

UNIVERZITA KARLOVA
1. LÉKAŘSKÁ FAKULTA

Studijní program: doktorský - Farmakologie a toxikologie (P5208)

Studijní obor: Farmakologie a toxikologie (5206V000)



UNIVERZITA KARLOVA
1. lékařská fakulta

Ing. Svatopluk Světlík

Variabilita farmakokinetiky a možnosti jejího sledování

Variability of pharmacokinetics and possibilities for its monitoring

DIZERTAČNÍ PRÁCE

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

Praha, 2020

Prohlášení:

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracoval samostatně a že jsem řádně uvedl a citoval 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, 18. 4. 2020

Svatopluk Světlík

Podpis:

Identifikační záznam:

SVĚTLÍK, Svatopluk. *Variabilita farmakokinetiky a možnosti jejího sledování. [Variability of pharmacokinetics and possibilities for its monitoring]*. Praha, 2020. 99 stran, 3 přílohy. Dizertační práce. Univerzita Karlova v Praze, 1. lékařská fakulta, Farmakologický ústav. Školitel Slanař, Ondřej.

Abstrakt

Úvod a cíle: Variabilita farmakokinetika je jedním ze zásadních parametrů určujících úspěch a stabilitu farmakoterapie. Hlavním cílem této práce bylo studovat variabilitu farmakokinetiky na klinické i preklinické úrovni s cílem predikovat variabilitu farmakokinetiky v cílové populaci. Specificky byla vybrána tři léčiva, tj. sufentanil, s poměrně úzkým terapeutickým indexem, a dále nabumeton a abirateron, obě léčiva se známou vysokou variabilitou.

Metodika: Studium variability farmakokinetiky sufentanilu bylo založeno na klinických vzorcích plazmy odebraných od pacientů během operace srdce, kde sufentanil byl podáván v rámci perioperační péče. Pro stanovení koncentrací sufentanilu bylo třeba zavést analytickou metodu. U pacientů byl rovněž stanoven genotyp MDR1 a OPRM1 a vyhodnoceny případné rozdíly farmakokinetiky v rámci těchto genotypů. Obdobně pro nabumeton byla provedena klinická studie, kdy byl zdravým subjektům podán nabumeton při dvou separátních příležitostech, odebrány vzorky plazmy a stanoveny koncentrace nabumetonu a jeho aktivního metabolitu 6-methoxynaftyloctové kyseliny (6-MNA). Vypočtené farmakokinetické profily pak byly srovnány v rámci genotypů pro MDR1 a CYP2D6 a v rámci pohlaví. Konečně v případě abirateronu bylo třeba zavést neklinický model pro studium jeho nových lékových forem a predikci absorpce u člověka.

Výsledky a závěr: U 25 pacientů byly stanoveny koncentrace sufentanilu pomocí nové validované metody kapalinové chromatografie s MS/MS detekcí. Statistickou analýzou nebyly odhaleny rozdíly ve farmakokinetice sufentanilu v důsledku genotypů MDR1 či OPRM1. V klinické studii s nabumetonem bylo u 12 žen a 12 mužů odhaleny rozdíly v clearance a AUC 6-MNA mezi pohlavími, nikoliv však u parentní látky, nabumetonu. Rovněž zde však nebyly odhaleny rozdíly mezi genotypy, ať pro MDR1 či CYP2D6, u obou látek. Nakonec v preklinické studii byl použit plán založený na nekompletním bloku pro srovnání expozice po podání 4 různých lékových forem abirateron acetátu potkanům, jednak originální s problematickou absorpcí, jednak pozitivní kontroly, u níž už bylo popsáno zvýšení expozice, a pak dvou lékových forem nových. Voperovaným katetrem byly odebírány vzorky krve a v získané plazmě byly stanoveny koncentrace abirateronu. U nových lékových forem byl popsán až 250% nárůst expozice. Tento model lze využít pro rychlé a poměrně levné zhodnocení biodostupnosti více nových lékových forem.

Klíčová slova: Personalizovaná medicína, variabilita farmakokinetiky, nabumeton, abirateron, sufentanil, farmakogenetika, klinická studie, neklinická studie, kapalinová chromatografie

Abstract

Background and aims: Pharmacokinetic variability is of paramount importance for successful pharmacotherapy. The main purpose of this work was to study variability of pharmacokinetics in clinical and non-clinical setting with the aim to predict variability in target population. Specifically, three drugs were chosen, sufentanil, with relatively narrow therapeutic index, and nabumetone and abiraterone, both with known high variability.

Methods: The study of pharmacokinetic variability of sufentanil was based on clinical samples taken from patients undergoing surgical cardiac procedure, where the sufentanil was used as a part of the drug cocktail used during the procedure. New analytical method was necessary to prepare and validate to measure sufentanil concentrations and obtain pharmacokinetic parameters. These were compared between determined genotype groups of MDR1 and OPRM1. Similarly, clinical study was executed with nabumetone, in which nabumetone was administered in a group of 24 subjects on two separate occasions. Plasma samples were obtained and concentrations of nabumetone and its active metabolite, 6-methoxynaphthylacetic acid (6-MNA), were determined. Obtained pharmacokinetic profiles were compared between female and male volunteers, and genotypes for MDR1 and CYP2D6. Finally for abiraterone, new non-clinical model was needed to evaluate novel drug formulations and to predict its absorption in man.

Results and conclusion: Novel analytical method, liquid chromatography with MS/MS detection, for sufentanil measurements in human plasma was validated and used to measure sufentanil concentrations in plasma samples of 25 patients. No differences were seen between genotypes for MDR1 or OPRM1. In clinical study with nabumetone, some differences were seen between female and male volunteers, specifically in clearance and AUC of 6-MNA, on the other hand no differences were seen for any nabumetone parameters, nor between genotypes for MDR1 and CYP2D6 in neither of the substances. Incomplete block design was used in the non-clinical study with abiraterone to compare 4 drug formulations in rats, the original formulation with problematic and variable absorption, positive control, also a positive control for which enhanced exposure to abiraterone was already described, and two new drug formulations. Blood samples were collected via catheter, that was inserted during a surgical procedure, and concentrations of abiraterone was measured in obtained plasma. Calculated pharmacokinetic profiles shown 250% increase in abiraterone exposure with novel drug formulations. This model can be used for fast and relatively cheap evaluation of new drug formulations.

Key words: Personalized medicine, pharmacokinetic variability, nabumetone, abiraterone, sufentanil, pharmacogenetics, clinical study, non-clinical study, liquid chromatography

Obsah

Abstrakt.....	4
Abstract.....	6
Obsah	8
Seznam zkratek	10
Seznam vlastních publikací	13
Poděkování.....	15
1. Úvod.....	16
1.1. Zdroje a důsledky variability farmakokinetiky	16
1.1.1. Parametry pacienta.....	16
1.1.1.1. Věk.....	16
1.1.1.2. Pohlaví	21
1.1.1.3. Těhotenství	22
1.1.1.4. Clearance kreatininu	24
1.1.1.5. Selhání jater	29
1.1.1.6. Hmotnost a distribuce tuku.....	34
1.1.1.7. Etnikum.....	35
1.1.1.8. Genetické vlivy	36
1.1.2. Externí faktory	45
1.1.2.1. Ko-medikace.....	45
1.1.2.2. Kouření	48
1.1.2.3. Alkohol (Ethanol)	49
1.1.2.4. Dieta.....	50
1.2. Variabilní léčiva	52
1.2.1. Abirateron	52
1.2.2. Nabumeton.....	52
1.2.3. Sufentanil.....	53
2. Cíle.....	54
3. Metody	55
3.1. Validace metody pro stanovení sufentanilu v lidské plazmě	55
3.1.1. Materiály	55
3.1.2. Příprava vzorku.....	55
3.1.3. Kapalná chromatografie – hmotnostní spektrometrie.....	55
3.1.3.1. Systém.....	55
3.1.3.2. Podmínky kapalně chromatografie	55
3.1.3.3. MS/MS podmínky	56
3.1.4. Validace	56
3.1.4.1. Pracovní roztoky standardů	57
3.1.4.2. Kalibrační roztoky a roztoky kontroly kvality.....	57
3.1.4.3. Selektivita	57
3.1.4.4. Linearita	57
3.1.4.5. Přesnost a preciznost.....	57
3.1.4.6. Efekt matrice.....	57
3.1.4.7. Limity	58
3.1.4.8. Carry-over.....	58
3.1.5. Aplikace metody	58
3.1.6. Genotypizace	58
3.2. Ne-klinická studie	59
3.2.1. Materiály	59

3.2.2.	Zvířata	59
3.2.3.	Plán studie.....	60
3.2.4.	Příprava suspenzí pro aplikaci	60
3.2.4.1.	ODP	60
3.2.4.2.	Pozitivní kontrola.....	61
3.2.4.3.	T1	61
3.2.4.4.	T2	61
3.2.5.	Odběry vzorků krve	62
3.2.6.	Analýza	62
3.2.7.	Farmakokinetická a statistická analýza	63
3.3.	Klinická studie	63
3.3.1.	Materiály	63
3.3.2.	Plán studie.....	63
3.3.3.	Dobrovolníci	64
3.3.4.	Administrace přípravku	64
3.3.5.	Odběry vzorků	64
3.3.6.	Analýza	64
3.3.7.	Genotypizace	65
3.3.8.	Farmakokinetická analýza	66
3.3.9.	Statistická analýza	66
4.	Výsledky	67
4.1.	Metoda na analýzu sufentanilu v lidské plazmě	67
4.1.1.	Aplikace metody	68
4.2.	Neklinická studie.....	69
4.3.	Klinická studie	70
5.	Diskuse.....	75
5.1.	Validace metody pro sufentanil	75
5.2.	Neklinická studie.....	76
5.3.	Klinická studie	80
6.	Závěr	82
7.	Použitá literatura	84
8.	Seznam příloh	99

Seznam zkratek

- 6-MNA – 6-methoxy-naftyloctová kyselina
ABCB – ATP-binding cassette subfamily B
ABCC – ATP-binding cassette subfamily C
ABCG – ATP-binding cassette subfamily G
ACE – angiotenzin konvertující enzym
AK – aminokyselina
aPTT – activated partial thromboplastin time, aktivovaný částečný tromboplastinový čas
ATP – adenosin trifosfát
AUC – plocha pod křivkou
BCHE – butyrylcholinesteráza
BCRP – breast cancer resistance protein
BCS – biopharmaceutics classification system
BES – bioekvivalenční studie
BMI – body mass index
CKD – chronic kidney disease, chronické onemocnění ledvin
Cl – clearance
CL_{Cr} – clearance kreatininu
CL/F - orální clearance
Cl_{int} – jaterní “vnitřní” clearance
CL_{NR} – non-renální clearance
CL_T – totální clearance
C_{max} – maximální koncentrace
C_{min} – koncentrace na konci dávkovacího intervalu
C_{ss} - koncentrace v ustáleném stavu po intravenózní infuzi
CV – koeficient variability, resp. interindividuální variabilita
CYP – cytochrom P450
DAD – diode array detector
DNA – deoxyribonukleová kyselina
dNTP – 2'-deoxynukleosid 5'-trifosfáty
DPD – dihydropyrimidindehydrogenáza
DV – deionizovaná voda
EDTA – ethylendiamintetraoctová kyselina

EM – extenzivní metabolizátor
EMA – european medicines agency
ESRD – poslední fáze renálního selhání
FaSSIF – fasted state simulated interstitial fluid, simulovaná střevní tekutina na lačno
FD – farmakodynamika
FDA – food and drug administration
 f_e – procento léčiva vyloučené v nezměněné podobě v moči
FK – farmakokinetika
FM – faktor matrice
GFR – glomerular filtration rate, míra glomerulární filtrace
GIT – gastrointestinální trakt
HPMC – hydroxypropylmethylcelulóza
HQC – vysoký QC vzorek
IM – intermediární metabolizátor
INR – international normalized ratio
IS – interní standard
ISCV – intrasubject variability, intra-individuální variabilita
LC – liquid chromatography
LLOQ – lower limit of quantification, dolní limit kvantifikace
LQC – nízký QC vzorek
MDR – multidrug resistance protein
MQC – střední QC vzorek
MRM – multiple reaction monitoring
MRP – multidrug resistance protein
MS – mass spectrometry
NA – není dostupné
NAT – N-acetyltransferáza
MRT – mean residence time
NUDT15 – nukleotid difosfatáza
OATP – organic anion-transporting polypeptide, transportér organických aniontů
ODP – original drug product, originální léčivý přípravek
OPRM – opioidní receptor μ
PAH – polycyklické aromatické uhlovodíky
PCR – polymerázová řetězová reakce

P-gp – p-glykoprotein
PIL – příbalový leták
PM – pomalý metabolizátor
QC – quality control
RFLP - polymorfismus délky restrikčních fragmentů
SLC – solute carrier transportér
SPC – summary of product characteristics, shrnutí vlastností přípravku
SRM – selective reation monitoring
SSRI – selective serotonin reuptake inhibitors, selektivní inhibitory zpětného vychytávání serotoninu
 $t_{1/2}$ – biologický poločas
TPMT – thiopurinmethyltransferáza
UGT – uridin 5'-difosfo-glukuronosyltransferáza
UM – ultrarychlý metabolizátor
UPLC – Ultra Performance Liquid Chromatography
UV - ultraviolet
VKORC1 – komplex vitamin K epoxidoreduktáz, podjednotka 1
VŠCHT – Vysoká škola chemisko-technologická
WT – wild type

Seznam vlastních publikací

Sumární IF = 15,298

Publikace, které jsou podkladem disertace

- BOLESLAVSKA, T., SVETLIK, S., ZVATORA, P., BOSAK, J., DAMMER, O., BERANEK, J., KOZLIK, P., KRIZEK, T., KUTINOVA CANOVA, N., SIMA, M., SLANAR, O. & STEPANEK, F. 2020. Preclinical evaluation of new formulation concepts for abiraterone acetate bioavailability enhancement based on the inhibition of pH-induced precipitation. Eur J Pharm Biopharm. IF (2018) 4,708
- SVETLIK, S., STICHA, M., MATOUSKOVA, O., NESPEŠNA, L., SKLENAR, Z., BARTUNEK, A., PERLIK, F. & SLANAR, O. 2016. Nabumetone and 6-MNA Pharmacokinetics, Assessment of Intrasubject Variability and Gender Effect. Am J Ther, 23, e1498-e1503. IF (2016) 1,588
- SVETLIK, S., SACHL, R., VECKA, M., STICHA, M. & SLANAR, O. 2020. Sensitive and simple LC-MS/MS method for determination of sufentanil in human plasma. TBD, [In preparation].

Přehledové publikace

- HRONOVA, K., SIMA, M., SVETLIK, S., MATOUSKOVA, O. & SLANAR, O. 2014. Pharmacogenetics and immunosuppressive drugs. Expert Rev Clin Pharmacol, 7, 821-35. (IF 2014 = 2,180)
- SVETLIK, S., HRONOVA, K., BAKHOUCHE, H., MATOUSKOVA, O. & SLANAR, O. 2013. Pharmacogenetics of chronic pain and its treatment. Mediators Inflamm, 2013, 864319. IF (2013) 2,417
- SVETLIK, S., HRONOVA, K. & SLANAR, O. 2012. [Phenotyping of enzymes participating in drug metabolism]. Ceska Slov Farm, 61, 115-26.

Ostatní publikace

- ADAMEK, S., MATOUSKOVA, O., POLANECKY, O., SVETLIK, S., SKOREPA, J. & SNAJDAUF, M. 2013. The effect of postoperative pain treatment on the incidence of anastomotic insufficiency after rectal and rectosigmoidal surgery. Prague Med Rep, 114, 214-21.

- BAKHOUCHE, H., NOSKOVA, P., SVETLIK, S., BARTOSOVA, O., ULRICHOVA, J., KUBATOVA, J., MARUSICOVA, P., PARIZEK, A., BLAHA, J. & SLANAR, O. 2015. Maternal and neonatal effects of remifentanil in women undergoing cesarean section in relation to ABCB1 and OPRM1 polymorphisms. *Physiol Res*, 64, S529-38. IF (2015) 1.643
- KOVAROVA, A., SVETLIK, S., KOZMIK, V., SVOBODA, J., NOVOTNA, V., POCHIECHA, D., GORECKA, E. & PODOLIAK, N. 2014. Unusual polymorphism in new bent-shaped liquid crystals based on biphenyl as a central molecular core. *Beilstein J Org Chem*, 10, 794-807. IF (2014) 2.762

Postery na odborných konferenciích

- SVETLIK, S., BAKHOUCHE, H., NOSKOVA, P., BLAHA, J., MATOUSKOVA, O. & SLANAR, O. Maternal and neonatal effects of remifentanil in women undergoing cesarean section in relation to MDR1 polymorphism. *Personal Genomes & Medical Genomics*, 2012a Cold Spring Harbor Laboratory, NY.
- SVETLIK, S., SACHL, R., BAKHOUCHE, H. & SLANAR, O. Therapeutic analgesia with sufentanil during cardiac surgery in relation to MDR1 and OPRM1 polymorphisms. *Personal Genomes & Medical Genomics*, 2012b Cold Spring Harbor Laboratory, NY.
- SVETLIK, S., SACHL, R. & SLANAR, O. Pharmacokinetics of sufentanil during general anesthesia in relation to MDR1 polymorphism. 67. Česko-Slovenské farmakologické dni, 2017 Stará Lesná, Slovensko.

Poděkování

Děkuji. Děkuji profesoru Slanařovi: za vše, a hlavně za nezlomenou hůl.
Tomáši Hauserovi a Bartůňku Alešovi, jakož i kolegům dalším z ústavů všechněch,
děkuji rovněž.

Za pomoc s tou LC metodou s MS/MS detekcí, pak doktoru Veckovi, jakož i
Štíchovi, vzdávám dále dík.

Své rodině, rodičům živených Diem a hrdinskému bratrovi rovnému bohům, hlavně
však sličné své choti kadeří krásných, jež sic kus vědy ze srdce vzala mi, však nemálo
jiného vložila v něj zpět a vše pak spojila v jedno, jakož i všem, jež v této písni zmíněni
nejsou,
děkuji.

1. Úvod

V současné době je většina léčiv podávána s předpokladem nízké inter-individuální variability odpovědi pacienta na léčbu (Balashova et al., 2018). Nicméně tento předpoklad není často splněn: léčba údajně není efektivní u 30-60 % pacientů (Piquette-Miller and Grant, 2007) a u 10 až 30 % všech léčených pacientů se vyvinou nežádoucí účinky (de Vries et al., 2008), (Patidar et al., 2013), ač tento údaj samozřejmě může být zkreslen léčiv, u nichž se dává až do tolerance nežádoucích účinků a ty se tedy vyvinou de facto ve 100 % případů. Z těchto důvodů se objevily snahy o personalizaci medicíny, tedy o snahu o terapii přizpůsobenou konkrétnímu pacientovi, ať už co se týče výběru léčiva, či jeho dávkování, a to na základě pokud možno exaktních parametrů. K tomu je samozřejmě zapotřebí, aby byly identifikovány faktory, které odlišují pacienty mezi sebou či v čase, tedy zdroje variability inter-individuální, resp. intra-individuální. Mezi základní parametry patří věk a hmotnost pacienta (Balashova et al., 2018), nicméně s rozvojem znalostí genetických, biochemických a přidružených technik molekulární biologie a chemie došlo přirozeně i prudkému rozvoji znalostí vedoucích k pochopení významu dalších méně zjevných parametrů, na základě nichž lze nyní dále zpřesnit charakterizaci pacienta a rovněž tedy i správné dávkování. Například na stránkách <http://warfarindosing.org> lze na základě několika demografických (věk, hmotnost, výška, etnicita), 2 genetických (polymorfismus CYP2C9 a VKORC1), a dalších klinických či environmentálních parametrů (ko-administrace amiodaronu, statinů, nebo přítomnost kouření, komorbidit atd.) spočítat dávku warfarinu lišící se někdy až desetinásobně. Tato variabilita je dána jednak ovlivněním farmakodynamiky warfarinu (polymorfizmy FD warfarinu, tj. VKORC1), ale hlavně vlivem na farmakokinetiku warfarinu, ať už na úrovni metabolismu (polymorfizmy enzymu metabolizujícího warfarin, tj. CYP2C9, popř. komedikace s inhibitory metabolismu warfarinu, např. amiodaronem), či na úrovni distribuce (hmotnost) a nebo v podstatě na všech úrovních vlivem věku, jak bude rozebráno níže v následujícím odstavci. Nicméně těchto faktorů je mnoho a budou rovněž shrnuty níže.

1.1. Zdroje a důsledky variability farmakokinetiky

1.1.1. Parametry pacienta

1.1.1.1. Věk

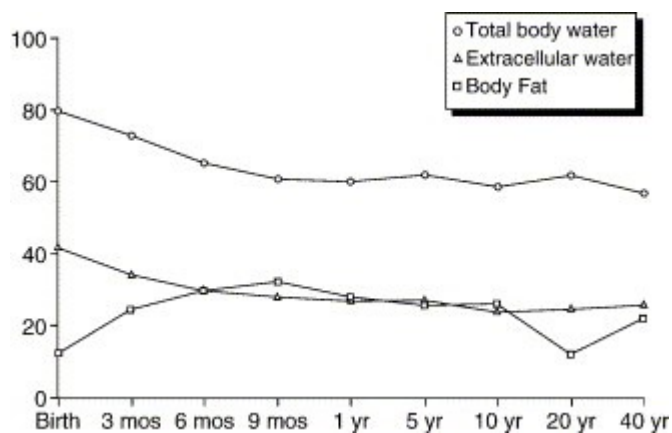
Od početí přes narození, dospělost až po stáří, lidské tělo neustále prochází změnami, a zároveň je také exponováno lékům. Přičemž především v extrémech, tj. v dětství a stáří,

lze pozorovat značné odlišnosti od dospělé populace; tento problém je dále prohlouben tím, že v těchto dvou skupinách se léčiva studují jen zřídka a lékař často nemá příliš mnoho dat, na nichž založit dávkování. Přitom u dětí mohou následky, ať už pozitivní či nežádoucí, přetrvávat po zbytek života; na druhé straně starší populace je často rovněž příjemce léčiv pro širokou škálu onemocnění (Holford et al., 2013).

Variabilitu odvozenou od věku pacienta lze pozorovat již v rychlosti a míře absorpce. U novorozenců je snížený intestinální tranzit, nicméně následně dosahuje poměrně brzy hodnot dospělého člověka – okolo sedmého měsíce (Grand et al., 1976). Rovněž je snížena sekrece vnitřního faktoru a kyseliny chlorovodíkové. Při studiu 18 dětí (9-30 měsíců), Rodbro a kol. (Rodbro et al., 1967) popsali sekreci vnitřního faktoru bližší sekreci dospělého, než u kyseliny chlorovodíkové. Přestože sekrece protonů vztažená na hmotnost dosahuje normálních hodnot již v 16 týdnu, žaludeční pH je zvýšeno až do 4 roku (Grand et al., 1976). To samozřejmě může mít vliv na rozpouštění a následnou absorpci léčiv, především charakteru slabých zásad, u nichž rozpustnost je často závislá na protonaci jinak hydrofobní molekuly (Dressman et al., 2007), ačkoliv u acidolabilních molekul toto může naopak vést k snížené hydrolýze léčiva v žaludku a zvýšené biodostupnosti (Huang and High, 1953). Zvýšenou biodostupnost pak můžeme pozorovat rovněž kvůli nedostatečné maturaci střevních metabolických enzymů a transportních systémů (Holford et al., 2013), (Hines, 2013). Dalším problémem může být i snížená spolupráce dětí, neschopných spolknout běžné pevné lékové formy, a u menších dětí může být problém i s tekutými lékovými formami. U alternativních způsobů aplikace, např. bukalních či sublingválních, jež mohly tuto situaci vyřešit, je velká míra nespolehlivosti, jelikož děti nejsou často schopny udržet v ústech lékovou formu dostatečnou dobu, zejména ty s nepříjemnou chutí, a následně je zvýšené množství spolknuto či vyplivnuto (Holford et al., 2013), (Karl et al., 1993). Zpomalení transitu gastrointestinálním traktem pak bylo popsáno rovněž u starších lidí (Madsen, 1992).

Mezi dítětem a dospělým je řada rozdílů, tím nejzřejmějším je velikost, jež by už sama o sobě způsobila rozdíly v distribuci léčiv. Tak alometrie předpokládá lineární závislost distribučního objemu na hmotnosti (při fyziologickém, lépe možná *stejném* složení těla): $V = V_{STD} \times F_{SIZE}$, kde V_{STD} je standardní objem pro dané léčivo, F_{SIZE} je faktor daný jako poměr hmotnosti subjektu (WT) ku standardní hmotnosti (WT_{STD} , 70 kg): $F_{SIZE} = WT/W_{STD}$ (Holford, 1996). Nicméně onen základní předpoklad „fyziologického“, potažmo stejného složení těla právě není často dodržen u dětí ani starších pacientů, právě proto, že fyziologická kompozice lidského těla se značně liší u novorozenců až po starší

pacienty, především ve vzrůstu tukové tkáně a ztrátě vody (jejíž hodnoty jsou extrémní právě u novorozenců) (Lu and Rosenbaum, 2014), jak je znázorněno i na Obr. 1 převzato z (Rakhmanina and van den Anker, 2006). To může vést k signifikantnímu zvýšení distribučního objemu a „pufrovací“ kapacity pro lipofilní léčiva jako je diazepam s následnou prodlouženou eliminací u starších lidí v důsledku většího podílu tukové tkáně, na druhé straně pak k opačnému důsledku u dětí s vysokými koncentracemi po podání vzhledem k sníženému distribučního objemu, resp. opět k opačným problémům pro hydrofilní léčiva, jako gentamicin či digoxin, která budou mít zvýšený distribuční objem u dětí a snížený u starších pacientů (Klotz et al., 1975), (Hanratty et al., 2000), (Echeverria et al., 1975), (Morselli, 1976).



Obr. 1: Změny v složení těla v průběhu věků

Rovněž vazebná kapacita plazmatických proteinů je snížena u novorozenců (McNamara and Alcorn, 2002), což může zapříčinit jednak zvýšení distribučního objemu, jak bylo popsáno pro fenobarbital (Morselli, 1976), ale také zkomplikovat interpretaci plazmatických koncentrací: většinou je měřena celková plazmatická koncentrace, ale pro účinek a distribuci je kritická volná frakce. To může představovat závažný problém např. při dávkování fenytoinu, který je jednak vysoce vázaný, ale rovněž má úzký terapeutický index (Anderson and Meakin, 2002).

Rozdíl v eliminaci u dětí oproti dospělým je dán opět do jisté míry velikostí, ale především maturací. První rozdíl je ostatně naprosto očividný: od 0,5 kg předčasně narozeného dítěte až po 250 kg u morbidně obézního dospělého. Tento 500-násobný rozdíl ve velikosti ovšem neodpovídá 500 násobnému rozdílu v eliminaci. Pro vztah hmotnosti a eliminace existuje v alometrii podobný vztah jako pro distribuční objem, nicméně zde není

závislost přímo lineární, ale F_{SIZE} má v tomto případě exponent $\frac{3}{4}$, tedy $F_{\text{SIZE}} = (\text{WT}/\text{WT}_{\text{STD}})^{\frac{3}{4}}$, a obdobně jako pro distribuční objem: $\text{CL} = \text{CL}_{\text{STD}} \times F_{\text{SIZE}}$, kde CL_{STD} značí clearance standardní pro dané léčivo. Z toho vyplývá, že rozdíl bude tedy *pouze* 100-násobný (Holford et al., 2013). Univerzální použitelnost exponentu $\frac{3}{4}$ je ovšem sporná a nedávné klinické studie ukazují, že je použitelný až pro děti od šesti let věku, kdy prediční schopnost dosahuje přesnějších hodnot (Mahmood, 2014a), (Edginton et al., 2013), (Momper et al., 2013) a univerzální užití tohoto exponentu je tedy nespolehlivé. Mnohem přesnějších predikcí lze dosáhnout použitím exponentů vztažených k věku, např. 0,9 pro děti do pěti let (Mahmood, 2014b).

Co se týče maturace, je problematika složitější: různé eliminační cesty mají různou dobu maturace - již jednobuněčný zárodek je schopen do určité míry metabolismu (např. esterázami), naopak např. léčiva, jež se povětšinou vylučují nezměněna v moči, se mohou vyloučit až po vývoji ledvin v 16 týdnu po koncepci, ač to může být podstatné až ve chvíli, kdy dané léčivo není schopno prostoupit zpět do matky přes placentární bariéru: jinak eliminaci zajistí matka (Holford et al., 2013), (Chen et al., 2006). Rovněž i jednotlivé izoformy CYP450 maturují různě rychle (Bouzom and Walther, 2008) a rychlost maturace je rovněž odlišná mezi jednotlivci, což vytváří období hypervariability, kdy vývojové faktory mají větší dopad než genetická variabilita (Hines, 2013). V konečném důsledku byla pozorována na věku závislá variabilita v eliminaci klobazamu (Burns et al., 2016), vorikonazolu (Pasqualotto et al., 2008), flukonazolu (Brammer and Coates, 1994), miltefosinu (Castro et al., 2017). Obecně lze říci, že jedinci do 1 roku mají často sníženou aktivitu metabolických enzymů oproti dospělým, naopak u dětí od jednoho do šesti let dochází naopak k zvýšení aktivit těchto enzymů a tedy ke zkrácení biologického poločasu a nutnosti častějšího dávkování, popř. vyšších dávek. U adolescentů dochází po pubertě k ustálení dospělých hodnot aktivit metabolických enzymů (Rakhmanina and van den Anker, 2006).

