalezena
	<i>G1846A, 1707delT</i>	<i>rs3892097</i>	Nenalezena
	<i>XN</i>		Nenalezena
	<i>(CYP2D6*4, CYP2D6*6)</i>	<i>rs5030655</i>	Nenalezena

**Tab.4:** *BCB1-ABCB1* efluxní transportér, *COMT*-katechol-*o*-methyltransferáza, *CYP2D6*-cytochrom P450 izoenzym 2D6, *OPRM1*- $\mu$ -opioidní receptor, *PXR*-pregnan X receptor, *RS*-reference sequence, *XN* duplikace (amplifikace).

Nositelé wild-type alely *COMT*rs4680 dostávali výrazně vyšší hodinovou dávku sufentanilu [(0.25  $\mu$ g/kg/h (0.07 - 1.18))] než nositelé homozygotní varianty [0.15  $\mu$ g/kg/h (0.10 - 0.23),  $P = 0.04$ ] numerický trend k vyšší hodinové dávce sufentanil u nositelů *PXRA7635G* wt [0.33  $\mu$ g/kg/h (0.23 - 0.45)] ve srovnání s nositeli variantních alel [0.21  $\mu$ g/kg/h (0.07 - 1.18);  $P = 0.10$ ]. Trend směrem k nižšímu dávkování midazolamu byl zaznamenán v *ABCB1C3435T* u všech nositelů wild-type alely [CC + CT, 0.10 mg/kg/h (0.05 – 0.29)], a také u *CC* homozygotů [0.10 mg/kg/h (0.05 – 0.20)] oproti variantním homozygotům [0.13 (0.08 – 0.35);  $P = 0.09$ ,  $P = 0.10$ , resp.].

Heterozygoti pro *rs1045642* u *ABCB1* dost dostali nižší dávku tramadolu než variantní homozygoti (0.18 (0.13-0.3) vs. 0.26 (0.12-0.32) mg/kg/h,  $P = 0.044$ ) a wild-type homozygoté (0.18 (0.13 - 0.3) vs. 0.29 (0.03 – 0.34) mg/kg/h,  $P = 0.07$ ).

Wild-type homozygoti ( $n = 7$ ; COMFORT Neo/-B skóre > 22/ $n$ ; 28/610) a heterozygoté pro *rs1045642* v *ABCB1* ( $n = 8$ ; COMFORT Neo/-B skóre > 22/ $n$ ; 36/1114) byly statisticky významně častěji nadměrně sedováni než variantní homozygoté ( $n = 12$ , COMFORT Neo / -B skóre > 22 /  $n$ ; 13/1272,  $P = 0.04$ ,  $P = 0.02$ ).

Podstatný rozdíl byl pozorován u novorozenců a dětí ve věku nad tři měsíce v hodnotách skóre COMFORT Neo / -B. Zatímco u dětí byly odečtené hodnoty COMFORT skóre převážně

v terapeutickém rozmezí (COMFORT Neo/-B skóre 11 - 22), novorozenci byli často příliš sedováni (COMFORT-Neo méně než 11).

#### 5.1.4 Vliv jednotlivých genetických polymorfismů na rozvoj syndromu z odnětí

Syndrom z odnětí (angl. withdrawal syndrome, zkratka WS) byl diagnostikován u 16 subjektů, sedmi novorozenců a devíti dětí. Všechny subjekty se syndromem z odnětí obdrželi sufentanil. Výrazně více analgosedativních léčiv na pacienta bylo použito u pacientů se syndromem z odnětí. Celková doba podávání analgosedativní terapie, umělé plicní ventilace a hospitalizace byla u těchto subjektů signifikantně delší (Tab.5).

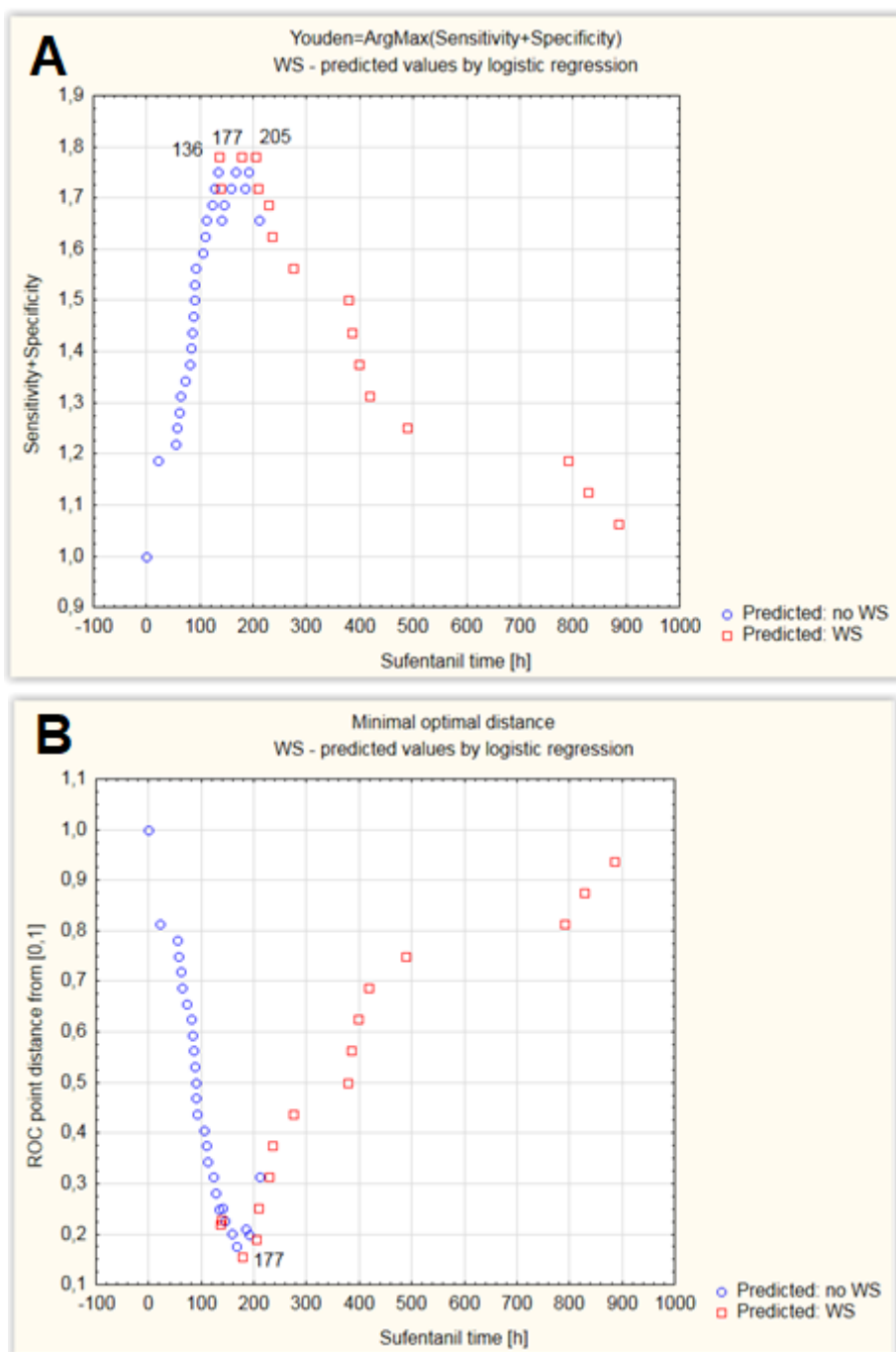
Parametr	WS sk. (N = 16)	Non-WS sk. (N = 32)
Současně sufentanil a midazolam (n/N)	15/16	20/32
Pouze sufentanil (n/N)	1/16	7/32
Pouze midazolam (n/N)	0/16	5/32
AS léčivo	4 (2 - 7)	3 (1 - 4)**
P. dní analgosedativní terapie	21 (9 - 60)	6 (2 - 13)**
P. dní UPV	13.5 (7 - 81)	5 (3 - 12)**
P. dní hospitalizace	24 (10 - 81)	13 (3 - 29)**
Kumul. d. sufentanilu (µg/kg)	88.60 (20.21 - 918.52)	21.71 (4.50 - 162.29)**
Kumul. d. midazolamu (mg/kg)	18.22 (6.93 - 51.25)	9.94 (2.12 - 49.83)*
Celková doba podání sufentanilu (h)	327 (136 - 885)	92 (22 - 211)**
Celková doba podání midazolamu (h)	141 (2 - 625)	88 (7 - 232)*
Sufentanil dávka (µg/kg/h)	0.33 (0.10 - 1.18)	0.23 (0.70 - 1.96)
Midazolam dávka (mg/kg/h)	0.105 (0.06 - 0.35)	0.12 (0.05 - 0.24)

**Tab. 5:** Výsledky léčby podle rozvoje abstinenčního syndromu. Sk.-skupina, P.-počet, UPV-umělá plicní ventilace, hodnoty medián, rozmezí, WS-withdrawal syndrom (syndrom z odnětí)\*  $P < 0.05$  vs. WS skupina, \*\*  $P < 0.001$  vs.

Výrazně vyšší střední kumulativní dávky jak sufentanilu, tak midazolamu byly podány pacientům s WS, a to jak v celkové populaci, tak i v populaci novorozenecké a dětské podskupiny. Střední kumulativní dávky sufentanilu u novorozenců s vs. bez WS byly 81.48 µg/kg/h (33.83 – 208.40) a 20.55 µg/kg/h (5.10 – 162.29);  $P < 0.01$ , resp. Příslušné hodnoty pro děti byly 95.61 µg/kg/h (20.21 – 918.52) a 34.20 µg/kg/h (4.50 – 91.69);  $P < 0.05$ . Analogicky mediány kumulativních dávek midazolamu 20.38 mg/kg/h (10.63 – 51.25) a 10.57 mg/kg/h (2.12 – 49.83);  $P < 0.05$  u novorozenců WS a non-WS, resp. Příslušné hodnoty pro děti byly

16.73 mg/kg/h (6.93 - 41.36) a 9.40 mg/kg/h (2.83 - 35.45);  $P = 0.13$ . Délka terapie byla také vyšší u WS ve srovnání se skupinou bez WS. Medián doby trvání léčby u sufentanilu u novorozenců s WS vs. non-WS byl 378 h (177 - 790) a 88 h (0 - 211);  $P < 0.01$ , zatímco střední hodnota midazolamu doba léčby byla 184 h (105 - 625) a 82 h (7 - 219);  $P < 0.01$ . Příslušné hodnoty pro skupinu dětí byly 234 hodin (136 - 885) a 142 hodin (22 - 184);  $P < 0.01$  pro sufentanil a 113.5 h (2 - 398) a 111 h (24 - 232 ° C);  $P < 0.45$  pro midazolam.

Multivariační analýza ukázala, že doba trvání léčby sufentanilem poskytla nejlepší vysvětlení vývoje abstinenčního syndromu (sensitivita 0.81, specificita 0.94), zatímco další explanatorní proměnné nebyly statisticky významné. Analýza křivky ROC byla provedena dle doby léčby sufentanilem, hodnota AUC byla 0.96,  $P = 0.0039$ . Limitní hodnota (hodnota rizika) trvání léčby sufentanilem u ROC nebyla jediná jednoznačná hodnota v případě použití Youden indexu, zatímco nejmenší vzdálenost od bodu ROC s citlivostí a specifíčností rovnající se 1 udávala rizikovou hodnotu 177 h (7 dní a 9 hodin, Obr.7). Nebyla nalezena žádná souvislost mezi genetickými polymorfismy a rozvojem syndromu z odnětí.



**Obr.7:** A: Doba podávání sufentanilu, rozvoj syndromu z odnětí a sensitivita specifická, B: Doba podávání sufentanilu, rozvoj syndromu z odnětí a ROC point distance.



## 5.2 Farmakokinetika sledovaných léčiv

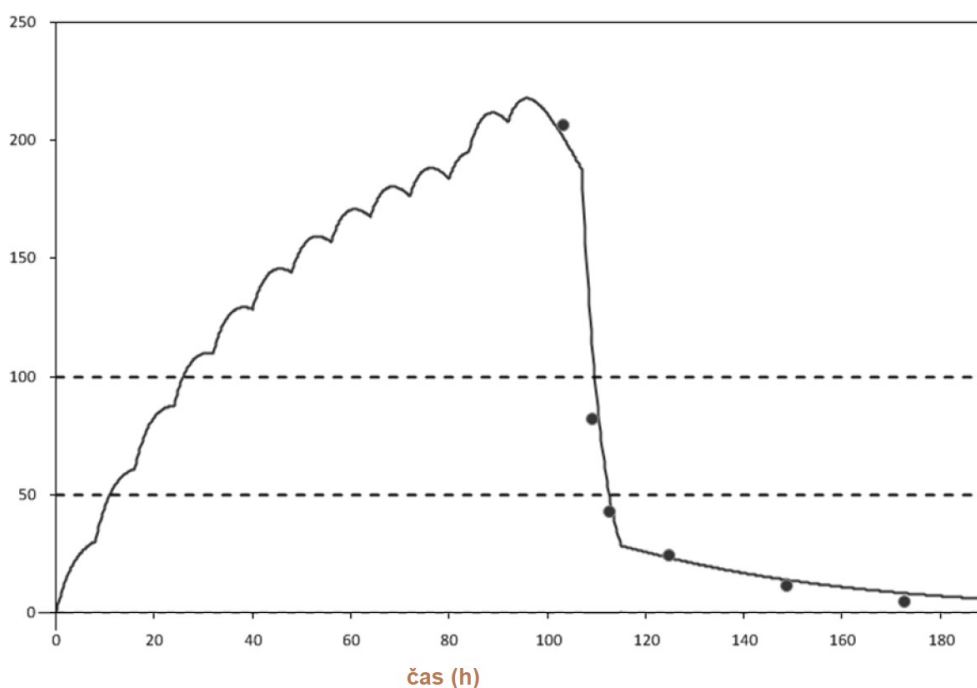
### Valproát

#### 5.2.1 Plazmatické hladiny VPA a genetický polymorfismus u 7 dní staré dívky s rozvinutou hyperamonémií po podání standardní dávky valproátu

U 7 dní starého novorozence (dívka, 39 + 4 g.t., porodní hmotnost 3050 g, Apgar skóre 2-2-4) primárně léčeného pro těžkou hypoxicko-ischemickou encefalopatií se vyvinuly refrakterní záchvaty se sekundárním multiorgánovým selháním. Dívka byla léčená fenobarbitalem, fenytoinem a VPA.

Nárazová dávka VPA byla 10 mg/kg, udržovací dávka perorálně podávané VPA byla 12 mg/kg/den rozdělena ve 3 denních dávkách. Hyperamonemická encefalopatie vyvolaná VPA byla diagnostikována podle klinických kritérií (Sarnat\Sarnat 1976), zatímco aEEG záznam byl normální. Byla zahájena specifická léčba hyperamonémie: kontinuální veno-venózní hemodialýza (CVVHD - průtok krve 20 ml/min, rychlost dialýzy 5 l/h), benzoát sodný (200mg/kg.4/h), L-arginin (250 mg/kg/dávka), L-karnitin (100 mg/kg/dávka), a omezený příjem bílkovin (0.5 g/kg/den). Plazmatické koncentrace amoniaku klesly v průběhu prvních 4.5 hodiny léčby z 1958 až na 104  $\mu\text{mol/l}$  a hodnoty VPA se snížily z 207.5, 82.3, 43.4, 25.0, 11.9, 5.3 mg/L až na úroveň terapeutických hodnot během 3 hodin po zahájení CVVHD (Obr. 8). Dle naměřené koncentrace VPA (metodou vysokoúčinné kapalinové chromatografie, Abbott Diagnostics, USA) byly odhadnuty farmakokinetické parametry - clearance a distribuční objem VPA  $V_d$  0.13 l/kg, rychlost eliminace ( $k_{el}$ )  $0.0290 \text{ h}^{-1}$ , eliminační poločas ( $T_{1/2}$ ) 23.9 h, a clearance  $CL = 0.0037 \text{ l/h. kg}^{-1}$  (Obr. 8), (PC Program MWPharm Version ++ Mediware Praha, Česká republika).

kyselina valproová mg/L



**Obr. 8:** Simulace průběhu koncentrace VPA na základě vstupních farmakokinetických parametrů.

U novorozené dívky byl stanoven genotyp *CYP2C9* (\*1/\*1) odpovídající fenotypu rychlého metabolizátora pro *CYP2C9* a *CYP2C19* (\*1/\*2), odpovídající intermediárnímu fenotypu *CYP2C19*. Selektivní metabolický screening včetně tandemové hmotnostní spektrometrie a hladiny karnitinu v plazmě nenalezly žádné abnormální výsledky. Novorozenec přežil se středně těžkým neurologickým postižením a byl převeden do regionálního perinatálního centra pro následné sledování.

## Fenobarbital

### 5.2.2 Demografické charakteristiky studijní populace

Do studie bylo přijato 37 zralých novorozenců (22 chlapců, 15 dívek). Celkem 24 pacientů bylo léčeno celotělovou hypotermií, 13 pacientů byla léčeno za normotermických podmínek.

<b>Parametr</b>	<b>Hodnota</b>
Gestační věk průměr (SD)	39.32 (1.36)
Nárazová dávka fenobarbitalu mg/kg	5.04 - 34.29
Udržovací dávka fenobarbitalu mg/kg/den	1.07 - 20.31

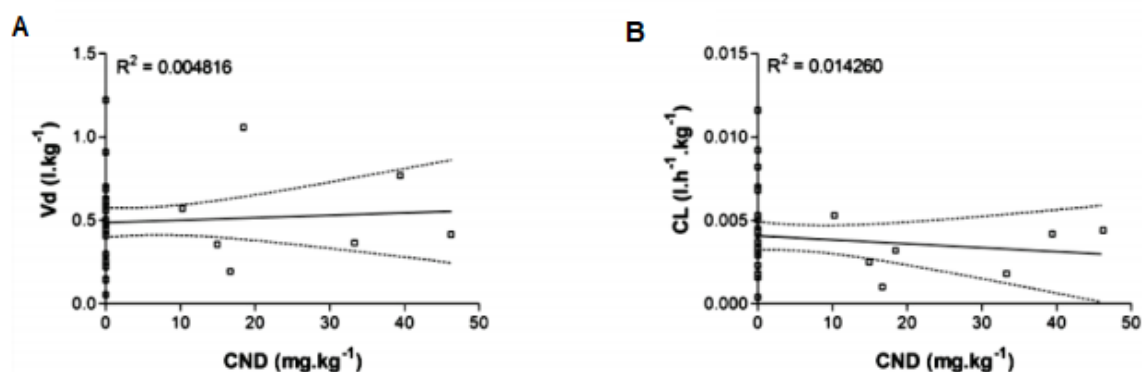
*Tab.6: Věk a dávkování fenobarbitalu ve sledované populaci.*

### **5.2.3 Vliv lékových interakcí na úrovni metabolismu na farmakokinetické parametry fenobarbitalu**

Celkem bylo ve farmakokinetické analýze vyhodnoceno 110 vzorků (na jednoho pacienta připadalo 2 - 5 vzorků). Ze skupiny analgosedativních léčiv pacienti kromě fenobarbitalu užívali také fenytoin, sufentanil, midazolam a tramadol. Průměrné (SD)  $V_d$ , CL a  $T_{1/2}$  hodnoty byly pro fenobarbital 0.4941 (0.2439) l/kg, 0.0040 (0.0023) l/h/kg a 106.55 (59.07) h, v uvedeném pořadí. V tabulce 7 jsou patrné PK parametry ostatních léčiv. Ve studijní populaci byla pozorována vyšší míra interindividuální variability, jak patrně z koeficientu variace pro  $V_d$  49.35 %, CL 58.00 % a  $T_{1/2}$  55.44 %.

Léčivo		Vd (l/kg)	Cl (l/h/kg)	T1/2 (h)
Fenytoin	A	0.4569 (0.2779- 0.6359)	0.0034 (0.0020- 0.0047)	128.33 (97.04- 159.63)
	N	0.4841 (0.3614- 0.6067)	0.0035 (0.0026- 0.0044)	92.40 (82.15- 102.65)
Sufentanil	A	0.4844 (0.3802- 0.5886)	0.0034 (0.0024- 0.0043)	93.65 (74.32- 112.97)
	N	0.4703 (0.2984- 0.6422)	0.0039 (0.0031- 0.0048)	93.02 (65.18- 120.87)
Midazolam	A	0.4841 (0.3716- 0.5965)	0.0034 (0.0025- 0.0043)	93.02 (87.96- 98.09)
	N	0.4569 (0.2663- 0.6475)	0.0037 (0.0026- 0.0048)	99.00 (64.55- 133.45)
Tramadol	A	0.4841 (0.3314- 0.6367)	0.0034 (0.0024- 0.0043)	99.00 (50.13- 147.87)
	N	0.4569 (0.3567- 0.5571)	0.0037 (0.0026- 0.0048)	92.40 (85.88- 98.92)

**Tab. 7:** Mediány (95% CI) farmakokinetických parametrů fenobarbitalu v podskupinách s (A) a bez (N) souběžné léčby.



**Obr. 9:** Graf A- vztah mezi distribučním objemem fenobarbitalu a kumulativní dávkou fenytoinu; graf B- vztah mezi clearance fenobarbitalu a kumulativní dávkou fenytoinu.

Ve studii nebyli pomocí lineární regrese a kumulativních dávek konkomitantních léčiv (normalizovaných na kg hmotnosti) zaznamenány významné lékové interakce, které by

ovlivnily farmakokinetiku fenobarbitalu (fentyoin-obr. 9). Nepozorovali jsme signifikantní na dávce závislé interakce mezi fenobarbitalem a ostatními léčivými.

## 6. Diskuze

### 6.1 Dávkování sufentanilu, midazolamu a tramadolu, sledování terapeutického účinku a rozvoje syndromu z odnětí a vliv genetických polymorfismů

První prospektivní studie zaměřená na analgosedativní léčiva a vliv genetického polymorfismu ukázala, že ačkoliv byla analgosedativní terapie pečlivě sledována pomocí validovaných skórovacích systémů pro hodnocení terapeutické účinnosti i rozvoje abstinčního syndromu, dosažení optimální analgosedace je u mnoha pacientů náročný úkol, zejména ve skupině novorozenců. Hodnoty COMFORT Neo skóre ukázaly, že v 50% pozorování byly novorozenci nadměrně sedováni, zatímco nedostatečná sedace byla vzácná. Na druhou stranu byla sedace ve skupině dětí starších tří měsíců dle naměřených hodnot v převážné většině adekvátní, protože pouze 7% hodnot skóre indikovalo buď nedostatečnou nebo nadměrnou sedaci.

Incidence abstinčního syndromu u obou skupin pacientů byla vysoká; diagnostikována u 23% novorozenců a 50% dětí. Novorozenci dostávali podobné hodinové dávky sufentanilu i midazolamu jako děti, zatímco doba léčby a kumulativní dávky sufentanilu byly u novorozenecké skupiny nižší. Tento rozdíl pravděpodobně vysvětluje odlišný klinický výsledek s ohledem na sedativní účinek a syndrom z odnětí (withdrawal syndrome, WS) mezi novorozenci a dětmi, neboť nezralost eliminačních cest u novorozenců byla pravděpodobně zodpovědná za epizody akutní nadměrné léčby při podání srovnatelných hodinových dávek novorozencům i dětem.

Doba trvání podávání opiátů, kumulativní dávka a počet použitých léků představují rizikové faktory pro rozvoj abstinčního syndromu. U všech subjektů, kterým byla podávána léčba sufentanilem po dobu devíti dnů, se objevil syndrom z odnětí. Pacienti s WS také strávili podstatně delší dobu na umělé plicní ventilaci i celkově v nemocnici. Sledovali jsme symptomy WS nejprve po 5 dnech analgosedace v souladu s předchozími studiemi. Incidence WS se přiblížila 100% ve dvou studiích u pacientů léčených po dobu delší než 5 dnů [Bicudo et al. 1999; Fernandez-Carrion et al. 2013], zatímco Franck et al. zaznamenal 86% výskyt [Franck et al. 2004]. V jiné publikované studii Sfoglia et al. byl pozorován celkový výskyt 34% WS, ve skupině s nejvyšším dávkováním až 49% [Sfoglia et al. 2003]. Nedávná studie naznačuje, že iatrogenní WS po pouhých 3 dnech sedace nebo analgezie může také nastat u menšiny pacientů

[da Silva et al. 2016a]. Z uvedeného vyplývá, že odhad hodnoty 7 dní (177 hodin) trvání léčby sufentanilem jako rizika pro vývoj WS může být považován za konzervativní, skutečnost reflektující, protože pozorování bylo založeno na relativně přísném skórovacím systému Sophia Observational Scale.

Střední kumulativní dávky sufentanilu byly ve skupině WS přibližně 4krát vyšší než u pacientů bez WS a tento rozdíl byl podobný u novorozenců a dětí. Vliv kumulativních dávek sufentanilu na vývoj WS dosud nebyl studován, ale vzhledem k tomu, že opioidní účinnost sufentanilu je považována za 7 - 10krát vyšší než fentanyl, [Li et al. 2015], lze předpokládat, že kumulativní dávka jako rizikový faktor WS bude odpovídajícím způsobem nižší. Medián hodnot 95.61  $\mu\text{g}/\text{kg}$  (20.21 - 918.52) a 81.48  $\mu\text{g}/\text{kg}$  (33.83 - 208.4) ve skupině WS u dětí a novorozenců (resp.) lze dobře porovnat s průměrnou kumulativní dávkou fentanyl 0.98 mg/kg dříve pozorovanou ve skupině pacientů s WS [Fernandez-Carrion et al. 2013]. Dále, Dominguez et al. uvádí, že celková dávka fentanyl  $\geq 0.415$  mg/kg (415  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) predikovala WS s 70% senzitivitou a 78% specificitou [Dominguez et al. 2003]. V dřívější studii u starších dětí byly hlášeny vyšší kumulativní dávky fentanyl, ale kratší doba léčby jako rizikový faktor než v naší studii [Katz et al. 1994]. Kumulativní dávka fentanyl 1.4 mg/kg nebo trvání perfúze po dobu delší než 5 dnů se jevílo jako riziko vzniku WS, zatímco kumulativní dávka fentanyl  $> 2.5$  mg/kg (2500  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) a  $> 9$  dní léčby byly 100% prediktivní [Katz et al. 1994]. Tento rozdíl může být mimojiné přičítán různým skórovacím systémům hodnocení používaným v obou studiích, které mohou mít odlišnou citlivost k detekci WS.

Medián kumulativní dávky midazolamu v skupinách WS a non-WS 18.22 (6.93 - 51.25) a 9.94 (2.12 - 49.83) mg/kg, resp., byly ve studii v rozmezí dříve uváděných hodnot. V malé studii byla hlášena kumulativní dávka midazolamu 60 mg/kg jako rizikový faktor pro rozvoj WS [Fonsmark et al. 1999]. Nicméně, v jiné studii medián midazolam ekvivalentů vztažených na kg tělesné hmotnosti byl 7.6 mg/kg (4.2 - 10.4) vs. 2.3 mg/kg (1.0-3.5) u rizikových pacientů oproti pacientům bez rizika rozvoje WS;  $P < 0.001$ , resp. [Franck et al. 2008]. V evaluační studii SOS (konkomitantní opioid-morfin) byla kumulativní dávka midazolamu ve skupině WS 77.9 mg/kg (34.6 - 169.6) se 17 dny (9 - 27) expozice ve WS skupině a 34.8 mg/kg (16.9 - 71.8) s 9 dny (6 - 14) expozice v non-WS skupině ( $P < 0.0001$ ), [Ista et al. 2013]. Vysoká variabilita údajů o dávkování midazolamu v souvislosti s vývojem WS je pravděpodobně způsobena rozdíly v souběžně podávaných lécích, zejména z analgosedativních tříd, značně nekonzistentně mezi jednotlivými publikovanými studiemi.

U sufentanilu a midazolamu nebyla nalezena žádná významná souvislost mezi polymorfismy kandidátních genů a klinickým skórováním pro účinek analgosedace

(COMFORT skóre) nebo syndrom z odnětí (SOS skóre). Zdá se, že *rs4680* SNP *COMT* varianta ovlivnila dávkování studovaných léků u pacientů, aby bylo dosaženo stejné klinické odpovědi, protože homozygoté pro variantní alelu dostávali nižší hodinovou dávku než nosiči alel wild-type. Nebyly nalezeny žádné údaje o vztahu mezi *COMT* polymorfismy a účinností sufentanilu, avšak tato SNP byla často studována u pacientů léčených jinými opioidy. Varianta *COMTrs4680* byla spojena se zvýšeným skóre intenzity bolesti, ale neovlivnila spotřebu morfinu nebo oxykodonu v pooperačních studiích [Kambur et al. 2013; Kolesnikov et al. 2011; Nielsen et al. 2015]. Ve studiích zaměřených na chronickou bolest byla variantní alela spojena s vyššími požadavky na morfin v porovnání s homozygotními subjekty wild-type [Rakvag et al. 2005; Reyes-Gibby et al. 2007], ale v jiných studiích byly získány protichůdné výsledky [Klepstad et al. 2011; Nielsen et al. 2015; Rakvag et al. 2008; Walter and Lotsch 2009].

U nosičů variant *PXR A7635G* jsme pozorovali tendenci nižší hodinové dávky sufentanilu ve srovnání s homozygoty wild-type. Experimentální data naznačují, že aktivace PXR zvyšuje aktivitu P-glykoproteinu (*ABCB1*) in vivo a znesnadňuje tím pronikání methadonu do CNS, čímž podmiňuje sníženou účinnost léku [Bauer et al. 2006]. Teoreticky by varianta PXR s nižší aktivitou změnila vnímání bolesti nebo umožnila snížení dávky opioidu.