Na druhé straně spektra jsou starší pacienti, s často sníženou funkcí ledvin, ač toto není zdá se zapříčiněno samotným věkem, ale souvisejícími onemocněními (Klotz, 2009). Mezi 30 až 80 lety věku klesá počet glomerulů a celkově masy tkáně ledvin asi 20-30 %, ale asi u jedné třetiny pacientů nedochází k poklesu funkce ledvin a v malé subpopulaci této věkové kategorie bylo dokonce pozorováno zvýšení clearance kreatininu s věkem (Lindeman et al., 1985). Vzhledem k tomu, že stačí jedna ledvina k udržení clearance kreatininu, není pozorování, že starší pacienti jsou schopni zachovávat hemostázu tělních tekutin, až tak překvapivé. Na druhou stranu značně klesá jejich schopnost přizpůsobovat

se environmentální zátěži, stresu souvisejícímu s onemocněním či lékařským zákrokem (Beck, 1998). Je tomu tak rovněž i proto, že u této populace dochází ke glomerulární skléroze, změněným tubulárním strukturám a charakteru vaskulárního toku krve. Dochází k snížení toku ledvinami a glomerulární filtrace, často jsou přítomny i tubulární změny, např. poškozené hospodaření s vodou, sodíkem, či glukózou, a endokrinologické změny, jako změny v renin-angiotensin-aldosteronovém systému, metabolismu vitamínu D, či efektivity antidiuretického hormonu (Meyer, 1989). Ztráta pocitu žízně situaci dále zhoršuje (Beck, 1998), stejně jako systémové onemocnění. Např. Fliser a kol. (Fliser et al., 1997) popsali ve studii srovnávající mladé zdravé subjekty se subjekty staršími (normotenzními, hypertenzními nebo s kompenzovaným lehkým až středně těžkým selháním srdce), že ačkoliv glomerulární filtrace byla snižena u starších lidí oproti mladším, pro normotenzní a hypertenzní subjekty byla v mezích normy, ne však u pacientů se selháním srdce, a efektivní renální tok plasmy byl v normě jen u normotenzních starších pacientů, snížený u hypertenzních starších pacientů, a ještě nižší u pacientů se selháním srdce.

Nicméně dávkování léčiv může být často predikováno na základě clearance kreatininu (viz níže v 1.1.1.4 věnující se selhání ledvin, potažmo clearance kreatininu), což tuto situaci poměrně zjednodušuje.

U jater, kde je rovněž popsáno snížení funkce s věkem, játra se zmenšují asi o 20-30 % a tok krve játry o 20-50 % (Wynne et al., 1989), podobný biomarker není. Clearance léčiv se zdá být snížena v tandemu k zmenšenému objemu jater (Kinirons and O'Mahony, 2004) a objem jater je kritickým parametrem pro fyziologicky-založené farmakokinetické modely pro predikci clearance léčiv (Small et al., 2017). Nicméně objem hepatocytů v játrech se zdá se nemění, stejně jako obsah biotransformačních enzymů (Klotz, 2009), (Schmucker et al., 1990). Některé studie (George et al., 1995) sice poukázali na selektivní pokles množství enzymů CYP2E1 a CYP3A ve vzorcích jaterní tkáně korelující s věkem, ale vzhledem k tomu, že se jednalo o vzorky pocházející především od pacientů s chronickým jaterním selháním a jiné studie (Hunt et al., 1992) v játrech určených pro transplantaci (tedy ve zdravých játrech) toto, minimálně pro CYP3A, nepotvrdily, zdá se pravděpodobnější, že pokles souvisel právě se selháním jater, nikoliv s věkem jako takovým. Ostatně klinické studie využívající modelových látek pro určité enzymy CYP povětšinou rovněž nenalezly spojitost mezi věkem a variabilitou v clearance, ať už pro olanzepine (modelová látka pro CYP1A2) (Bigos et al., 2008), paroxetin (CYP2D6) (Feng et al., 2006), nebo midazolam (modelová látka pro CYP3A4) (Albrecht et al., 1999),

(Gorski et al., 2003), ač u posledně zmíněného opět byly i studie s opačným výsledkem: nesignifikantní pokles clearance o 19, resp. 24 % popsali Harper a kol (Harper et al., 1985) a Platten a kol. (Platten et al., 1998), a dokonce pokles o 44 % popsal Greenblatt et al. (Greenblatt et al., 1984). Situaci zde navíc komplikuje genetický polymorfismus, který zřejmě způsobuje větší pokles aktivity enzymu s věkem u některých genotypů než u genotypů jiných. Tak např. pro omeprazol, modelovou látku pro CYP2C19, došlo k zvýšení expozice (tedy snížení metabolismu) u starších rychlých a intermediárních metabolizátorů, nikoliv však u metabolizátorů pomalých (Ishizawa et al., 2005). To je pravděpodobně způsobeno tím, že genotyp má mnohem větší dopad sám o sobě na aktivitu příslušného enzymu než věk (Klotz, 2009).

1.1.1.2. Pohlaví

Dalším důležitým fyziologickým zdrojem variability je pohlaví pacienta, potažmo biologické odlišnosti s pohlavím související. Těmito odlišnostmi je hmotnost, kompozice těla, faktory gastrointestinálního traktu, jaterní metabolismus a eliminace ledvinami (Alomar, 2014).

Motilita gastrointestinálního traktu je ovlivnitelná pohlavními hormony, absorpce léčiv tedy může kolísat nejen mezi pohlavími, ale také v rámci jedné ženy v průběhu menstruačního cyklu (Gandhi et al., 2004). Vyprazdňování žaludku tlumí estrogen a jeho deriváty a alespoň u potkanů vysoké koncentrace progesteronu, nízké naopak vyprazdňování urychlují. Průchod gastrointestinálním traktem je pomalejší u žen než u mužů. Jedná se především o tranzit tlustým stěvem a již zmíněné vyprazdňování žaludku. Jak u žen, tak i u mužů existuje značná intra-individuální variabilita a vzhledem k ní je kolísající vliv hormonů v rámci menstruačního cyklu pravděpodobně zanedbatelný (Degen and Phillips, 1996).

Ženy mají odlišnou kompozici těla od mužů, především ve vyšším podílu tukové tkáně, nižší průměrné váze a nižším objemu plazmy, s očividnými důsledky pro farmakokinetiku, přesněji distribuci léčiv. Ta je pak rovněž ovlivněna i nižším průtokem krve orgány (Gandhi et al., 2004). Příkladem klinicky signifikantního rozdílu v distribuci jsou např. periferní nedepolarizující myorelaxancia odvozená od kurare, konkrétně vekuronium, pankuronium a rokuronium, jejichž permanentně nabitá molekula z nich dělá značně hydrofilní molekuly. Vzhledem k výše zmíněným distribučním rozdílům je výsledek předvídatelný: u žen je snížený distribuční objem, je snáze dosaženo vyšších koncentrací a je tedy potřeba nižší dávky než u mužů k navození myorelaxace (Pleym et

al., 2003). Opačný efekt není pak překvapením u (naopak) lipofilních molekul, třeba již zmíněného diazepamu (Ochs et al., 1981).

Zřejmě nejdůležitějším rozdílem odvozeným od pohlaví je eliminace léčiv, především pak biotransformační enzymy. Tyto byly velmi přehledným a vyčerpávajícím způsobem shrnuty v shrnujících člancích autorů Franconi a Campesi (Franconi and Campesi, 2014a), (Franconi and Campesi, 2014b). Waxman a kol. poukázali na to, že nejdůležitějším faktorem, minimálně u myši a potkanů, v těchto odlišnostech hraje růstový hormon svým vlivem na expresi různých proteinů včetně mnoha enzymů CYP. I u lidí se zdá být tento faktor důležitý (Waxman and Holloway, 2009).

V některých studiích byly popsány farmakokinetické rozdíly, např. u již zmíněného diazepamu (MacLeod et al., 1979), ale i dalších psychofarmak jako chlordiazepoxid (Roberts et al., 1979), či olanzapin (Bigos et al., 2008) byl u žen popsán delší eliminační poločas než u mužů. Na druhou stranu u žen zvýšená exprese CYP3A4 vedla k rychlejší eliminaci jeho substrátů, např. cyklosporin (Kahan et al., 1986), erytromycin (Austin et al., 1980), či nifedipinu (Krecic-Shepard et al., 2000). Výše zmíněná zvýšená exprese CYP2E1, CYP2D6, UDP-glukuronyltransferázy u mužů vedla opět k očekávané efektu – zrychlené eliminaci substrátů příslušných enzymů. Tak je u mužů rychleji eliminován chlorzoxazon (Kim and O'Shea, 1995), modelová látka CYP2E1, propranolol, metoprolol, dextrometorfan, desipramin, a mirtazapin, substráty CYP2D6 (Franconi et al., 2007), (Schwartz, 2007) a rovněž paracetamol (Miners et al., 1983) a oxazepam (Court et al., 2004), u obou v důsledku zvýšené míry glukuronidace. Typickým příkladem je i snížená tolerance žen k alkoholu, kvůli nižší aktivitě alkoholdehydrogenázy. U žen pak dochází i mnohem rychleji k alkoholickému poškození jater. Nicméně tyto poměrně kusé nálezy zatím nenašly uplatnění v praxi a de facto neexistují specifická dávkovací schémata pro muže a ženy. Je tomu tak i kvůli relativně nižší inkluzi žen do klinických studií (Baraona et al., 2001).

1.1.1.3. Těhotenství

Během těhotenství dochází ke změnám kompozice těla s příslušnými důsledky pro distribuční objemy, ale i dalších klinických proměných; tyto jsou shrnuty v následující Tab. 1, další Tab. 2 se specificky věnuje jedné ze změn – ovlivnění biotransformačních enzymů, upraveno dle (Pariante et al., 2016).

Tab. 1: Vliv těhotenství na klinicky významné parametry a důsledky jejich změn

Parametr	Důsledky
Zpomalené vyprazdňování žaludku a zvýšené pH žaludku	Změny v biodostupnosti a opožděný C _{max} po p.o. podání
Zvýšený srdeční výdej	Zvýšený průtok krve játry – zvýšená eliminace pro některé látky
Zvýšené celkové tělesné množství vody, extracelulární tekutiny	Změny v distribuci léčiv; Zvýšený V _D pro hydrofilní látky
Rozšířený tukový kompartment	Zpomalená eliminace lipofilních látek, zvýšený V _D pro tyto látky
Zvýšený průtok krve ledvinami a glomerulární filtrace	Zvýšená clearance ledvinami
Snížená koncentrace albuminu v plazmě	Zvýšená volná frakce léčiv
Pozměněná aktivita CYP450 a UGT	Změny v biodostupnosti a hepatální eliminaci

Tab. 2: Vliv těhotenství na expresi a aktivitu enzymů

Enzym	Vliv těhotenství	Příklady substrátů
CYP1A2	Snížení	Paracetamol, propranolol, teofylin
CYP2B6	Zvýšení	Methadon, efavirenz, sertralin
CYP2C8	Zvýšení	Verapamil, fluvastatin
CYP2C9	Zvýšení	Glyburid, fenytoin
CYP2C19	Snížení	Proguanil, indomethacin, citalopram, escitalopram
CYP2D6	Zvýšení	Alprenolol, kodein, fluoxetin
CYP2E1	Zvýšení	Disulfiram, teofylin
CYP3A4	Zvýšení	Darunavir, citalopram
UGT	Zvýšení	Lamotrigin, morfin

Výsledný efekt pak bude určitou sumou těchto možných, často protichůdných vlivů. Např. paracetamol, metabolizovaný především enzymy CYP1A2 a CYP2E1, má v těhotenství rozšířený distribuční objem, a jeho metabolismus je zpomalený přes CYP1A2, ale zvýšený přes CYP2E1. Ve výsledku mají těhotné ženy nižší expozici tomuto léčivu (Rayburn et al., 1986), (Kulo et al., 2013), (Miners et al., 1986). Dalším příkladem mohou být cefalosporiny, např. cefatrizin (Papantoniou et al., 2007), cefazolin (Allegaert et al., 2009), cefoperazon (Gonik et al., 1986), cefradine (Philipson et al., 1987), u nichž bylo

popsáno rovněž snížení expozičních parametrů a zvýšení eliminace, v tomto případě je toto způsobeno zřejmě zvýšením volné frakce v plasmě v důsledku saturability plazmatických proteinů u těhotných žen. Signifikantně rozšířený distribuční objem pak byl popsán i u chemoterapeutik včetně doxorubicinu, paklitaxelu a karboplatiny (Van Calsteren et al., 2010), antivirotik lopinaviru, ritonaviru (Best et al., 2010), raltegraviru (Watts et al., 2014) či tenofoviru (Best et al., 2015), antimalarika atovakvonu (McGready et al., 2003) a dalších. Popsaných rozdílů je velmi mnoho, společným znakem je v naprosté většině právě snížená expozice, ať už právě pro zvýšený distribuční objem nebo rychlejší eliminaci. Pro další příklady lze opět jen doporučit práci Pariente a kol. (Pariente et al., 2016).

1.1.1.4. Clearance kreatininu

Clearance kreatininu odpovídá velmi dobře funkci ledvin a lze tedy využít jako zástupný parametr eliminačním schopnostem ledvin. Je nasnadě, že farmakokinetika léčiv vylučovaná především močí bude značně závislá právě na funkčním stavu ledvin, potažmo právě měřitelné clearance kreatininu. Nicméně ledviny hrají neodmyslitelnou roli i v dalších zásadních procesech a tak jejich selhávající funkce má mnohem komplexnější dopad – viz Tab. 3, upraveno dle (Rodieux et al., 2015).

Tab. 3: Vliv selhání ledvin na farmakokinetické procesy

Proces	Patofyziologické změny	Důsledky pro léčiva	Význam
Absorpce	Tvorba amoniaku v přítomnosti gastrické ureázy, pufrů, kyseliny	Snížená absorpce léčiv dependentních na kyselém prostředí, zpomalené vyprazdňování žaludku, opožděná absorpce léčiv	Zvýšení variability biodostupnosti u subjektů se selháním ledvin oproti subjektům s normální funkcí ledvin
	Zvýšení pH žaludku	Zvýšené množství aktivního léčiva v systémové cirkulaci, zvýšená biodostupnost pro acidolabilní molekuly, snížená biodostupnost pro látky špatně rozpustné při vyšším pH	
	Pokles metabolismu při prvním průchodu játry	Změny v eliminovaném množství léčiva	
	Edém střevní stěny	Pokles absorpce	
Distribuce	Vznik edému a ascitu	Zvýšení zdánlivého distribučního objemu pro vysoce hydrofilní léčiva a	Nižší koncentrace po podání dané dávky

		léčiva vázaná na plazmatické proteiny	
	Pokles koncentrace albuminu	Zvýšení nevázané frakce léčiva	Zvýšení volné frakce léčiva v místech účinku či eliminace
Metabolismus	Akumulace uremických metabolitů	Snížená glukuronidace	Snížená eliminace rozpustných metabolitů
		Změny ve střevních, jaterních a renálních transportérech (Pgp, MRP2 či OATP)	Akumulace aktivního léčiva Zvýšená incidence nežádoucích účinků
		Změny v hepatických a renálních biotransformačních enzimech Zpomalení biotransformačních reakcí	
		Změny v dispozi léčiv metabolizovaných játry	
Eliminace	Pokles v GFR	Snížená clearance léčiv eliminovaných primárně glomerulární filtrací	Zvýšené koncentrace a prodloužené biologický poločas léčiv eliminovaných primárně glomerulární filtrací
	Pokles ve vazbě na proteiny	Snížená filtrace léčiv, s možným důsledkem zvýšené sekrece renálními tubuly	Prodloužená exkrece léčiv eliminovaných aktivním transportérem pro organické ionty u pacientů s CKD, možná saturace při opakovaném dávkování

P-gp P-glykoprotein, *MRP-2* multidrug resistance protein 2, *OATP* organic anion-transporting polypeptide, transportér organických aniontů, *CYP* cytochrom P450, *GFR* glomerular filtration rate, míra glomerulární filtrace, *CKD* chronic kidney disease, chronické onemocnění ledvin

Obecně je doporučena úprava dávkování pokud se v moči vylučuje více než 30 % intravenózně podané dávky v nezměněné podobě, nicméně vzhledem k právě výše uvedeným dopadům na farmakokinetiku léčiv, např. pro snížený metabolismus, mohou být nutné úpravy dávkování i pokud se v moči vylučuje v nezměněné podobě menší frakce (Verbeeck and Musuamba, 2009), (Velenosi and Urquhart, 2014).

Typickými příklady léčiv s ovlivněnou farmakokinetikou u selhání ledvin je digoxin (Iisalo, 1977) a lithium (Lea-Henry et al., 2018), nebo ACE inhibitory (ač jsou

právě u selhání ledvin prospěšné), z nichž většina je eliminována téměř exkluzivně ledvinami (Schoolwerth et al., 2001). V důsledku kumulace tekutin a tedy zvýšení distribučního objemu mohou typicky aminoglykosidy dosahovat nedostatečných koncentrací v plazmě (Olyaei and Bennett, 2009). Kvůli kumulaci organických kyselin u selhání ledvin dochází ke kompetici na vazebných místech plazmatických proteinů, specificky albuminu, u nějž navíc urémie způsobuje karbamylaci vazebných míst, a může tak dojít k zvýšení volné frakce kyselých léčiv. Zvýšení volné frakce bylo pozorováno např. u metotrexátu (zde spíše kvůli snížení exkrece a následné akumulaci), fenytoinu, teofylinu a dalších (Naud et al., 2012).

Příklady dopadu selhání ledvin na biotransformační enzymy a transportéry u některých substrátů jsou uvedeny v Tab 4, upraveno dle (Naud et al., 2012).

Tab. 4: Příklady dopadu ledvina na biotransformační enzymy a transportéry u některých jejich substrátů

	Funkce ledvin	f_e, %	C_{max}	CL_T, L/h	AUC	t_{1/2}, h	CL_{NR} cesta	Komentář
Alfuzosin	Norm.	11	13,1 ng/mL	10,2 ^a	227,0 ng·h/mL	10	CYP3A4	Autoři uvádějí, že přes zvýšení pozorovaných hodnot je s opatrností možno podat 10 mg pacientům s renálním selháním
CL _{cr} 60–80 mL/min	Mírné selhání ledvin		16,4 ng/mL	6,4 ^a	324,0 ng·h/mL	11		
CL _{cr} 30–59 mL/min	Střední selhání ledvin		19,6 ng/mL	6,8 ^a	354,0 ng·h/mL	11		
CL _{cr} <30 mL/min	Těžké selhání ledvin		17,1 ng/mL	7,6 ^a	344,0 ng·h/mL	16		
Clazosentan	Norm.	15	830 ng/mL ^b	36	169 ng·h/mL	2,4	Nezměněn o ve žluči	Změny v dákování nejsou nutné
CL _{cr} <30 mL/min	Těžké selhání ledvin		832 ng/mL ^b	33	184 ng·h/mL	2,0		
Duloxetine	Norm.	<1	31 ng/mL	108	536 ng·h/mL	13	CYP1A2, CYP2D6	Nedoporučuje se u lidí s těžkým selháním ledvin nebo u pacientů s ESRD

GFR <15 mL/min	ESRD		66 ng/mL	50	1164 ng·h/mL	13		
Eltrombopag	Norm.	0	6,14 µg/mL	NA	64,2 pg·h/mL	25,8	CYP1A2, CYP2C8, UGT1A1, UGT1A3, 20 % nezměněno ve žluči	Autoři navrhují, že snížená vazba na plazmatické proteiny vedla k redistribuci a snížení koncentrace v plazmě. Změna dávky není nutná, opatrnost ano.
CL _{cr} 50–80 mL/min	Mírné selhání ledvin		4,29 µg/mL	NA	43,6 µg·h/mL	19,6		
CL _{cr} 30–49 mL/min	Střední selhání ledvin		5,01 µg/mL	NA	41,0 µg·h/mL	15,6		
CL _{cr} <30 mL/min	Těžké selhání ledvin		2,81 µg/mL	NA	25,9 µg·h/mL	14,0		
CL _{cr} <30 mL/min	Těžké selhání ledvin		2,81 µg/mL	NA	25,9 µg·h/mL	14,0		
Nefopam	Norm.	<5	NA	52,9	NA	NA	CYP450	Snížení dávky na 50 % a zachování 6 podání denně (10 mg/4 hodiny) u pacientů s těžkým selháním ledvin
CL _{cr} = <20 mL/min	Těžké selhání ledvin		NA	37,0	NA	NA	3A4?	
GFR <15 mL/min	ESRD		NA	27,3	NA	NA		
Ranolazin	Norm.	7	1,29 µg/mL	NA	10,6 µg·h/mL	8,9	CYP3A4	Selhání ledvin je faktor ke zvážení u dávkování ranolazinu, nicméně nejsou specifikovány změny v dávkování. U pacientů s těžkým selháním ledvin bylo

								pozorováno reverzibilní zvýšení krevního tlaku po podání ranolazinu, monitorace krevního tlaku je tedy zásadní u pacientů s těžkým selháním ledvin
CL _{cr} 51–80 mL/min	Mírné selhání ledvin		2,04 µg/mL	NA	18,6 µg·h/mL	5,7	CYP2D6	
CL _{cr} 30–50 mL/min	Střední selhání ledvin		1,97 µg/mL	NA	18,1 µg·h/mL	6,9		
CL _{cr} <30 mL/min	Těžké selhání ledvin		2,45 µg/mL	NA	21,1 µg·h/mL	4,6		
Solifenacin	Norm.	<15	15,7 ng/mL	6,92	1118 ng·h/mL	68,2	CYP3A4	Pro pacienty s těžkým selháním ledvin se nedoporučuje překračovat dávku 5 mg.
CL _{cr} =50–80 mL/min	Mírné selhání ledvin		17,5 ng/mL	5,06	1611 ng·h/mL	89,1		
CL _{cr} =30–49 mL/min	Střední selhání ledvin		15,2 ng/mL	5,62	1401 ng·h/mL	90,6		
CL _{cr} =10–30 mL/min	Těžké selhání ledvin		20,6 ng/mL	3,19	2173 ng·h/mL	111,0		
Tadalafil	Norm.	<0,3	183 µg/L	3,49	2868 µg·h/L	14	CYP3A4	Maximální doporučená dávka je 5 mg maximálně jednou za 72 hodin u pacientů s těžkým selháním ledvin
CL _{cr} =51–80 mL/min	Mírné selhání ledvin		217 µg/L	1,59	6280 µg·h/L	26		
CL _{cr} =31–50 mL/min	Střední selhání ledvin		220 µg/L	2,04	4911 µg·h/L	22		

GFR < 15 ml/min	ESRD		186 µg/L	2,49	4023 µg·h/L	15,2		
--------------------	------	--	-------------	------	----------------	------	--	--

^a CL/F (mL min/kg).

^b C_{ss}, koncentrace v ustáleném stavu po intravenózní infuzi.

AUC, plocha pod křivkou koncentrace v čase; CL/F, orální clearance; CL_{Cr}, clearance kreatininu; CL_{NR}, non-renální clearance; CL_T, totální clearance; C_{max}, maximální koncentrace; CYP, cytochrom P450; f_e, procento léčiva vyloučené v nezměněné podobě v moči; ESRD, poslední fáze renálního selhání (závislost na dialýze); NA, není dostupné; t_{1/2}, biologický poločas.

1.1.1.5. Selhání jater

Zde je situace komplikovanější, než by se dalo jednoduše předpokládat (Tab. 5, upraveno dle (Diep et al., 2017)): Kromě poklesu eliminace léčiv v důsledku snížení aktivit biotransformačních enzymů, snížení perfuze jater a biliární exkrece hrají játra důležitou roli i v distribuci látek, a to primárně jakožto místo syntézy plazmatických proteinů, ale také jako eliminační orgán pro kompetující endogenní molekuly právě na plazmatických proteinech. Situaci následně může komplikovat renální selhání, které často vzniká u pacientů se selháním jater – hepatorenální syndrom (Verbeeck, 2008), (Diep et al., 2017).

Tab. 5: Změny ve farmakokinetických parametrech v důsledku selhání jater

Farmakokinetický proces	Akutní selhání jater	Chronické selhání jater
Absorpce	Snížení průtoku krve játry	Snížený first-pass metabolismus a snížená expozice jater látkám vstřebaným z gastrointestinálního traktu
Distribuce	Proměnlivý pokles vazby na plazmatické proteiny	Snížená vazba na plazmatické proteiny a edémy vedoucí k zvýšenému distribučnímu objemu
Metabolismus	Postižení enzymů fáze II Zpomalený metabolismus vedoucí k prodlouženým biologickým poločasům	Snížená aktivita metabolických enzymů Snížená funkce hepatocytů
Eliminace	Porušené vylučování do žluče Renální selhání z akumulace toxických metabolitů	Narušená exkrece ledvinami a do žluče

U látek s vysokou presystémovou eliminací lze efekt selhání jater pozorovat již u absorpce. To může být zčásti vysvětleno zvýšenou permeabilitou střev, jak bylo popsáno u absorpce cukrů u pacientů s cirhózou jater (Zuckerman et al., 2004), nicméně převažující

vliv lze vystopovat k snížené hepatické extrakci. Toto může být způsobeno jednak poklesem aktivit biotransformačních enzymů, dále pak portosystémovými zkraty, kdy část krve nesoucí v-střebanou látku obchází játra přímo do systémového oběhu. Změny v absorpci promítnuté do biologických dostupností jsou pro některé látky shrnuty v Tab. 6, upraveno dle (Verbeeck, 2008). Selhání jater může vést k násobnému nárůstu biologické dostupnosti vyžadujícími klinické úpravy dávkování, např. u karvediolu je doporučeno začít na pětinové dávce u lidí se selháním jater (Neugebauer et al., 1992), (Verbeeck, 2008).

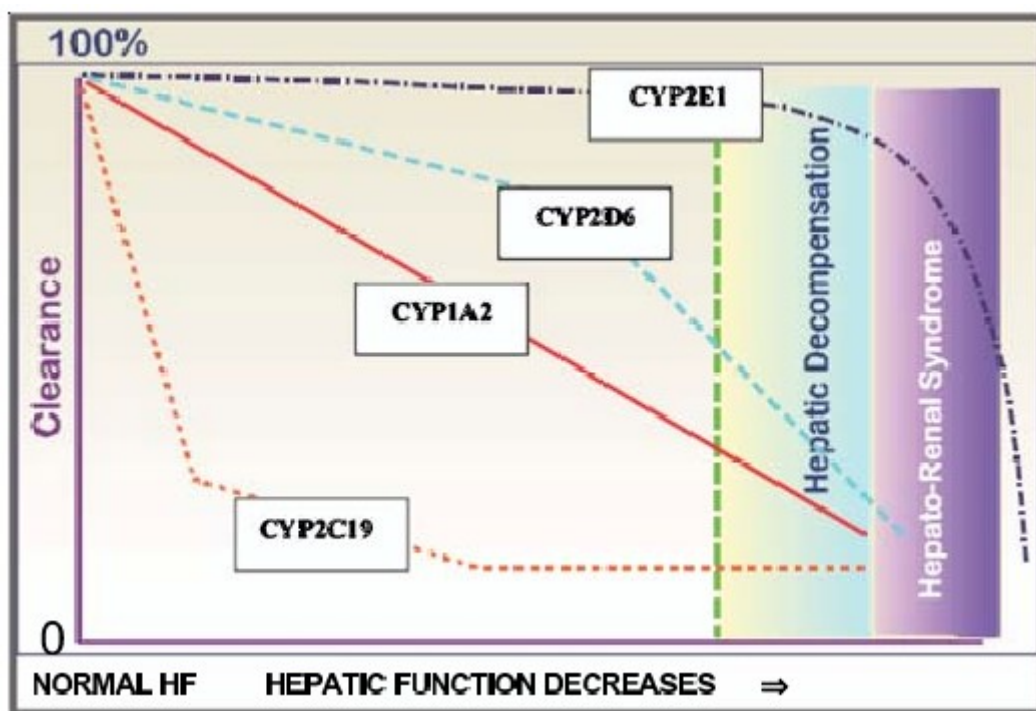
Tab. 6: Změny jaterních funkcí a biodostupnost některých léčiv

Léčivo	Normální funkce jater	Cirhóza	Násobné zvýšení
Karvedilol	0,19	0,83	4,4
Chlormetiazol	0,10	1,16	11,6
Labetalol	0,33	0,63	1,9
Meperidin	0,48	0,87	1,8
Metoprolol	0,50	0,84	1,7
Midazolam	0,38	0,76	2,0
Morfin	0,47	1,01	2,1
Nifedipin	0,51	0,91	1,8
Nisoldipin	0,04	0,15	3,8
Pentazocin	0,18	0,68	3,8
Propranolol	0,36	0,60	1,7
Verapamil	0,10	0,16	1,6

Jak už bylo zmíněno, selhání jater ovlivňuje i distribuci léčiv v důsledku změn ve vazbě na plazmatické proteiny. Toto může být způsobeno jednak sníženou syntézou albuminu a α_1 -kyselého glykoproteinu, akumulací endogenních látek (bilirubin), inhibujících vazbu na plazmatické proteiny, popř. kvalitativní změny v plazmatických proteinech (Verbeeck, 2008).

Dopad selhání jater na jaterní metabolismus léčiv je pravděpodobně nejméně překvapivý. Jaterní „vnitřní“ clearance (CL_{int}) představuje schopnost jater odbourávat nevázanou část léčiva z krve při normálním průtoku játry. CL_{int} je závislá na aktivitě biotrasformačních enzymů a sinusoidálních a kanalikulárních transportérů. Při selhání jater jednak dochází ke ztrátě jaterní funkční tkáně a poklesu aktivit biotransformačních enzymů, a situaci dále zhoršuje pokles aktivit transportérů v jaterních buňkách, ať už pro samotné léčivo, ale i pro kyslík, který je nutný kofaktor funkce *monooxidáz* cytochromu P450 Obr. 2. Kromě CYP a dalších enzymů první fáze je postižena druhá fáze

metabolismu: glukuronidizace je snížena u morfinu (Hasselstrom et al., 1990), diflunisalu (Macdonald et al., 1992), lormetazepamu (Hildebrand et al., 1990), oxazemapu (Sonne et al., 1990), lamotriginu (Marcellin et al., 2001), zidovudinu (Taburet et al., 1990) či mykofenolátu (Parker et al., 1996). Pokles oxidativního metabolismu může mít opačný důsledek na účinnost léčiv; názorným příkladem je kodein a oxykodon. Zatímco kodein vděčí za značnou část své analgetické aktivity svému metabolitu – morfinu a při jaterním selhání nemusí mít dostatečný efekt, oxykodon je metabolizován na noroxykodon s minimální farmakodynamickou aktivitou, a při selhání jater může dojít naopak k předávkování a doporučuje se tedy začínat s nižší dávkou (Bosilkovska et al., 2012), (Diep et al., 2017).



Obr. 2: Vztah funkce jater a clearance u některých jaterních enzymů CYP

Biliární exkrece je důležitou eliminační cestou pro některé látky, nicméně kvůli problémům se sběrem vzorků žluče atp. jsou experimentální data u člověka poměrně vzácná, nicméně studie u pacientů podstupujících operaci kvůli obstrukci žlučového ukázaly, že eliminace je značně zpomalená u ampicilinu (Mortimer et al., 1969), cefalexinu (Sales et al., 1972), klindamycinu (Brown et al., 1976), cefoperazonu a ceftazidimu (Leung et al., 1990) a dalších, a může při takovém onemocnění docházet k nadměrné kumulaci (Verbeek, 2008).

Další příklady léčiv ovlivněných jaterní funkcí lze nalézt v Tab. 7 převzaté od Diep a kol. (Diep et al., 2017).

Tab. 7: Farmakokinetické změny, dávkování léčiv a monitoring jejich účinnosti a bezpečnosti při změnách jaterních funkcí

Léčivo	Farmakokinetické změny	Výběr léčiva a dávkování	Monitoring pro účinnost a bezpečnost
Paracetamol	Snížená clearance	Maximální dávka 2 g/den	<u>Účinnost:</u> Kontrola bolesti každou hodinu <u>Bezpečnost:</u> Protrombinový čas; INR, hodnoty jaterních enzymů; celkový bilirubin, serový kreatinin denně
NSAIDs			<u>Účinnost:</u>
Aspirin	Snížená vazba na plazmatické proteiny	Žádné specifické doporučení	Kontrola bolesti každou hodinu
Diklofenak	Snížená vazba na plazmatické proteiny	Žádné specifické doporučení	<u>Bezpečnost:</u> Hemoglobin, INR,
Naproxen	Snížená vazba na plazmatické proteiny Snížená eliminace	Snížení dávky o 50 % (250 až 500 mg denně)	protrombinový čas, hematokrit, toxické efekty salicylátů (tachypnea, tachykardie, tinnitus)
Opioidy			<u>Účinnost:</u>
Oxykodon	Snížená vazba na plazmatické proteiny Snížený metabolismus na aktivní metabolit, oxymorfone	Začít s nižšími dávkami a titrovat nahoru	Kontrola bolesti a sedace každou hodinu
Kodein	Snížená vazba na plazmatické proteiny Snížený metabolismus na aktivní metabolit, mofhine	Může být použit, ale možné snížení analgetické účinnosti Použít jinou látku, jestli bolest není dostatečně kontrolována	<u>Bezpečnost:</u> Dechová frekvence (deprese dechu předchází sedaci) krevní tlak a tepová frekvence
Hydromorfon	Snížený metabolismus na neaktivní metabolit	Mírné selhání: bez specifického doporučení Střední až těžké selhání: Začít s nižšími dávkami a titrovat nahoru	
Morfin	Snížený metabolismus	Mírné selhání: bez	

	na neaktivní metabolit	specifického doporučení Střední až těžké selhání: Začít s nižšími dávkami a titrovat nahoru	
Propofol	Snížená clearance	Žádné specifické doporučení	<u>Účinnost:</u> Kontrola sedace každou hodinu <u>Bezpečnost:</u> krevní tlak a tepová a dechová frekvence
Dexmedetomidin	Snížený metabolismus a clearance	Žádné specifické doporučení; možno začít na nižších dávkách	<u>Účinnost:</u> Kontrola sedace každou hodinu <u>Bezpečnost:</u> krevní tlak a tepová a dechová frekvence
Midazolam	Snížený metabolismus vedoucí k akumulaci léčiva	Začít na nižších dávkách a přejít na lorazepam pokud je nutné delší dávkování	<u>Účinnost:</u> Kontrola sedace každou hodinu <u>Bezpečnost:</u> krevní tlak a tepová a dechová frekvence
Lorazepam	Mírně snížený metabolismus	Žádné specifické doporučení	
Diazepam	Snížený metabolismus vedoucí k akumulaci léčiva	Mírné selhání: bez specifického doporučení Těžké selhání: Kontraindikace	
Vankomycin	Snížená vazba na plazmatické proteiny	Úprava dávkování na základě požadované C_{min} koncentrace	<u>Účinnost:</u> C_{min} (před 3 nebo 4 dávkou), počet bílých krvinek, horečka <u>Bezpečnost:</u> Sérový kreatinin, produkce moči
Aminoglykosidy	Snížená vazba na plazmatické proteiny Zvýšený distribuční objem	Úprava dávkování na základě požadované C_{min} a C_{max} koncentrace	<u>Účinnost:</u> C_{min} (30 min před další dávkou), C_{max} (30 min po ukončení infuze), počet bílých krvinek, horečka <u>Bezpečnost:</u> Sérový kreatinin, produkce moči, ototoxické účinky
Heparin	Snížený metabolismus	Úprava dávkování na základě aPTT a antifaktoru Xa	<u>Účinnost:</u> aPTT nebo antifaktor Xa

			<u>Bezpečnost:</u> Destičky, hemoglobin, hematokrit
Warfarin	Snížený metabolismus	Úprava dávkování na základě INR cíle	<u>Účinnost:</u> Denně INR <u>Bezpečnost:</u> Destičky, hemoglobin, hematokrit
Argatroban	Snížený metabolismus a clearance	Infuze by měla být iniciována 0.5 µg/kg/min Úprava dávkování na základě aPTT 1.5-3 násobku počáteční hodnoty	<u>Účinnost:</u> aPTT každé 3 hodiny dokud není dosaženo aPTT cíle <u>Bezpečnost:</u> Destičky, hemoglobin, hematokrit

aPTT – activated partial thromboplastin time, aktivovaný částečný tromboplastinový čas; INR – international normalized ratio; C_{max} – maximální koncentrace; C_{min} – koncentrace na konci dávkovacího intervalu

1.1.1.6. Hmotnost a distribuce tuku

Hmotnost je jedním ze základních parametrů farmakokinetických modelů, ale rovněž pro volbu dávky, především v pediatrické populaci a u látek s úzkým terapeutickým oknem. Společně s výškou určuje BMI, a klinicky je lze využít k určení tělesných deskriptorů typu ideální tělesná hmotnost, povrch těla atp. (Pai, 2012).

V lidském těle je léčivo distribuováno do krve a odtud jsou distribuovány do periferním kompartmentů podle svým fyzikálně-chemických vlastností: látky hydrofilní, rozpustné ve vodě budou do značné míry setrávat v krvi/plazmě, látky hydrofobní, lipofilní budou naopak mít snahu krev opustit a přejít do tkání bohatých na tuk: mozek, samotná tuková tkáň apod. Jelikož buněčné membrány jsou tvořeny fosfolipidovou dvojvrstvou, lipofilita/hydrofilita určuje i prostup právě přes membrány a permeabilitu příslušné látky (Alomar, 2014). Tyto kompartmenty, tedy krev, tuková tkáň, jsou ve vztahu k váze a hmotnost u konkrétního jedince tedy udává do značné míry distribuční objem látek. Je však nasnadě, že kompozice těla může být proměnlivá u dvou jedinců i v rámci stejného pohlaví, věku, hmotnosti a výšky s jediným rozdílem – mírou individuální tělesné aktivity. Tak u neaktivního jedince bude značně vyšší distribuční objem lipofilních látek oproti sportovci s jinak stejnými parametry (Pai, 2012). Z tohoto důvodu jsou kromě

aktuální hmotnosti pro úpravu či predikci dávkování používány další deskriptory, mj. ideální hmotnost těla, upravená hmotnost těla či tukoprostá tělesná hmotnost. Jejich využití pro predikci clearance kreatininu často dává přesnější výsledky než hmotnost aktuální (Demirovic et al., 2009), (Sawyer et al., 1983). V důsledku i dávkování léčiv lze často určit lépe na základě těchto parametrů, např. tukoprostá hmotnost je doporučována pro volbu dávkování inhibitorů protonové pumpy u dětí (Shakhnovich et al., 2019), či heparinu při operaci srdce (Aykut et al., 2018). Příklady farmakokinetické variability související s kompozicí těla již byly do značné míry shrnuty v kapitolách předchozích, především u Pohlaví a Věku.

1.1.1.7. Etnikum

U ethnicity/rasy se jedná o komplexní interakci vnitřních faktorů (geneticky podmíněného metabolismu a dispozice) a vnějších faktorů (environmentální vlivy) (Ferdinand and Igari, 2018).

Nicméně ale právě genetické predispozice a někdy též environmentální vlivy jsou často rozhodující pro farmakokinetiku léčiva a lze tedy očekávat rozdíly mezi etniky. U některých antibiotik, např. ciprofloxacinu, makolidů, klindamycinu, tinidazolu, či určitých cefalosporinů, byla popsána dvoj- až trojnásobná expozice u asijského etnika oproti etniku bílému. Tento rozdíl byl připsán sníženému distribučnímu objemu a/nebo clearance (Tsai et al., 2015). Dále Zurlinden a Reisfeld (Zurlinden and Reisfeld, 2017) popsali rozdíly farmakokinetiky paracetamolu u západoevropské a východoasijské populace pomocí na fyziologii-založeného farmakokinetického modelování. Především při vyšších dávkách se tyto dvě populace odlišily v rychlosti a míře glukuronidizace, kdy asijská populace dosahovala větší míry glukuronidizace při nižších koncentracích a následně docházelo k saturaci, západoevropská populace vykazovala větší kapacitu. Bart a kol. (Bart et al., 2014) popsali sníženou clearance metadonu u Hmong etnika.

U černochů bylo rovněž popsáno, že Cockcroft-Gaulova rovnice podceňovala pro dané hladiny kreatininu odhad glomerulární filtrace, zřejmě kvůli vyššímu množství svalové hmoty nebo vyššímu příjmu zvířecího proteinu (Lewis et al., 2001).

Vzhledem ke své podstatě lze předpokládat, že etnické rozdíly lze popsat u procesů geneticky podmíněných (enzymatická přeměna, absorpce pomocí transportérů atp.) a látek jim ve velké míře podléhajících, a lze jen stěží očekávat u procesů fyzikálně-chemických, jako jednoduchá difúze (Johnson, 2000), (Tsai et al., 2015).

1.1.1.8. Genetické vlivy

Genetické vlivy na lékovou odpověď jsou již dobře známé a v současné době extenzivně studované, toto studium se osamostatnilo jako svébytný obor, farmakogenetika/genomika. Ačkoliv kořeny farmakogenetiky sahají až do padesátých let k objevům deficitu butyrylcholinesterasy, senzitivity k primachinu a obecně známé pomalé acetylce isoniazidu, tj. nálezy podkládající vliv genetiky na lékovou odpověď, hlubší pochopení těchto vztahů bylo umožněno až rozvojem metod molekulární biologie, biochemie či analytické chemie (Gardiner and Begg, 2006).

Farmagenetika má význam jak pro farmakokinetiku, tak farmakodynamiku, nicméně vzhledem k námětu práce zde bude věnována pozornost pouze problematice farmakokinetiky. Farmakokinetika je geneticky polymorfní tam, kde se na osudu léčiva v organismu podílejí proteiny. V praxi nejdůležitější skupinou jsou to biotransformační enzymy fáze I (CYP, butyrylcholinesteráza, ...) i fáze II, kam ostatně patří enzym z tohoto hlediska zřejmě nejdůležitější, tj. thiopurinmethyltransferáza (TPMT), ale i další, již zmíněná glukuronyltransferáza, dihydropyridindehydrogenáza a další. Polymorfismus biotransformačních enzymů teoreticky může vést ke čtyřem základním fenotypům, z nichž klinicky významně odlišné od běžné populace jsou především dva z nich: pomalý metabolizátor (PM) a ultrarychlý metabolizátor (UM). Pomalý metabolizátor je homozygot pro funkčně defektní alelu, zatímco ultrarychlý metabolizátor má funkční alely duplikované či multiplikované, nebo má expresi enzymu zvýšenou mutacemi/polymorfizmy v regulačních oblastech genu. Třetím fenotypem je pak intermediární metabolizátor (IM) s aktivitou enzymu mezi PM a posledním fenotypem, homozygotem pro funkční nepozměněné (wild-type) alely, extensivním metabolizátorem (EM). Ne vždy však dochází k segregaci na všechny tyto fenotypy, typicky u TPMT jsou popsány pouze fenotypy tři (chybí UM), UM je ostatně typický spíše jen pro CYP2D6 či CYP2C19, u většiny ostatních není popsán.

K zařazení daného jednotlivce do příslušné skupiny metabolizátorů a s tím související individualizaci dávkování lze provést genotypizací a fenotypizací. Obecně lze říci, že fenotypizace odráží aktuální aktivitu enzymu, která se může měnit i vlivem jiných faktorů než pouze genetickým podkladem (věk, medikace, výživa a další), naproti tomu je nutno do těla zavádět exogenní látku, což dále může zatěžovat organismus (toto neplatí u krevních enzymů jako TPMT, či butyrylcholinesterasy, jejichž fenotypizaci je možno provádět *ex vivo* v odebrané krvi). Obě metody mají své výhody a nevýhody a konečný výběr značně záleží na konkrétním enzymu, výbavě pracoviště a samozřejmě volbě lékaře.

Např. u azathioprinu pro fenotypizaci hovoří fakt, že i u homozygotů se aktivita TPMT může lišit až čtyřnásobně a v rasově různorodé populaci genotypizace nemusí odhalit nové popř. netestované mutace. Naproti tomu předešlá krevní transfúze může vést k špatnému určení fenotypu a další komplikací je fakt, že aktivita TPMT se zvyšuje, především u heterozygotů, s podáváním thiopurinových léčiv a tedy prvotně stanovená aktivita se může změnit po zahájení léčby (Gardiner and Begg, 2006).

Cytochrom P450

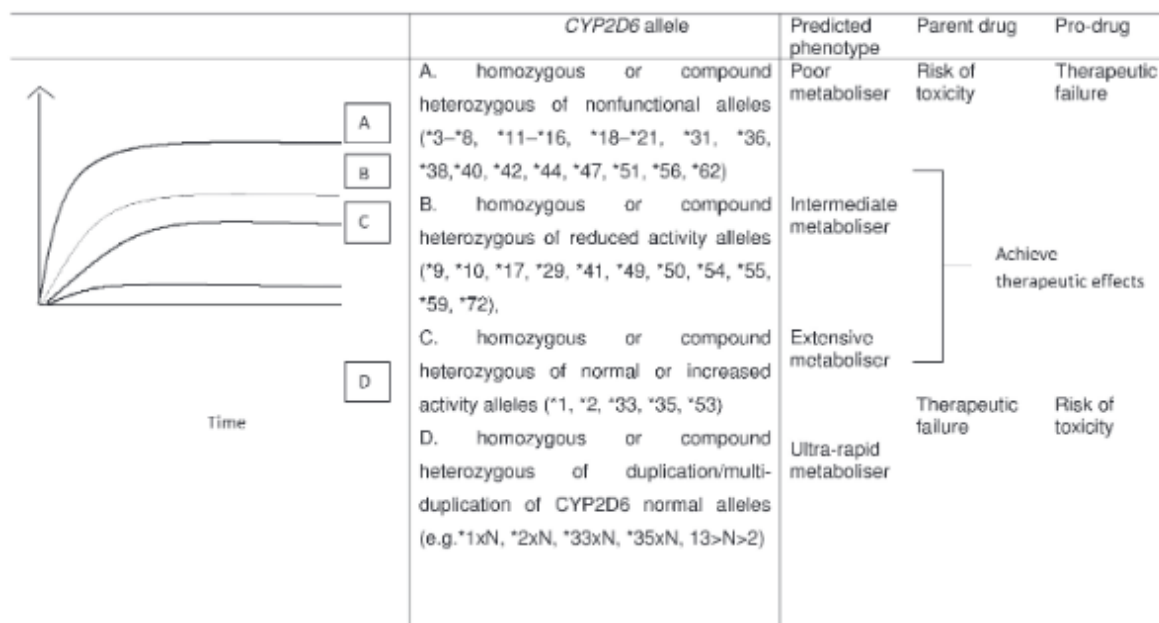
Zřejmě nejznámějšími enzymy v metabolismu léčiv jsou ty v cytochrom P450. Jedná se o nadrodinu enzymů zastřešující oxidasy se smíšenou funkcí, které se dále dělí do rodin (40 % shoda v AK sekvenci, např. CYP2) přiřazením arabského čísla ke zkratce CYP a do podrodin (55 % shoda v AK sekvenci, CYP2D) přiřazením písmena. Jednotlivé enzymy se pak označují konečným přidáním dalšího arabského čísla, CYP2D6.

Je známo přes 11 500 jednotlivých enzymů, u lidí bylo popsáno 18 rodin a 43 podrodin P450 enzymů (Nelson, 2009). Pro metabolismus léčiv jsou významné první tři rodiny: CYP1, CYP2 a CYP3, ostatní se podílejí na metabolismu endogenních látek (Hukkanen, 2000). Až 80 % léčiv podstupuje oxidační reakce katalyzované P450 (Eichelbaum et al., 2006), z toho 50 % připadá na podrodinu CYP3A4 (Ingelman-Sundberg et al., 2007), na CYP2D6 a CYP2C9 připadá 25, resp. 20 % (Zanger et al., 2004), (Kirchheiner and Brockmoller, 2005).

- CYP2D6

Tímto enzymem je metabolizována řada klinicky důležitých léčiv, β -blokátory, antidepresiva, neuroleptika, antiarytmika a opiody, obecně vzato jsou to lipofilní báze (Gardiner and Begg, 2006). Chemicky se jedná o polypeptid o 497 AK, tvořící 4 % z celkového množství enzymů P450 v játrech (Anzenbacher and Anzenbacherova, 2001), nicméně se podílí na metabolismu asi 25 % všech léčiv (Reynolds et al., 2016).

Frekvence CYP2D6*3, CYP2D6*4, CYP2D6*5, CYP2D6*6, tedy hlavních variantních alel genu pro CYP2D6, v české populaci byla stanovena na 1,1 %, 22,9 %, 3,1 %, respektive 0,2 % a duplikace genu pro CYP2D6 byla nalezena u 3,1 % subjektů (Buzkova et al., 2008). Implikace těchto a dalších mutací jsou znázorněny na Obr. 3, převzato z (Teh and Bertilsson, 2012).



Obr. 3: Genetická variabilita CYP2D6 a její význam pro metabolismus léčiv

Z farmakogenetického hlediska se jedná pravděpodobně nejstudovanější enzym, viz (Gardiner and Begg, 2006), (Zhou, 2009a), (Zhou, 2009b). Třeba Gardiner shrnuje už v roce 2006 CYP2D6 v tabulce o 29 molekulách a průměrně alespoň třemi studii ke každé, v současné době FDA zmiňuje CYP2D6 asi u 65 léčiv v SPC/PIL (FDA, 2019). Nicméně klinického významu dosáhlo poměrně málo léčiv, z 65 látek u FDA jen 14 má zmínku v kapitole dávkování (aripiprazol, deutetrabenazin, nebivolol, a další), a jen dvě mají „boxed warning“ v souvislosti s CYP2D6 metabolismem: kodein a tramadol v souvislosti potenciálního útlumu dýchání u dětí s UM fenotypem (Niesters et al., 2013), (Haufroid and Hantson, 2015).

- CYP2C9

Tímto enzymem jsou metabolizována kumarinová antikoagulantia (warfarin, acenokumarol), deriváty sulfonylmočoviny (tolbutamid, glyburid, glimepirid), antagonisté AT II (losartan, irbesartan), nesteroidní protizánětlivá léčiva (diklofenak, ibuprofen, celoxib), fenytoin a jiné. Jedná se o polypeptid o 490 AK, tvoří asi 20 % všech P450 enzymů v játrech (Inoue et al., 1997) a zodpovídá za stejné poměrné množství reakcí katalyzovaných P450 (Miners and Birkett, 1998). Frekvence hlavních variantních alel, tj. CYP2C9*2 a CYP2C9*3, v české populaci byla stanovena na 12,2 % resp. 5,9 % (Buzkova et al., 2007). Jak vidno, klinickou situaci zde zjednodušuje absence UM.

Ve srovnání s CYP2D6 je CYP2C9 mnohem méně významný, potažmo méně studovaný: FDA (FDA, 2019) se zmiňuje o 13 léčivech v SPC/PIL, z toho jen u tří v části

věnující se dávkování: u celecoxibu, kde se doporučuje poloviční dávka u známých, popř. předpokládaných CYP2C9 PM (má velký terapeutický index, tedy genotypizace není zcela nutná), siponimodu, kde je přímo řečeno, že před první dávkou má být určen genotyp CYP2C9 a samozřejmě warfarinu, kde spolehlivý zástupný parametr účinnosti, INR, poměrně usnadňuje jinak poměrně složitou situaci dávkování (Gardiner and Begg, 2006).

- CYP2C19

Tento enzym je důležitý v metabolismu inhibitorů protonové pumpy (omeprazol, lansoprazol), benzodiazepinů (diazepam, flunitrazepam), tricyklických antidepresiv (amitryptalin, imipramin), SSRI (fluoxetin, citalopram), barbiturátů (fenobarbital, hexobarbital), proguanilu, a dalších (chloramfenikol, indometacin, ...), celkově asi 15 % všech známých léčiv (Flaten et al., 2016).

FDA (FDA, 2019) opět zmiňuje větší množství léčiv (22), ale v tomto případě je to spíše dáno účastí na metabolismu dvou zmíněných početných skupin, benzodiazepinů a inhibitorů protonové pumpy. Z klinicky významných je zde clopidogrel se zanedbatelnou aktivitou u PM v důsledku nedostatečné aktivace nefunkčním CYP2C19 (Sienkiewicz-Oleszkiewicz and Wiela-Hojenska, 2018), dále jeden z benzodiazepinů, klobazam, se zvýšenou koncentrací aktivního metabolitu a tedy možností nadměrného účinku (Seo et al., 2008), (Tolbert and Larsen, 2019), ač doporučení na sníženou dávku je opět pouze u již známých PM (FDA, 2019), a citalopram, kde zvýšené koncentrace mohou vést k prodloužení QT intervalu (Funk and Bostwick, 2013).

- CYP2B6

Přestože je tímto enzymem metabolizováno 8-10 % používaných léčiv, mezi něž patří prasugrel, amitryptalin, halotan, ifosfamid, propofol a další, příspěvek CYP2B6 je většinou nízký (< 30 %) a dá se tedy předpokládat, že dopad genetického polymorfismu tohoto enzymu na metabolismus svých substrátů bude také nevýznamný (Mo et al., 2009). Nepřekvapí tedy, že u FDA (FDA, 2019) je zmíněn jen třikrát (efavirenz, prasugrel, ospemifene), a v žádném případě u dávkování.

- CYP2C8

Tímto enzymem je metabolizováno asi 5 % používaných léčiv, přičemž zaujímá asi 7 % celkového množství CYP450 v játrech (Pechandova et al., 2012). K substrátům patří například R-ibuprofen (druhý stereoizomer je substrátem CYP2C9), repaglinid, ale především cytostatikum paklitaxel, který se zasloužil o obnovení zájmu o tento enzym (Gardiner and Begg, 2006), u nějž se předpokládá možná predikce interindividuální

variability na základě genotypu právě CYP2C8 spolu s genem pro P-gp (Green et al., 2009). FDA se o něm však zatím nezmiňuje (FDA, 2019).

Výskyt variantních alel v české populaci byl stanoven na 0,3 % pro CYP2C8*2, 10,9 % pro CYP2C8*3 a 5,9 % pro CYP2C8*4 (Pechandova et al., 2012).

- CYP1A2

Tento enzym zaujímá asi 15 % z CYP obsahu v játrech, jež jsou jeho jediným místem exprese (na rozdíl od příbuzného CYP1A1, který je spíše extrahepatální), a předpokládá se, že vznikl duplikací CYP1A1 před 350 miliony lety k detoxifikaci environmentálních xenobiotik. Ty jsou rovněž jeho typickým substrátem, specificky prokarcinogeny jako aromatické, heterocyklické, nebo polycyklické aromatické uhlovodíky či rovněž aflatoxin B1, obecně se pak jedná o planární molekuly často s polyaromatickým jádrem zapadající do úzkého a plochého aktivního centra tohoto enzymu. Těmito vlastnostem odpovídají z léčiv například klozapin, olanzapin, flutamid, lidokain, tizanidin či takrin, z endogenních molekul pak melatonin, estron a estradiol, bilirubin a uroporfyrinogen (Gunes and Dahl, 2008).

Tento enzym je především důležitý a zajímavý ve svých interakcích s potravou a kouřením (viz níže), v literatuře se zmiňuje teofylin, u něž byla doporučena opatrnost u pacientů s pomalejším metabolismem kvůli mutaci -2964(G/A) (potažmo -3860(G/A) (Thorn et al., 2012)) v genu pro CYP1A2 (Obase et al., 2003), jež je známá sníženou aktivitou, ve dvou dalších studiích byl CYP1A2(*)1F haplotyp spojen s nežádoucími účinky antipsychotik: s prodloužením QT intervalu (Tay et al., 2007) a tardivní dyskinezí (Basile et al., 2000). U této mutace se předpokládá spíše vliv na indukovatelnost než vlastní ovlivnění funkce CYP1A2 (Sachse et al., 1999). U FDA (FDA, 2019) je pak zmínka o rukaparibu, opět však nikoliv v části o dávkování.

- CYP3A

Tento lokus se skládá ze 4 genů kódujících 4 enzymy: CYP3A4, CYP3A5, CYP3A7 a CYP3A43, přičemž CYP3A7 se exprimuje jen ve fetálním období a CYP3A43 se vyskytuje jen ve velmi malém zastoupení a nízkou enzymatickou aktivitou. O zbylých dvou se pak často mluví prostě jako o „CYP3A“, protože mají širokou a navzájem jen velmi obtížně odlišitelnou substrátovou specifitu. Podílejí se na metabolismu 45-60 % používaných léčiv (Burk et al., 2004), a vyskytují se v játrech v největším zastoupení ze všech enzymů P450 (Opdam et al., 2012). Obecně se CYP3A4 považoval za nepolymorfní enzym (bylo popsáno sice více alel, ale všechny měly zachovanou aktivitu), a ač byla popsána poměrně frekventovaná (alespoň ve španělské populaci, 1,2 - 3,8 %) alela

CYP3A4*20 spojená se ztrátou funkce (Apellaniz-Ruiz et al., 2015), zatím se zdá, že z farmakogenetického hlediska je význam CYP3A velmi malý. V FDA je CYP3A (konkrétně CYP3A5) zmíněn jen jednou u prasugrelu, a to tak, že farmakokinetika *není* ovlivněna genetickou variabilitou, což především vzhledem k počtu substrátů se zdá být dosti výmluvné. Je ovšem možné, že tento polymorfismus je etnicky vázán a může být proto do jisté míry v klinických studiích přehlížen (Guttman et al., 2019).