Homozygoté *ABCB1 3435TT* ve studované populaci dostávali významně vyšší hodinovou dávku midazolamu ve srovnání s homozygoty wild-type. Midazolam patří mezi známé substráty *ABCB1*, ovšem předchozí studie nenalezla souvislost mezi klinickou odpovědí na midazolam, jeho plazmatickými hladinami a polymorfismy *ABCB1* [Byon et al. 2012; Tolle-Sander et al. 2003].

Polymorfizmy *CYP2D6* jsou nejčastěji zkoumány s ohledem na účinnost a bezpečnost tramadolu [Leppert 2011]. Ačkoliv byl stanoven genotyp *CYP2D6* u studijních subjektů, výskyt polymorfních alel byl zanedbatelný. Dospělí pomalí metabolizátoři (PMs) měli sníženou tvorbu metabolitů tramadolu a tomu odpovídající minimální snížení bolesti po terapeutické dávce v dřívějších studiích [Lassen et al. 2015; Somogyi et al. 2015; Stamer et al. 2003; Zahari and Ismail 2014]. Na druhou stranu ultrarychlí (UMs) a extenzivní metabolizátoři (EMs) měli vyšší metabolickou clearance tramadolu (až 14x u EMs vs. PMs), [Bastami et al. 2014; Borlak et al. 2003; Gan et al. 2002; Gan et al. 2007; Garcia-Quetglas et al. 2007; Halling et al. 2008; Li et al. 2010] než pomalí metabolizátoři (PM) a u pacientů s intermediárním metabolismem (IMs), [Gan et al. 2002]. Jedno-dávkové a krátkodobé studie tramadolu prokázaly vyšší maximální plazmatickou koncentraci aktivního metabolitu a také větší analgézi, větší miózu a vyšší výskyt nauzey u *CYP2D6* UMs ve srovnání s EMs [Kirchheiner et al. 2008; Slanar et al. 2006]. Zdá se také, že u dospělých pacientů s *CYP2D6* UM se častěji projeví nežádoucí účinky

tramadolu [Haufroid and Hantson 2015]. Tramadol zvýšil výskyt nevolnosti u UMs v experimentální studii [Kirchheiner et al. 2008], i když výsledky jiné studie mohou být v rozporu [Bastami et al. 2014]. Nicméně několik kazuistik dokládá závažnou toxicitu tramadolu u dospělých pacientů [Elkalioubie et al. 2011; Gleason et al. 1997; Stamer et al. 2008]. U dětí Allegaert et al. vysvětluje variabilitu clearance tramadolu na O-demethyltramadol (M1) podle velikosti, postmenstruačního věku (52.7% variability) a také CYP2D6 polymorfismu (6.4% variability). Clearance M1 se zdá být velmi nízká u předčasně narozených novorozenců, bez ohledu na polymorfismus CYP2D6 s následným rychlejším dozráváním aktivity, zatímco studie naznačují, že následný sklon nárůstu závisí na individuální úrovni CYP2D6 aktivity [Allegaert et al. 2009b; Allegaert et al. 2008b]. Ve studii stejných autorů (n = 295, postmenstruační věk 25 týdnů až 84.8 years, hmotnost 0.5 - 186 kg) byla nízká CYP2D6 genotypem podmíněná aktivita spojena s nižší clearance M1 (25%). Pomalí metabolizátoři zahrnovali 9.8% subjektů a dosahovali 19.4% clearance úrovně EMs [Allegaert et al. 2015]. Nakonec, podobně jako u kodeinu, byla u dětí s UM genotypem zaznamenána těžká respirační deprese po užití tramadolu k úlevě od bolesti související se stavem po tonzilektomii [Orliaguet et al. 2015].

Úlohu SNP genu ABCB1 pro P-glykoprotein efluxní pumpu je třeba dále důkladně prozkoumat. V daném poměrně malém vzorku bělošské populace byly homozygoté wild-type u *rs1045642* významně méně často nedostatečně sedováni. Jak bylo poznamenáno výše, tento výsledek mohl být zkreslen častějším předávkováním analgosedace u novorozenců. Přesto byl u nosičů *rs1045642* pozorován signifikantní rozdíl dávky tramadolu na kg/h. Nositelé jedné nefunkční alely dostali signifikantně nižší dávku oproti homozygotům *rs1045642*, u nichž (v rozporu s teoretickým předpokladem) byla dávka nadále nesignifikantně nižší než u wild-type-homozygotů. U variantní alely *rs2032582* nebyl pozorován žádný rozdíl. V naší dřívější studii jsme pozorovali, že profily plazmatické koncentrace tramadolu u dospělých PMs CYP2D6 byly u homozygotů *rs1045642* v ABCB1 signifikantně vyšší než u nosičů alely divokého typu, ovšem v následující studii žádný rozdíl ve skóre VAS, v celkové spotřebě tramadolu, potřebě záchranné analgetické léčby nebo slovním popis bolesti u pacientů po artroskopii. Pozorován nebyl. Je důležité poznamenat, že v tomto případě rozdíl nebyl specificky zkoumán v subpopulaci CYP2D6 PM [Slanar et al. 2012]. Bastami et al. zjistil určitou souvislost mezi AUC tramadolu a *rs1045642*, *rs2032582* a *rs1128503* pro ABCB1, s nejvyššími hodnotami u homozygotů variantních alel, ale pouze pro dávku 50 mg a ne pro dávku 100 mg. [Bastami et al. 2014]. Vliv SNP ABCB1 může být teoreticky odlišný u dospělých a dětí, neboť existuje jen málo zpráv studujících ontogenezi ABCB1 [Daood et al. 2008; Takashima et al. 2011]. Vliv maturace v souvislosti s polymorfismem ABCB1 však dosud nebyl stanoven.



Přestože je CYP2B6 zapojen do metabolismu tramadolu, vliv geneticky podmíněné aktivity CYP2B6 je velmi pravděpodobně omezený [de Moraes et al. 2016].

Ve studii nebyla nalezena žádná souvislost mezi polymorfismy *OPRM1*, *PXR* a *COMT* a hodnotami skóre COMFORT Neo/-B nebo dávkami tramadolu.

Jsme si vědomi základní limitace naší studie, kterou je poněkud omezený počet pacientů a neintervenci design studie. Je však třeba zdůraznit, že se jedná o první studii zaměřenou přímo na analgosedaci a abstinenci syndrom způsobenou sufentanilem u kriticky nemocných novorozenců a dětí, a proto popisná povaha studie je velmi relevantní. Navíc studie doplňuje předběžné údaje o farmakogenetickém zázemí klinických účinků sufentanilu a midazolamu u pediatrických pacientů, ačkoliv další studie jsou v tomto poli nezbytné.

## 6.2 Farmakokinetika

### 6.2.1 Možné příčiny hyperamonémie po podání valproátu u 7 dní staré

#### dívky

U novorozené dívky léčené individuálně upraveným režimem VPA byly farmakokinetické parametry výrazně odlišné (snížená hodnota  $V_d$  o -53% a CL o 15%) oproti údajům z literatury [Alfonso et al. 2000] (snížení  $V_d$  o -56% a CL o -99%) vs. [Gal et al. 1988]. Polymorfizmy CYP2C9 u dětí mohou být relevantní, jak dokládá literární případ hyperamonémie vyvolané VPA u 10 dní staré dívky se dvěma nefunkčními alelami - *CYP2C9* \*3/\*3 [Nagy et al. 2015], sledovaná pacientka byla však rychlý metabolizátor CYP2C9 (*CYP2C9* \*1/\*1) a genetický polymorfismus tedy patrně v jejím případě příčinou zvýšených hladin VPA nebyl. Valproát byl pacientce podán současně s terapeutickými dávkami dalších antiepileptik, fenobarbitalem a fenytoinem, známými silnými induktory CYP. Plazmatické hladiny fenobarbitalu a fenytoinu byly v terapeutickém rozmezí. Současné podávání fenytoinu, přítomnost polymorfismus genu glutamin syntetázy a ženského pohlaví byly nezávislé rizikové faktory rozvoje hyperamonémie v japonské pediatrické studii (n = 202), [Inoue et al. 2015], lze tedy usoudit, že byly i hlavní příčinou tohoto nežádoucího účinku u pacientky na JIRP KDDL.

### 6.2.2 Fenobarbital

Ve studii jsme se zaměřili na vliv léčiv metabolizovaných pomocí cytochromu P450 (fenytoin, sufentanil, midazolam a tramadol) na farmakokinetiku fenobarbitalu. Fenytoin by teoreticky mohl interagovat s fenobarbitalem buď jako induktor nebo jako inhibitor metabolismu, v závislosti na délce léčby kombinací obou léčiv [Encinas et al. 1992]. Zvýšení plazmatických

hladin fenobarbitalu v počáteční fázi léčby je důsledkem kompetice obou látek o stejný cytochrom (CYP2C9, CYP2C19), [Patsalos et al. 2008]. Naopak, delší konkomitantní léčba může vést k následnému snížení plazmatických hladin fenobarbitalu díky indukci syntézy CYP vyvolané fenytoinem, v důsledku aktivace nukleárních receptorů (PXR, konstitutivní androstanový receptor CAR), [Brodie et al. 2013]. Tyto interakce nebyly však ve studii pozorovány, stejně jako u ostatních léčiv metabolizovaných CYP, ačkoliv lékové interakce se sufentanilem, midazolamem a tramadolem jsou méně pravděpodobné, protože tyto léky jsou dominantně metabolizovány jinými enzymy než fenobarbital (CYP3A4, CYP2D6) a nepředstavují silné induktory/inhibitory enzymů [Gorski et al. 1994; Subrahmanyam et al. 2001; Tateishi et al. 1996]. Celkově může být nedostatek pozorovaných metabolických interakcí důsledkem krátkého trvání konkomitantní terapie, nebo díky existenci více eliminačních cest zapojených do metabolismu a eliminace fenobarbitalu (zejména renální exkrece, metabolismus cestou CYP2C9, CYP2C19 a CYP2E1 a N-glukosidace), takže jedna eliminační cesta může být nahrazena druhou.

## 7. Závěr

Výsledky práce lze shrnout následovně:

V běžné praxi je i přes intenzivní sledování u většiny novorozenců nedostatečná/nadměrná hloubka analgosedace. U starších dětí je úspěšnost léčby vyšší. V běžné praxi by bylo žádoucí doplnit klinické sledování o farmakokinetické monitorování, protože dávky (či hladiny léků) byly významné pro úspěšnost léčby i rozvoj nežádoucích účinků. Pro predikci úspěšnosti léčby v této věkové skupině neměly polymorfizmy genů účastnících se metabolismu léků předpokládaný prediktivní význam, pravděpodobně z důvodu ontogenetických změn ve studované populaci. Klinicky významným pozorováním je také to, že běžně používaná komedikace v rámci intenzivní péče neovlivňovala farmakokinetiku fenobarbitalu.

Ve studii nebyla nalezena žádná souvislost mezi hloubkou analgosedace hodnocené pomocí COMFORT skóre a sledovanými genetickými polymorfismy. SNP v genech *COMT*, *PXR* a *ABCB1* mohou ovlivnit dávkování analgosedativních léků.

Kumulativní dávky sufentanilu a midazolamu, stejně jako trvání léčby, představují rizikové faktory pro rozvoj syndromu z odnětí. Délka trvání léčby sufentanilem 177 hodin nebo déle je nezávislým rizikem pro rozvoj tohoto syndromu.

Na základě známých faktů a studiu literatury lze usoudit, že genetický polymorfismus v *CYP2C9* a *CYP2C19* nehrál ve zvýšených hladinách VPA, a tedy i rozvoje hyperamonemické encefalopatie, u pacientky žádnou významnou roli. Jako nejpravděpodobnější příčina se jeví

lékové interakce vyplývající z trojkombinace antiepileptik ze skupiny silných induktorů cytochromu P450 současně s nezralostí metabolismu novorozené dívky. Novorozenci léčení pomocí VPA a induktory CYP by měli být přísně terapeuticky sledováni pro hladiny VPA a amoniaku vlivem variabilních ontogenetických změn farmakokinetiky.

Ve studii zaměřené na vliv současně podávaných léčiv metabolizovaných CYP450 na farmakokinetické parametry fenobarbitalu jsme u novorozenců s hypoxicko-ischemickou encefalopatií nepozorovali žádnou významnou interakci.

## 8. Literatūra

- (2003) Withdrawal syndrome and dependence: tramadol too. *Prescrire international* 12(65):99-100
- Agrawal D, Manzi SF, Gupta R, Krauss B (2003) Preprocedural fasting state and adverse events in children undergoing procedural sedation and analgesia in a pediatric emergency department. *Ann Emerg Med* 42(5):636-46
- Agrawal V, Choi JH, Giacomini KM, Miller WL (2010) Substrate-specific modulation of CYP3A4 activity by genetic variants of cytochrome P450 oxidoreductase. *Pharmacogenet Genomics* 20(10):611-8 doi:10.1097/FPC.0b013e32833e0cb5
- Aires CC, van Cruchten A, Ijlst L, et al. (2011) New insights on the mechanisms of valproate-induced hyperammonemia: inhibition of hepatic N-acetylglutamate synthase activity by valproyl-CoA. *J Hepatol* 55(2):426-34 doi:10.1016/j.jhep.2010.11.031
- Akcan-Arikan A, Zappitelli M, Loftis LL, Washburn KK, Jefferson LS, Goldstein SL (2007) Modified RIFLE criteria in critically ill children with acute kidney injury. *Kidney Int* 71(10):1028-35 doi:10.1038/sj.ki.5002231
- Alcorn J, McNamara PJ (2003) Pharmacokinetics in the newborn. *Adv Drug Deliv Rev* 55(5):667-86
- Alfonso I, Alvarez LA, Gilman J, Dunoyer C, Yelin K, Papazian O (2000) Intravenous valproate dosing in neonates. *J Child Neurol* 15(12):827-9 doi:10.1177/088307380001501216
- Allegaert K, de Hoon J, Verbesselt R, Devlieger H, Tibboel D (2005a) Tramadol concentrations in blood and in cerebrospinal fluid in a neonate. *Eur J Clin Pharmacol* 60(12):911-3
- Allegaert K, Holford N, Anderson BJ, et al. (2015) Tramadol and o-desmethyl tramadol clearance maturation and disposition in humans: a pooled pharmacokinetic study. *Clin Pharmacokinet* 54(2):167-78 doi:10.1007/s40262-014-0191-9
- Allegaert K, Ilett KF, Koren G (2009a) Tramadol withdrawal in a neonate: only one of the clinical presentations to be anticipated. *Eur J Clin Pharmacol* 65(6):643-4; author reply 645
- Allegaert K, Rochette A, Veyckemans F Developmental pharmacology of tramadol during infancy: ontogeny, pharmacogenetics and elimination clearance. *Paediatric anaesthesia* 21(3):266-73
- Allegaert K, Rochette A, Veyckemans F (2011) Developmental pharmacology of tramadol during infancy: ontogeny, pharmacogenetics and elimination clearance. *Paediatr Anaesth* 21(3):266-73 doi:10.1111/j.1460-9592.2010.03389.x
- Allegaert K, Tibboel D, van den Anker J (2013) Pharmacological treatment of neonatal pain: in search of a new equipoise. *Seminars in fetal & neonatal medicine* 18(1):42-7 doi:10.1016/j.siny.2012.10.001
- Allegaert K, van den Anker JN, de Hoon JN, et al. (2008a) Covariates of tramadol disposition in the first months of life. *Br J Anaesth* 100(4):525-32
- Allegaert K, Van Den Anker JN, Tayman C, De Hoon J (2009b) Determinants of variability in clearance of exogenous compounds in neonates. *Verhandelingen - Koninklijke Academie voor Geneeskunde van België* 71(3):141-64
- Allegaert K, Van den Anker JN, Verbesselt R, et al. (2005b) O-demethylation of tramadol in the first months of life. *Eur J Clin Pharmacol* 61(11):837-42
- Allegaert K, van Schaik RH, Vermeersch S, et al. (2008b) Postmenstrual age and CYP2D6 polymorphisms determine tramadol o-demethylation in critically ill neonates and infants. *Pediatric research* 63(6):674-9
- Allegaert K, Veyckemans F, Tibboel D (2009c) Clinical practice: analgesia in neonates. *Eur J Pediatr* 168(7):765-70
- Amre DK, Mack DR, Israel D, et al. (2008) Investigation of associations between the pregnane-X receptor gene (NR1I2) and Crohn's disease in Canadian children using a gene-wide haplotype-based approach. *Inflammatory bowel diseases* 14(9):1214-8
- Anderson BJ, Larsson P (2011) A maturation model for midazolam clearance. *Paediatr Anaesth* 21(3):302-8 doi:10.1111/j.1460-9592.2010.03364.x