Další enzymy

- N-acetyltransferasa 2

Tento enzym je jedním ze základních kamenů farmakogenetiky: krátce po zavedení isoniazidu bylo zjištěno, že fenotyp pomalých metabolizátorů má vyšší riziko nežádoucích účinků – periferní neuropatie, oproti metabolizátorům rychlým, a že v populaci má NAT2 bimodální rozdělení s frekvencí PM fenotypu 10 % v japonské, 20 % v čínské, a 40 až 70 % v afroamerické a bělošské populaci (Gardiner and Begg, 2006), s AUC u pomalých metabolizátorů asi dvojnásobným oproti rychlým metabolizátorům. Pozdější studie poukázaly, že ve skutečnosti je rozdělení klasicky trimodální jako u jiných enzymů (Parkin et al., 1997).

Typický substrát je patrný z názvu a funkce enzymu: dochází k přenosu acetylové skupiny na akceptující amin a jeho bioisostery. Typicky tedy kromě isoniazidu také kofein (jenž často slouží rovněž k fenotypizaci (Grant et al., 1984)), prokainamid, aminoglutethimid, množství sulfonamidů, kyselina 5-aminosalicylová stejně jako její proléčivo sulfasalazin, dapson, hydralazin a další (Grant et al., 1990).

V současné době je farmagenetický význam NAT2 poměrně malý, i u isoniazidu problém periferní neuropatie, případně naopak selhání léčby u rychlých metabolizátorů při dávkování jednou za týden, v podstatě zmizel po zavedení moderní kombinační léčby tuberkulózy (Mitchell, 2020). U FDA (FDA, 2019) je NAT2 zmíněna pouze u amifampridinu, kdy je doporučena nižší dávka u pomalých metabolizátorů kvůli riziku nežádoucích účinků (73 u PM proti 7 u EM) související s pěti až desetinásobným zvýšením expozice u pomalých metabolizátorů (Haroldsen et al., 2015).

- Butyrylcholinesteráza (BCHE)

Tento enzym se podílí na metabolismu jen několika léčiv, především myorelaxancií suxamethonia a mivakuria, kromě toho pak také kokainu (Fang et al., 2011), prokainu a příbuzných lokálních anestetik (Dubbels and Schloot, 1983) a bambuterolu (Tunek et al., 1988). Její endogenní funkce není zcela jasná, ač se zdá, že se jedná primárně o

detoxifikační enzym vyskytující se převážně v tkáních ve styku s vnějším prostředím: tlusté střevo, a následná játra, či plíce, (Lockridge et al., 2016). Genetický polymorfismus, potažmo deficience butyrylcholinesterasy, má klinický význam hlavně u zmíněných myorelaxancií (Gardiner and Begg, 2006). Suxamethonium a mivakurium jsou rovněž jediné dvě látky, u nichž FDA uvádí varování: použití u známých homozygotů variantní alely BCHE jen, pokud vůbec, s velkou opatrností (FDA, 2019).

- Thiopurinmethyltransferáza (TPMT) a NUDT15

TPMT je v současné době zlatý standard farmakogenetiky, význam jejího genetického polymorfismu je již univerzálně akceptován. To se týká především azathioprinu a jeho prvního metabolitu 6-merkaptopurinu (6-MP), u nichž deficience tohoto enzymu předurčuje subjekt k léčivem indukované myelotoxicitě až s fatálním průběhem (Slanar et al., 2008b). Z tohoto důvodu se rutinně stanovuje aktivita tohoto enzymu, ať už přímo fenotypizací, či nepřímo genotypizací, před započítím terapie s tímto léčivem. V nedávné době byl u azathioprinu, 6-MP a thioguaninu přidán další genetický prediktor jejich toxicity: deficience NUDT15, neboli nukleotid difosfatázy (FDA, 2019), (Shah et al., 2018).

Frekvence funkčně deficitních alel TPMT byla stanovena v české populaci na 0,1 % (TPMT*2), 4,3 % (TPMT*3A), 0,1 % (TPMT*3B), and 0,4 % (TPMT*3C) (Slanar et al., 2008a).

Kromě již zmíněných FDA rovněž upozorňuje na cisplatinu, nicméně poukazuje na nekonzistenci predikční hodnoty TPMT u terapie tímto léčivem (FDA, 2019).

- Uridindifosfátglukuronyltransferasa 1A1 (UGT)

UGT byla prvním farmakogenetickým biomarkerem využívaným k predikci toxicity specifického léčiva - irinotekanu, u nějž její deficience zvyšuje riziko diarei a myelosuprese (Gardiner and Begg, 2006). Metabolizuje rovněž etoposid (Opdam et al., 2012), paracetamol (Bock et al., 1987) lamotrigin (Marques and Ikediobi, 2010), arformoterol (Goey and Figg, 2016). FDA UGT eviduje u 9 látek, u irinotekanu a belinostatu pak i v kapitole dávkování (FDA, 2019).

- Dihydropyrimidindehydrogenáza (DPD)

Tento enzym je endogenně důležitý pro metabolismus pyrimidinů, tyminu a uracilu, z hlediska léčiv pak pro metabolismus 5-fluorouracilu a jeho proléčiva capecitabinu (Etienne-Grimaldi et al., 2017), (Del Re et al., 2017). U těchto léčiv byl rovněž popsán vliv genetického polymorfismu DPD (Deenen et al., 2016), (Rosmarin et al., 2014) a je také zmíněn FDA, ač ne v kapitole dávkování (FDA, 2019).

Ostatní enzymy

S rozvojem molekulárních metod, zaváděním nových léčiv atd. se samozřejmě postupně odhalují další enzymy důležité v metabolismu léčiv. Jak je ostatně zřejmé z předchozích příkladů, jedná se především o cytostatika, jež mají inherentně úzký terapeutický index a každá variabilita může mít závažné důsledky. Nepřekvapí tedy, že i další studované enzymy se podílí především na metabolismu těchto léčiv: glutathion-S-transferáza důležitá pro busulfan, chlorambucil, karboplatinu, cisplatinu a oxaliplatinu, methyltetrahydrofolátreduktáza důležitá pro methotrexát, deoxycytidinkináza důležitá pro **aktivaci** cytarabinu, gemcitabinu, decitabinu, fludarabinu, a klofarabinu, cytidindeamináza důležitá pravděpodobně pro gemcitabin a decitabin, a bleomycinhydroláza důležitá pro bleomycin (Bertholee et al., 2017). Žádný z těchto enzymů není zcela etablován a FDA je neuvádí jako biomarkery důležité pro terapii těmito léčivy (FDA, 2019).

Transportéry

- ABC transportéry

ABC (z anglického ATP-binding cassette) jsou z hlediska farmakoginetika jedny z nejdůležitějších transportérů. Jedná se o primární aktivní transportéry, využívající hydrolyzu ATP k získání potřebné transportní energie (Ishikawa et al., 2004).

MDR1/ABCB1/Pgp

P-glykoprotein (Pgp), produkt genu *ABCB1*, je jeden z nejstudovanějších a nejznámějších transportérů, jehož význam spočívá v extrémně široké substrátové specifitě, od velkých a složitých molekul typu paklitaxelu (Yamaguchi et al., 2006) až po jednoduché látky jako fenytoin (Allabi et al., 2005) nebo dokonce ionty, a širokému rozšíření po těle s výskytem takřka ve všech tkáních (Thiebaut et al., 1987). Jeho typickými substráty jsou relativně hydrofobní látky, často s planárním aromatickým kruhem a terciární amino skupinou (You and Morris, 2007).

Mutace v Pgp a jejich vliv na farmakokinetiku byl popsán v řadě studií, u opiátů, jako methadon (Meineke et al., 2002), (Barratt et al., 2012), morfin (Meineke et al., 2002), tramadol (Slanar et al., 2007), antiepileptik lamotriginu (Lovric et al., 2012), gabapentinu (Puranik et al., 2013), karbamazepinu (Sterjev et al., 2012), antidepresiv venlafaxinu (Karlsson et al., 2011), trimipraminu (Uhr and Grauer, 2003), amitriptylinu (Uhr et al., 2007), cytostatik dokataxelu (Bosch et al., 2006), paklitaxelu (Yamaguchi et al., 2006),

doxorubicinu (Lal et al., 2008), imatinibu (Dulucq et al., 2008) či neznáměji u kardiotonika digoxinu, jenž se často používá jako modelová látka ke stanovení aktivity Pgp, a u nějž zvýšené koncentrace spojené s genetickou variabilitou byly asociovány dokonce se zvýšenou mortalitou (Neuvonen et al., 2011).

Multidrug resistance associated-proteiny (MRP)

Rodina transportérů ABC obsahuje rovněž početnou podrodinu ABCC o dvanácti členech, z nichž devět je tzv. MRP. S Pgp sdílí pouze 24 % AK homologii (Dean and Annilo, 2005), a mají tedy odlišnou substrátovou specifitu, inhibitory a rozšíření ve tkáních.

Alela rs6498588 v MRP1/ABCC1 byla asociována se zvýšenou expozicí aktivnímu metabolitu, SN-38, irinotekanu (Li et al., 2018). Genetická variabilita v genu pro MRP2/ABCC2 měla vliv na clearance diklofenaku u myši (Lagas et al., 2010), popř. jeho hepatotoxicitu u lidí (Daly et al., 2007), clearance karbamazepinu (Puranik et al., 2013); knock-out genu pro MRP3/ABCC3 pak zvýšil mj. koncentrace glukuronidů morfinu v plasmě u myši (Zelcer et al., 2005).

Breast cancer resistance protein (BCRP/ABCG2)

BCRP je další ABC efluxní pumpou, jak název napovídá, významnou například v resistenci prsních nádorů na cytostatika. Mezi jeho substráty patří typicky statiny, fluorochinolony a právě cystostatika (Choi and Yu, 2014). Homozygoté pro WT alelu mají často snížené expozice těmto lékům, jak bylo popsáno např. pro rosuvastatin, atorvastatin (Zhang et al., 2006), (Keskitalo et al., 2009).

- SLC transportéry

Na rozdíl od ABC transportérů nevyužívají ATP k přenosu, ale jsou založeny na výměně intra/extracelulárních iontů, a dělí se pak na aniontové transportéry (SLC21A9, SLC21A6, ...), kationtové transportéry (SLC22A5, SLC22A16), popř. peptidové transportéry (symport peptidu/vodíku) (Ishikawa et al., 2004).

U irinotekanu byla popsána signifikantně odlišná expozice a eliminace v závislosti na alelách SLC21A6 (SLCO1B1), tento transportér měl určitou predikční hodnotu též pro toxicitu irinotekanu, popř. společně s SLC19A1 v účinnosti jeho léčby. SLC22A16 měl vliv na expozici a toxicitu doxorubicinu, ne však na jeho účinnost (Chen et al., 2016).

1.1.2. Externí faktory

1.1.2.1. Ko-medikace

Lékové interakce jsou dalším velmi důležitým zdrojem farmakokinetické variability. Jsou svým způsobem podobné genetické variabilitě: dochází ke snížení aktivity metabolických enzymů a transportérů léčiv, v tomto případě však nejde o změnu trvalou, v genomu, tedy změnu genotypu, ale vliv je externí a přechodný, fenotypový. Další možností je ovlivnění fyzikálně-chemických vlastností místa absorpce (pH, iontová síla roztoku atp.), vazbu na proteiny, změny pH moči apod. Lékové interakce jsou kapitolou neuvěřitelně obsáhlou: téměř všechna léčiva jsou metabolizována nebo podléhají transportu atd., a tedy snad všechna léčiva mohou podléhat farmakokinetickým interakcím. Z tohoto důvodu je zde pouze shrnuta obecná podstata s několika příklady.

Absorpce

Míra absorpce je dána rozpustností léčiva, rychlostí přestupu přes intestinální membránu a dobou expozice (rychlostí tranzitu skrze GIT). Tyto parametry jsou ovlivnitelné fyziologicky či biochemicky a podléhají tedy lékovým interakcím (Hochman et al., 2015). Konkrétně se tedy může jednat o

Změna pH, nejčastěji pak o jeho navýšení a následný pokles rozpustnosti slabě zásaditých látek, jejichž rozpustnost kolísá s pH, a tedy i pokles expozice. Typickým příkladem jsou látky, u nichž je změna pH žádaným účinkem, tj. inhibitory protonové pumpy, antacida, H₂-antihistaminika apod. Typickou „obětí“ jsou pak inhibitory tyrosin kináz (Budha et al., 2012), jako dasatinib (Eley et al., 2009), palbociklib (Sun et al., 2017), neratinib (Keyvanjah et al., 2017), pazopanib (Tan et al., 2013), ale i antimykotik ketokonazol a itrakonazol, imunosupresiva mykofenolátu, a dalších (Wedemeyer and Blume, 2014).

Inhibice transportérů, nejčastěji efluxních pump s následným zvýšením expozice. Zde jsou případy velmi podobné jako v kapitole farmakogenetiky věnující se transportérům: verapamil a rifampicin či ritonavir jsou typické inhibitory Pgp s příslušným vlivem na farmakokinetiku jeho substrátů: bylo pozorováno zvýšení C_{max}, či AUC rivaroxabanu (Mueck et al., 2013), digoxinu (Greiner et al., 1999) nebo dabigatranu (Hartter et al., 2013) při jejich ko-administraci se zmíněnými inhibitory. Cyklosporin je pak příkladem inhibitoru BCRP a MRP1, MRP1 dále inhibují verapamil, disulfiram a další látky, a je zde tedy potenciál pro lékové interakce se substráty těchto pump, např. indinavir, ciprofloxacin, či doxorubicin pro MRP1, zidovudin, reserpin, lamivudine pro

BCRP. Využití inhibitorů těchto pump je zvažována rovněž v protinádorové terapii, jelikož nadměrná exprese MDR1, MRP1, BCRP jak už jejich název napovídá, je asociována s resistencí nádorů k terapii (Choi and Yu, 2014).

Ovlivnění vyprazdňování žaludku, potažmo rychlost tranzitu GIT obecně. Zpomalení vyprazdňování žaludku vede k oddálení T_{max} a tedy i nástupu účinku, naopak zrychlení tranzitu může vést především u látek s úzkým absorpčním oknem (kdy se látka vstřebává jen v určité části GIT), popř. s nízkou permeabilitou, k značnému poklesu expozice. Experimentální data toto potvrzují, osmoticky aktivní látky urychlující GIT tranzit mají vliv především na BCS III (ranitidin, cimetidin, amoxicilin) a IV (chlorthalidon), s malým efektem na BCS I (metoprolol a teofylin) (Chen et al., 2013). Zpomalení tranzitu způsobený metoklopramidem, opiáty a dalšími látkami má naopak pravděpodobně efekt univerzální a měl by být zvažován při podávání jakéhokoliv léčiva (Greiff and Rowbotham, 1994).

Již během absorpce je látka podrobena možným metabolickým přeměnám, ať už vlivem nízkého pH žaludku, jež může vést k deesterifikacím a dalším změnám spojeným s acidolabilitou některých funkčních skupin, ale především vlivem enzymů střevní stěny a jater během prvního průchodu. Tak látky, u nichž běžně dosahuje systémové cirkulace pouze malá část podaného množství, a je tedy nutno je podávat v odpovídající vyšší dávce, mohou dosáhnout toxických koncentrací při inhibici příslušných enzymů zodpovědných za tuto presystémovou eliminaci. Například proléčivo dabigatran etexilát, je presystémově deesterifikován esterázami na samotný dabigatran, který se špatně vstřebává, asi z 80 %, s výslednou biodostupností pouze 7 %. Malé změny v této deesterifikaci pak mohou vést k signifikantním změnám expozice (Hochman et al., 2015) – v extrémním případě až teoreticky k 14 krát zvýšené biodostupnosti, pokud by tato předčasná deesterifikace neproběhla vůbec.

Distribuce

Typickým příkladem lékových interakcí v distribuční fázi je kompetice ve vazbě na plazmatické proteiny. Jedná se o historicky velmi diskutované téma, ale v současné době převládá názor, že klinický význam je v naprosté většině zanedbatelný. Je tomu tak nejspíše proto, že je zapotřebí značné souhry mnoha faktorů, aby došlo ke skutečně signifikantnímu vlivu na farmakokinetiku, potažmo na farmakodynamiku. Jmenovitě je zapotřebí aby, léčivo mělo vysokou vazbu na plazmatické proteiny a aby nebyla jeho dávka titrována do účinku. Následně je nutné, aby vazebný protein měl limitovanou vazebnou kapacitu a léčivo způsobující interakci zabralo signifikantní část zbývající

vazebné kapacity. EMA v guideline (EMA, 2012) k rizikovým faktorům přidává úzký terapeutický index. EMA rovněž konkrétně definuje vysokou vazbu na plazmatické proteiny jako > 99 %. Na druhou stranu japonská léková agentura uvádí vazbu alespoň 90 %, ale přidává rovněž malý distribuční objem – maximálně v hodnotě extracelulární tekutiny (Japanese Ministry of Health, 2001), (Hochman et al., 2015), (Roberts et al., 2013), (Heuberger et al., 2013).

Metabolismus

Pokud jsou dvě léčiva metabolizována stejným enzymem, je zde potenciál pro interakci, pokud se podají zároveň. Léčivo s vyšší afinitou vytěsňuje substrát s aktivitou nižší, u nějž tedy dojde k poklesu clearance a vyšší/delší expozici. Vzhledem k tomu, že v terapeutických dávkách zřídka dochází k nasycení biotransformačního enzymu, je tento problém rovněž zřídka závažný. Větší signifikanci má existence inhibitorů, popř. induktorů enzymů. Inhibitory jsou látky, často i léčiva, která v rámci svých terapeutických koncentrací jsou schopna inhibovat biotransformační enzym; substráty tohoto enzymu musí využít ke své přeměně enzym jiný, pokud jej nemají, dochází k jejich kumulaci až dosažení toxických hladin, popř. snížení hladin a nedostatečnému účinku v případě proléčiva. Na druhou stranu induktory se váží na intracelulární receptory, a tento komplex způsobuje vyšší expresi daného enzymu metabolické přeměny a tedy i zvýšení jeho aktivity. Toto vede k opačným důsledkům než u inhibitorů, tedy k zvýšené destrukci léčiva a snížení účinku, resp. zvýšené přeměně proléčiva a zvýšení účinku. Několik nejzásadnějších příkladů uvádí Obr. 4 (Lynch and Price, 2007), pro opravdu vyčerpávající přehled lze jen doporučit práci autora Rendic (Rendic, 2002) o téměř 4000 záznamech. Tod. a kol. (Tod et al., 2017) vytvořili farmakokinetický model k predikci interindividuální variability lékových interakcí.

Enzyme	Potent inhibitors*	Potent inducer†	Substrates
CYP1A2	Amiodarone (Cordarone), cimetidine (Tagamet), ciprofloxacin (Cipro), fluvoxamine (Luvox‡)	Carbamazepine (Tegretol), phenobarbital, rifampin (Rifadin), tobacco	Caffeine, clozapine (Clozaril), theophylline
CYP2C9	Amiodarone, fluconazole (Diflucan), fluoxetine (Prozac), metronidazole (Flagyl), ritonavir (Norvir), trimethoprim/sulfamethoxazole (Bactrim, Septra)	Carbamazepine, phenobarbital, phenytoin (Dilantin), rifampin	Carvedilol (Coreg), celecoxib (Celebrex), glipizide (Glucotrol), ibuprofen (Motrin), irbesartan (Avapro), losartan (Cozaar)
CYP2C19	Fluvoxamine, isoniazid (INH), ritonavir	Carbamazepine, phenytoin, rifampin	Omeprazole (Prilosec), phenobarbital, phenytoin
CYP2D6	Amiodarone, cimetidine, diphenhydramine (Benadryl), fluoxetine, paroxetine (Paxil), quinidine, ritonavir, terbinafine (Lamisil)	No significant inducers	Amitriptyline, carvedilol, codeine, donepezil (Aricept), haloperidol (Haldol), metoprolol (Lopressor), paroxetine, risperidone (Risperdal), tramadol (Ultram)
CYP3A4 and CYP3A5	Clarithromycin (Biaxin), diltiazem (Cardizem), erythromycin, grapefruit juice, itraconazole (Sporanox), ketoconazole (Nizoral), nefazodone (Serzone‡), ritonavir, telithromycin (Ketek), verapamil (Calan)	Carbamazepine, <i>Hypericum perforatum</i> (St. John's wort), phenobarbital, phenytoin, rifampin	Alprazolam (Xanax), amlodipine (Norvasc), atorvastatin (Lipitor), cyclosporine (Sandimmune), diazepam (Valium), estradiol (Estrace), simvastatin (Zocor), sildenafil (Viagra), verapamil, zolpidem (Ambien)

CYP=cytochrome P.
*—These will slow down substrate drug metabolism and increase drug effect.
†—These will speed up substrate drug metabolism and decrease drug effect.
‡—Brand not available in the United States.

Obr. 4: Inhibitory, induktory a substráty jednotlivých enzymů CYP

Situaci dále komplikuje fakt, že vliv ko-medikace se může lišit mezi různými populačními kohortami, Jankovic *et al.* (Jankovic *et al.*, 2010) kupříkladu popsali, že u dospělých epileptických pacientů nejdůležitějším determinanem jimi vytvořeného FK modelu valproátu byla fenobarbitalem, zatímco u dětí karbamazepinem.

1.1.2.2. Kouření

V cigaretovém kouři bylo identifikováno asi 5000 sloučenin (Rodgman and Perfetti, 2013), není proto překvapením, že minimálně některé z nich budou mít efekt na farmakokinetiku léčiv, podobně jako léčiva. Z nich nejdůležitější jsou opět vlivy na biotransformační enzymy, jmenovitě indukce CYP1A1, CYP1A2, CYP2E1 a UDP-glukuronyltransferázy, pravděpodobně polycyklickými aromatickými uhlovodíky (PAH) (Iwanari *et al.*, 2002), (Nock *et al.*, 2007). CYP1A1 je známý jako aktivátor prokancerogenů, např. benzo[a]pyrenu, a zvýšená aktivita tohoto enzymu je silně asociována s rizikem rakoviny plic. CYP1A2 již probrán v kapitole farmakogenetiky. U kuřáků byla zaznamenána zvýšená clearance jeho substrátů, kofeinu, lidokainu, takrinu a dalších. U propranololu, mexiletinu a kodeinu byla pozorována zvýšená glukuronidace. Dalšími příklady, kdy není přesně znám mechanismus farmakokinetické interakce, jsou tricyklická antidepresiva, nortriptylin a imipramin, benzodiazepiny oxazepam,

alprazolam a klorazepát, haloperidol a heparin; vždy se jedná o sníženou expozici, potažmo zvýšenou eliminaci. Zajímavým příkladem je vliv kouření na dávky inzulínu. Ve studiích bylo zjištěno, že kuřáci vyžadují jeho vyšší dávky, což bylo následně vysvětlováno tím, že nikotin způsobuje periferní vazokonstrikci s následnou pomalejší absorpcí inzulínu z místa injekce – je to tedy farmakodynamický účinek vedoucí k farmakokinetické interakci (Kroon, 2007).

V nedávné době tuto problematiku zpracoval rovněž prof. Perlík. (Perlik). Jelikož v mariuahanovém kouří se rovněž vyskytují PAH, jsou interakce poměrně obdobné (Anderson and Chan, 2016), ač mírnější vzhledem k pravděpodobně nižšímu množství vykouřených marihuanových produktů. Vzhledem k tomu, že nikotin má vliv na tranzit skrze GIT (Scott et al., 1992), lze předpokládat i určité interakce zde – v případě kouření či ingesce nikotinových produktů v době před či po p.o. administraci léčiva, pro možné dopady viz odstavec lékové interakce, část věnující se absorpci.

1.1.2.3. Alkohol (Ethanol)

Vliv alkoholu na farmakokinetiku byl poměrně čerstvě shrnut autory Chan a Anderson (Chan and Anderson, 2014), viz Tab. 8. Obecně lze říci, že ethanol má farmakokinetický vliv především na absorpci léčiv, v menší míře pak na clearance.

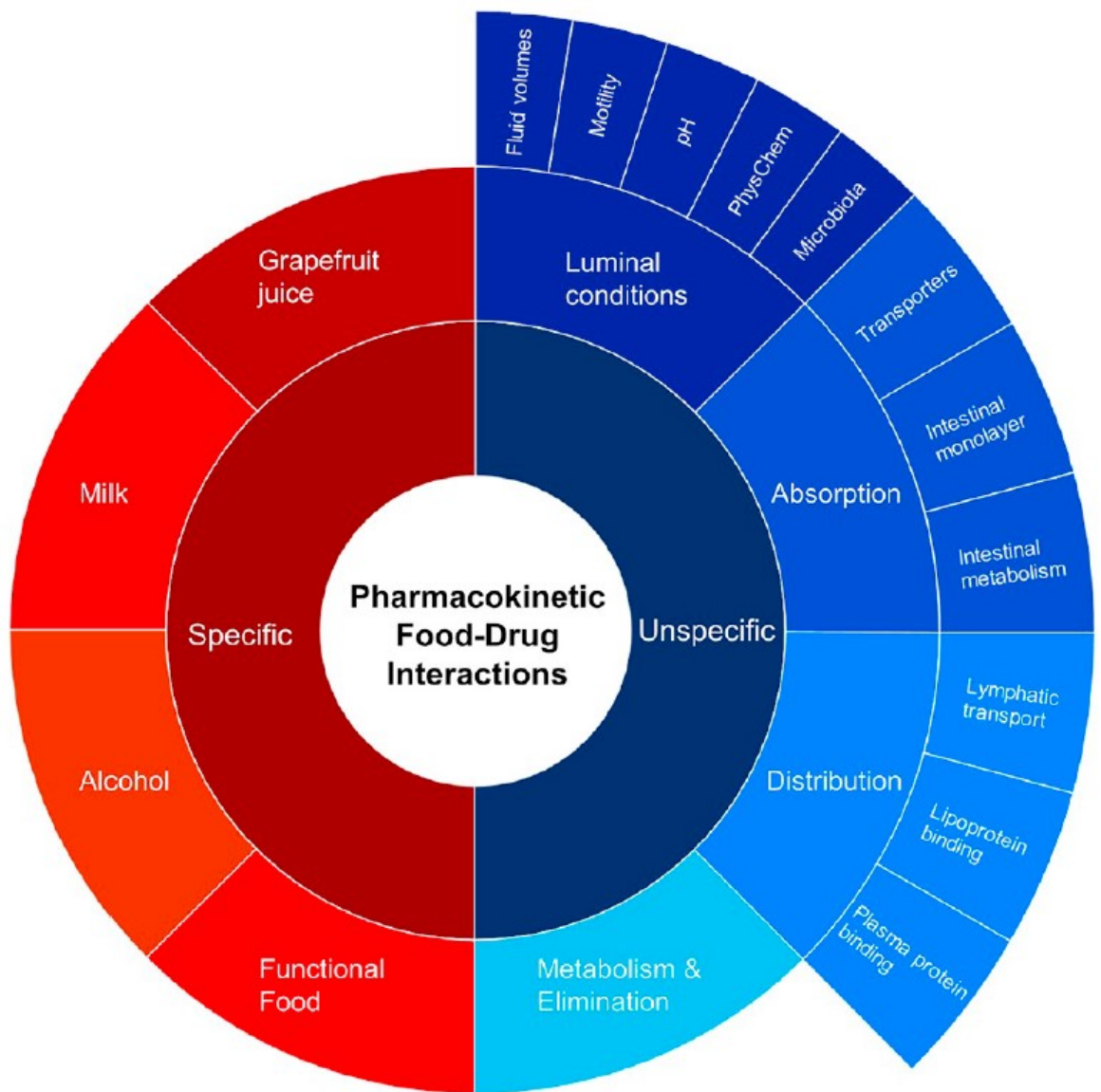
Tab. 8: Ethanol a jeho vliv na farmakokinetiku některých léčiv

Léčivo	Interakce
Paracetamol	Zvýšená formace NAPQI
Amitriptylin	Možné zvýšení AUC a Cmax
Acetylsalicylová kyselina	Snížení Cmax
Abakavir	Zvýšení Cmax, AUC a zkrácení biologického poločasu
Chlordiazepoxid	Akutně: Snížení CL, zvýšení AUC Chronicky: Snížení AUC
Diazepam	Jako chlordiazepoxid
Ezogabin	Zvýšení Cmax, AUC
Erytromycin	Oddálení Tmax, snížení AUC
Fluvoxamin	Zvýšení rychlosti absorpce
MDMA	Zvýšení Cmax
Morfin	Chronicky: Snížení formace glukuronidů
Nifedipin	Zvýšení AUC
Prokainamid	Zvýšení CL, snížení biologického poločasu, zvýšení N-acetylace
Tetracyklin	Zvýšení Cmax, AUC

AUC, plocha pod křivkou plazmatické koncentrace v čase; CL, clearance; Cmax, maximální koncentrace; MDMA, 3,4-metylendioxometamfetamin; NAPQI, N-acetyl-p-benzochinonimin, Tmax, čas do dosažení Cmax

1.1.2.4. Dieta

V přirozené stravě, tedy při požívání celých částí rostlin a zvířat, je obsaženo kromě makro a mikronutrientů i celá řada strukturních a metabolických složek, které mohou a často jsou metabolicky aktivní. Navíc i samotná přítomnost jídla v zažívacím traktu má velmi často významné důsledky pro disoluci a následnou absorpci léčiv, a proto v SPC je pak specifikováno, má-li být léčivo užito na lačno či s jídlem. Pracovní skupina „The European Network on Understanding Gastrointestinal Absorption-related Processes (UNGAP)“ nedávno publikovala extrémně podrobnou práci věnující se této problematice (Koziolek et al., 2019), Obr. 5, převzatý z této publikace, zobrazuje přehled možných interakcí mezi jídlem a léky. Většina zmíněných mechanismů zde již byla probrána v kapitolách předchozích. Např. pH ovlivní rozpustnost, tedy maximální dosažitelnou koncentraci. Koncentrace je rovněž ovlivněna objemem střevního obsahu. A konečně právě rozdíl koncentrací ve střevním lumen a krvi určuje gradient léčiva a tedy rychlost absorpce. Složky potravy mohou inhibovat biotransformační enzymy, nebo naopak soutěžit o aktivní transport nebo dále o plazmatické proteiny. Samotných mechanismů a hlavně i případných složek potravy je velmi mnoho, tyto pak dále mohou interagovat na úrovních již zmíněných (etnikum, farmakogenetika) a konečná komplexita je opravdu ohromující (Guttman et al., 2019).



Obr. 5: Farmakokinetické interakce mezi jídlem a léčivý

1.2. Variabilní léčiva

K studiu variability se tato práce zaměřila na tři léčiva se známou vysokou variabilitou (abirateron, nabumeton) popř. neznámou variabilitou, jež by mohla mít významné důsledky pro účinnost a bezpečnost léčiva (sufentanil).

1.2.1. Abirateron

Abirateron [(3S,8R,9S,10R,13S,14S)-10,13-dimethyl-17-pyridin-3-yl-2,3,4,7,8,9,11,12,14,15-dekahydro-1H-cyklopenta[a]fenanthren-3-ol] je inhibitor biosyntézy androgenů, molekulárně 17α -hydroxylázy/ $C_{17,20}$ -lyázy, využívající se v léčbě metastatické, ke kastraci rezistentní rakovině prostaty; jeho komerčně dostupná léčivá forma (Zytiga®) má popsanou značně vysokou variabilitu. Účinná látka, proléčivo abirateron acetát s pKa 5,19, vykazuje velmi nízkou rozpustnost závislou na pH, a zároveň velmi nízkou permeabilitu. Tyto vlastnosti pak vedou k náchylnosti k externím vlivům: jídlo, především tučné, u abirateron acetátu zvyšuje desetinásobně expozici. Z tohoto důvodu se podává na lačno, aby se předešlo vysokým expozicím a kvůli předvídatelnější farmakokinetice, ale ve velmi vysoké dávce – 1000 mg qd. Vývoj léčivé formy, jež by navýšila biodostupnost abirateronu na lačno by bylo v konečném důsledku možno eliminovat efekt jídla a navíc snížit dávkování.

1.2.2. Nabumeton

Nabumeton [4-(6-methoxy-2-naftyl)-butan-2-on], zástupce nesteroidních protizánětlivých léčiv, tj. inhibitorů cyklooxygenázy, byl zvolen, protože jeho farmakokinetika, potažmo farmakokinetika jeho aktivního metabolitu 6-MNA, vykazuje určité znaky vysoce variabilního léčiva: jeho T_{max} se pohybuje v extrémním rozsahu 1,5 až 48 h (Davies, 1997), (de Jager et al., 2000), (Kendall et al., 1989), farmakokinetika 6-MNA pak často také vykazovala dvojitý pík, nejčastěji mezi desátou a 24 hodinou (de Jager et al., 2000), (Lee et al., 1995), ačkoliv nabumeton nevykazuje charakteristiky často vedoucí k farmakokinetice s dvěma píky, tj. enterohepatální oběh nebo specifický metabolismu nebo absorpci (Davies, 1997). Navíc farmakokinetika nabumetonu nebyla extenzivně studována, a byla popisována pouze farmakokinetika aktivního metabolitu – 6-MNA.

1.2.3. Sufentanil

Sufentanil [N-(4-(methoxymethyl)-1-(2-(2-thienyl)ethyl)-4-piperidiny)-N-fenylpropanamid] je syntetické opioidní analgetikum s 10 a 500-100-násobnou potencí oproti fenylovému analogu fentanylu, resp. morfinu. Jako takový je tedy sufentanil jedním z nejúčinnějších opioidů používaných v humánní terapii (Suzuki and El-Haddad, 2017), kde našel místo především v celkové anestézii, zatímco jako klasické analgetikum se používá poměrně vzácně (Willens and Myslinski, 1993). V rámci celkové anestézie se povětšinou aplikuje jako bolus následovaný kontinuální infuzí (Clotz and Nahata, 1991). Vzhledem ke své vysoké účinnosti jsou jeho terapeutické koncentrace poměrně nízké, v rozmezí 0,4 až 1 ng/ml (Iannuzzi et al., 2004).

2. Cíle

Hlavním cílem mé práce bylo studovat variabilitu farmakokinetiky na klinické i preklinické úrovni s cílem predikovat variabilitu farmakokinetiky v cílové populaci. Dílčí cíle této práce byly následující:

- Zavést metodu pro kvantifikaci sufentanilu v lidské plazmě
- Studovat vliv farmakogenetických faktorů (MDR1, OPRM1) na farmakokinetiku sufentanilu
- Studovat variabilitu farmakokinetiky nabumetonu
- Studovat vliv pohlaví na farmakokinetiku nabumetonu a jeho aktivního metabolitu 6-metoxy-naftyloctové kyseliny
- Studovat vliv farmakogenetických faktorů (MDR1, CYP2D6) na farmakokinetiku nabumetonu a jeho aktivního metabolitu 6-metoxy-naftyloctové kyseliny
- Zavést pre-klinický model pro predikci absorpce léků u člověka
- Popsat preklinickou farmakokinetiku nových lékových forem abirateronu

3. Metody

3.1. Validace metody pro stanovení sufentanilu v lidské plazmě

3.1.1. Materiály

Sufentanil citrát (0,1 mg/ml) a fentanyl citrát (interní standard, IS, čistota > 99,0 %) byly zakoupeny u Cerilliant, resp. LipoMed AG. Methanol, mravenčí kyselina a 0,1 % roztok mravenčí kyseliny v metanolu a ve vodě, všechny o LC/MS čistotě, byly zakoupeny od Sigma Aldrich (St. Louis MO, USA). Milli-Q-Systém od Millipore (Bedford MA, USA) byl použit pro přípravu deionizované vody (DV). BondElut Certify 50 SPE kolonka byla zakoupena od Agilent (Santa Clara CA, USA).

3.1.2. Příprava vzorku

Bond Elut® Certify kolonka byla kondicionována postupně 1 ml methanolu a 1 ml DV. Vzorky byly připraveny následovně: 0,25 ml plazmy bylo smícháno s 0,65 ml DV, 0,05 ml příslušného pracovního roztoku (pro kalibrační standardy) nebo methanol (pro klinické vzorky a nulové/blank vzorky) a 0,05 ml pracovního roztoku IS (1 ng/ml, kromě blank vzorku). Roztok byl nanesen na kolonku a nechán pomalu prokapat pod vakuem. Kolonka byla promyta 1 ml 1 % methanolu v DV a sušena 10 minut pod vakuem. Vzorek byl nakonec vymyt z kolonky 1 ml methanolu. Eluovaná frakce byla odpařena a vysušena pod proudem dusíku při 40 °C. Reziduum bylo rozpuštěno v 0,25 ml mobilní fáze a 0,01 ml nastříknuto do LC-MS/MS systému. Každý vzorek byl analyzován v tripletu a byla vypočtena průměrná hodnota.

3.1.3. Kapalná chromatografie – hmotnostní spektrometrie

3.1.3.1. Systém

Thermo TSQ Quantum Ultra Triple Stage Quadrupole hmotnostní spektrometr s duální pumpou Dionex UltiMate 3000 (Thermo Scientific, Waltham MA, USA), degasérem, autosamplerem a kompartmentem s termostatem pro kolonu, byl použit pro chromatografickou separaci a detekci. Analýza dat byla provedena v programu Xcalibur Workspace Software verze 2.2 SP1 (Thermo Scientific, Waltham MA, USA).

3.1.3.2. Podmínky kapalné chromatografie

Chromatografická separace byla provedena na Kinetex Evo C18 koloně (50 x 2,1 mm vnitřního průměru, velikost částic 5 µm, Phenomenex, Torrance CA, USA) za použití

gradientové eluce s dvěma 0,1% roztoky HCOOH: v methanolu (A) a DV (B) s průtokem 0,4 ml/min. Eluce začala na 95 % mobilní fáze B a 5 % mobilní fáze A. Toto bylo postupně převráceno na 25 % fáze B a 75 % fáze A ve 4 minutách. Po dalších dvou minutách byla eluční fáze změněna na původní hodnoty. Celkový čas analýzy byl 10 minut. Kolona byla udržována během analýzy při teplotě $25 \pm 0,5$ °C.

3.1.3.3. MS/MS podmínky

Kvantifikace sufentanilu a IS byla provedena pomocí selected reaction monitoring (SRM). V pozitivním módu byly sledovány tyto přechody: m/z 387,2 \rightarrow 238,2 a 111,2 pro sufentanil, a m/z 337,5 \rightarrow 105,2 a 188,2 pro IS, tlak kolizního plynu (Ar) byl udržován na 1,5 mTorr a skenovací šířka obou kvadrupólů byla nastavena na 0,7 Da. Samotná analýza proběhla za následujících podmínek: sprejové napětí 3470 V, teplota vaporizéru 350 °C, sheath gas, ion sweep gas a auxiliary gas tlak 35 arbitrárních jednotek, 6,0 arbitrárních jednotek, resp. 10 arbitrárních jednotek, kapilární teplota 320 °C. Pro optimalizaci podmínek detekce pomocí hmotnostní spektrometrie bylo přímo do MS injikovány standardní roztoky (10 μ g/ml) sufentanilu a IS. Podmínky specifické pro jednotlivé látky jsou shrnuty v Tab. 9.

Tab. 9: Optimalizované podmínky SRM vyvinuté MS metody

Původní iont (m/z)	Ionť produktu (m/z)	Kolizní energie (odpovídající napětí ve V)	T Lens (V)
337.5	105.2	36	89
337.5	188.2	20	89
387.2	111.2	35	74
387.2	238.2	18	74

3.1.4. Validace

Metoda byla validována podle doporučení Evropské lékové agentury (EMA, 2011), specificky následující parametry byly sledovány: selektivita, senzitivita, linearita, preciznost a přesnost a efekt matrice. Stabilita nebyla zhodnocena, protože je závislá především na chemických vlastnostech a jako taková byla stanovena dříve a tedy se to nezdálo být nutné.

3.1.4.1. Pracovní roztoky standardů

Standardní roztok sufentanilu (100 µg/ml) byl získán přímo od výrobce jako roztok, z něj byly připraveny pracovní roztoky o koncentraci 5, 2,5, 1,25, 0,625, 0,312, 0,156 a 0,078 ng/ml. V methanolu byl připraven i standardní roztok IS (1 mg/ml), který byl naředěn na pracovní roztok (1 ng/ml).

3.1.4.2. Kalibrační roztoky a roztoky kontroly kvality

Plazma byla získána centrifugací (4000 g po 5 min) krve získané od léčiva-prostých dobrovolníků (EDTA byla použita jako antikoagulans) a byla skladována při -20°C před analýzou. V této plazmě byly připraveny čerstvé kalibrační roztoky o finální koncentraci 1000, 500, 250, 125, 62,5, 31,3 a 16 pg/ml sufentanilu a roztoky kontroly kvality o koncentracích 40 (QC1), 400 (QC2) a 800 (QC3) pg/ml sufentanilu.

3.1.4.3. Selektivita

Selektivita metody byla ověřena analýzami šesti různých blank vzorků lidské plazmy, které byly srovnány s analýzami kalibračního vzorku o nejnižší koncentraci (16 pg/ml). Byla provedena analýza nulového vzorku (blank vzorek s IS) pro vyloučení přítomnosti iontů IS v pících sufentanilu.

3.1.4.4. Linearita

Závislost ploch píků sufentanilu/IS proti teoretickým koncentracím kalibračních standardů byla vynesena do grafu. Takto byly vytvořeny kalibrační křivky zahrnující předpokládané koncentrace sufentanilu v klinických vzorcích (16 – 1000 pg/ml). Korelační koeficient (R^2 minimálně 0,99) byl určen lineární regresí metodou nejmenších čtverců.

3.1.4.5. Přesnost a preciznost

QC1, QC2, QC3, každý v šesti měřeních, byly analyzovány pro určení intra-denní performance. Intra-denní přesnosti byly vypočteny jako průměr analýz vztažený k teoretické koncentraci. Intra-denní preciznost byla pak vypočtena jako relativní standardní odchylka analýz. Analogicky byla stanovena inter-denní performance, tentokrát v analýzách uskutečněných ve třech různých dnech.

3.1.4.6. Efekt matrice

Faktor matrice (FM) byl stanoven výpočtem poměru plochy píku v přítomnosti plazmy (změřené analýzou blank vzorku obohaceným o příslušný analyt po extrakci) vůči ploše píku v absenci plazmy (čistý roztok analytu). IS-normalizovaný MF byl rovněž vypočten vydělením MF sufentanilu MF IS. Tyto analýzy byly provedeny na dvou koncentracích sufentanilu a jedné koncentraci IS.

3.1.4.7. Limity

Dolní limit kvantifikace byl stanoven jako nejnižší koncentrace sufentanilu v lidské plazmě, u níž kvantifikace splňuje daná kritéria, tj. preciznost nižší nebo rovna 20 % a přesnost v rozmezí 80-120 %, měřené v šesti opakováních. Toto bylo určeno měřením nižších a nižších koncentrací až do okamžiku, kdy tato podmínka nebyla splněna.

3.1.4.8. Carry-over

Absence carry-over efektu byla stanovena analýzou blank vzorků po nástřiku nejvyššího kalibračního standardu (1000 pg/ml).

3.1.5. Aplikace metody

Metoda byla následně použita pro analýzu koncentrací sufentanilu u pětadvaceti pacientů podstupujících operaci srdce. Sufentanil byl pro indukci do anestézie (1 µg/kg) a byl postupně infundován během anestézie v dávce (0,5 µg/kg/h). Občas byl v případě nutnosti podán další bolus. Dalšími použitými látkami byl midazolam (0,05 mg/kg i.v.) a rokuronium (0,6 mg/kg) pro indukci a následně 1 % isofluranu ve vdechovaném vzduchu. Vzorky byly odebrány v časech 5 a 120 minut během infúze a následně 5, 15, 30, 60, 120, 240, 360, 720 a 1440 minut po skončení infúze. Plazma byla separována po centrifugaci a zmražena před analýzou.

3.1.6. Genotypizace

Z krve dobrovolníků odebrané do zkumavek obsahujících EDTA byla pomocí standardní fenol-chloroformové metody izolována DNA (Cascorbi et al., 2001). Tato byla následně podrobena analýzám pro stanovení genotypu OPRM1 a MDR1.

Genotyp MDR1 byl stanoven jak bylo popsáno v (Pechandova et al., 2006), metodou upravenou dle (Cascorbi et al., 2001). Stručně, DNA amplifikace byla provedena v MyCycle thermocykleru (Biorad Laboratories, Hercules, CA) v následujících cyklech: počáteční denaturace (2 min, 94 °C), následována 35 cykly denurací (30 s, 94 °C), anelací (45 s, 60 °C), extenzí (60 s, 72 °C) a zakončená finální extenzí (7 min, 72 °C), v reakční směsi obsahující genomickou DNA (60 ng), primery (sekvence jako v (Cascorbi et al., 2001), 8 nM), PCR pufr (Top-Bio s.r.o. Praha, Česká republika), dNTP (200 µM, Fermentas, Litva), MgCl₂ (1.7 mM, Top-Bio s.r.o. Praha, Česká republika) a Taq DNA Polymerázu (0,5 jednotek, Top-Bio s.r.o. Praha, Česká republika) a doplněná sterilní deionizovanou vodou na finální objem 0,025 ml. Produkty získané z této PCR reakce byly inkubovány s restriktázami *Xap*I, *Bse*NI a *Bsh*NI a *Bsp*1431 (New England Biolabs, USA)

přes noc při 37 °C. Fragmenty byly následně separovány pomocí elektroforézy na agarovém gelu (3,5 %, Top Vision, Fermentas, Litva) a vizualizovány po barvení ethidium bromidem pod UV světlem.

Stanovení genotypu A118G v OPRM1 byla provedena jak bylo popsáno v (Bartosova et al., 2015). Stručně, byla použita validovaná metoda PCR-RFLP s primery o sekvencích 5'-AACACATACATGACCAGGAAGT a 5'-GGTCAACTTGTCCCACTTAGATC. Amplifikace DNA byla uskutečněna v My-Cycler (BioRad, USA), v 27 µl reakčním objemu obsahujícím genomickou DNA (60 ng), MgCl₂ (3 µl, 25 mM, Fermentas, Litva), roztok primerů (0.5 µl, 10 mM), dNTP (2,5 µl, 10 mM, Fermentas, Litva), 10x Biotherm pufer (2,5 µl, Fermentas, Litva), Tag DNA polymerázy (0,15 µl, Fermentas, Litva) a 15,85 µl sterilní deionizované vody v následující sekvenci: počáteční denaturace (2 min, 94 °C), následována 35 cykly denurací (30 s, 94 °C), anelací (45 s, 60 °C), extenzí (60 s, 72 °C) a zakončená finální extenzí (7 min, 72 °C). Produkty získané z této PCR reakce byly inkubovány s restriktázami *Bsh1236 I* přes noc při 37 °C. Fragmenty byly následně separovány pomocí elektroforézy na agarovém gelu (3,5 %, Top Vision, Fermentas, Litva) a vizualizovány po barvení ethidium bromidem pod UV světlem.

3.2. Ne-klinická studie

3.2.1. Materiály

Ketamin (Narkamon 100 mg/ml inj sol, Bioveta, Ivanovice na Hané, Česká republika) a xylazin (Rometar 20 mg/ml inj sol, Bioveta, Ivanovice na Hané, Česká republika) byly použity v *in vivo* studii. Amoxicilin s klavulonovou kyselinou (Sunulox RTU inj 100 ml, Zoetis / Pfizer, Česká republika), Isofluran (IsoFlo 250 ml, Zoetis / Pfizer, Česká republika), heparin (Heparin Léčiva inj 1x10 ml/50KU, Zentiva, Česká republika), Ketoprofen (Ketodolor inj 100 ml, LeVet Pharma b.v., Nizozemsko), Betadine (Egis, Maďarsko) a tkáňové lepidlo Henry Schein byly zakoupeny u Henry Schein (Brno, Česká republika). 4 lékové formy abirateron acetátu byly laskavě poskytnuty Zentivou, Česká republika.

3.2.2. Zvířata

Samci potkanů plemene Wistar byli zakoupeni u Velaz, Česká republika. Před započítím studie, zvířata byla aklimatizována standardním podmínkám (12 hodinový

cyklus dne-noci, teplota 22 ± 2 °C, relativní vlhkost 50 ± 10 %) a s *ad libitum* přístupem k vodě a standardní granulované potravě. Jídlo bylo odebráno na dobu 4 hodin před a po aplikaci, tj. celkově 8 hodin. Všechny experimenty a postupy byly provedeny v souladu s principy užití laboratorních zvířat Univerzity Karlovy se snahou o maximální minimalizaci utrpení zvířat. Experiment byl schválen Ministerstvem zemědělství a Ministerstvem školství, mládeže a tělovýchovy České republiky pod číslem 70030/2013-MZE-17214, resp. MSMT-9445/2018-8. Upravený katetr z polyuretanu medicínské jakosti (1.9-3Fr, Instech Laboratories, Plymouth Meeting, PA USA) byl propláchnut heparinizovaným glycerolem (250 IU/ml) a uzavřen portem (22 ga PinPort, Instech Laboratories) byl zaveden do *a. carotis* dle metodiky popsané Feng a kol. (Feng et al., 2015). Potkani byli před operací uspáni isofluranem (2,5-5 %), načež jim byl i.m. aplikován ketamin (100 mg/kg) a xylazin (5 mg/kg) pro udržení anestézie během operace, a s.c. antibiotikum jako prevence infekce (amoxicilin/klavulonová kyselina 1 ml/kg). Ketoprofen (5 mg/kg, s.c.) byl aplikován ihned po operaci a poté každých 12 hodin, pokud potkan jevil známky bolesti. Katetr byl proplachován denně fyziologickým roztokem (200 μ l), čistým heparinem (50 μ l) a utěsněn heparinizovaným glycerolem (30 μ l) za užití stříkaček s PinPort injektorem (22 ga, Instech Laboratories).

3.2.3. Plán studie

Randomizovaná studie byla provedena v modelu nekompletního bloku za účelem srovnání farmakokinetiky 4 lékových forem abirateronu: Prototyp 1, Prototyp 2, Pozitivní kontrola, reference). Potkani, u nichž došlo k úplnému zotavení s navýšením hmotnosti alespoň deseti gramů oproti před-katetrizační váze, byli randomizováni. Každému randomizovanému potkanu byly postupně administrovány tři ze čtyř lékových forem abirateronu s 48-hodinovou wash-out periodou mezi jednotlivými podáními v příslušné sekvenci (viz Tab. 10) dané randomizační skupinou. V den podání byla po 4-hodinovém odebrání přístupu k potravě potkanům gastrickou sondou aplikována příslušná léková forma (4,5 mg abirateronu v 1 ml deionizované vody, viz protokoly pro přípravu níže). Přístup k potravě byl opět umožněn až po ukončení odběrů, tj. po 4 hodinách.

3.2.4. Příprava suspenzí pro aplikaci

3.2.4.1. ODP

Tablety Zytiga® 250 mg o průměrné váze 712 mg byly rozdrceny v laboratorním hmoždíři tloučkem a do 3-ml vialek bylo naváženo 33 mg, k rozpuštění v 2,5 ml

deionizované vody. To odpovídá $((250/712)*33)/2,5$, tj. 4,6 mg/ml abirateron acetátu. Těsně před administrací pak bylo do těchto vialek napipetováno 2,5 deionizované vody, vialka uzavřena a ručně třepána 2 minuty tak, aby žádný materiál nezůstal přilepen ke stěně. Poté se vialky sonikovaly 20 minut. Z vialky byl následně okamžitě podán dvěma potkanům 1 ml suspenze, v případě potřeby se vialka před administrací protřepala, aby se zabránilo sedimentaci.

3.2.4.2. Pozitivní kontrola

Obdobně bylo do každé vialky naváženo 64 mg lékové formy „pozitivní kontrola“, odpovídající po rozpuštění v 2,5 ml deionizované vody 4,6 mg abirateron acetátu. Těsně před administrací bylo do vialky napipetováno 2,5 ml deionizované vody, a vialka byla ručně třepána 1 minutu tak, aby byl všechn materiál zcela dispergován. V opačném případě byla vialka třepána další minutu. Z vialky byl následně okamžitě podán dvěma potkanům 1 ml suspenze, v případě potřeby se vialka před administrací protřepala, aby se zabránilo sedimentaci.

3.2.4.3. T1

Obdobně bylo do každé vialky naváženo 37 mg lékové formy T1, odpovídající po rozpuštění v 2,5 ml deionizované vody 4,6 mg abirateron acetátu. Těsně před administrací bylo do vialky napipetováno 2,5 ml deionizované vody, a vialka byla ručně třepána tak, aby žádný materiál nezůstal přilepen ke stěně. Poté se vialky sonikovaly maximálně 5 minut: po každé minutě byla vialka ručně protřepána a suspenze zkontrolována na přítomnost větších nedispergovaných částic. V jejich nepřítomnosti byla sonikace ukončena. Z vialky byl následně okamžitě podán dvěma potkanům 1 ml suspenze, v případě potřeby se vialka před administrací protřepala, aby se zabránilo sedimentaci.

3.2.4.4. T2

Obdobně bylo do každé vialky naváženo 42 mg lékové formy T2, odpovídající po rozpuštění v 2,5 ml deionizované vody 4,6 mg abirateron acetátu. Těsně před administrací bylo do vialky napipetováno 2,5 ml deionizované vody, a vialka byla ručně třepána tak, aby žádný materiál nezůstal přilepen ke stěně. Poté se vialky sonikovaly maximálně 5 minut. Po každé minutě byla vialka ručně protřepána a suspenze zkontrolována na přítomnost větších nedispergovaných částic. V jejich nepřítomnosti byla sonikace ukončena. Z vialky byl následně okamžitě podán dvěma potkanům 1 ml suspenze, v případě potřeby se vialka před administrací protřepala, aby se zabránilo sedimentaci.

3.2.5. Odběry vzorků krve

Vzorky krve (150 µl) byly odebírány přes katetr před a po administraci v časech 0,5, 1, 1,5, 2, 2,5, 3 a hodiny. Objem odebrané krve byl nahrazen sterilním fyziologickým roztokem a katetr uzavřen zátkou heparinizovaného fyziologického roztoku (1250 IU/ml). Vzorky byly centrifugovány po 10 minut při 2000 x g a 4 °C. Vzorky séra byly skladovány při -80 °C před dalším zpracováním.

Tab. 10: Plán neklinické studie

Číslo skupiny	Sekvence dávkování nových lékových forem				
	Perioda 1	Washout perioda	Perioda 2	Washout perioda	Perioda 3
1	ODP		Pozitivní kontrola		T ₁
2	T ₂		ODP		Pozitivní kontrola
3	T ₁		T ₂		ODP
4	Pozitivní kontrola	T ₁	T ₂		

3.2.6. Analýza

Vzorky byly zpracovány a měřeny na katedře analytické chemie přírodovědecké fakulty Univerzity Karlovy. V krátkosti, k determinaci abirateronu byla využita kapalinová chromatografie na Agilent Infinity 1290 systému s triple quad 6460 tandemovým hmotnostním spektrometrem (Agilent Technologies, Waldbronn, Německo). K separaci byla použita UPLC BEH C18 kolona (100 x 2,1; 1,7 µm) Acquity kolona (Waters, Milford, MA) termostatovaná na 40 °C. Mobilní fáze byla složena z 0,1 % mravenčí kyseliny v deionizované vodě (A) a acetonitrilu (B). Průtok byl udržován na 0,35 ml/min. Optimalizovaný gradientový program (min/% B) byl 0/30, 1,5/90, 3,0/90, 3,5/30 a 6,0/30. Injekční objem byl 2 µl a vzorky byly udržovány při 10 °C. Měření tandemové hmotnostní spektrometrie byly provedeny v módu multiple reaction-monitoring (MRM) za využití pozitivní elektrosprejové ionizace. MRM přechody 350,2 > 156,0 a 354,2 > 160,0 (kolizní energie 65 V a napětí fragmentoru 170 V) byly monitorovány pro abirateron, resp. abirateron-d4 (interní standard). Iontový zdroj byl nastaven následovně: teplota plynu: 350 °C, průtok plynu: 8 L/min, tlak nebulizéru: 241 kPa, kapilární napětí 4000 V. 100 µl acetonitrilu obsahující abirateron-d4, 32 ng/ml) bylo přidáno k 25 µl plazmy, protřepáno na vortexu a centrifugováno (10 min/12500 rpm). 70 µl supernatantu bylo převedeno do chromatografické vialky. Linearita vyvinuté metody byla ověřena v koncentracích 1-600

ng/ml s přesností (relativní chyba %) v rozmezí $\pm 7,1$ % a denní a mezidenní precizností 2,4 až 5,2 %.