- Andurkar SV, Gendler L, Gulati A (2012) Tramadol antinociception is potentiated by clonidine through alpha(2)-adrenergic and I(2)-imidazoline but not by endothelin ET(A) receptors in mice. *Eur J Pharmacol* 683(1-3):109-15 doi:10.1016/j.ejphar.2012.03.016
- Arabi Y, Haddad S, Hawes R, et al. (2007) Changing sedation practices in the intensive care unit--protocol implementation, multifaceted multidisciplinary approach and teamwork. *Middle East J Anaesthesiol* 19(2):429-47
- Arnold JH, Truog RD, Orav EJ, Scavone JM, Hershenon MB (1990) Tolerance and dependence in neonates sedated with fentanyl during extracorporeal membrane oxygenation. *Anesthesiology* 73(6):1136-40
- Arnold JH, Truog RD, Scavone JM, Fenton T (1991) Changes in the pharmacodynamic response to fentanyl in neonates during continuous infusion. *J Pediatr* 119(4):639-43
- Aronica E, Gorter JA, Jansen GH, et al. (2003) Expression and cellular distribution of multidrug transporter proteins in two major causes of medically intractable epilepsy: focal cortical dysplasia and glioneuronal tumors. *Neuroscience* 118(2):417-29
- Bajpai M, Roskos LK, Shen DD, Levy RH (1996) Roles of cytochrome P4502C9 and cytochrome P4502C19 in the stereoselective metabolism of phenytoin to its major metabolite. *Drug metabolism and disposition: the biological fate of chemicals* 24(12):1401-3
- Barr J, Fraser GL, Puntillo K, et al. (2013) Clinical practice guidelines for the management of pain, agitation, and delirium in adult patients in the Intensive Care Unit: executive summary. *Am J Health Syst Pharm* 70(1):53-8
- Barsotti CE, Mycyk MB, Reyes J (2003) Withdrawal syndrome from tramadol hydrochloride. *Am J Emerg Med* 21(1):87-8 doi:10.1053/ajem.2003.50039
- Bastami S, Haage P, Kronstrand R, Kugelberg FC, Zackrisson AL, Uppugunduri S (2014) Pharmacogenetic aspects of tramadol pharmacokinetics and pharmacodynamics after a single oral dose. *Forensic Sci Int* 238:125-32 doi:10.1016/j.forsciint.2014.03.003
- Bateson AN (2002) Basic pharmacologic mechanisms involved in benzodiazepine tolerance and withdrawal. *Current pharmaceutical design* 8(1):5-21
- Batra YK, Prasad MK, Arya VK, Chari P, Yaddanapudi LN (1999) Comparison of caudal tramadol vs bupivacaine for post-operative analgesia in children undergoing hypospadias surgery. *International journal of clinical pharmacology and therapeutics* 37(5):238-42
- Bauer B, Yang X, Hartz AM, et al. (2006) In vivo activation of human pregnane X receptor tightens the blood-brain barrier to methadone through P-glycoprotein up-regulation. *Mol Pharmacol* 70(4):1212-9 doi:10.1124/mol.106.023796
- Bicudo JN, de Souza N, Mangia CM, de Carvalho WB (1999) [Withdrawal syndrome associated with cessation of fentanyl and midazolam in pediatrics]. *Rev Assoc Med Bras* 45(1):15-8
- Billing H, Hocker B, Fichtner A, et al. (2017) Single-Nucleotide Polymorphism of CYP3A5 Impacts the Exposure to Tacrolimus in Pediatric Renal Transplant Recipients: A Pharmacogenetic Substudy of the TWIST Trial. *Therapeutic drug monitoring* 39(1):21-28 doi:10.1097/FTD.0000000000000361
- Birchley G (2009) Opioid and benzodiazepine withdrawal syndromes in the paediatric intensive care unit: a review of recent literature. *Nursing in critical care* 14(1):26-37
- Bliek BJ, van Schaik RH, van der Heiden IP, et al. (2009) Maternal medication use, carriership of the ABCB1 3435C > T polymorphism and the risk of a child with cleft lip with or without cleft palate. *American journal of medical genetics* 149A(10):2088-92
- Borlak J, Hermann R, Erb K, Thum T (2003) A rapid and simple CYP2D6 genotyping assay--case study with the analgetic tramadol. *Metabolism* 52(11):1439-43
- Brattebo G, Hofoss D, Flaatten H, Muri AK, Gjerde S, Plsek PE (2002) Effect of a scoring system and protocol for sedation on duration of patients' need for ventilator support in a surgical intensive care unit. *BMJ* 324(7350):1386-9
- Brodie MJ, Mintzer S, Pack AM, Gidal BE, Vecht CJ, Schmidt D (2013) Enzyme induction with antiepileptic drugs: cause for concern? *Epilepsia* 54(1):11-27 doi:10.1111/j.1528-1167.2012.03671.x
- Brussee JM, Vet NJ, Krekels EHJ, et al. (2017) Predicting CYP3A-mediated midazolam metabolism in critically ill neonates, infants, children, and adults with inflammation and organ failure. *British journal of clinical pharmacology* doi:10.1111/bcp.13459

- Budi T, Toth K, Nagy A, et al. (2015) Clinical significance of CYP2C9-status guided valproic acid therapy in children. *Epilepsia* 56(6):849-55 doi:10.1111/epi.13011
- Byon HJ, Park KS, Park YH, Kim JT, Jung CW, Kim HS (2012) The influence of DNA polymorphism of multidrug resistant 1 (MDR1) on the effect of midazolam pretreatment in children. *Korean J Anesthesiol* 62(4):332-6 doi:10.4097/kjae.2012.62.4.332
- Camorcia M, Capogna G, Stirparo S, Berritta C, Blouin JL, Landau R (2012) Effect of mu-opioid receptor A118G polymorphism on the ED50 of epidural sufentanil for labor analgesia. *International journal of obstetric anesthesia* 21(1):40-4 doi:10.1016/j.ijoa.2011.10.001
- Carr DB, Todres ID (1994) Fentanyl infusion and weaning in the pediatric intensive care unit: toward science-based practice. *Critical care medicine* 22(5):725-7
- Casella S, Giannetto C, Giudice E, et al. (2013) ADP-induced platelet aggregation after addition of tramadol in vitro in fed and fasted horses plasma. *Res Vet Sci* 94(2):325-30 doi:10.1016/j.rvsc.2012.09.005
- Cendejas-Bueno E, Borobia AM, Gomez-Lopez A, et al. (2016) Invasive aspergillosis in a paediatric allogeneic stem cell transplantation recipient owing to a susceptible *Aspergillus fumigatus*: Treatment failure with high doses of voriconazole and influence of CYP2C19 polymorphisms. *Int J Antimicrob Agents* 47(5):410-1 doi:10.1016/j.ijantimicag.2016.02.002
- Cizmarikova M, Podracka L, Klimcakova L, et al. (2015) MDR1 polymorphisms and idiopathic nephrotic syndrome in Slovak children: preliminary results. *Med Sci Monit* 21:59-68 doi:10.12659/MSM.891366
- Clancy RR (2006) Summary proceedings from the neurology group on neonatal seizures. *Pediatrics* 117(3 Pt 2):S23-7 doi:10.1542/peds.2005-0620D
- Corbett AD, Henderson G, McKnight AT, Paterson SJ (2006) 75 years of opioid research: the exciting but vain quest for the Holy Grail. *British journal of pharmacology* 147 Suppl 1:S153-62
- Curras V, Hocht C, Mangano A, et al. (2009) Pharmacokinetic study of the variability of indinavir drug levels when boosted with ritonavir in HIV-infected children. *Pharmacology* 83(1):59-66
- da Silva PS, Reis ME, Fonseca TS, Fonseca MC (2016a) Opioid and Benzodiazepine Withdrawal Syndrome in PICU Patients: Which Risk Factors Matter? *J Addict Med* 10(2):108-14 doi:10.1097/ADM.000000000000197
- da Silva PS, Reis ME, Fonseca TS, Fonseca MC (2016b) Opioid and Benzodiazepine Withdrawal Syndrome in PICU Patients: Which Risk Factors Matter? *J Addict Med* 10(2):110-6 doi:10.1097/ADM.000000000000197
- Daood M, Tsai C, Ahdab-Barmada M, Watchko JF (2008) ABC transporter (P-gp/ABCB1, MRP1/ABCC1, BCRP/ABCG2) expression in the developing human CNS. *Neuropediatrics* 39(4):211-8 doi:10.1055/s-0028-1103272
- De Capraris A, Cinnella G, Marolla A, et al. (2011) Micro opioid receptor A118G polymorphism and post-operative pain: opioids' effects on heterozygous patients. *International journal of immunopathology and pharmacology* 24(4):993-1004
- de Jonge H, Elens L, de Loor H, van Schaik RH, Kuypers DR (2015) The CYP3A4\*22 C>T single nucleotide polymorphism is associated with reduced midazolam and tacrolimus clearance in stable renal allograft recipients. *The pharmacogenomics journal* 15(2):144-52 doi:10.1038/tpj.2014.49
- de Moraes NV, Lauretti GR, Coelho EB, Godoy AL, Neves DV, Lanchote VL (2016) Impact of fraction unbound, CYP3A, and CYP2D6 in vivo activities, and other potential covariates to the clearance of tramadol enantiomers in patients with neuropathic pain. *Fundam Clin Pharmacol* 30(2):153-61 doi:10.1111/fcp.12168
- de Wildt SN, Kearns GL, Leeder JS, van den Anker JN (1999) Cytochrome P450 3A: ontogeny and drug disposition. *Clinical pharmacokinetics* 37(6):485-505 doi:10.2165/00003088-199937060-00004
- Demiraran Y, Kocaman B, Akman RY (2005) A comparison of the postoperative analgesic efficacy of single-dose epidural tramadol versus morphine in children. *Br J Anaesth* 95(4):510-3 doi:10.1093/bja/aei214
- Diatchenko L, Anderson AD, Slade GD, et al. (2006a) Three major haplotypes of the beta2 adrenergic receptor define psychological profile, blood pressure, and the risk for development of a common musculoskeletal pain disorder. *American journal of medical genetics Part B, Neuropsychiatric*

- genetics : the official publication of the International Society of Psychiatric Genetics 141B(5):449-62 doi:10.1002/ajmg.b.30324
- Diatchenko L, Nackley AG, Slade GD, et al. (2006b) Catechol-O-methyltransferase gene polymorphisms are associated with multiple pain-evoking stimuli. *Pain* 125(3):216-24 doi:10.1016/j.pain.2006.05.024
- Diatchenko L, Slade GD, Nackley AG, et al. (2005) Genetic basis for individual variations in pain perception and the development of a chronic pain condition. *Hum Mol Genet* 14(1):135-43 doi:10.1093/hmg/ddi013
- Dominguez KD, Lomako DM, Katz RW, Kelly HW (2003) Opioid withdrawal in critically ill neonates. *Ann Pharmacother* 37(4):473-7
- Dorfman TL, Sumamo Schellenberg E, Rempel GR, Scott SD, Hartling L (2014) An evaluation of instruments for scoring physiological and behavioral cues of pain, non-pain related distress, and adequacy of analgesia and sedation in pediatric mechanically ventilated patients: A systematic review. *International journal of nursing studies* 51(4):654-76 doi:10.1016/j.ijnurstu.2013.07.009
- Dunn KE, Tompkins DA, Bigelow GE, Strain EC (2017) Efficacy of Tramadol Extended-Release for Opioid Withdrawal: A Randomized Clinical Trial. *JAMA Psychiatry* 74(9):885-893 doi:10.1001/jamapsychiatry.2017.1838
- Dussault I, Forman BM (2002) The nuclear receptor PXR: a master regulator of "homeland" defense. *Critical reviews in eukaryotic gene expression* 12(1):53-64
- Egbelakin A, Ferguson MJ, MacGill EA, et al. (2011) Increased risk of vincristine neurotoxicity associated with low CYP3A5 expression genotype in children with acute lymphoblastic leukemia. *Pediatric blood & cancer* 56(3):361-7
- El-Sayed AA, Mohamed KM, Nasser AY, Button J, Holt DW (2013) Simultaneous determination of tramadol, O-desmethyltramadol and N-desmethyltramadol in human urine by gas chromatography-mass spectrometry. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci* 926:9-15 doi:10.1016/j.jchromb.2013.02.019
- Elens L, Norman E, Matic M, Rane A, Fellman V, van Schaik RH (2016) Genetic Predisposition to Poor Opioid Response in Preterm Infants: Impact of KCNJ6 and COMT Polymorphisms on Pain Relief After Endotracheal Intubation. *Therapeutic drug monitoring* 38(4):525-33 doi:10.1097/FTD.0000000000000301
- Elkalioubie A, Allorge D, Robriquet L, et al. (2011) Near-fatal tramadol cardiotoxicity in a CYP2D6 ultrarapid metabolizer. *Eur J Clin Pharmacol* 67(8):855-8 doi:10.1007/s00228-011-1080-x
- Emich-Widera E, Likus W, Kazek B, Sieron AL, Urbanek K (2014) Polymorphism of ABCB1/MDR1 C3435T in children and adolescents with partial epilepsy is due to different criteria for drug resistance - preliminary results. *Med Sci Monit* 20:1654-61 doi:10.12659/MSM.890633
- Encinas MP, Santos Buelga D, Alonso Gonzalez AC, Garcia Sanchez MJ, Dominguez-Gil Hurlé A (1992) Influence of length of treatment on the interaction between phenobarbital and phenytoin. *Journal of clinical pharmacy and therapeutics* 17(1):49-50
- Erdilyi DJ, Kamory E, Csokay B, et al. (2008) Synergistic interaction of ABCB1 and ABCG2 polymorphisms predicts the prevalence of toxic encephalopathy during anticancer chemotherapy. *The pharmacogenomics journal* 8(5):321-7
- Fernandez-Carrion F, Gaboli M, Gonzalez-Celador R, et al. (2012) Withdrawal syndrome in the pediatric intensive care unit. incidence and risk factors. *Medicina intensiva / Sociedad Espanola de Medicina Intensiva y Unidades Coronarias*
- Fernandez-Carrion F, Gaboli M, Gonzalez-Celador R, et al. (2013) Withdrawal syndrome in the pediatric intensive care unit. incidence and risk factors. *Medicina intensiva / Sociedad Espanola de Medicina Intensiva y Unidades Coronarias* 37(2):67-74 doi:10.1016/j.medin.2012.02.009
- Fijal B, Perlis RH, Heinloth AN, Houston JP (2010) The association of single nucleotide polymorphisms in the catechol-O-methyltransferase gene and pain scores in female patients with major depressive disorder. *J Pain* 11(9):910-5, 915 e1-9
- Fischer JH, Lockman LA, Zaske D, Kriel R (1981) Phenobarbital maintenance dose requirements in treating neonatal seizures. *Neurology* 31(8):1042-4
- Fonsmark L, Rasmussen YH, Carl P (1999) Occurrence of withdrawal in critically ill sedated children. *Crit Care Med* 27(1):196-9