3.2.7. Farmakokinetická a statistická analýza

Farmakokinetická a statistická analýza byla provedena pomocí Phoenix WinNonlin® (Cartera Princeton, NJ, USA). Koncentrace byly před analýzou přepočteny na hmotnost potkana. Sledované parametry byly C_{\max} , AUC a T_{\max} . Přirozená logaritmická transformace C_{\max} a AUC byla použita ve všech statistických výpočtech. AUC bylo spočítáno pomocí trapezoidálního pravidla, C_{\max} a T_{\max} byly vzaty z naměřených dat pro každého potkana a administraci. Farmakokinetické parametry byly analyzovány pomocí modelu ANOVA. Fixní faktory v tomto modelu byly faktor subjektu, podané lékové formy a periody a sekvence podání. 90% konfidenční intervaly pro exponent rozdílu v průměrech nejmenších čtverců mezi Testy a referenčním produktem byl spočítán pro přirozené logaritmické transformace farmakokinetických parametrů (poměr průměrů nejmenších čtverců pro Test proti referenci). Aktuální časy odběrů byly použity pro všechny farmakokinetické výpočty. Plánované časy odběrů byly použity pouze pro průměrné farmakokinetické křivky jednotlivých lékových forem. GraphPad Prism verze 8.00 pro Windows (GraphPad Software, La Jolla, CA, USA) byl použit pro vynesení těchto průměrných grafů.

3.3. Klinická studie

3.3.1. Materiály

Nabumeton (Relifex® 500 mg MEDA AB Sweden) byl použit v klinické studii. Odběrové zkumavky (S – Monovette s Li-heparinem, Sarstedt, Numbrecht, Německo) byly použity pro odběr vzorků. Nabumeton p.a. (Sigma-Aldrich), 6-methoxy-2-naftyloctová kyselina (6-MNA) p.a. (MP Biomedicals) a naproxen jako interní standard, 98% (Sigma-Aldrich) byly použity v analytické metodě.

3.3.2. Plán studie

Plán studie byl proveden v klasické formě bioekvivalenčních studií, nicméně v obou periodách byl podán stejný přípravek. Jednalo se tedy o nezaslepenou, two-way studii s jednorázovým podáním nabumetonu v periodě. Wash-out byl 14 dní.

3.3.3. Dobrovolníci

Vhodní dobrovolníci byli definováni: 18 – 55 let, BMI v rozmezí 19,0 až 24,9 kg/m². Subjekt musel být zdravý ve fyzikálním, biochemickém a hematologickém vyšetření. Mezi vylučující kritéria patřila účast v jiné klinické studii v předchozích 3 měsících, užívání produktů obsahujících nabumeton v předchozích 4 týdnech, alergie k nabumeton nebo chemicky příbuzným molekulám, užívání jakékoliv medikace kromě povolené komedikace (perorální kontraceptiva), žíly nevhodné k opakovaným vpichům, systémové onemocnění schopné ovlivňovat metabolismus léčiv, nebo historie zneužívání drog či alkoholu, kouření více než 9 cigaret denně, aktivní virová infekce spojená s horečkou v předchozích 4 týdnech. Ženy navíc nesměly být těhotné nebo v laktaci. Studijní protokol byl schválen etickou komisí Všeobecné fakultní nemocnice v Praze, Česká republika a studie byla provedena v souladu s etickými principy Helsinské deklarace a jejích dodatků. Vzhledem k plánovanému studiu vlivu pohlaví a genotypu MDR1 a CYP2D6, dobrovolníci byli vybráni tak, aby bylo 12 žen a 12 mužů, vždy po 6 homozygotech pro variantní a wildtype alelu u každého pohlaví.

3.3.4. Administrace přípravku

Dobrovolníci byli krátce hospitalizováni. Po nočním, alespoň 10-hodinovém lačnění byla dobrovolníkům ráno ve studijní dny 1 a 15 podána jedna tableta Relifex® (obsahující 500 mg nabumetone) s 250 ml vody pod dohledem studijní sestry. Subjektům bylo podáno standardizované jídlo ne dříve než po 4 hodinách od podání studované medikace a následně v příslušných časech v každé periodě. S výjimkou vody k zapití tablety nebylo pití dovoleno hodinu před a po podání studijní medikace, jinak bylo dovoleno *ad libitum*.

3.3.5. Odběry vzorků

Vzorky venózní krve (9 ml) byly odebírány do zkumavek s heparinem před a 1, 2, 3, 4, 6, 8, 10, 12, 24, 48, 72 a 96 hodin po podání. Vzorky byly ihned centrifugovány po 10 minut při 2000 x g a 4 °C. Plazma byla rozpipetována po alikvotech o 1,5 ml do zkumavek a uchována při -80 °C až do analýzy.

3.3.6. Analýza

Ke stanovení koncentrací nabumetonu a jeho aktivního metabolitu 6-MNA v plazmě byla použita validovaná kapalinová chromatografie s UV detekcí. V krátkosti, vzorky plazmy byly zpracovány pomocí extrakce na solidní fázi. Kolonky Discovery® DSC-18 (1

ml, 100 mg, Supulco, USA) byla kondicionována 2 ml methanolu, a následně 2 ml vody. Směs 0,5 ml plazmy, 0,5 ml fosfátového pufru (pH 2), 50 µl fosforové kyseliny (10 %) a 50 µl interního standardu (naproxen, 0,1 mmol/l) byl aplikován na kolonu a pod vakuem a za nízkého průtoku byl nechán protéct kolonkou. Absorbovaná frakce byla vymyta metanolem (2 ml) a vysušena. Residuum bylo rozpuštěno v mobilní fázi složené z acetonitrilu a trifluoroctové kyseliny (0,1 %) v poměru 50:50 a alikvot byl nastříknut na kolonu, Supelcosil LC-18 15 cm x 4,6 mm, 5 µm, Supelco, USA a separován na systému HP 1100 s UV DAD. Detekce byla provedena s vlnovou délkou 230 nm. Linearita byla ověřena pro rozmezí 0,2 – 20 µmol/l a 0,2-100 µmol/l pro nabumeton, resp. 6-MNA. Preciznost metody byla stanovena na 4,2-14,4 % pro nabumeton, resp. 2,4-12,5 % pro 6-MNA, obdobně pro přesnost byly hodnoty 93,4-109,6 % a 87,8-107,4 %.

3.3.7. Genotypizace

Z krve dobrovolníků odebrané do zkumavek obsahujících EDTA byla pomocí standardní fenol-chloroformové metody izolována DNA (Cascorbi et al., 2001). Tato byla následně podrobena analýzám pro stanovení genotypu CYP2D6 a MDR1.

Genotyp CYP2D6 (*1, *3, *4, *6, delece či multiplikace byl stanoven pomocí nested PCR-RFLP (Buzkova et al., 2008). Stručně, long range amplifikace proběhla v MyCycler (BioRad, USA) v následujících cyklech: počáteční denaturace (2 min, 94 °C), následována 35 cykly denurací (20 s, 94 °C), anelací (70 s, 57 °C), extenzí (345 s, 68 °C) a zakončená finální extenzí (7 min, 68 °C), v reakční směsi obsahující genomickou DNA (100 ng), primery (P100/P200, 0.240 µM), jeden LA PCR pufr (Top-Bio s.r.o. Praha, Česká republika), dNTP (500 µM, Fermentas, Litva), MgCl₂ (1.7 mM, Top-Bio s.r.o. Praha, Česká republika) a LA Polymerázu MIX (1,5 jednotek, Top-Bio s.r.o. Praha, Česká republika). PCR produkt byl pak použit v PCR programu skládajícího se z počáteční denaturace (2 min, 94 °C), následovaného 25 cykly denurací (30 s, 95 °C), anelací (40 s, 60 °C), extenzí (60 s, 72 °C) a zakončená finální extenzí (7 min, 72 °C) v reakční směsi obsahující zředěný LA-PCR produkt společné reakce (1 µl), jeden PCR pufr (Fermentas, Litva), MgCl₂ (1.2 mM, Fermentas, Litva), dNTP (200mM, Fermentas, Litva), rekombinantní Tag polymerázu (0,75 jednotek, Fermentas, Litva) a primery (20 µM) specifické pro příslušné alely: P51/D2 pro CYP2D6*3, P*3/P2 pro CYP2D6*4 a *6. Produkty získané z této PCR reakce byly inkubovány s restriktázami *BsaAI* (New England Biolabs, USA) pro CYP2D6*3, resp. *BstNI* (New England Biolabs, USA) pro CYP2D6*4 a *6 přes noc při 37, resp. 60°C. Fragменты byly následně separovány pomocí

elektroforézy na agarovém gelu (3 %, Top Vision, Fermentas, Litva) a vizualizovány po barvení ethidium bromidem pod UV světlem. Přítomnost duplikované alely byla stanovena pomocí long range PCR amplifikace a použití primerů Cyp17/Cyp32. Ostatní podmínky byly identické.

Genotyp MDR1 byl stanoven, jak bylo popsáno v (Pechandova et al., 2006), metodou upravenou dle (Cascorbi et al., 2001). Stručně, DNA amplifikace byla provedena v MyCycle thermocykleru (Biorad Laboratories, Hercules, CA) v následujících cyklech: počáteční denaturace (2 min, 94 °C), následována 35 cykly denurací (30 s, 94 °C), anelací (45 s, 60 °C), extenzí (60 s, 72 °C) a zakončená finální extenzí (7 min, 72 °C), v reakční směsi obsahující genomickou DNA (60 ng), primery (sekvence jako v (Cascorbi et al., 2001), 8 nM), PCR pufr (Top-Bio s.r.o. Praha, Česká republika), dNTP (200 μM, Fermentas, Litva), MgCl₂ (1.7 mM, Top-Bio s.r.o. Praha, Česká republika) a Taq DNA Polymerázu (0,5 jednotek, Top-Bio s.r.o. Praha, Česká republika) a doplněná deionizovanou vodou na finální objem 0,025 ml. Produkty získané z této PCR reakce byly inkubovány s restriktázami *XapI* *BseNI* a *BshNI* (New England Biolabs, USA). Fragmenty byly následně separovány pomocí elektroforézy na agarovém gelu (3,5 %, Top Vision, Fermentas, Litva) a vizualizovány po barvení ethidium bromidem pod UV světlem.

3.3.8. Farmakokinetická analýza

Farmakokinetické parametry byly vypočteny pomocí programu WinNonlin® (verze 5.3, Pharsight, USA). Aktuální časy odběrů byly použity pro farmakokinetické výpočty. Standardní farmakokinetické parametry byly vypočteny pro každý subjekt a periodu.

3.3.9. Statistická analýza

Statistická analýza byla provedena na programu MedCalc (v- 12.1.4.0, MedCalc Software bvba, Belgie). Farmakokinetické parametry C_{max} a AUC každého subjektu byly srovnány pomocí ANOVA pro výpočet intra-individuální variability. Totéž bylo provedeno pro parciální AUC. Inter-individuální variabilita byla vypočtena zavedeným výpočtem pro CV, tedy standardní odchylka dělená aritmetickým průměrem a vyjádřena jako procento).

4. Výsledky

4.1. Metoda na analýzu sufentanilu v lidské plazmě

Efekt matrice měl opačný vliv na oba analyty: signál sufentanilu byl snížen o 25,0 % a 32,32 % pro QC1, resp. QC3, signál fentanylu byl zesílen o 64,3 %. CV IS-normalizovaného MF nebyl vyšší než 15 %.

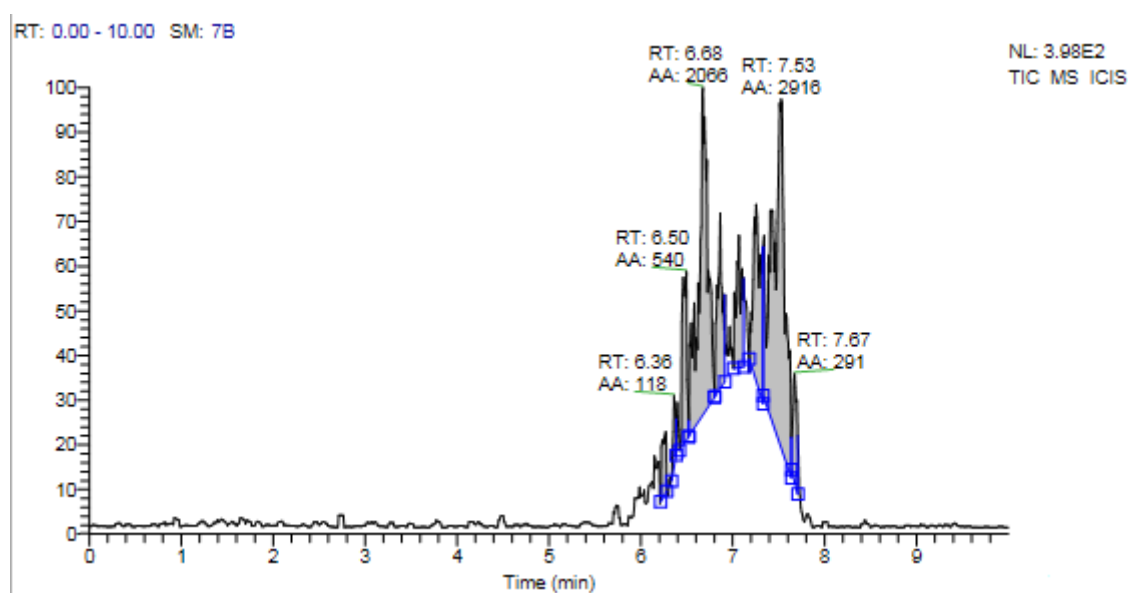
Kalibrační křivka (poměr plochy píku sufentanilu ku IS proti koncentracím analytů v lidské plazmě) byla lineární pro rozpětí koncentrací 16 pg/ml – 1000 pg/ml.

Preciznost a přesnost jsou shrnuty v Tab. 11.

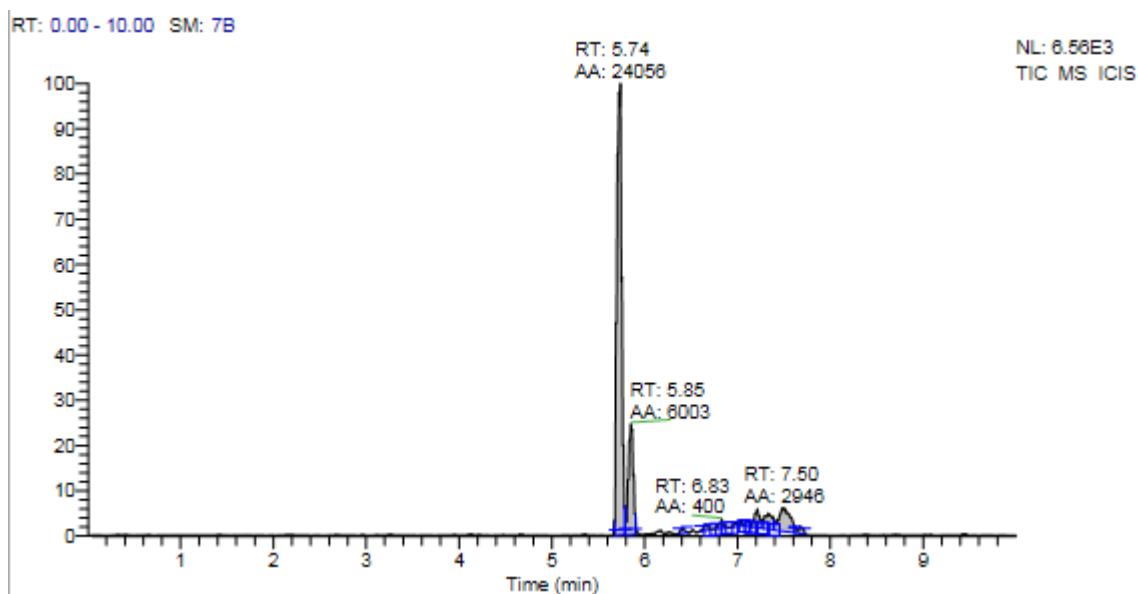
Tab. 11: Preciznost a přesnost vyvinuté metody stanovení sufentanilu v rámci validace

	LLOQ		LQC		MQC		HQC	
	Preciznost (RSD%)	Přesnost (%)	Preciznost (RSD%)	Přesnost (%)	Preciznost (RSD%)	Přesnost (%)	Preciznost (RSD%)	Přesnost (%)
Intradenní (n = 6)	10.5	100.6	4.44	104.4	4.33	97.5	2.58	96.5
Mezidenní (n = 18)	10.4	93.5	3.83	102.9	5.70	93.3	4.29	94.3

Chromatogramy 6 blank vzorků byly porovnány s chromatogramy kalibračního vzorku sufentanilu o nejnižší koncentraci (16 pg/ml) pro stanovení specifity metody. Na Obr. 6 a 7 lze vidět, že nedochází k žádné interferenci endogenních látek či metabolitů v retenčních časech IS nebo sufentanilu.



Obr. 6: Chromatogram blank vzorku



Obr. 7: Chromatogram vzorku na hladině LLOQ

Stejně tak nedocházelo ke carry-over efektu: v blank vzorcích analyzovaných hned za QC3 nebyly naměřeny píky větší než 20 % dolního limitu kvantifikace a 5 % interního standardu.

4.1.1. Aplikace metody

Výsledky genotypizace jsou shrnuty v Tab. 12. Průměrné farmakokinetické hodnoty jsou shrnuty dle genotypů v Tab. 13. Nebyly zaznamenány žádné statisticky signifikantní rozdíly mezi genotypy.

Tab. 12: Zastoupení alel pro *MDR1* (C434T, G2677T, G2677A) a *OPRM1* (A118G) v studijní populaci

	C343T	G2677T	G2677A	A118G
WT-homozygoti	4	3	24	21
Heterozygoti	10	9	1	4
Homozygoti pro variantní alelu	11	7	0	0

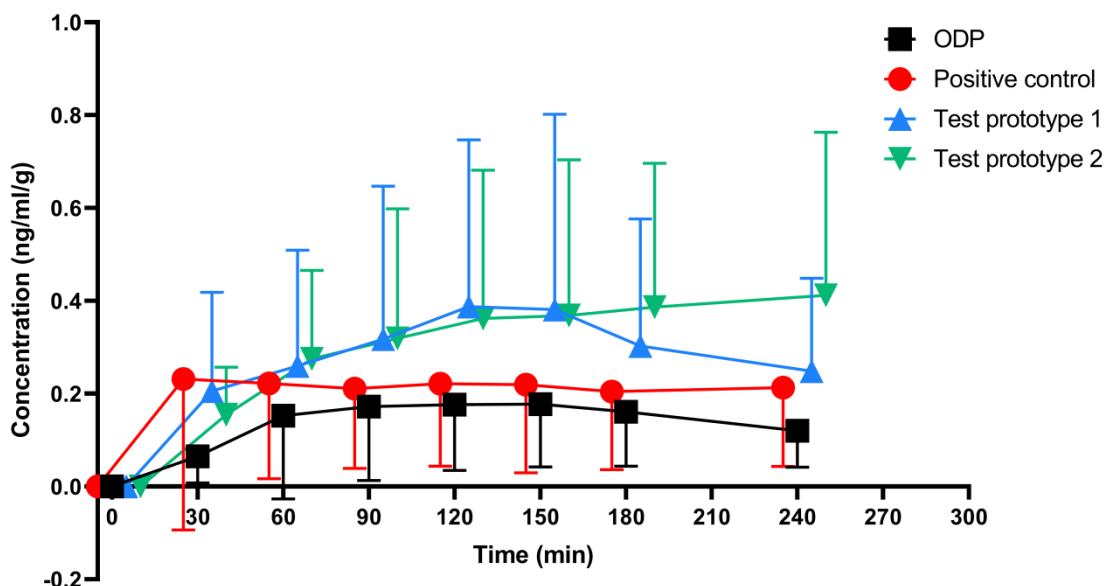
Tab. 13: Farmakokinetika v závislosti na jednotlivých genotypech MDRI (C434T, G2677T, G2677A) a OPRM1 (A118G) v studijní populaci

	Cmax (pg/ml)	AUC_{0-t} (pg.min/ml)	t_{1/2} (min)
C343C	346.42 (201.23)	110519 (15921)	306.81 (240.95)
C343T	422.89 (633.44)	102581 (73039)	420.73 (135.49)
T343T	300.21 (177.9)	88380 (50707)	384.9 (128.34)
G2677G/T/A	248.7 (86.64)	105684 (55091)	419.7 (212.24)
T/A2677T/A	257.89 (240.69)	75265 (57863)	331.73 (58.91)
A118A	370.88 (449.71)	96315 (47601)	374.46 (148.21)
A118G	282.07 (138.19)	104366 (101326)	451.21 (165.46)

4.2. Neklinická studie

34 potkanů bylo randomizováno, z nichž 26 dokončilo všechny tři periody. 8 potkanů předčasně ukončilo studii z důvodu smrti (2) nebo ucpaného katetru (6). Smrt nesouvisela s podáním abirateronu.

Průměrné farmakokinetické profily lze vidět v Obr. 8. Časy pro jednotlivá podání jsou pro přehlednost v grafu odděleny pěti minutami (ač jsou současné), ze stejného důvodu chybové křivky jsou zobrazeny pouze v jednom směru, ač jsou ve skutečnosti obousměrné.



Obr. 8: Průměrné farmakokinetické profily pro jednotlivé léčivé formy

Spočítané farmakokinetické parametry jsou shrnuty v Tab. 14 včetně statistického zhodnocení. Jak je patrné z průměrných křivek, všechny tři testované přípravky, tj. pozitivní kontrola a oba testované prototypy, dosáhly vyšší absorpce a expozice než

přípravek původní, ODP. U pozitivní kontroly navýšení přibližně o 45 % pro C_{max} i AUC bylo na hranici signifikance: 90 % konfidenční interval 99.73 – 215.0 a 99.75 – 209.7 pro C_{max}, resp. AUC. U obou testovaných prototypů už prototyp již navýšení dosáhlo signifikance: prototyp T1 dosahoval expozice přibližně 200% oproti ODP, s konfidenčními intervaly 130.1 – 284.9 a 145.1 – 309.4 pro C_{max}, resp. AUC, pro T2 byla pak expozice nejvyšší, přibližně 250% s konfidenčními intervaly 179.16 – 391.84 a 180.7 – 385.1 pro C_{max}, resp. AUC. Za pozornost stojí pak i T_{max}, který nebyl signifikantně změněn u žádného z testovaných přípravků oproti ODP, ale pro pozitivní referenci vyšel na hranici signifikance menší, zatímco u obou testovaných přípravků se spíše klonil k vyšším hodnotám. Zdá se tedy, že pozitivní kontrola navýšila expozici spíše urychlením absorpce, zatímco oba prototypy jejím prodloužením.

Tab. 14: Farmakokinetické parametry abirateron acetátu po administraci krysám (n = 26) ve 4 lékových formách. Hodnoty jsou dány jako průměr (SD) pro C_{max}, AUC_{last}, medián (rozmezí) a poměr geometrických průměrů (90% konfidenční interval) pro T/R

Léková forma	C _{max} [ng/ml.g]	T/R C _{max} [%]	AUC _{last} [mg/ml.min.g]	T/R AUC [%]	T _{max} [min]	T/R T _{max} [%]
ODP	0.2485 (0.1904)	NA (NA)	32.60 (23.37)	NA (NA)	108 (28 – 239)	NA (NA)
Pozitivní kontrola	0.3571 (0.3312)	146.4 (99.73 – 215.0)	47.59 (37.44)	144.6 (99.75 – 209.7)	75 (27 – 245)	72.71 (50.94 – 103.79)
T1	0.4571 (0.4263)	192.6 (130.1 – 284.9)	66.51 (59.02)	211.9 (145.1 – 309.4)	123 (31 – 242)	119.4 (83.09 – 171.71)
T2	0.5209 (0.3347)	265.0 (179.16 – 391.84)	74.07 (54.53)	263.8 (180.7 – 385.1)	150 (60 – 241)	129.7 (90.26 – 186.39)

Faktor periody a lékové formy byl statisticky signifikantní pro C_{max} a AUC, žádný z faktorů nebyl statisticky signifikantní pro T_{max}, stejně jako faktor sekvence nebyl statisticky signifikantní pro žádný z farmakokinetických parametrů.

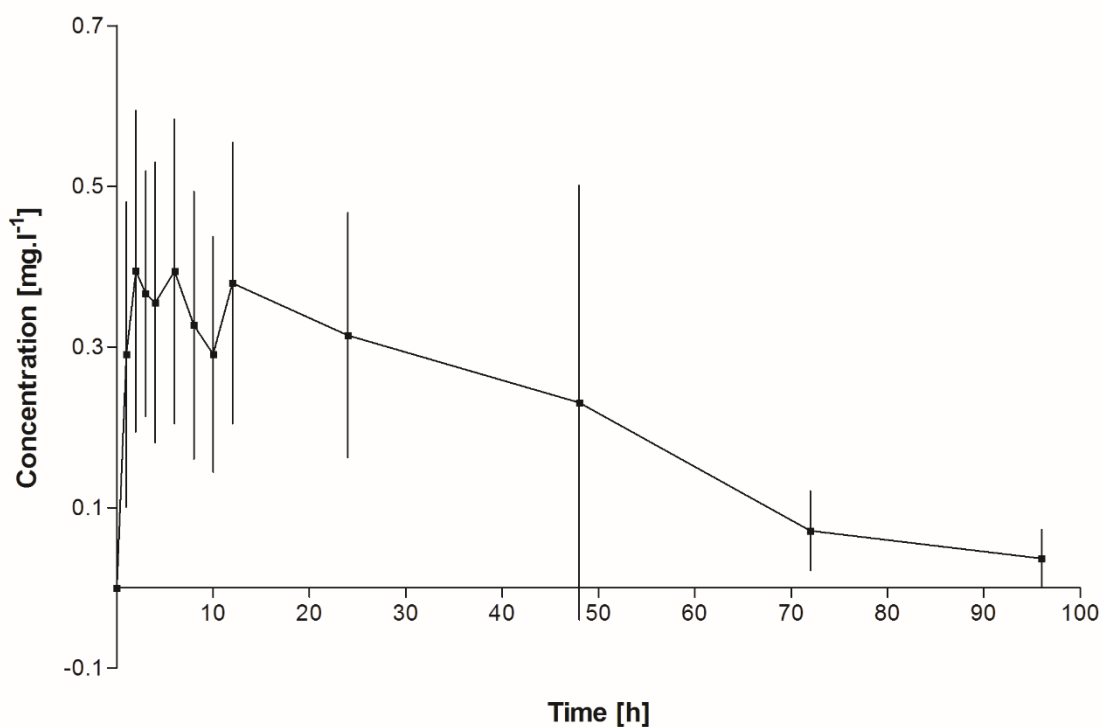
4.3. Klinická studie

Do studie bylo randomizováno 24 subjektů (12 mužů a 12 žen) s průměrným věkem 24,83 ± 2.03 let a BMI 21,98 kg/m². Základní demografické parametry se nelišily mezi

muži a ženami. Ve studii bylo 12 subjektů (6 mužů a 6 žen) s homozygotní wild-type alelou a 12 subjektů (6 mužů a 6 žen) s homozygotní C3435T mutací v MDR1 exonu 26. Mezi nimiž bylo identifikováno 7 subjektů s 2D6*4 alelou, 5 heterozygotů a 2 homozygoti, jeden z heterozygotů pak měl duplikovanou alelu *2. U jednoho subjektu pak byla identifikována delece genu CYP2D6.

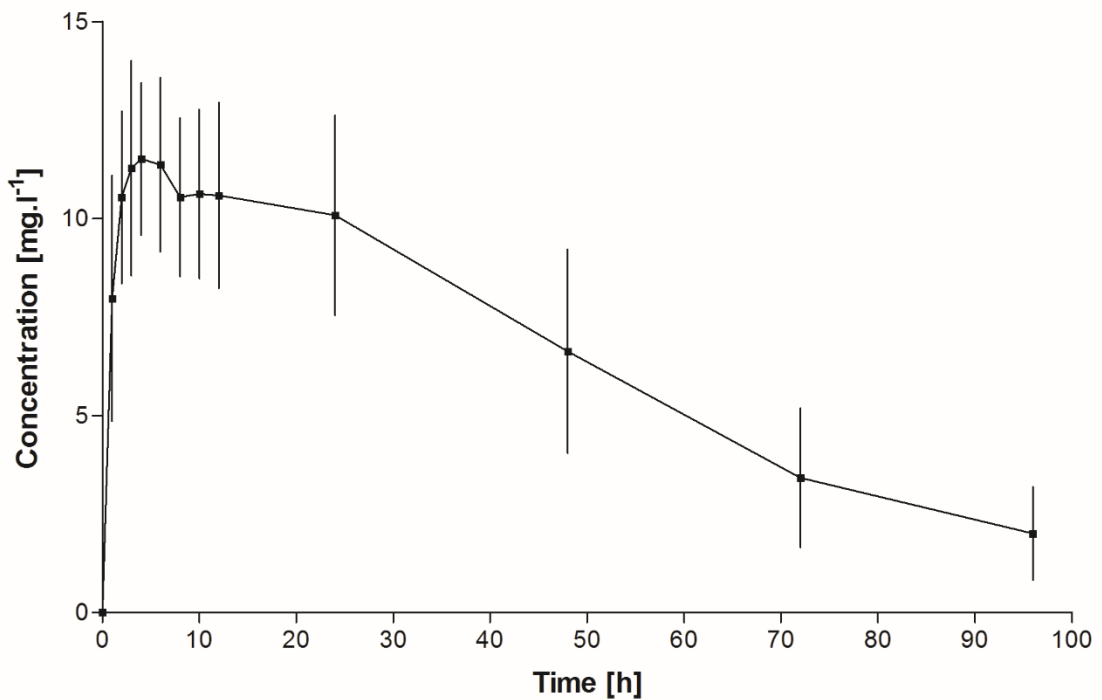
Průměrné farmakokinetické profily lze vidět na Obr. 9 a Obr. 10 pro nabumeton, resp. 6-MNA a průměrné farmakokinetické parametry jsou shrnuty v Tab. 15 a Tab. 16. Celkově v 17 a 3 případech z 24 individuální FK profily vykazovaly dvojitý pík (definován jako hodnota alespoň o 15 % vyšší než hodnota předchozí a následující) pro nabumeton, resp. 6-MNA.