- Franck LS, Harris SK, Soetenga DJ, Amling JK, Curley MA (2008) The Withdrawal Assessment Tool-1 (WAT-1): an assessment instrument for monitoring opioid and benzodiazepine withdrawal symptoms in pediatric patients. *Pediatr Crit Care Med* 9(6):573-80
- Franck LS, Naughton I, Winter I (2004) Opioid and benzodiazepine withdrawal symptoms in paediatric intensive care patients. *Intensive Crit Care Nurs* 20(6):344-51 doi:10.1016/j.iccn.2004.07.008
- French JP, Nocera M (1994) Drug withdrawal symptoms in children after continuous infusions of fentanyl. *J Pediatr Nurs* 9(2):107-13
- Freye E, Levy J (2000) Acute abstinence syndrome following abrupt cessation of long-term use of tramadol (Ultram): a case study. *Eur J Pain* 4(3):307-11 doi:10.1053/eujp.2000.0187
- Fukuda K, Hayashida M, Ikeda K, Koukita Y, Ichinohe T, Kaneko Y (2010) Diversity of opioid requirements for postoperative pain control following oral surgery--is it affected by polymorphism of the mu-opioid receptor? *Anesth Prog* 57(4):145-9 doi:10.2344/0003-3006-57.4.145
- Gal P, Oles KS, Gilman JT, Weaver R (1988) Valproic acid efficacy, toxicity, and pharmacokinetics in neonates with intractable seizures. *Neurology* 38(3):467-71
- Gan SH, Ismail R, Wan Adnan WA, Wan Z (2002) Correlation of tramadol pharmacokinetics and CYP2D6\*10 genotype in Malaysian subjects. *J Pharm Biomed Anal* 30(2):189-195
- Gan SH, Ismail R, Wan Adnan WA, Zulmi W (2007) Impact of CYP2D6 genetic polymorphism on tramadol pharmacokinetics and pharmacodynamics. *Molecular diagnosis & therapy* 11(3):171-81
- Garcia-Quetglas E, Azanza JR, Sadaba B, Munoz MJ, Gil I, Campanero MA (2007) Pharmacokinetics of tramadol enantiomers and their respective phase I metabolites in relation to CYP2D6 phenotype. *Pharmacol Res* 55(2):122-30 doi:10.1016/j.phrs.2006.11.003
- George SZ, Wallace MR, Wright TW, et al. (2008) Evidence for a biopsychosocial influence on shoulder pain: pain catastrophizing and catechol-O-methyltransferase (COMT) diplotype predict clinical pain ratings. *Pain* 136(1-2):53-61 doi:10.1016/j.pain.2007.06.019
- Gervasini G, de Murillo SG, Jimenez M, de la Maya MD, Vagace JM (2017) Effect of polymorphisms in transporter genes on dosing, efficacy and toxicity of maintenance therapy in children with acute lymphoblastic leukemia. *Gene* 628:72-77 doi:10.1016/j.gene.2017.07.025
- Ghodke-Puranik Y, Thorn CF, Lamba JK, et al. (2013) Valproic acid pathway: pharmacokinetics and pharmacodynamics. *Pharmacogenet Genomics* 23(4):236-41 doi:10.1097/FPC.0b013e32835ea0b2
- Gilman JT, Gal P, Duchowny MS, Weaver RL, Ransom JL (1989) Rapid sequential phenobarbital treatment of neonatal seizures. *Pediatrics* 83(5):674-8
- Glas J, Seiderer J, Fischer D, et al. (2011) Pregnane X receptor (PXR/NR1I2) gene haplotypes modulate susceptibility to inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis* 17(9):1917-24 doi:10.1002/ibd.21562
- Gleason PP, Frye RF, O'Toole T (1997) Debilitating reaction following the initial dose of tramadol. *Ann Pharmacother* 31(10):1150-2
- Goldstein B, Giroir B, Randolph A, International Consensus Conference on Pediatric S (2005) International pediatric sepsis consensus conference: definitions for sepsis and organ dysfunction in pediatrics. *Pediatr Crit Care Med* 6(1):2-8 doi:10.1097/01.PCC.0000149131.72248.E6
- Goldstein JA (2001) Clinical relevance of genetic polymorphisms in the human CYP2C subfamily. *British journal of clinical pharmacology* 52(4):349-55
- Gorski JC, Hall SD, Jones DR, VandenBranden M, Wrighton SA (1994) Regioselective biotransformation of midazolam by members of the human cytochrome P450 3A (CYP3A) subfamily. *Biochem Pharmacol* 47(9):1643-53
- Grant MJ, Balas MC, Curley MA, Team RI (2013) Defining sedation-related adverse events in the pediatric intensive care unit. *Heart Lung* 42(3):171-6 doi:10.1016/j.hrtlng.2013.02.004
- Gregers J, Green H, Christensen IJ, et al. (2015) Polymorphisms in the ABCB1 gene and effect on outcome and toxicity in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Pharmacogenomics J* 15(4):372-9 doi:10.1038/tpj.2014.81
- Grybauskas A, Koga T, Kuprys PV, et al. (2015) ABCB1 transporter and Toll-like receptor 4 in trabecular meshwork cells. *Mol Vis* 21:201-12



- Guner YS, Franklin AL, Chokshi NK, et al. (2011) P-glycoprotein induction by breast milk attenuates intestinal inflammation in experimental necrotizing enterocolitis. *Laboratory investigation; a journal of technical methods and pathology* 91(11):1668-79
- Gunes Y, Gunduz M, Unlugenc H, Ozalevli M, Ozcengiz D (2004) Comparison of caudal vs intravenous tramadol administered either preoperatively or postoperatively for pain relief in boys. *Paediatr Anaesth* 14(4):324-8 doi:10.1046/j.1460-9592.2003.01214.x
- Haas DM, Lehmann AS, Skaar T, et al. (2012) The impact of drug metabolizing enzyme polymorphisms on outcomes after antenatal corticosteroid use. *Am J Obstet Gynecol* 206(5):447 e17-24 doi:10.1016/j.ajog.2012.02.016
- Haerian BS, Haerian MS (2013) OPRM1 rs1799971 polymorphism and opioid dependence: evidence from a meta-analysis. *Pharmacogenomics* 14(7):813-24 doi:10.2217/pgs.13.57
- Hajj A, Halepian L, Osta NE, Chahine G, Kattan J, Rabbaa Khabbaz L (2017) OPRM1 c.118A>G Polymorphism and Duration of Morphine Treatment Associated with Morphine Doses and Quality-of-Life in Palliative Cancer Pain Settings. *Int J Mol Sci* 18(4) doi:10.3390/ijms18040669
- Hall RT, Hall FK, Daily DK (1998) High-dose phenobarbital therapy in term newborn infants with severe perinatal asphyxia: a randomized, prospective study with three-year follow-up. *J Pediatr* 132(2):345-8
- Halling J, Weihe P, Brosen K (2008) CYP2D6 polymorphism in relation to tramadol metabolism: a study of faroese patients. *Therapeutic drug monitoring* 30(3):271-5
- Harris J, Ramelet AS, van Dijk M, et al. (2016) Clinical recommendations for pain, sedation, withdrawal and delirium assessment in critically ill infants and children: an ESPNIC position statement for healthcare professionals. *Intensive care medicine* 42(6):972-86 doi:10.1007/s00134-016-4344-1
- Hartenstein S, Proquitte H, Bauer S, Bamberg C, Roehr CC (2010) Neonatal abstinence syndrome (NAS) after intrauterine exposure to tramadol. *Journal of perinatal medicine* 38(6):695-6 doi:10.1515/JPM.2010.102
- Haufroid V, Hantson P (2015) CYP2D6 genetic polymorphisms and their relevance for poisoning due to amfetamines, opioid analgesics and antidepressants. *Clin Toxicol (Phila)* 53(6):501-10 doi:10.3109/15563650.2015.1049355
- He P, Court MH, Greenblatt DJ, von Moltke LL (2006) Human pregnane X receptor: genetic polymorphisms, alternative mRNA splice variants, and cytochrome P450 3A metabolic activity. *Journal of clinical pharmacology* 46(11):1356-69 doi:10.1177/0091270006292125
- Henker RA, Lewis A, Dai F, et al. (2012) The Associations Between OPRM1 and COMT Genotypes and Postoperative Pain, Opioid Use, and Opioid-Induced Sedation. *Biol Res Nurs*
- Hicks JK, Crews KR, Flynn P, et al. (2014) Voriconazole plasma concentrations in immunocompromised pediatric patients vary by CYP2C19 diplotypes. *Pharmacogenomics* 15(8):1065-78 doi:10.2217/pgs.14.53
- Horiuchi M, Imamura Y, Nakamura N, Maruyama I, Saheki T (1993) Carbamoylphosphate synthetase deficiency in an adult: deterioration due to administration of valproic acid. *J Inher Metab Dis* 16(1):39-45
- Huang P, Chen C, Mague SD, Blendy JA, Liu-Chen LY (2011) A common single nucleotide polymorphism A118G of the mu opioid receptor alters its N-glycosylation and protein stability. *Biochem J* 441(1):379-86
- Hung CC, Jen Tai J, Kao PJ, Lin MS, Liou HH (2007) Association of polymorphisms in NR1I2 and ABCB1 genes with epilepsy treatment responses. *Pharmacogenomics* 8(9):1151-8
- Chan SW, Xiao Y, Hu M, et al. (2016) Associations of the CYP3A5\*3 and CYP3A4\*1G polymorphisms with the pharmacokinetics of oral midazolam and the urinary 6beta-hydroxycortisol/cortisol ratio as markers of CYP3A activity in healthy male Chinese. *Journal of clinical pharmacy and therapeutics* 41(5):552-8 doi:10.1111/jcpt.12433
- Chandra P, Rathore AS, Lohidasan S, Mahadik KR (2012) Application of HPLC for the simultaneous determination of aceclofenac, paracetamol and tramadol hydrochloride in pharmaceutical dosage form. *Sci Pharm* 80(2):337-51 doi:10.3797/scipharm.1108-04
- Chateauvieux S, Morceau F, Dicato M, Diederich M (2010) Molecular and therapeutic potential and toxicity of valproic acid. *J Biomed Biotechnol* 2010 doi:10.1155/2010/479364

- Chawla JM, Pal H, Lal R, Jain R, Schooler N, Balhara YP (2013) Comparison of efficacy between buprenorphine and tramadol in the detoxification of opioid (heroin)-dependent subjects. *J Opioid Manag* 9(1):35-41 doi:10.5055/jom.2013.0145
- Chen J, Lipska BK, Halim N, et al. (2004) Functional analysis of genetic variation in catechol-O-methyltransferase (COMT): effects on mRNA, protein, and enzyme activity in postmortem human brain. *American journal of human genetics* 75(5):807-21 doi:10.1086/425589
- Chiba K, Ishizaki T, Miura H, Minagawa K (1980) Michaelis-Menten pharmacokinetics of diphenylhydantoin and application in the pediatric age patient. *The Journal of pediatrics* 96(3 Pt 1):479-84
- Choi SW, Lam DMH, Wong SSC, Shiu HHC, Wang AXM, Cheung CW (2017) Effects of Single Nucleotide Polymorphisms on Surgical and Postsurgical Opioid Requirements: A Systematic Review and Meta-Analysis. *The Clinical journal of pain* 33(12):1117-1130 doi:10.1097/AJP.0000000000000498
- Chouchi M, Kaabachi W, Klaa H, Tizaoui K, Turki IB, Hila L (2017) Relationship between ABCB1 3435TT genotype and antiepileptic drugs resistance in Epilepsy: updated systematic review and meta-analysis. *BMC Neurol* 17(1):32 doi:10.1186/s12883-017-0801-x
- Jeiri I (2012) Functional significance of genetic polymorphisms in P-glycoprotein (MDR1, ABCB1) and breast cancer resistance protein (BCRP, ABCG2). *Drug metabolism and pharmacokinetics* 27(1):85-105 doi:JST.JSTAGE/dmpk/DMPK-11-RV-098 [pii]
- Ing Lorenzini K, Daali Y, Dayer P, Desmeules J (2012) Pharmacokinetic-pharmacodynamic modelling of opioids in healthy human volunteers. a minireview. *Basic Clin Pharmacol Toxicol* 110(3):219-26 doi:10.1111/j.1742-7843.2011.00814.x
- Inoue K, Takahashi T, Yamamoto Y, et al. (2015) Influence of glutamine synthetase gene polymorphisms on the development of hyperammonemia during valproic acid-based therapy. *Seizure* 33:76-80 doi:10.1016/j.seizure.2015.10.015
- Ista E, de Hoog M, Tibboel D, Duivenvoorden HJ, van Dijk M (2013) Psychometric evaluation of the Sophia Observation withdrawal symptoms scale in critically ill children. *Pediatr Crit Care Med* 14(8):761-9 doi:10.1097/PCC.0b013e31829f5be1
- Ista E, de Hoog M, Tibboel D, van Dijk M (2009a) Implementation of standard sedation management in paediatric intensive care: effective and feasible? *J Clin Nurs* 18(17):2511-20 doi:10.1111/j.1365-2702.2009.02836.x
- Ista E, van Dijk M, de Hoog M, Tibboel D, Duivenvoorden HJ (2009b) Construction of the Sophia Observation withdrawal Symptoms-scale (SOS) for critically ill children. *Intensive Care Med* 35(6):1075-81 doi:10.1007/s00134-009-1487-3
- Ista E, van Dijk M, Tibboel D, de Hoog M (2005) Assessment of sedation levels in pediatric intensive care patients can be improved by using the COMFORT "behavior" scale. *Pediatr Crit Care Med* 6(1):58-63 doi:10.1097/01.PCC.0000149318.40279.1A
- Jacqz-Aigrain E, Burtin P (1996) Clinical pharmacokinetics of sedatives in neonates. *Clinical pharmacokinetics* 31(6):423-43 doi:10.2165/00003088-199631060-00003
- Jafar T, Prasad N, Agarwal V, et al. (2011) MDR-1 gene polymorphisms in steroid-responsive versus steroid-resistant nephrotic syndrome in children. *Nephrol Dial Transplant* 26(12):3968-74
- Kambur O, Kaunisto MA, Tikkanen E, Leal SM, Ripatti S, Kalso EA (2013) Effect of catechol-O-methyltransferase-gene (COMT) variants on experimental and acute postoperative pain in 1,000 women undergoing surgery for breast cancer. *Anesthesiology* 119(6):1422-33 doi:10.1097/ALN.0000000000000013
- Katz R, Kelly HW, Hsi A (1994) Prospective study on the occurrence of withdrawal in critically ill children who receive fentanyl by continuous infusion. *Crit Care Med* 22(5):763-7
- Kayilioglu H, Kocak U, Kan Karaer D, et al. (2017) Association of CYP3A5 Expression and Vincristine Neurotoxicity in Pediatric Malignancies in Turkish Population. *J Pediatr Hematol Oncol* 39(6):458-462 doi:10.1097/MPH.0000000000000910
- Khalil H, Sereika SM, Dai F, et al. (2017) OPRM1 and COMT Gene-Gene Interaction Is Associated With Postoperative Pain and Opioid Consumption After Orthopedic Trauma. *Biol Res Nurs* 19(2):170-179 doi:10.1177/1099800416680474

- Kharasch ED, Walker A, Isoherranen N, et al. (2007) Influence of CYP3A5 genotype on the pharmacokinetics and pharmacodynamics of the cytochrome P450A probes alfentanil and midazolam. *Clin Pharmacol Ther* 82(4):410-26 doi:10.1038/sj.clpt.6100237
- Kim E, Choi CB, Kang C, Bae SC, Ultracet Study G (2010) Adverse events in analgesic treatment with tramadol associated with CYP2D6 extensive-metaboliser and OPRM1 high-expression variants. *Annals of the rheumatic diseases* 69(10):1889-90 doi:10.1136/ard.2009.124347
- Kirchheiner J, Keulen JT, Bauer S, Roots I, Brockmoller J (2008) Effects of the CYP2D6 gene duplication on the pharmacokinetics and pharmacodynamics of tramadol. *J Clin Psychopharmacol* 28(1):78-83 doi:10.1097/JCP.0b013e318160f827
- Klepstad P, Fladvad T, Skorpen F, et al. (2011) Influence from genetic variability on opioid use for cancer pain: a European genetic association study of 2294 cancer pain patients. *Pain* 152(5):1139-45
- Klinger G, Merlob P (2008) Selective serotonin reuptake inhibitor induced neonatal abstinence syndrome. *The Israel journal of psychiatry and related sciences* 45(2):107-13
- Knoppert DC, Nimkar R, Principi T, Yuen D (2006) Paroxetine toxicity in a newborn after in utero exposure: clinical symptoms correlate with serum levels. *Therapeutic drug monitoring* 28(1):5-7
- Kolesnikov Y, Gabovits B, Levin A, Voiko E, Veske A (2011) Combined catechol-O-methyltransferase and mu-opioid receptor gene polymorphisms affect morphine postoperative analgesia and central side effects. *Anesth Analg* 112(2):448-53 doi:10.1213/ANE.0b013e318202cc8d
- Koukouritaki SB, Manro JR, Marsh SA, et al. (2004) Developmental expression of human hepatic CYP2C9 and CYP2C19. *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics* 308(3):965-74
- Kreile M, Rots D, Piekuse L, et al. (2014) Lack of association between polymorphisms in genes MTHFR and MDR1 with risk of childhood acute lymphoblastic leukemia. *Asian Pac J Cancer Prev* 15(22):9707-11
- Krupoves A, Mack D, Seidman E, Deslandres C, Amre D (2011) Associations between variants in the ABCB1 (MDR1) gene and corticosteroid dependence in children with Crohn's disease. *Inflammatory bowel diseases* 17(11):2308-17
- Kudchadkar SR, Yaster M, Punjabi NM (2014) Sedation, sleep promotion, and delirium screening practices in the care of mechanically ventilated children: a wake-up call for the pediatric critical care community\*. *Crit Care Med* 42(7):1592-600 doi:10.1097/CCM.0000000000000326
- Lacroix D, Sonnier M, Moncion A, Cheron G, Cresteil T (1997) Expression of CYP3A in the human liver--evidence that the shift between CYP3A7 and CYP3A4 occurs immediately after birth. *European journal of biochemistry / FEBS* 247(2):625-34
- Lacher M, Kappler R, Schroepf S, et al. (2009) Nuclear pregnane X receptor single nucleotide polymorphism (-25385C/T) is not associated with inflammatory bowel disease in pediatric patients. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 49(1):147-50
- Lachman HM, Papolos DF, Saito T, Yu YM, Szumlanski CL, Weinshilboum RM (1996) Human catechol-O-methyltransferase pharmacogenetics: description of a functional polymorphism and its potential application to neuropsychiatric disorders. *Pharmacogenetics* 6(3):243-50
- Lai Y, Zhang J, Wang YX, et al. (2011) CYP3A5\*3 and MDR-1 C3435T single nucleotide polymorphisms in six Chinese ethnic groups. *Die Pharmazie* 66(2):136-40
- Lam J, Woodall KL, Solbeck P, et al. (2014) Codeine-related deaths: The role of pharmacogenetics and drug interactions. *Forensic Sci Int* 239:50-6 doi:10.1016/j.forsciint.2014.03.018
- Lamba J, Lamba V, Strom S, Venkataramanan R, Schuetz E (2008) Novel single nucleotide polymorphisms in the promoter and intron 1 of human pregnane X receptor/NR1I2 and their association with CYP3A4 expression. *Drug metabolism and disposition: the biological fate of chemicals* 36(1):169-81
- Landau R, Kern C, Columb MO, Smiley RM, Blouin JL (2008) Genetic variability of the mu-opioid receptor influences intrathecal fentanyl analgesia requirements in laboring women. *Pain* 139(1):5-14 doi:S0304-3959(08)00108-5 [pii]

10.1016/j.pain.2008.02.023

- Lane R, Baldwin D (1997) Selective serotonin reuptake inhibitor-induced serotonin syndrome: review. *Journal of clinical psychopharmacology* 17(3):208-21
- Lassen D, Damkier P, Brosen K (2015) The Pharmacogenetics of Tramadol. *Clin Pharmacokinet* 54(8):825-36 doi:10.1007/s40262-015-0268-0
- Lavasani H, Sheikholeslami B, Ardakani YH, Abdollahi M, Hakemi L, Rouini MR (2013) Study of the pharmacokinetic changes of Tramadol in diabetic rats. *Daru* 21(1):17 doi:10.1186/2008-2231-21-17
- Lazarowski A, Czornyj L (2011) Potential role of multidrug resistant proteins in refractory epilepsy and antiepileptic drugs interactions. *Drug Metabol Drug Interact* 26(1):21-6 doi:10.1515/DMDI.2011.006
- Lee CR, Goldstein JA, Pieper JA (2002) Cytochrome P450 2C9 polymorphisms: a comprehensive review of the in-vitro and human data. *Pharmacogenetics* 12(3):251-63
- Lee MG, Kim HJ, Lee KH, Choi YS (2016) The Influence of Genotype Polymorphism on Morphine Analgesic Effect for Postoperative Pain in Children. *Korean J Pain* 29(1):34-9 doi:10.3344/kjp.2016.29.1.34
- Lee SH, Cho SY, Lee HG, Choi JI, Yoon MH, Kim WM (2013) Tramadol induced paradoxical hyperalgesia. *Pain Physician* 16(1):41-4
- Leff RD, Fischer LJ, Roberts RJ (1986) Phenytoin metabolism in infants following intravenous and oral administration. *Developmental pharmacology and therapeutics* 9(4):217-23
- Lepper ER, Baker SD, Permenter M, et al. (2005) Effect of common CYP3A4 and CYP3A5 variants on the pharmacokinetics of the cytochrome P450 3A phenotyping probe midazolam in cancer patients. *Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research* 11(20):7398-404 doi:10.1158/1078-0432.CCR-05-0520
- Leppert W (2011) CYP2D6 in the metabolism of opioids for mild to moderate pain. *Pharmacology* 87(5-6):274-85 doi:10.1159/000326085
- Lheureux PE, Penalzoza A, Zahir S, Gris M (2005) Science review: carnitine in the treatment of valproic acid-induced toxicity - what is the evidence? *Crit Care* 9(5):431-40 doi:cc3742 [pii] 10.1186/cc3742
- Li B, Wang H, Gao C (2015) Bupivacaine in combination with fentanyl or sufentanil in epidural/intrathecal analgesia for labor: a meta-analysis. *J Clin Pharmacol* 55(5):584-91 doi:10.1002/jcph.453
- Li Q, Wang R, Guo Y, Wen S, Xu L, Wang S (2010) Relationship of CYP2D6 genetic polymorphisms and the pharmacokinetics of tramadol in Chinese volunteers. *Journal of clinical pharmacy and therapeutics* 35(2):239-47 doi:10.1111/j.1365-2710.2009.01102.x
- Li X, Zhang Y, Zhou M, Xia Q, Li W, Lu Q (2013) The effect of small dose sufentanil on emergence agitation in preschool children following sevoflurane anesthesia for elective repair of unilateral inguinal hernia. *Saudi medical journal* 34(1):40-5
- Li X, Zuo Y, Dai Y (2012) Children's seizures caused by continuous intravenous infusion of tramadol analgesia: two rare case reports. *Paediatr Anaesth* 22(3):308-9
- Lili X, Zhiyong H, Jianjun S (2012) Asleep-awake-asleep technique in children during strabismus surgery under sufentanil balanced anesthesia. *Paediatr Anaesth* 22(12):1216-20 doi:10.1111/j.1460-9592.2012.03901.x
- Liu H, Dong H, Robertson K, Liu C (2011) DNA methylation suppresses expression of the urea cycle enzyme carbamoyl phosphate synthetase 1 (CPS1) in human hepatocellular carcinoma. *Am J Pathol* 178(2):652-61 doi:10.1016/j.ajpath.2010.10.023
- Liu YC, Wang WS (2012) Human mu-opioid receptor gene A118G polymorphism predicts the efficacy of tramadol/acetaminophen combination tablets (ultracet) in oxaliplatin-induced painful neuropathy. *Cancer* 118(6):1718-25 doi:10.1002/cncr.26430
- Lofwall MR, Babalonis S, Nuzzo PA, Siegel A, Campbell C, Walsh SL (2013) Efficacy of extended-release tramadol for treatment of prescription opioid withdrawal: a two-phase randomized controlled trial. *Drug and alcohol dependence* 133(1):188-97 doi:10.1016/j.drugalcdep.2013.05.010

- Lopez-Garcia MA, Feria-Romero IA, Serrano H, et al. (2017) Influence of genetic variants of CYP2D6, CYP2C9, CYP2C19 and CYP3A4 on antiepileptic drug metabolism in pediatric patients with refractory epilepsy. *Pharmacol Rep* 69(3):504-511 doi:10.1016/j.pharep.2017.01.007
- Loughnan PM, Greenwald A, Purton WW, Aranda JV, Watters G, Neims AH (1977) Pharmacokinetic observations of phenytoin disposition in the newborn and young infant. *Archives of disease in childhood* 52(4):302-9
- Madadi P, Ross CJ, Hayden MR, et al. (2009) Pharmacogenetics of neonatal opioid toxicity following maternal use of codeine during breastfeeding: a case-control study. *Clinical pharmacology and therapeutics* 85(1):31-5
- Mamie C, Rebsamen MC, Morris MA, Morabia A (2013) First evidence of a polygenic susceptibility to pain in a pediatric cohort. *Anesth Analg* 116(1):170-7 doi:10.1213/ANE.0b013e31826f0637
- Matic M, de Wildt SN, Tibboel D, van Schaik RHN (2017a) Analgesia and Opioids: A Pharmacogenetics Shortlist for Implementation in Clinical Practice. *Clin Chem* 63(7):1204-1213 doi:10.1373/clinchem.2016.264986
- Matic M, Jongen JL, Elens L, et al. (2017b) Advanced cancer pain: the search for genetic factors correlated with interindividual variability in opioid requirement. *Pharmacogenomics* 18(12):1133-1142 doi:10.2217/pgs-2017-0060
- Matouskova O, Slanar O, Chytil L, Perlik F (2011) Pupillometry in healthy volunteers as a biomarker of tramadol efficacy. *Journal of clinical pharmacy and therapeutics* 36(4):513-7
- McLean SA, Diatchenko L, Lee YM, et al. (2011) Catechol O-methyltransferase haplotype predicts immediate musculoskeletal neck pain and psychological symptoms after motor vehicle collision. *J Pain* 12(1):101-7 doi:10.1016/j.jpain.2010.05.008
- Melaine N, Lienard MO, Dorval I, Le Goascogne C, Lejeune H, Jegou B (2002) Multidrug resistance genes and p-glycoprotein in the testis of the rat, mouse, Guinea pig, and human. *Biology of reproduction* 67(6):1699-707
- Mhanna MJ, Bennet JB, 2nd, Izatt SD (1997) Potential fluoxetine chloride (Prozac) toxicity in a newborn. *Pediatrics* 100(1):158-9
- Min DI, Ellingrod VL, Marsh S, McLeod H (2004) CYP3A5 polymorphism and the ethnic differences in cyclosporine pharmacokinetics in healthy subjects. *Therapeutic drug monitoring* 26(5):524-8
- Miura M, Satoh S, Inoue K, et al. (2008) Influence of CYP3A5, ABCB1 and NR1H2 polymorphisms on prednisolone pharmacokinetics in renal transplant recipients. *Steroids* 73(11):1052-9
- Modi H, Mazumdar B, Bhatt J (2013) Study of interaction of tramadol with amlodipine in mice. *Indian J Pharmacol* 45(1):76-9 doi:10.4103/0253-7613.106440
- Murray KL, Miller KM, Pearson DL (2007) Neonatal withdrawal syndrome following in utero exposure to paroxetine, clonazepam and olanzapine. *J Perinatol* 27(8):517-8
- Murry DJ, Oermann CM, Ou CN, Rognerud C, Seilheimer DK, Sockrider MM (1999) Pharmacokinetics of ibuprofen in patients with cystic fibrosis. *Pharmacotherapy* 19(3):340-5
- Nackley AG, Shabalina SA, Tchivileva IE, et al. (2006) Human catechol-O-methyltransferase haplotypes modulate protein expression by altering mRNA secondary structure. *Science* 314(5807):1930-3
- Nagy A, Budi T, Temesvari M, Szever Z, Szabo PT, Monostory K (2015) Adverse events in a newborn on valproate therapy due to loss-of-function mutations in CYP2C9. *Epilepsy & behavior case reports* 4:86-7 doi:10.1016/j.ebcr.2015.08.006
- Nebert DW, Wikvall K, Miller WL (2013) Human cytochromes P450 in health and disease. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 368(1612):20120431 doi:10.1098/rstb.2012.0431
- Neville KA, Becker ML, Goldman JL, Kearns GL (2011) Developmental pharmacogenomics. *Paediatric anaesthesia* 21(3):255-65
- Nielsen LM, Christrup LL, Sato H, Drewes AM, Olesen AE (2017) Genetic Influences of OPRM1, OPRD1 and COMT on Morphine Analgesia in a Multi-Modal, Multi-Tissue Human Experimental Pain Model. *Basic Clin Pharmacol Toxicol* 121(1):6-12 doi:10.1111/bcpt.12757
- Nielsen LM, Olesen AE, Branford R, Christrup LL, Sato H, Drewes AM (2015) Association Between Human Pain-Related Genotypes and Variability in Opioid Analgesia: An Updated Review. *Pain Pract* 15(6):580-94 doi:10.1111/papr.12232