Mean pharmacokinetic profile of nabumetone



Obr. 9: Průměrné FK profily nabumetonu ($n = 24$) po podání 500 mg

Mean pharmacokinetic profile of 6-MNA



Obr. 10: Průměrné FK profily 6-MNA ($n = 24$) po podání 500 mg nabumetonu

Tab. 15: Průměrné farmakokinetické hodnoty pro nabumeton ($n = 24$), průměr \pm SD

C_{max}, mg/l	0,56 \pm 0,20
t_{max}, h	8,63 \pm 7,05
AUC_{last}, h.mg/l	18,07 \pm 7,19
MRT, h	28,65 \pm 5,54
Cl, l/h	30,37 \pm 17,09
Vd, l	1045,72 \pm 643,44
t_{1/2}, h	26,05 \pm 15,99

Tab. 16: Průměrné farmakokinetické hodnoty pro 6-MNA (n = 24), průměr ± SD

C_{max}, mg/l	12,75 ± 1,42
t_{max}, h	7,50 ± 6,87
AUC_{last}, h.mg/l	633,25 ± 177,64
MRT, h	33,59 ± 3,30
Cl, l/h	0,77 ± 0,23
Vd, l	29,66 ± 9,72
t_{1/2}, h	27,82 ± 7,47

Pro nabumeton nebyly zaznamenány žádné statisticky signifikantní rozdíly mezi pohlavími ať už v AUC, C_{max} nebo v clearance. Průměrná hodnota AUC pro nabumeton byla 17,87 ± 7,53 h.mg/l a 18,27 ± 6,22 h.mg/l pro muže, resp. ženy, a odpovídající hodnoty pro C_{max} byly 0,49 ± 0,18 mg/l a 0,62 ± 0,18 mg/l a pro clearance 30,88 ± 18,93 a 29,87 ± 13,43 l/h.

Pro 6-MNA, průměrná hodnota AUC byla vyšší u mužů než u žen s odpovídajícími průměrnými hodnotami 721,23 ± 185,53 a 545,27 ± 97,69 h.mg/l (p = 0,013), a clearance byla naopak vyšší u žen (0,88 ± 0,18 l/h) než u mužů (0,65 ± 0,22 l/h, p = 0,019). Pro C_{max} žádné statisticky signifikantní rozdíly zaznamenány nebyly, 13,16 ± 1,45 mg/l byl průměrný C_{max} u mužů, u žen pak 12,34 ± 1,17 mg/l.

Srovnání koncentrací dle genotypů pro MDR1 nevedlo k odhalení žádného jasného vlivu mutace C3435T na koncentrace nabumetonu, 6-MNA nebo jejich poměru. Ačkoliv byly objeveny kusé „statisticky signifikantní rozdíly“ mezi expozicemi, jejich nepravidelnost svědčí spíše pro náhodný jev. Podobný výsledek byl pozorován pro CYP2D6. Vzhledem k tomu, že bylo mezitím odhaleno, že nabumeton se metabolizuje CYP1A2 (Turpeinen et al., 2009) a 6-MNA CYP2C9 (Matsumoto et al., 2011), nejedná se zcela překvapivý výsledek.

Intra-individuální variabilita nabumetonu a 6-MNA je sumarizována v Tab. 17. ISCV nabumetonu pro AUC byla 14,50 % a 15,32 % pro muže, resp. ženy. Odpovídající hodnoty pro AUC₀₋₃ byly 16,48 % a 22,46 %, pro AUC₄₋₁₀ 26,14 % a 12,04 %, pro AUC₁₂₋

96 15,85 % a 16,67 % a pro C_{max} 11,66 % a 14,95 %. Podobně ISCV 6-MNA pro AUC byla 7,58 % a 4,27 % pro muže, resp. ženy, a odpovídající hodnoty pro AUC_{0-3} byly 7,49 % a 13,13 %, pro AUC_{4-10} 5,89 % a 7,29 %, pro AUC_{12-96} 7,85 % a 4,03 % a pro C_{max} 5,99 % a 4,64 %.

Tab. 17: Intra-individuální variabilita hodnot AUC a C_{max} ($n = 24$) pro 6-MNA a nabumeton

	Nabumeton	6-MNA
AUC_{last} , %	15,59	6,40
AUC_{0-3} , %	19,94	10,47
AUC_{4-10} , %	20,02	7,04
AUC_{12-96} , %	17,60	6,46
C_{max} , %	13,66	5,42

Inter-individuální variabilita (CV) z fáze A pro nabumeton i 6-MNA je shrnuta v Tab. 18. CV nabumetonu pro AUC bylo 42,15 % a 34,02 % pro muže, resp. ženy. Odpovídající hodnoty pro AUC_{0-3} byly 48,64 % a 35,47 %, pro AUC_{4-10} 52,58 % a 28,51 %, pro AUC_{12-96} 45,05 % a 33,63 % a pro C_{max} 37,12 % a 29,66 %. CV 6-MNA pro AUC bylo 11,00 % a 9,44 % pro muže, resp. ženy a odpovídající hodnoty pro AUC_{0-3} byly 19,53 % a 26,43, pro AUC_{4-10} 13,54 % a 16,65 %, pro AUC_{12-96} 28,41 % a 20,24 % a pro C_{max} 25,72 % a 17,92 %.

Tab. 18: Inter-individuální variabilita hodnot AUC a C_{max} ($n = 24$) pro 6-MNA a nabumeton

	Nabumeton	6-MNA
AUC_{last} , %	39,79	28,05
AUC_{0-3} , %	43,00	23,70
AUC_{4-10} , %	41,39	16,52
AUC_{12-96} , %	39,54	29,78
C_{max} , %	36,40	11,19

5. Diskuse

5.1. Validace metody pro sufentanil

Po neúspěšném pokusu na hmotnostním spektrometru s iontovou pastí, kde bylo dosaženo jen průměrné senzitivity (dolní limit kvantifikace > 1 ng/ml) byl zvolen hmotnostní spektrometr s triple stage kvadrupólem s MS/MS detekcí. Zde bylo dosaženo o několi řádů vyšší senzitivity: roztoky sufentanily s koncentracemi pod 1 pg/ml stále produkovaly perfektní píky s plochami > 5000 a nízkou variabilitou. Po SPE bylo stále dosaženo dolního limitu kvantifikace 16 pg/ml s plochami přes 5000, poměrem píku k šumu > 10 a s akceptovatelnou přesností a precizností. Této senzitivity jiné metody v literatuře dosáhly zřídka, pouze Martens-Lobenhoffer a kol. (Martens-Lobenhoffer) dosáhli podobné citlivosti, a úctyhodně citlivá metoda podle Schmidt a kol. (Schmidt et al., 2006) je citlivější.

Několik metod příprav vzorků bylo použito, včetně jednoduché precipitace proteinů acetonitrem, nicméně nakonec stále poměrně jednoduchá modifikace metody dle Liang a kol. (Liang et al., 2011), založená na promytí 1 % roztokem methanolu v DV, a následnou elucí methanolem, se ukázala být nejspolehlivější.

Výrobce použité kolony pro samotnou kapalinovou chromatografii (Phenomenex®) přímo doporučoval dvě možné metody pro analýzu sufentanilu: s kyselou a zásaditou mobilní fází. Bazická mobilní fáze byla vyloučena velmi rychle, protože docházelo k štěpení píků sufentanilu, snad v důsledku blízkosti pH mobilní fáze k pKa sufentanilu. Kyselá mobilní fáze navržená výrobcem naproti tomu dávala čisté píky s reprodukovatelnými výsledky, a přes pokusy o další vylepšení citlivosti jinými podmínkami, popř. zjednodušení izokratickou elucí, nakonec zůstalo u poskytnutého návrhu výrobcem: 95 % mobilní fáze B (0,1 % roztok HCOOH v DV) a 5 % mobilní fáze A (0,1 % roztok HCOOH v DV) na počátku eluce, s graduálním převrácením na 25 % fáze B a 75 % fáze A ve 4 minutách. Stejně tak změna teploty eluce z 25 °C na 35 °C měla zanedbatelný vliv na chromatografické rozlišení, s několika procentuálními změnami v elučních časech a senzitivitě. Jelikož 25 °C značně urychlovalo ekvilibraci, byla použita tato teplota. Isokratické podmínky se ukázaly být zcela nepoužitelné: 50 % a více methanolové fáze prostě vymylo okamžitě celý nástřík z kolony. Na druhé straně více akvatické podmínky, tj. méně než 50 % methanolové fáze, příliš neprospívali analýze z hlediska separace píků a rozšiřování píku pro sufentanil. Pod 20 % methanolové fáze pak prodloužilo retenci obou analytů nad 10 minut.

Kalibrační křivka (poměr plochy píku sufentanilu ku IS proti koncentracím analytů v lidské plazmě) byla lineární přes poměrně široké rozpětí koncentrací 16 pg/ml – 1000 pg/ml. Horní limit byl zvolen na základě předpokládaných koncentrací v klinických vzorcích, ostatně předchozí neúspěšný pokus s hmotnostním spektrometrem s iontovou pastí s dolním limitem kvantifikace ~1 ng/ml nezachytil žádné koncentrace sufentanilu v testovaných klinických vzorcích. Průměrná kalibrační křivka měla tvar: $y = 0,0118x + 0,0005$ a $R^2 = 0,9984$ s variabilitou pod 5 % pro všechny parametry. Toto široké kalibrační rozpětí teoreticky umožňuje využití této metody nejen pro dospělé pacienty, ale i pro pacienty pediatrické, u nichž jsou koncentrace povětšinou nižší (Bartkowska-Sniatkowska et al., 2016).

Metoda byla následně úspěšně aplikována na klinické vzorky pacientů podstupujících operaci srdce, u nichž byl sufentanil použit v rámci anestetické medikace. Pacienti byly zároveň genotypizováni na alely v genech pro MDR1 a OPRM1 pro stanovení jejich vlivu na koncentrace sufentanilu. Mezi genotypy nebyly prokázány žádné statistické rozdíly v naměřených a spočítaných farmakokinetických parametrech. V literatuře pro žádný z těchto genotypů rovněž nebyl prokázán žádný rozdíl na farmakokinetiku, ačkoliv vliv na dávkování sufentanilu, vnímání bolesti při jeho použití byly opakovaně popsáno v literatuře (De Capraris et al., 2011), (Camorcia et al., 2012), (Pu et al., 2019), (Bartosova et al., 2019), (Zhao et al., 2019), a k podobným výsledkům jsme došly i v naší studii, jež jsme prezentovali na konferenci Personal Genomes, 2013, ale jež jsou mimo záběr této práce. Proč se tyto rozdíly neodrazily i na koncentracích sufentanilu není zcela jasné. U MDR1 toto může být dáno tím, že koncentrace v periférii zcela neodráží koncentrace na místě účinku, tj. v CNS. U OPRM1 toto může být jednak tím, že OPRM1 jakožto gen pro opioidní receptor samozřejmě sám o sobě nemá vliv na koncentrace sufentanilu. Vliv je nepřímý: mutace v receptoru může způsobit nedostatečnou odpověď na stejné koncentrace a pacient může vyžadovat koncentrace vyšší, nicméně tento subjektivní parametr může mít sám o sobě vyšší variabilitu a počet subjektů s variantní alelou (4), a to jen v hetoregenní uspořádání, mohl být nedostatečný pro průkaz tohoto rozdílu. Navíc pacienti v anestézii pod vlivem většího množství látek mohou mít případně sníženou odpověď na sufentanil zcela zastřenou.

5.2. Neklinická studie

Jak bylo zmíněno na začátku, abirateron je léčivo s vysokou variabilitou a s vysokým vlivem jídla na absorpci účinné látky. Vývoj lékové formy, jež by navýšila

biodostupnost abirateronu na lačno by bylo v konečném důsledku možno eliminovat efekt jídla a navíc snížit dávkování. V rámci tohoto vývoje bylo na VŠCHT připraveno vícero prototypů, u nichž bylo potřeba vyhodnotit *in vivo* jejich FK vlastnosti a vyhodnotit případné snížení variability.

Farmakokinetické studie u zvířat jsou povětšinou prováděny s tzv. „sparse sampling“, tedy v modelu, kdy farmakokinetické profily jsou konstruovány z vícero zvířat, přičemž každé zvíře do tohoto profilu přispívá pouze jedním až třemi body. Je tomu jednak proto, jak problematické mohou být opakované náběry zejména u hlodavců, a rovněž proto, že takový přístup má potenciálně menší vliv na zdraví zvířete a je tedy možné u takového zvířete sledovat i nezastřenou toxicitu podané látky (Burtin et al., 1996). Na druhou stranu je taková přístup naprosto nevhodný pro popis variability, kdy lze jen stěží popsat i inter-individuální variabilitu, tedy variabilitu v populaci, natož variabilitu v rámci jednotlivce, nebo pro srovnání lékových forem, kdy se právě snažíme vynulovat všechnu variabilitu, kromě variability jediné – té mezi lékovými formami. Za tímto účelem se nejčastěji provádí srovnání expozičních po podání různých lékových forem stejným subjektům, ve stylu klasické bioekvivalenční studie. Takové studie jsou velmi užitečné a flexibilní schopné dle designu identifikovat žádanou variabilitu. V paralelním designu, kdy se jednoduše srovná jedna léková forma v jedné skupině a druhá léková forma ve skupině jiné, získáme variabilitu celkovou. V mírně komplexnějším designu, cross-over, kdy se de facto po paralelní studii zopakuje studie stejná – tentokrát s prohozenými lékovými formami v rámci skupin, jsme již schopni celkovou variabilitu rozdělit na variabilitu inter a intra-individuální. Konečně, opět zopakováním celé cross-over studie, tedy provedením studie replikované, lze určit ISCV a CV pro jednotlivé lékové formy (EMA, 2010).

Provedení podobné studie je však právě poměrně náročné na odběr velkého množství vzorků od jednoho subjektu, což u člověka povětšinou nemusí být problém, u již zmíněných hlodavců je problematické provedení značného množství odběrů a konečně i celková ztráta krve může snadno přesáhnout kritickou hranici – asi 15 % celkového objemu krve.

Krev je od zvířat, specificky od potkanů, klasicky odebírána z ocasu, popř. z retro-orbitálního žilního plexu. Toto se ukázalo jako prakticky neproveditelné vzhledem k délce a počtu opakovaných náběrů. V tomto případě byla jediná možnost a to provést před samotnou studií u všech potkanů katetrizaci. Aby se předešlo vykousávání a dalším problémům, potkani jednak museli být chováni po jednom a katetr bylo nutno umístit na hřbet těsně za hlavu. Za tímto účelem byla provedena operace, kdy se do *a. carotis* zavedl katetr,

jenž se pak podkožním tunelem zavedl za hlavu na hřbet. Přesto u jednoho ze studijních potkanů došlo k vytržení katetru a následné exsanguinaci.

Dalším problémem se ukázal být počet testovaných lékových forem. Jednalo se jednak o referenci, dále pozitivní kontrolu, tj. lékovou formu, u níž již byla prokázána zvýšená expozice oproti referenci, a následně dva prototypy. To by znamenalo 12 sekvencí o čtyřech periodách, aby se každá formulace otestovala proti každé formulaci, a ač počet sekvencí lze zjednodušit ve Williamsově plánu na 4, počet period by stále mohl představovat nesnáze z hlediska časové náročnosti, funkčnosti katetru, či jeho infekci, objemu krve atd. Z tohoto důvodu byl nakonec zvolen plán studie s neúplným blokem, kdy každá sekvence obsahuje menší počet formulací, než kolik je celkově testováno: v našem případě každá sekvence obsahovala vždy pouze 3 ze 4 formulací. Aby se pak minimalizoval faktor periody, lékové formy se přiřazují tak, aby byl plán studie balancovaný napříč periodám, tedy aby každá léková forma se v každé periodě opakovala stejným počtem, viz Tab. 10. Ačkoliv v takovém plánu studie žádný ze subjektů/zvířat není vystaven všem lékovým formám, je stále možné odhadnout rozdíly v průměrné biodostupnosti mezi faktory kterékoliv dvojice lékových forem se stejným stupněm přesnosti jako v plánu studie klasickém, a je rovněž možné odhadnout nepokřivené formulační faktory (Chow and Liu, 2009).

Wash-out perioda se zvolila konzervativně na 48 hodin. Abirateron má poměrně krátký poločas a pravděpodobně by dostačovalo i 24 hodin, nicméně ke snížení nárazového stresu pro zvířata byl mezi jednotlivé administrace vložen jeden den pro jejich zotavení. Tato perioda opravdu zcela dostačovala, v žádných predose vzorcích z druhé a třetí periody nebyl abirateron detekován.

Ve studiích srovnávajících expozice po podání různých lékových forem se většinou podává jedna stejná dávka všem subjektům, protože každý subjekt je sám sobě kontrolou a případné hmotnostní rozdíly mezi subjekty tedy nehrají roli. Toto bylo učiněno i zde, a značně to i zjednodušilo přípravu suspenzí k aplikaci a zpřesnilo dávkování. Jelikož však jejich hmotnost a fyziologie je mnohem méně stabilní než u lidí, naměřené koncentrace se před farmakokinetickou a statistickou analýzou vztáhly k aktuální hmotnosti zvířete v dané periodě.

Naproti tomu odběrový interval nebyl zvolen dostatečně dlouhý. Na základě literárních dat, kde T_{max} je udáván nanejvýše 2 h (Gurav et al., 2012) bylo předpokládáno, že 4 hodiny odběrů budou zcela dostačující. Vzhledem k tomu, že i průměrná křivka T_2 vykazuje růst koncentrace i v posledním bodu odběrů, což je úkaz, jež vykazovala asi

polovina všech individuálních farmakokinetických profilů potkanů exponovaných T2, dostačující nebyl. Stalo se tak nejspíše proto, že nové lékové formy vykazovaly prodloužené či rozšířené absorpční okno, jež vedlo jednak k zvýšené expozici, rovněž pak právě k oddálení T_{max} . U abirateronu se předpokládá, že jeden z mechanismů snížené biodostupnosti je skutečnost, že poté, co se abirateron rozpustí v nízkém pH žaludku, ve střevě, kde je pravděpodobně nejvíce vstřebáván, dochází k jeho precipitaci a následnému vyloučení – asi 55 % podané dávky je vyloučeno jako abirateron acetát (Acharya et al., 2013). Nové lékové formy byly navrženy právě pro vyřešení tohoto problému. První nová léková forma (T1) obsahuje HPMC Methocel E5, který je silným precipitačním inhibitorem. Druhá nová léková forma (T2) využívá jiného principu, a to s „laděným“ uvolňováním, která obsahuje HPMCA-LF, polymer špatně rozpustný v kyselém pH (a tedy v žaludku), kdy nedojde tedy k vysokým hladinám supersaturace a látka je absorbována před precipitací. Tento polymer navíc má rovněž mírný inhibiční efekt na precipitaci, který může pomoci v absorpci abirateronu. Pro srovnání pozitivní kontrola obsahuje Soluplus®, excipient hojně využívaný pro zvýšení solubilizace, čehož dosahuje tvorbou micel. V disolučních experimentech (blíže popsanych v (Boleslavská et al., 2020)) bylo toto chování potvrzeno, kdy pozitivní kontrola poměrně dobře disolvovala v kyselém pH s tendencí k supersaturaci v biorelevantním médiu FaSSIF (tj. Fasted Stated Simulated Intestinal Fluid, simulovaná intestinální tekutina na lačno o pH = 6,5). Ne zcela optimální výsledek v *in vivo* lze vysvětlit tím, že samotná solubilizace ve formě micel nemusí vést ke zvýšení absorpce, jak bylo ukázáno pro jiné micelární systémy, kde docházelo k poklesu toku přes intestinální stěnu ve chvíli, kdy byla zvýšena rozpustnost ve vodě (Miller et al., 2011). Na druhou stranu nová formulace T1 se rozpuštěla nejlépe v kyselém pH a rovněž supersaturovala ve FaSSIF, na rozdíl od pozitivní reference však toto nebylo dáno zvýšenou solubilizací, ale inhibicí precipitace a zřejmě proto došlo k zvýšené absorpci jak proti pozitivní referenci, tak proti originálnímu přípravku (asi 200 % expozice oproti ODP). Nejúspěšnějším přístupem však byl „laděné“ uvolňování využitím u formy T2, u kterého docházelo také k nejvyšším hladinám supersaturace. Díky pH-responzivním polymeru dojde při změně pH k uvolnění abirateronu. Jak se abirateron vstřebává, více může být opět uvolněno, což vysvětluje rovněž i změněný charakter průměrné FK křivky s opožděním C_{max} . (Boleslavská et al.).

5.3. Klinická studie

Pro vyhodnocení intra-individuální variability nabumetonu a jeho aktivního metabolitu 6-MNA, a efektu pohlaví byl opět zvolen model BES, tentokrát však na zdravých dobrovolnících. Vzhledem k tomu, že však nebylo záměrem srovnávat více lékových forem, ale jen jednu, intra-individuální variabilitu bylo lze zhodnotit i v klasickém cross-over plánu studie.

K stanovení intra-individuální variability byl tedy opět použit klasický BES plán studie, cross-over. Zatímco v rámci běžné cross-over BES je dobrovolníkovi podána jedna léková forma v první periodě a v další periodě léková forma druhá, zde se podala dvakrát stejná léková forma stejnému dobrovolníkovi, čímž navíc odpadla nežádoucí mezi-formulační variabilita a bylo možno kvantifikovat opravdu čistou variabilitu intra-individuální.

Intra-individuální variabilita farmakokinetiky je zásadně důležitá pro úspěch léčby a stabilitu terapeutické odpovědi u daného pacienta v čase. Kvůli nedostatku dat pro ISCV nabumetonu v literatuře přesný výpočet populačního vzorku nebyl možný, byl tedy zvolen plán studie 12+12 na základě toho, že obecně 12 subjektů je minimální počet stanovený pro BES regulačními autoritami a je vhodný též ke zhodnocení FK rozdílů mezi pohlavími.

Stanovené farmakokinetické profily vykazovaly dvojitý pík, jak bylo publikováno již dříve pro 6-MNA (Lee et al., 1995) i parentní látku (Kobylinska et al., 2003). Tento fenomén je nejčastěji způsoben enterohepatálním oběhem, což pro nabumeton není možné, vzhledem k absenci funkční skupiny schopné konjugace. I pro 6-MNA toto bylo vyloučeno již dříve (Brett et al., 1990). Z tohoto důvodu lze předpokládat spíše interakci mezi nabumetonem a 6-MNA s žlučovými kyselinami a vytváření micel, jak bylo popsáno pro beta-blokátory (Davies et al., 2010).

AUC nabumetonu byla asi stokrát vyšší v naší studii než ve studii Kobylinska a kol. (Kobylinska et al., 2003): 18,07 mg.h/l vs. 0,19 mg.h/l, a C_{max} byl asi 40 vyšší: 0,56 mg/l vs. 0,014 mg/l. V naší studii byla navíc použita poloviční dávka oproti studii Kobylinske (500 mg vs. 2x500 mg). Vzhledem k tomu, že neexistuje další studie s FK nabumetonu a popis studie Kobylinske je velmi stručný, tyto rozdíly lze jen těžko vysvětlit. Protože však naše hodnoty pro 6-MNA jsou velmi blízké hodnotám v jiných studiích (Kendall et al., 1989), (Nobilis et al., 2003), lze předpokládat, že i hodnoty nabumetonu budou obdobné, a že v této studii popsané koncentrace nabumetonu odpovídají koncentracím skutečným. Ve studii Nobilise a kol. (Nobilis et al., 2003) nebyly nabumeton vůbec detekován, ale toto

vcelku odpovídá jimi reportovanému dolnímu limitu kvantifikace, kterého nedosáhly ani maximální koncentrace u některých dobrovolníků z naší studie.

Naše studie nakonec nepotvrdila vysokou variabilitu pro nabumetonu, s ISCV 15,56 % pro AUC a 13,66 % pro C_{max} je tato variabilita pouze průměrná. Na rozdíl od běžné situace bylo C_{max} stejně variabilní jako AUC, což bylo pravděpodobně způsobeno nestandardní farmakokinetikou nabumetonu, specificky dvojitým píkem. Po oxidaci na 6-MNA klesla variabilita na minimum, 6,40 % pro AUC a 5,42 % pro C_{max} . Toto je očekávané pozorování, metabolit je často méně variabilní, především u léčiv, u kterých je limitujícím faktorem metabolické přeměny průtok játry, a kdy metabolismus není příliš komplexní (Midha et al., 2005). ISCV nabumetonu byla mírně vyšší především pro počáteční koncentrace, 19,94 a 20,02 pro AUC₀₋₃, resp. AUC₄₋₁₀ vs. 17,60 pro AUC₁₂₋₉₆, což odpovídá vysoké variabilitě v T_{max} (Davies, 1997). Podobná, dokonce mírně výraznější situace byla i u 6-MNA, kdy AUC₀₋₃ vykazovalo ISCV 10,47 %, zatímco AUC₄₋₁₀ a AUC₁₂₋₉₆ 7,04 %, resp. 6,46 %. Pro CV byla situace u nabumetonu stejná, AUC₀₋₃ vykazovalo 43,00 %, pro AUC₄₋₁₀ CV kleslo na 41,39 % a pro AUC₁₂₋₉₆ až na 39,54 %. U 6-MNA CV kolísala, z 23,70 % pro AUC₀₋₃ klesla na 16,52 % pro AUC₄₋₁₀, pak opět stoupla na 29,78 % pro AUC₁₂₋₉₆.

Pro nabumeton, na rozdíl od 6-MNA, nebyly zaznamenány signifikantní rozdíly ve farmakokinetice léčiv mezi pohlavími. Toto může být jednak způsobeno tím, že tyto rozdíly jsou až v clearance 6-MNA, jak bylo pozorováno: zvýšená clearance 6-MNA u žen by logicky vedla ke snížené expozici 6-MNA u této skupiny, ale neměla by efekt na expozici nabumetonu. Toto by bylo možné vysvětlit sníženým distribučním objemem 6-MNA (hydrofilní molekula oproti nabumetonu) a tedy rychlejší clearance (viz kapitulu 1.1.1.2 Pohlaví). Na druhou stranu absence signifikantních rozdílů mohla být také způsobena několika násobně vyšší variabilitou farmakokinetiky nabumetonu než 6-MNA, kdy případné rozdíly mezi pohlavími byly zastřeny rovněž velkými rozdíly mezi jednotlivci i v rámci jednotlivce.

6. Závěr

Variabilita farmakokinetiky, ať už v rámci jednotlivce, tedy variabilita intra-individuální, nebo mezi jednotlivci, tedy variabilita inter-individuální, je naprosto zásadní v klinické praxi i výzkumu. Inter-individuální variabilita komplikuje dávkování v populaci, především u léčiv s úzkým terapeutickým indexem, a může vyžadovat individualizované dávkování pro každého pacienta. Vysoká intra-individuální si pak může vyžadovat dlouhodobé terapeutické monitorování léčiv především u léčiv opět s úzkým terapeutickým indexem, popř. u takových, které nemají jednoduše měřitelný zástupný parametr, rovněž pak komplikuje a prodražuje farmaceutický výzkum.

V této práci jsou popsány postupy ke studování této variability. Bylo využito studií s návrhem odvozeným od bioekvivalenčních studií, jednak pro popis intra-individuální variability nabumetonu u zdravých dobrovolníků a rovněž efektu pohlaví na farmakokinetiku. Podařilo se prokázat, že intra-individuální variabilita nabumetonu i jeho aktivního metabolitu 6-MNA je pouze průměrná a lze jej tedy poměrně spolehlivě využívat v klinické praxi v rámci jednoho pacienta. Poněkud vyšší variabilita inter-individuální a rozdíly mezi pohlavími ve farmakokinetice aktivního metabolitu však poukazují na případnou nutnost optimalizovat dávkování pro konkrétního pacienta. V neklinické studii pak byl navržen speciální model pro rychlé a poměrně levné zhodnocení biodostupnosti více nových lékových forem abirateron acetátu v potkanech, jejichž navýšená expozice by mohla snížit náklady na výrobu aktivní složky, zmírnit zamořování prostředí hormonálním disruptorem snížením exkrece vysokého množství nevyužité látky, a nakonec i možná usnadnit klinickou situaci eliminováním vlivu potravy na expozici a tedy jednoho ze zdrojů variability, alespoň za těchto předpokladů: expozice s jídlem již nemůže v zásadě růst, pokud se v sytém stavu vstřebá i z originální lékové formy většina podaného množství, a expozice na lačno s novou lékovou formou vzrostla několikanásobně. Ve výsledku dochází k přiblížení expozic po jídle a na lačno, a tedy zmírnění vlivu jídla.