- Noai M, Soraoka H, Kajiwara A, et al. (2016) Cytochrome P450 2C19 polymorphisms and valproic acid-induced weight gain. *Acta Neurol Scand* 133(3):216-23 doi:10.1111/ane.12473
- O'Mara K, Gal P, Davanzo C (2010) Treatment of neonatal withdrawal with clonidine after long-term, high-dose maternal use of tramadol. *The Annals of pharmacotherapy* 44(7-8):1342-4
- Obermann-Borst SA, Isaacs A, Younes Z, et al. (2011) General maternal medication use, folic acid, the MDR1 C3435T polymorphism, and the risk of a child with a congenital heart defect. *American journal of obstetrics and gynecology* 204(3):236 e1-8
- Oertel BG, Kettner M, Scholich K, et al. (2009) A common human micro-opioid receptor genetic variant diminishes the receptor signaling efficacy in brain regions processing the sensory information of pain. *J Biol Chem* 284(10):6530-5
- Ogusu N, Saruwatari J, Nakashima H, et al. (2014) Impact of the superoxide dismutase 2 Val16Ala polymorphism on the relationship between valproic acid exposure and elevation of gamma-glutamyltransferase in patients with epilepsy: a population pharmacokinetic-pharmacodynamic analysis. *PLoS one* 9(11):e111066 doi:10.1371/journal.pone.0111066
- Oleson L, von Moltke LL, Greenblatt DJ, Court MH (2010) Identification of polymorphisms in the 3'-untranslated region of the human pregnane X receptor (PXR) gene associated with variability in cytochrome P450 3A (CYP3A) metabolism. *Xenobiotica; the fate of foreign compounds in biological systems* 40(2):146-62 doi:10.3109/00498250903420243
- Omair A, Lie BA, Reikeras O, Holden M, Brox JI (2012) Genetic contribution of catechol-O-methyltransferase variants in treatment outcome of low back pain: a prospective genetic association study. *BMC musculoskeletal disorders* 13:76 doi:10.1186/1471-2474-13-76
- Oneda B, Crettol S, Jaquenoud Sirot E, Bochud M, Ansermot N, Eap CB (2009) The P450 oxidoreductase genotype is associated with CYP3A activity in vivo as measured by the midazolam phenotyping test. *Pharmacogenet Genomics* 19(11):877-83 doi:10.1097/FPC.0b013e32833225e7
- Orliaguet G, Hamza J, Couloigner V, et al. (2015) A case of respiratory depression in a child with ultrarapid CYP2D6 metabolism after tramadol. *Pediatrics* 135(3):e753-5 doi:10.1542/peds.2014-2673
- Ostrow JD, Pascolo L, Brites D, Tiribelli C (2004) Molecular basis of bilirubin-induced neurotoxicity. *Trends in molecular medicine* 10(2):65-70
- Ozawa S, Soyama A, Saeki M, et al. (2004) Ethnic differences in genetic polymorphisms of CYP2D6, CYP2C19, CYP3As and MDR1/ABCB1. *Drug metabolism and pharmacokinetics* 19(2):83-95
- Ozcengiz D, Gunduz M, Ozbek H, Isik G (2001) Comparison of caudal morphine and tramadol for postoperative pain control in children undergoing inguinal herniorrhaphy. *Paediatr Anaesth* 11(4):459-64
- Park YM, Park HK, Kim L, Lee HJ, Kang SG (2014) Acute-withdrawal restless legs syndrome following abrupt cessation of short-term tramadol. *Psychiatry Investig* 11(2):204-6 doi:10.4306/pi.2014.11.2.204
- Pascussi JM, Drocourt L, Gerbal-Chaloin S, Fabre JM, Maurel P, Vilarem MJ (2001) Dual effect of dexamethasone on CYP3A4 gene expression in human hepatocytes. Sequential role of glucocorticoid receptor and pregnane X receptor. *Eur J Biochem* 268(24):6346-58
- Patsalos PN, Berry DJ, Bourgeois BF, et al. (2008) Antiepileptic drugs--best practice guidelines for therapeutic drug monitoring: a position paper by the subcommission on therapeutic drug monitoring, ILAE Commission on Therapeutic Strategies. *Epilepsia* 49(7):1239-76 doi:10.1111/j.1528-1167.2008.01561.x
- Perucca E (2002) Pharmacological and therapeutic properties of valproate: a summary after 35 years of clinical experience. *CNS Drugs* 16(10):695-714
- Poh YN, Poh PF, Buang SN, Lee JH (2014) Sedation guidelines, protocols, and algorithms in PICUs: a systematic review. *Pediatr Crit Care Med* 15(9):885-92 doi:10.1097/PCC.0000000000000255
- Price KE, Pearce RE, Garg UC, et al. (2011) Effects of valproic acid on organic acid metabolism in children: a metabolic profiling study. *Clin Pharmacol Ther* 89(6):867-74 doi:10.1038/clpt.2011.47
- Prosser DP, Davis A, Booker PD, Murray A (1997) Caudal tramadol for postoperative analgesia in pediatric hypospadias surgery. *Br J Anaesth* 79(3):293-6

- Prytula AA, Cransberg K, Bouts AH, et al. (2016) The Effect of Weight and CYP3A5 Genotype on the Population Pharmacokinetics of Tacrolimus in Stable Paediatric Renal Transplant Recipients. *Clinical pharmacokinetics* 55(9):1129-43 doi:10.1007/s40262-016-0390-7
- Raimundo S, Toscano C, Klein K, et al. (2004) A novel intronic mutation, 2988G>A, with high predictivity for impaired function of cytochrome P450 2D6 in white subjects. *Clinical pharmacology and therapeutics* 76(2):128-38
- Rakvag TT, Klepstad P, Baar C, et al. (2005) The Val158Met polymorphism of the human catechol-O-methyltransferase (COMT) gene may influence morphine requirements in cancer pain patients. *Pain* 116(1-2):73-8 doi:10.1016/j.pain.2005.03.032
- Rakvag TT, Ross JR, Sato H, Skorpen F, Kaasa S, Klepstad P (2008) Genetic variation in the catechol-O-methyltransferase (COMT) gene and morphine requirements in cancer patients with pain. *Mol Pain* 4:64 doi:10.1186/1744-8069-4-64
- Redden DT, Shields PG, Epstein L, et al. (2005) Catechol-O-methyl-transferase functional polymorphism and nicotine dependence: an evaluation of nonreplicated results. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 14(6):1384-9 doi:10.1158/1055-9965.EPI-04-0649
- Rettie AE, Wienkers LC, Gonzalez FJ, Trager WF, Korzekwa KR (1994) Impaired (S)-warfarin metabolism catalysed by the R144C allelic variant of CYP2C9. *Pharmacogenetics* 4(1):39-42
- Reyes-Gibby CC, Shete S, Rakvag T, et al. (2007) Exploring joint effects of genes and the clinical efficacy of morphine for cancer pain: OPRM1 and COMT gene. *Pain* 130(1-2):25-30 doi:10.1016/j.pain.2006.10.023
- Ripamonti C, Fagnoni E, De Conno F (2004) Withdrawal syndrome after delayed tramadol intake. *Am J Psychiatry* 161(12):2326-7 doi:10.1176/appi.ajp.161.12.2326
- Roback MG, Wathen JE, Bajaj L, Bothner JP (2005) Adverse events associated with procedural sedation and analgesia in a pediatric emergency department: a comparison of common parenteral drugs. *Acad Emerg Med* 12(6):508-13
- Saitoh A, Singh KK, Powell CA, et al. (2005) An MDR1-3435 variant is associated with higher plasma nelfinavir levels and more rapid virologic response in HIV-1 infected children. *AIDS (London, England)* 19(4):371-80
- Sallee FR, DeVane CL, Ferrell RE (2000) Fluoxetine-related death in a child with cytochrome P-450 2D6 genetic deficiency. *Journal of child and adolescent psychopharmacology* 10(1):27-34
- Samer CF, Lorenzini KI, Rollason V, Daali Y, Desmeules JA (2013) Applications of CYP450 testing in the clinical setting. *Mol Diagn Ther* 17(3):165-84 doi:10.1007/s40291-013-0028-5
- Sarkar S, Varshney M, Patil V, Lal R (2017) Maintenance Treatment of Opioid Dependence with Tramadol. *J Neurosci Rural Pract* 8(Suppl 1):S98-S101 doi:10.4103/jnrp.jnrp\_422\_16
- Scott CS, Retsch-Bogart GZ, Kustra RP, Graham KM, Glasscock BJ, Smith PC (1999) The pharmacokinetics of ibuprofen suspension, chewable tablets, and tablets in children with cystic fibrosis. *The Journal of pediatrics* 134(1):58-63
- Senel AC, Akyol A, Dohman D, Solak M (2001) Caudal bupivacaine-tramadol combination for postoperative analgesia in pediatric herniorrhaphy. *Acta anaesthesiologica Scandinavica* 45(6):786-9
- Seng KY, Hee KH, Soon GH, et al. (2014) CYP3A5\*3 and bilirubin predict midazolam population pharmacokinetics in Asian cancer patients. *Journal of clinical pharmacology* 54(2):215-24 doi:10.1002/jcph.230
- Seven M, Batar B, Unal S, Yesil G, Yuksel A, Guven M (2014) The effect of genetic polymorphisms of cytochrome P450 CYP2C9, CYP2C19, and CYP2D6 on drug-resistant epilepsy in Turkish children. *Molecular diagnosis & therapy* 18(2):229-36 doi:10.1007/s40291-013-0078-8
- Sfoggia A, Fontela PS, Moraes A, et al. (2003) [Sedation and analgesia in children submitted to mechanical ventilation could be overestimated?]. *J Pediatr (Rio J)* 79(4):343-8
- Shaw K, Amstutz U, Hildebrand C, et al. (2014) VKORC1 and CYP2C9 genotypes are predictors of warfarin-related outcomes in children. *Pediatric blood & cancer* 61(6):1055-62 doi:10.1002/pbc.24932
- Shellhaas RA, Ng CM, Dillon CH, Barks JD, Bhatt-Mehta V (2013) Population pharmacokinetics of phenobarbital in infants with neonatal encephalopathy treated with therapeutic hypothermia. *Pediatr Crit Care Med* 14(2):194-202 doi:10.1097/PCC.0b013e318255bbbc2

- Sheng X, Zhang L, Tong N, et al. (2012) MDR1 C3435T polymorphism and cancer risk: a meta-analysis based on 39 case-control studies. *Molecular biology reports* 39(7):7237-49
- Shi NJ, Zhang WX, Zhang N, Zhong LN, Wang LP (2017) Correlation of MDR1 gene polymorphisms with anesthetic effect of sevoflurane-remifentanyl following pediatric tonsillectomy. *Medicine (Baltimore)* 96(24):e7002 doi:10.1097/MD.0000000000007002
- Shih PS, Huang JD (2002) Pharmacokinetics of midazolam and 1'-hydroxymidazolam in Chinese with different CYP3A5 genotypes. *Drug metabolism and disposition: the biological fate of chemicals* 30(12):1491-6
- Schmidt B, Adelmann C, Stutzer H, et al. (2010) Comparison of sufentanil versus fentanyl in ventilated term neonates. *Klinische Padiatrie* 222(2):62-6 doi:10.1055/s-0029-1225348
- Schug SA, Zech D, Grond S (1992) Adverse effects of systemic opioid analgesics. *Drug safety : an international journal of medical toxicology and drug experience* 7(3):200-13
- Silva MF, Aires CC, Luis PB, et al. (2008) Valproic acid metabolism and its effects on mitochondrial fatty acid oxidation: a review. *J Inherit Metab Dis* 31(2):205-16 doi:10.1007/s10545-008-0841-x
- Sima M, Netikova I, Slanar O (2013) Pregnane xenobiotic receptors and their effect on drug elimination from the organism. *Prague Med Rep* 114(4):205-13 doi:10.14712/23362936.2014.9
- Sima M, Slanar O (2014) [Pharmacological importance of orphan nuclear receptors]. *Cesk Fysiol* 63(1):19-24
- Sistonen J, Fuselli S, Palo JU, Chauhan N, Padh H, Sajantila A (2009) Pharmacogenetic variation at CYP2C9, CYP2C19, and CYP2D6 at global and microgeographic scales. *Pharmacogenetics and genomics* 19(2):170-9
- Sistonen J, Sajantila A, Lao O, Corander J, Barbujani G, Fuselli S (2007) CYP2D6 worldwide genetic variation shows high frequency of altered activity variants and no continental structure. *Pharmacogenetics and genomics* 17(2):93-101
- Slanar O, Dupal P, Matouskova O, Vondrackova H, Pafko P, Perlik F (2012) Tramadol efficacy in patients with postoperative pain in relation to CYP2D6 and MDR1 polymorphisms. *Bratislavske lekarske listy* 113(3):152-5
- Slanar O, Nobilis M, Kvetina J, Idle JR, Perlik F (2006) CYP2D6 polymorphism, tramadol pharmacokinetics and pupillary response. *Eur J Clin Pharmacol* 62(1):75-6; author reply 77-8 doi:10.1007/s00228-005-0039-1
- Smits A, Kulo A, de Hoon JN, Allegaert K (2012) Pharmacokinetics of drugs in neonates: pattern recognition beyond compound specific observations. *Current pharmaceutical design* 18(21):3119-46
- Somogyi AA, Collier JK, Barratt DT (2015) Pharmacogenetics of opioid response. *Clin Pharmacol Ther* 97(2):125-7 doi:10.1002/cpt.23
- Spencer MJ (1993) Fluoxetine hydrochloride (Prozac) toxicity in a neonate. *Pediatrics* 92(5):721-2
- Stamer UM, Lehnen K, Hothker F, et al. (2003) Impact of CYP2D6 genotype on postoperative tramadol analgesia. *Pain* 105(1-2):231-8 doi:S0304395903002124 [pii]
- Stamer UM, Musshoff F, Stuber F, Brockmoller J, Steffens M, Tzvetkov MV (2016) Loss-of-function polymorphisms in the organic cation transporter OCT1 are associated with reduced postoperative tramadol consumption. *Pain* 157(11):2467-2475 doi:10.1097/j.pain.0000000000000662
- Stamer UM, Stuber F, Muders T, Musshoff F (2008) Respiratory depression with tramadol in a patient with renal impairment and CYP2D6 gene duplication. *Anesth Analg* 107(3):926-9 doi:10.1213/ane.0b013e31817b796e
- Stasiolek M, Romanowicz H, Polatynska K, et al. (2016) Association between C3435T polymorphism of MDR1 gene and the incidence of drug-resistant epilepsy in the population of Polish children. *Behav Brain Funct* 12(1):21 doi:10.1186/s12993-016-0106-z
- Subrahmanyam V, Renwick AB, Walters DG, et al. (2001) Identification of cytochrome P-450 isoforms responsible for cis-tramadol metabolism in human liver microsomes. *Drug Metab Dispos* 29(8):1146-55
- Sun G, Sun X, Guan L (2014) Association of MDR1 gene C3435T polymorphism with childhood intractable epilepsy: a meta-analysis. *J Neural Transm (Vienna)* 121(7):717-24 doi:10.1007/s00702-014-1169-3



- Suvichapanich S, Jittikoon J, Wichukchinda N, et al. (2015) Association analysis of CYP2C9\*3 and phenytoin-induced severe cutaneous adverse reactions (SCARs) in Thai epilepsy children. *J Hum Genet* 60(8):413-7 doi:10.1038/jhg.2015.47
- Sztajnkrzyca MD (2002) Valproic acid toxicity: overview and management. *J Toxicol Clin Toxicol* 40(6):789-801
- Tabatabaei AR, Thies RL, Abbott FS (1999) Assessing the mechanism of metabolism-dependent valproic acid-induced in vitro cytotoxicity. *Chem Res Toxicol* 12(4):323-30 doi:10.1021/tx9801864
- Takashima T, Yokoyama C, Mizuma H, et al. (2011) Developmental changes in P-glycoprotein function in the blood-brain barrier of nonhuman primates: PET study with R-11C-verapamil and 11C-oseltamivir. *Journal of nuclear medicine : official publication, Society of Nuclear Medicine* 52(6):950-7 doi:10.2967/jnumed.110.083949
- Tateishi T, Krivoruk Y, Ueng YF, Wood AJ, Guengerich FP, Wood M (1996) Identification of human liver cytochrome P-450 3A4 as the enzyme responsible for fentanyl and sufentanil N-dealkylation. *Anesth Analg* 82(1):167-72
- Thomas AN, Suresh M (2000) Opiate withdrawal after tramadol and patient-controlled analgesia. *Anaesthesia* 55(8):826-7
- Tolle-Sander S, Rautio J, Wring S, Polli JW, Polli JE (2003) Midazolam exhibits characteristics of a highly permeable P-glycoprotein substrate. *Pharm Res* 20(5):757-64
- Tomalik-Scharte D, Doroshyenko O, Kirchheiner J, et al. (2008) No role for the CYP3A5\*3 polymorphism in intestinal and hepatic metabolism of midazolam. *European journal of clinical pharmacology* 64(10):1033-5
- Touw DJ, Graafland O, Cranendonk A, Vermeulen RJ, van Weissenbruch MM (2000) Clinical pharmacokinetics of phenobarbital in neonates. *Eur J Pharm Sci* 12(2):111-6
- Tracy TS, Hutzler JM, Haining RL, Rettie AE, Hummel MA, Dickmann LJ (2002) Polymorphic variants (CYP2C9\*3 and CYP2C9\*5) and the F114L active site mutation of CYP2C9: effect on atypical kinetic metabolism profiles. *Drug metabolism and disposition: the biological fate of chemicals* 30(4):385-90
- Tseng YL, Huang CR, Lin CH, et al. (2014) Risk factors of hyperammonemia in patients with epilepsy under valproic acid therapy. *Medicine (Baltimore)* 93(11):e66 doi:10.1097/MD.0000000000000066
- Tulloch JK, Carr RR, Ensom MH (2012) A systematic review of the pharmacokinetics of antiepileptic drugs in neonates with refractory seizures. *The journal of pediatric pharmacology and therapeutics : JPPT : the official journal of PPAG* 17(1):31-44 doi:10.5863/1551-6776-17.1.31
- Tzvetkov MV, Saadatmand AR, Bokelmann K, Meineke I, Kaiser R, Brockmoller J (2012) Effects of OCT1 polymorphisms on the cellular uptake, plasma concentrations and efficacy of the 5-HT(3) antagonists tropisetron and ondansetron. *The pharmacogenomics journal* 12(1):22-9
- Tzvetkov MV, Saadatmand AR, Lotsch J, Tegeder I, Stingl JC, Brockmoller J (2011) Genetically polymorphic OCT1: another piece in the puzzle of the variable pharmacokinetics and pharmacodynamics of the opioidergic drug tramadol. *Clin Pharmacol Ther* 90(1):143-50
- Uberall MA, Trollmann R, Wunsiedler U, Wenzel D (2000) Intravenous valproate in pediatric epilepsy patients with refractory status epilepticus. *Neurology* 54(11):2188-9
- van Dijk M, de Boer JB, Koot HM, Tibboel D, Passchier J, Duivenvoorden HJ (2000) The reliability and validity of the COMFORT scale as a postoperative pain instrument in 0 to 3-year-old infants. *Pain* 84(2-3):367-77 doi:S0304395999002390 [pii]
- van Dijk M, Knoester H, van Beusekom BS, Ista E (2012) Screening pediatric delirium with an adapted version of the Sophia Observation withdrawal Symptoms scale (SOS). *Intensive Care Med* 38(3):531-2 doi:10.1007/s00134-011-2434-7
- van Dijk M, Roofthoof DW, Anand KJ, et al. (2009) Taking up the challenge of measuring prolonged pain in (premature) neonates: the COMFORTneo scale seems promising. *The Clinical journal of pain* 25(7):607-16 doi:10.1097/AJP.0b013e3181a5b52a
- van Schaik RH, van der Heiden IP, van den Anker JN, Lindemans J (2002) CYP3A5 variant allele frequencies in Dutch Caucasians. *Clin Chem* 48(10):1668-71
- Vanwong N, Ngamsamut N, Medhasi S, et al. (2017) Impact of CYP2D6 Polymorphism on Steady-State Plasma Levels of Risperidone and 9-Hydroxyrisperidone in Thai Children and

- Adolescents with Autism Spectrum Disorder. *J Child Adolesc Psychopharmacol* 27(2):185-191 doi:10.1089/cap.2014.0171
- Vazzana M, Andreani T, Fangueiro J, et al. (2015) Tramadol hydrochloride: pharmacokinetics, pharmacodynamics, adverse side effects, co-administration of drugs and new drug delivery systems. *Biomed Pharmacother* 70:234-8 doi:10.1016/j.biopha.2015.01.022
- Verbiest HB, Straver JS, Colombo JP, van der Vijver JC, van Woerkom TC (1992) Carbamyl phosphate synthetase-1 deficiency discovered after valproic acid-induced coma. *Acta Neurol Scand* 86(3):275-9
- Wachman EM, Hayes MJ, Brown MS, et al. (2013) Association of OPRM1 and COMT single-nucleotide polymorphisms with hospital length of stay and treatment of neonatal abstinence syndrome. *JAMA : the journal of the American Medical Association* 309(17):1821-7 doi:10.1001/jama.2013.3411
- Wachman EM, Hayes MJ, Sherva R, et al. (2017) Association of maternal and infant variants in PNOX and COMT genes with neonatal abstinence syndrome severity. *Am J Addict* 26(1):42-49 doi:10.1111/ajad.12483
- Walter C, Lotsch J (2009) Meta-analysis of the relevance of the OPRM1 118A>G genetic variant for pain treatment. *Pain* 146(3):270-5
- Wandel C, Kim R, Wood M, Wood A (2002) Interaction of morphine, fentanyl, sufentanil, alfentanil, and loperamide with the efflux drug transporter P-glycoprotein. *Anesthesiology* 96(4):913-20
- Wang H, Faucette SR, Gilbert D, et al. (2003) Glucocorticoid receptor enhancement of pregnane X receptor-mediated CYP2B6 regulation in primary human hepatocytes. *Drug Metab Dispos* 31(5):620-30
- Wang J, Wang B, Bi J, Li K, Di J (2012) MDR1 gene C3435T polymorphism and cancer risk: a meta-analysis of 34 case-control studies. *Journal of cancer research and clinical oncology* 138(6):979-89
- Wang XD, Li JL, Su QB, et al. (2007) A pharmacogenetic study of pregnane X receptor (NR1I2) in Han Chinese. *Current drug metabolism* 8(8):778-86
- Wang XS, Song HB, Chen S, et al. (2015) Association of single nucleotide polymorphisms of ABCB1, OPRM1 and COMT with pain perception in cancer patients. *J Huazhong Univ Sci Technolog Med Sci* 35(5):752-8 doi:10.1007/s11596-015-1502-6
- Wasilewska A, Zalewski G, Chyczewski L, Zoch-Zwierz W (2007) MDR-1 gene polymorphisms and clinical course of steroid-responsive nephrotic syndrome in children. *Pediatric nephrology (Berlin, Germany)* 22(1):44-51
- Wasilewska AM, Zoch-Zwierz WM, Pietruczuk M (2006) Expression of P-glycoprotein in lymphocytes of children with nephrotic syndrome treated with glucocorticoids. *European journal of pediatrics* 165(12):839-44
- Windsor RE, Strauss SJ, Kallis C, Wood NE, Whelan JS (2012) Germline genetic polymorphisms may influence chemotherapy response and disease outcome in osteosarcoma: a pilot study. *Cancer* 118(7):1856-67
- Wong M, Balleine RL, Collins M, Liddle C, Clarke CL, Gurney H (2004) CYP3A5 genotype and midazolam clearance in Australian patients receiving chemotherapy. *Clinical pharmacology and therapeutics* 75(6):529-38 doi:10.1016/j.clpt.2004.02.005
- Yagi M, Nakamura T, Okizuka Y, et al. (2010) Effect of CPS14217C>A genotype on valproic-acid-induced hyperammonemia. *Pediatr Int* 52(5):744-8 doi:10.1111/j.1442-200X.2010.03157.x
- Yang HY, Lee QP, Rettie AE, Juchau MR (1994) Functional cytochrome P4503A isoforms in human embryonic tissues: expression during organogenesis. *Molecular pharmacology* 46(5):922-8
- Yang YL, Lin DT, Chang SK, et al. (2010) Pharmacogenomic variations in treatment protocols for childhood acute lymphoblastic leukemia. *Pediatric blood & cancer* 54(2):206-11
- Yao P, Ding YY, Wang ZB, Ma JM, Hong T, Pan SN (2015) Effect of gene polymorphism of COMT and OPRM1 on the preoperative pain sensitivity in patients with cancer. *Int J Clin Exp Med* 8(6):10036-9
- Yu KT, Mills S, Thompson N, Cunanan C (2003) Safety and efficacy of intravenous valproate in pediatric status epilepticus and acute repetitive seizures. *Epilepsia* 44(5):724-6

- Yuan R, Zhang X, Deng Q, Wu Y, Xiang G (2011) Impact of CYP3A4\*1G polymorphism on metabolism of fentanyl in Chinese patients undergoing lower abdominal surgery. *Clin Chim Acta* 412(9-10):755-60
- Yukawa M, Yukawa E, Suematsu F, et al. (2011) Population pharmacokinetics of phenobarbital by mixed effect modelling using routine clinical pharmacokinetic data in Japanese neonates and infants: an update. *Journal of clinical pharmacy and therapeutics* 36(6):704-10 doi:10.1111/j.1365-2710.2010.01220.x
- Zahari Z, Ismail R (2014) Influence of Cytochrome P450, Family 2, Subfamily D, Polypeptide 6 (CYP2D6) polymorphisms on pain sensitivity and clinical response to weak opioid analgesics. *Drug Metab Pharmacokinet* 29(1):29-43
- Zhang J, Tian L, Huang J, Huang S, Chai T, Shen J (2017) Cytochrome P450 2C9 gene polymorphism and warfarin maintenance dosage in pediatric patients: A systematic review and meta-analysis. *Cardiovasc Ther* 35(1):26-32 doi:10.1111/1755-5922.12230
- Zhou SF (2009a) Polymorphism of human cytochrome P450 2D6 and its clinical significance: Part I. *Clinical pharmacokinetics* 48(11):689-723 doi:10.2165/11318030-000000000-00000
- Zhou SF (2009b) Polymorphism of human cytochrome P450 2D6 and its clinical significance: part II. *Clinical pharmacokinetics* 48(12):761-804 doi:10.2165/11318070-000000000-00000
- Ziaaddini H, Ziaaddini A, Asghari N, Nakhaee N, Eslami M (2015) Trial of tramadol plus gabapentin for opioid detoxification. *Iran Red Crescent Med J* 17(1):e18202 doi:10.5812/ircmj.18202
- Zubieta JK, Heitzeg MM, Smith YR, et al. (2003) COMT val158met genotype affects mu-opioid neurotransmitter responses to a pain stressor. *Science* 299(5610):1240-3 doi:10.1126/science.1078546

## Seznam příloh

1. Hronova, K., Pokorna, P., Posch, L., Slanar, O. (2016). Sufentanil and midazolam dosing and pharmacogenetic factors in pediatric analgosedation and withdrawal syndrome. *Physiol Res*; 65 (Supplementum 4): S463-S72. **IF (2016) 1.461**
2. Sima, M., P. Pokorna, K. Hronova and O. Slanar (2015). Effect of co-medication on the pharmacokinetic parameters of phenobarbital in asphyxiated newborns. *Physiol Res* 64 Suppl 4: S513-519. **IF (2015) 1.643**
3. Pokorna P., Hronova K., Sima M., Slanar O., Klement P., van den Anker J.N., et al. (2017) Valproic acid-induced hyperammonemic encephalopathy in a full-term neonate: a brief review and case report. *Eur J Clin Pharmacol*.73(5):647-9. **IF (2016) 2.902**
4. Hronova, K., Pokorná, P., Šíma, M., Slanař O. (2018) Tramadol dosing in paediatric intensive care and its pharmacogenetics covariates. *Hong Kong J. Paediatr.*, under peer review **IF (2016) 0.172**