Tento model byl úspěšně aplikován s povzbudivým výsledkem, kdy byla popsána více než 250 % zvýšení expozice oproti originálnímu přípravku. Pokud je nám známo, jedná se o první použití plánu studie s neúplným blokem pro stanovení relativní biodostupnosti v neklinické studii na potkanech. Velmi dobrá shoda výsledků s in vitro daty naznačuje, že tento model by mohl být využit v moderním vývoji lékových forem, který je v současné době na vzestupu a ve svojí důležitosti již téměř dosahuje vývoj nových molekul. Optimalizací lékové formy lze totiž často napravit nevhodné vlastnosti

molekuly, např. nízkou systémovou expozici, vliv potravy, závislost expozice na pH žaludku apod., tedy problémy, jež se mohou objevit až v pozdější fázi vývoje, kdy optimalizace molekuly již není zcela možná. A ač konečný průkaz vhodných farmakokinetických vlastností v lidské populaci bude vždy možno získat až ve studiích klinických, využití podobného modelu je výhodné nejen z toho očividného hlediska finančního a časového, ale může být vhodnější i eticky, bez exponování zdravých dobrovolníků velkému množství prototypů v rámci optimalizace lékových forem.

7. Použitá literatura

- ACHARYA, M., GONZALEZ, M., MANNENS, G., DE VRIES, R., LOPEZ, C., GRIFFIN, T. & TRAN, N. 2013. A phase I, open-label, single-dose, mass balance study of ¹⁴C-labeled abiraterone acetate in healthy male subjects. *Xenobiotica*, 43, 379-89.
- ALBRECHT, S., IHMSEN, H., HERING, W., GEISSLINGER, G., DINGEMANSE, J., SCHWILDEN, H. & SCHUTTLER, J. 1999. The effect of age on the pharmacokinetics and pharmacodynamics of midazolam. *Clin Pharmacol Ther*, 65, 630-9.
- ALLABI, A. C., GALA, J. L. & HORSMANS, Y. 2005. CYP2C9, CYP2C19, ABCB1 (MDR1) genetic polymorphisms and phenytoin metabolism in a Black Beninese population. *Pharmacogenet Genomics*, 15, 779-86.
- ALLEGAERT, K., VAN MIEGHEM, T., VERBESSELT, R., VANHOLE, C., DEVLIEGER, R., COSSEY, V., DEPREST, J. & DE HOON, J. 2009. Cefazolin plasma protein binding saturability during pregnancy. *Methods Find Exp Clin Pharmacol*, 31, 25-8.
- ALOMAR, M. J. 2014. Factors affecting the development of adverse drug reactions (Review article). *Saudi Pharm J*, 22, 83-94.
- ANDERSON, B. J. & MEAKIN, G. H. 2002. Scaling for size: some implications for paediatric anaesthesia dosing. *Paediatr Anaesth*, 12, 205-19.
- ANDERSON, G. D. & CHAN, L. N. 2016. Pharmacokinetic Drug Interactions with Tobacco, Cannabinoids and Smoking Cessation Products. *Clin Pharmacokinet*, 55, 1353-1368.
- ANZENBACHER, P. & ANZENBACHEROVA, E. 2001. Cytochromes P450 and metabolism of xenobiotics. *Cell Mol Life Sci*, 58, 737-47.
- APELLANIZ-RUIZ, M., LEE, M. Y., SANCHEZ-BARROSO, L., GUTIERREZ-GUTIERREZ, G., CALVO, I., GARCIA-ESTEVEZ, L., SERENO, M., GARCIA-DONAS, J., CASTELO, B., GUERRA, E., LEANDRO-GARCIA, L. J., CASCON, A., JOHANSSON, I., ROBLEDI, M., INGELMAN-SUNDBERG, M. & RODRIGUEZ-ANTONA, C. 2015. Whole-exome sequencing reveals defective CYP3A4 variants predictive of paclitaxel dose-limiting neuropathy. *Clin Cancer Res*, 21, 322-8.
- AUSTIN, K. L., MATHER, L. E., PHILPOT, C. R. & MCDONALD, P. J. 1980. Intersubject and dose-related variability after intravenous administration of erythromycin. *Br J Clin Pharmacol*, 10, 273-9.
- AYKUT, A., SABUNCU, U., DEMIR, Z. A., BALCI, E., SORAN TURKCAN, B., UNAL, U. & OZGOK, A. 2018. Heparin dose calculated according to lean body weight during on-pump heart surgery. *Turk Gogus Kalp Damar Cerrahisi Derg*, 26, 528-535.
- BALASHOVA, E. E., MASLOV, D. L. & LOKHOV, P. G. 2018. A Metabolomics Approach to Pharmacotherapy Personalization. *J Pers Med*, 8.
- BARAONA, E., ABITTAN, C. S., DOHMEN, K., MORETTI, M., POZZATO, G., CHAYES, Z. W., SCHAEFER, C. & LIEBER, C. S. 2001. Gender differences in pharmacokinetics of alcohol. *Alcohol Clin Exp Res*, 25, 502-7.
- BARRATT, D. T., COLLIER, J. K., HALLINAN, R., BYRNE, A., WHITE, J. M., FOSTER, D. J. & SOMOGYI, A. A. 2012. ABCB1 haplotype and OPRM1 118A > G genotype interaction in methadone maintenance treatment pharmacogenetics. *Pharmacogenomics Pers Med*, 5, 53-62.
- BART, G., LENZ, S., STRAKA, R. J. & BRUNDAGE, R. C. 2014. Ethnic and genetic factors in methadone pharmacokinetics: a population pharmacokinetic study. *Drug Alcohol Depend*, 145, 185-93.
- BARTKOWSKA-SNIATKOWSKA, A., BIENERT, A., WICZLING, P., ROSADA-KURASINSKA, J., ZIELINSKA, M., WARZYBOK, J., BORSUK, A., TIBBOEL, D., KALISZAN, R. & GRZESKOWIAK, E. 2016. Pharmacokinetics of sufentanil during long-term infusion in critically ill pediatric patients. *J Clin Pharmacol*, 56, 109-15.
- BARTOSOVA, O., POLANECKY, O., PERLIK, F., ADAMEK, S. & SLANAR, O. 2015. OPRM1 and ABCB1 polymorphisms and their effect on postoperative pain relief with piritramide. *Physiol Res*, 64 Suppl 4, S521-7.

- BARTOSOVA, O., POLANECKY, O., SACHL, R., STENGLOVA NETIKOVA, I., PERLIK, F., ADAMEK, S., LISCHKE, R. & SLANAR, O. 2019. Epidural analgesia with sufentanil in relation to OPRM1 and ABCB1 polymorphisms. *Physiol Res*, 68, S59-S64.
- BASILE, V. S., OZDEMIR, V., MASELLIS, M., WALKER, M. L., MELTZER, H. Y., LIEBERMAN, J. A., POTKIN, S. G., ALVA, G., KALOW, W., MACCIARDI, F. M. & KENNEDY, J. L. 2000. A functional polymorphism of the cytochrome P450 1A2 (CYP1A2) gene: association with tardive dyskinesia in schizophrenia. *Mol Psychiatry*, 5, 410-7.
- BECK, L. H. 1998. Changes in renal function with aging. *Clin Geriatr Med*, 14, 199-209.
- BERTHOLEE, D., MARING, J. G. & VAN KUILENBURG, A. B. 2017. Genotypes Affecting the Pharmacokinetics of Anticancer Drugs. *Clin Pharmacokinet*, 56, 317-337.
- BEST, B. M., BURCHETT, S., LI, H., STEK, A., HU, C., WANG, J., HAWKINS, E., BYROADS, M., WATTS, D. H., SMITH, E., FLETCHER, C. V., CAPPARELLI, E. V., MIROCHNICK, M., INTERNATIONAL MATERNAL, P. & ADOLESCENT, A. C. T. P. T. 2015. Pharmacokinetics of tenofovir during pregnancy and postpartum. *HIV Med*, 16, 502-11.
- BEST, B. M., STEK, A. M., MIROCHNICK, M., HU, C., LI, H., BURCHETT, S. K., ROSSI, S. S., SMITH, E., READ, J. S., CAPPARELLI, E. V. & INTERNATIONAL MATERNAL PEDIATRIC ADOLESCENT, A. C. T. G. S. S. T. 2010. Lopinavir tablet pharmacokinetics with an increased dose during pregnancy. *J Acquir Immune Defic Syndr*, 54, 381-8.
- BIGOS, K. L., POLLOCK, B. G., COLEY, K. C., MILLER, D. D., MARDER, S. R., ARAVAGIRI, M., KIRSHNER, M. A., SCHNEIDER, L. S. & BIES, R. R. 2008. Sex, race, and smoking impact olanzapine exposure. *J Clin Pharmacol*, 48, 157-65.
- BOCK, K. W., WILTFANG, J., BLUME, R., ULLRICH, D. & BIRCHER, J. 1987. Paracetamol as a test drug to determine glucuronide formation in man. Effects of inducers and of smoking. *Eur J Clin Pharmacol*, 31, 677-83.
- BOLESLAVSKÁ, T., SVĚTLÍK, S., ŽVÁTORA, P., BOSÁK, J., DAMMER, O., BERÁNEK, J., KOZLÍK, P., KŘÍŽEK, T., KUTINOVÁ CANOVÁ, N., ŠÍMA, M., SLANAŘ, O. & ŠTĚPÁNEK, F. 2020. Preclinical evaluation of new formulation concepts for abiraterone acetate bioavailability enhancement based on the inhibition of pH-induced precipitation. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*.
- BOSCH, T. M., HUITEMA, A. D., DOODEMAN, V. D., JANSEN, R., WITTEVEEN, E., SMIT, W. M., JANSEN, R. L., VAN HERPEN, C. M., SOESAN, M., BEIJNEN, J. H. & SCHELLENS, J. H. 2006. Pharmacogenetic screening of CYP3A and ABCB1 in relation to population pharmacokinetics of docetaxel. *Clin Cancer Res*, 12, 5786-93.
- BOSILKOVSKA, M., WALDER, B., BESSON, M., DAALI, Y. & DESMEULES, J. 2012. Analgesics in patients with hepatic impairment: pharmacology and clinical implications. *Drugs*, 72, 1645-69.
- BOUZOM, F. & WALTHER, B. 2008. Pharmacokinetic predictions in children by using the physiologically based pharmacokinetic modelling. *Fundam Clin Pharmacol*, 22, 579-87.
- BRAMMER, K. W. & COATES, P. E. 1994. Pharmacokinetics of fluconazole in pediatric patients. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 13, 325-9.
- BRETT, M. A., BUSCHER, G., ELLRICH, E., GREB, W. H., KURTH, H. J., RULANDER, G., SCHMERENBECK, B., HADDOCK, R. E. & THAWLEY, A. R. 1990. Nabumetone. Evidence for the lack of enterohepatic circulation of the active metabolite 6-MNA in humans. *Drugs*, 40 Suppl 5, 67-70.
- BROWN, R. B., MARTYAK, S. N., BARZA, M., CURTIS, L. & WEINSTEIN, L. 1976. Penetration of clindamycin phosphate into the abnormal human biliary tract. *Ann Intern Med*, 84, 168-70.
- BUDHA, N. R., FRYMOYER, A., SMELICK, G. S., JIN, J. Y., YAGO, M. R., DRESSER, M. J., HOLDEN, S. N., BENET, L. Z. & WARE, J. A. 2012. Drug absorption interactions between oral targeted anticancer agents and PPIs: is pH-dependent solubility the Achilles heel of targeted therapy? *Clin Pharmacol Ther*, 92, 203-13.

- BURK, O., KOCH, I., RAUCY, J., HUSTERT, E., EICHELBAUM, M., BROCKMOLLER, J., ZANGER, U. M. & WOJNOWSKI, L. 2004. The induction of cytochrome P450 3A5 (CYP3A5) in the human liver and intestine is mediated by the xenobiotic sensors pregnane X receptor (PXR) and constitutively activated receptor (CAR). *J Biol Chem*, 279, 38379-85.
- BURNS, M. L., BAFTIU, A., OPDAL, M. S., JOHANNESSEN, S. I. & LANDMARK, C. J. 2016. Therapeutic Drug Monitoring of Clobazam and Its Metabolite-Impact of Age and Comedication on Pharmacokinetic Variability. *Ther Drug Monit*, 38, 350-7.
- BURTIN, P., MENTRE, F., VAN BREE, J. & STEIMER, J. L. 1996. Sparse sampling for assessment of drug exposure in toxicological studies. *Eur J Drug Metab Pharmacokinet*, 21, 105-11.
- BUZKOVA, H., PECHANDOVA, K., SLANAR, O. & PERLIK, F. 2007. Genetic Polymorphism of Cytochrome CYP2C9 in the Czech population. *Klin. Biochem. Metab.*, 15, 102-105.
- BUZKOVA, H., PECHANDOVA, K., SLANAR, O. & PERLIK, F. 2008. Frequency of single nucleotide polymorphisms of CYP2D6 in the Czech population. *Cell Biochem Funct*, 26, 76-81.
- CAMORCIA, M., CAPOGNA, G., STIRPARO, S., BERRITTA, C., BLOUIN, J. L. & LANDAU, R. 2012. Effect of mu-opioid receptor A118G polymorphism on the ED50 of epidural sufentanil for labor analgesia. *Int J Obstet Anesth*, 21, 40-4.
- CASCORBI, I., GERLOFF, T., JOHNE, A., MEISEL, C., HOFFMEYER, S., SCHWAB, M., SCHAEFFELER, E., EICHELBAUM, M., BRINKMANN, U. & ROOTS, I. 2001. Frequency of single nucleotide polymorphisms in the P-glycoprotein drug transporter MDR1 gene in white subjects. *Clin Pharmacol Ther*, 69, 169-74.
- CASTRO, M. D., GOMEZ, M. A., KIP, A. E., COSSIO, A., ORTIZ, E., NAVAS, A., DORLO, T. P. & SARAVIA, N. G. 2017. Pharmacokinetics of Miltefosine in Children and Adults with Cutaneous Leishmaniasis. *Antimicrob Agents Chemother*, 61.
- CHAN, L. N. & ANDERSON, G. D. 2014. Pharmacokinetic and pharmacodynamic drug interactions with ethanol (alcohol). *Clin Pharmacokinet*, 53, 1115-36.
- CHEN, M. L., SADRIEH, N. & YU, L. 2013. Impact of osmotically active excipients on bioavailability and bioequivalence of BCS class III drugs. *AAPS J*, 15, 1043-50.
- CHEN, N., ALEKSA, K., WOODLAND, C., RIEDER, M. & KOREN, G. 2006. Ontogeny of drug elimination by the human kidney. *Pediatr Nephrol*, 21, 160-8.
- CHEN, S., SUTIMAN, N., ZHANG, C. Z., YU, Y., LAM, S., KHOR, C. C. & CHOWBAY, B. 2016. Pharmacogenetics of irinotecan, doxorubicin and docetaxel transporters in Asian and Caucasian cancer patients: a comparative review. *Drug Metab Rev*, 48, 502-540.
- CHOI, Y. H. & YU, A. M. 2014. ABC transporters in multidrug resistance and pharmacokinetics, and strategies for drug development. *Curr Pharm Des*, 20, 793-807.
- CHOW, S.-C. & LIU, J.-P. 2009. *Design and analysis of bioavailability and bioequivalence studies*, Boca Raton, CRC Press.
- CLOTZ, M. A. & NAHATA, M. C. 1991. Clinical uses of fentanyl, sufentanil, and alfentanil. *Clin Pharm*, 10, 581-93.
- COURT, M. H., HAO, Q., KRISHNASWAMY, S., BEKAI-SAAB, T., AL-ROHAIMI, A., VON MOLTKE, L. L. & GREENBLATT, D. J. 2004. UDP-glucuronosyltransferase (UGT) 2B15 pharmacogenetics: UGT2B15 D85Y genotype and gender are major determinants of oxazepam glucuronidation by human liver. *J Pharmacol Exp Ther*, 310, 656-65.
- DALY, A. K., AITHAL, G. P., LEATHART, J. B., SWAINSBURY, R. A., DANG, T. S. & DAY, C. P. 2007. Genetic susceptibility to diclofenac-induced hepatotoxicity: contribution of UGT2B7, CYP2C8, and ABCC2 genotypes. *Gastroenterology*, 132, 272-81.
- DAVIES, N. M. 1997. Clinical pharmacokinetics of nabumetone. The dawn of selective cyclooxygenase-2 inhibition? *Clin Pharmacokinet*, 33, 404-16.
- DAVIES, N. M., TAKEMOTO, J. K., BROCKS, D. R. & YANEZ, J. A. 2010. Multiple Peaking Phenomena in Pharmacokinetic Disposition. *Clinical Pharmacokinetics*, 49, 351-377.
- DE CAPRARIS, A., CINNELLA, G., MAROLLA, A., SALATTO, P., DA LIMA, S., VETUSCHI, P., CONSOLETTI, L., GESUALDO, L. & DAMBROSIO, M. 2011. Micro opioid receptor A118G

- polymorphism and post-operative pain: opioids' effects on heterozygous patients. *Int J Immunopathol Pharmacol*, 24, 993-1004.
- DE JAGER, A. D., HUNDT, H. K., HUNDT, A. F., SWART, K. J., KNIGHT, M. & ROBERTS, J. 2000. Extractionless determination of 6-methoxy-2-naphthylacetic acid, a major metabolite of nabumetone, in human plasma by high-performance liquid chromatography. *J Chromatogr B Biomed Sci Appl*, 740, 247-51.
- DE VRIES, E. N., RAMRATTAN, M. A., SMORENBURG, S. M., GOUMA, D. J. & BOERMEESTER, M. A. 2008. The incidence and nature of in-hospital adverse events: a systematic review. *Qual Saf Health Care*, 17, 216-23.
- DEAN, M. & ANNILO, T. 2005. Evolution of the ATP-binding cassette (ABC) transporter superfamily in vertebrates. *Annu Rev Genomics Hum Genet*, 6, 123-42.
- DEENEN, M. J., MEULENDIJKS, D., CATS, A., SECHTERBERGER, M. K., SEVERENS, J. L., BOOT, H., SMITS, P. H., ROSING, H., MANDIGERS, C. M., SOESAN, M., BEIJNEN, J. H. & SCHELLENS, J. H. 2016. Upfront Genotyping of DPYD*2A to Individualize Fluoropyrimidine Therapy: A Safety and Cost Analysis. *J Clin Oncol*, 34, 227-34.
- DEGEN, L. P. & PHILLIPS, S. F. 1996. Variability of gastrointestinal transit in healthy women and men. *Gut*, 39, 299-305.
- DEL RE, M., RESTANTE, G., DI PAOLO, A., CRUCITTA, S., ROFI, E. & DANESI, R. 2017. Pharmacogenetics and Metabolism from Science to Implementation in Clinical Practice: The Example of Dihydropyrimidine Dehydrogenase. *Curr Pharm Des*, 23, 2028-2034.
- DEMIROVIC, J. A., PAI, A. B. & PAI, M. P. 2009. Estimation of creatinine clearance in morbidly obese patients. *Am J Health Syst Pharm*, 66, 642-8.
- DIEP, U., CHUDOW, M. & SUNJIC, K. M. 2017. Pharmacokinetic Changes in Liver Failure and Impact on Drug Therapy. *AACN Adv Crit Care*, 28, 93-101.
- DRESSMAN, J. B., VERTZONI, M., GOUMAS, K. & REPPAS, C. 2007. Estimating drug solubility in the gastrointestinal tract. *Adv Drug Deliv Rev*, 59, 591-602.
- DUBBELS, R. & SCHLOOT, W. 1983. Studies on the metabolism of benoxinate by human pseudocholinesterase. *Metab Pediatr Syst Ophthalmol*, 7, 37-43.
- DULUCQ, S., BOUCHET, S., TURCQ, B., LIPPERT, E., ETIENNE, G., REIFFERS, J., MOLIMARD, M., KRAJINOVIC, M. & MAHON, F. X. 2008. Multidrug resistance gene (MDR1) polymorphisms are associated with major molecular responses to standard-dose imatinib in chronic myeloid leukemia. *Blood*, 112, 2024-7.
- ECHEVERRIA, P., SIBER, G. R., PAISLEY, J., SMITH, A. L., SMITH, D. H., JAFFE, N. & PAED, D. 1975. Age-dependent dose response to gentamicin. *J Pediatr*, 87, 805-8.
- EDGINTON, A. N., SHAH, B., SEVESTRE, M. & MOMPER, J. D. 2013. The integration of allometry and virtual populations to predict clearance and clearance variability in pediatric populations over the age of 6 years. *Clin Pharmacokinet*, 52, 693-703.
- EICHELBAUM, M., INGELMAN-SUNDBERG, M. & EVANS, W. E. 2006. Pharmacogenomics and individualized drug therapy. *Annu Rev Med*, 57, 119-37.
- ELEY, T., LUO, F. R., AGRAWAL, S., SANIL, A., MANNING, J., LI, T., BLACKWOOD-CHIRCHIR, A. & BERTZ, R. 2009. Phase I study of the effect of gastric acid pH modulators on the bioavailability of oral dasatinib in healthy subjects. *J Clin Pharmacol*, 49, 700-9.
- EMA 2010. GUIDELINE ON THE INVESTIGATION OF BIOEQUIVALENCE.
- EMA 2011. Guideline on bioanalytical method validation.
- EMA 2012. Guideline on the investigation of drug interactions. *In: (CHMP), C. F. H. M. P. (ed.)*.
- ETIENNE-GRIMALDI, M. C., BOYER, J. C., BEROU, C., MBATCHI, L., VAN KUILENBURG, A., BOBIN-DUBIGEON, C., THOMAS, F., CHATELUT, E., MERLIN, J. L., PINGUET, F., FERRAND, C., MEIJER, J., EVRARD, A., LLORCA, L., ROMIEU, G., FOLLANA, P., BACHELOT, T., CHAIGNEAU, L., PIVOT, X., DIERAS, V., LARGILLIER, R., MOUSSEAU, M., GONCALVES, A., ROCHE, H., BONNETERRE, J., SERVENT, V., DOHOLLOU, N., CHATEAU, Y., CHAMOREY, E., DESVIGNES, J. P., SALGADO, D., FERRERO, J. M. & MILANO, G. 2017. New advances in DPYD genotype and risk of severe toxicity under capecitabine. *PLoS One*, 12, e0175998.

- FANG, L., PAN, Y., MUZYKA, J. L. & ZHAN, C. G. 2011. Active site gating and substrate specificity of butyrylcholinesterase and acetylcholinesterase: insights from molecular dynamics simulations. *J Phys Chem B*, 115, 8797-805.
- FDA 2019. Table of Pharmacogenomic Biomarkers in Drug Labeling.
- FENG, J., FITZ, Y., LI, Y., FERNANDEZ, M., CORTES PUCH, I., WANG, D., PAZNIOKAS, S., BUCHER, B., CUI, X. & SOLOMON, S. B. 2015. Catheterization of the carotid artery and jugular vein to perform hemodynamic measures, infusions and blood sampling in a conscious rat model. *J Vis Exp*.
- FENG, Y., POLLOCK, B. G., FERRELL, R. E., KIMAK, M. A., REYNOLDS, C. F., 3RD & BIES, R. R. 2006. Paroxetine: population pharmacokinetic analysis in late-life depression using sparse concentration sampling. *Br J Clin Pharmacol*, 61, 558-69.
- FERDINAND, K. C. & IGARI, M. 2018. The role of racial/ethnic factors in global clinical trials. *Expert Rev Clin Pharmacol*, 11, 829-832.
- FLATEN, H. K., KIM, H. S., CAMPBELL, J., HAMILTON, L. & MONTE, A. A. 2016. CYP2C19 drug-drug and drug-gene interactions in ED patients. *Am J Emerg Med*, 34, 245-9.
- FLISER, D., FRANEK, E., JOEST, M., BLOCK, S., MUTSCHLER, E. & RITZ, E. 1997. Renal function in the elderly: impact of hypertension and cardiac function. *Kidney Int*, 51, 1196-204.
- FRANCONI, F., BRUNELLESCHI, S., STEARDO, L. & CUOMO, V. 2007. Gender differences in drug responses. *Pharmacol Res*, 55, 81-95.
- FRANCONI, F. & CAMPESI, I. 2014a. Pharmacogenomics, pharmacokinetics and pharmacodynamics: interaction with biological differences between men and women. *Br J Pharmacol*, 171, 580-94.
- FRANCONI, F. & CAMPESI, I. 2014b. Sex and gender influences on pharmacological response: an overview. *Expert Rev Clin Pharmacol*, 7, 469-85.
- FUNK, K. A. & BOSTWICK, J. R. 2013. A comparison of the risk of QT prolongation among SSRIs. *Ann Pharmacother*, 47, 1330-41.
- GANDHI, M., AWEEKA, F., GREENBLATT, R. M. & BLASCHKE, T. F. 2004. Sex differences in pharmacokinetics and pharmacodynamics. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, 44, 499-523.
- GARDINER, S. J. & BEGG, E. J. 2006. Pharmacogenetics, drug-metabolizing enzymes, and clinical practice. *Pharmacol Rev*, 58, 521-90.
- GEORGE, J., BYTH, K. & FARRELL, G. C. 1995. Age but not gender selectively affects expression of individual cytochrome P450 proteins in human liver. *Biochem Pharmacol*, 50, 727-30.
- GOEY, A. K. & FIGG, W. D. 2016. UGT genotyping in belinostat dosing. *Pharmacol Res*, 105, 22-7.
- GONIK, B., FELDMAN, S., PICKERING, L. K. & DOUGHTIE, C. G. 1986. Pharmacokinetics of cefoperazone in the parturient. *Antimicrob Agents Chemother*, 30, 874-6.
- GORSKI, J. C., VANNAPRASAHT, S., HAMMAN, M. A., AMBROSIUS, W. T., BRUCE, M. A., HAEHNER-DANIELS, B. & HALL, S. D. 2003. The effect of age, sex, and rifampin administration on intestinal and hepatic cytochrome P450 3A activity. *Clin Pharmacol Ther*, 74, 275-87.
- GRAND, R. J., WATKINS, J. B. & TORTI, F. M. 1976. Development of the human gastrointestinal tract. A review. *Gastroenterology*, 70, 790-810.
- GRANT, D. M., MORIKE, K., EICHELBAUM, M. & MEYER, U. A. 1990. Acetylation pharmacogenetics. The slow acetylator phenotype is caused by decreased or absent arylamine N-acetyltransferase in human liver. *J Clin Invest*, 85, 968-72.
- GRANT, D. M., TANG, B. K. & KALOW, W. 1984. A simple test for acetylator phenotype using caffeine. *Br J Clin Pharmacol*, 17, 459-64.
- GREEN, H., SODERKVIST, P., ROSENBERG, P., MIRGHANI, R. A., RYMARK, P., LUNDQVIST, E. A. & PETERSON, C. 2009. Pharmacogenetic studies of Paclitaxel in the treatment of ovarian cancer. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*, 104, 130-7.
- GREENBLATT, D. J., ABERNETHY, D. R., LOCNISKAR, A., HARMATZ, J. S., LIMJUCO, R. A. & SHADER, R. I. 1984. Effect of age, gender, and obesity on midazolam kinetics. *Anesthesiology*, 61, 27-35.

- GREIFF, J. M. & ROWBOTHAM, D. 1994. Pharmacokinetic drug interactions with gastrointestinal motility modifying agents. *Clin Pharmacokinet*, 27, 447-61.
- GREINER, B., EICHELBAUM, M., FRITZ, P., KREICHAUER, H. P., VON RICHTER, O., ZUNDLER, J. & KROEMER, H. K. 1999. The role of intestinal P-glycoprotein in the interaction of digoxin and rifampin. *J Clin Invest*, 104, 147-53.
- GUNES, A. & DAHL, M. L. 2008. Variation in CYP1A2 activity and its clinical implications: influence of environmental factors and genetic polymorphisms. *Pharmacogenomics*, 9, 625-37.
- GURAV, S., PUNDE, R., FAROOQUI, J., ZAINUDDIN, M., RAJAGOPAL, S. & MULLANGI, R. 2012. Development and validation of a highly sensitive method for the determination of abiraterone in rat and human plasma by LC-MS/MS-ESI: application to a pharmacokinetic study. *Biomed Chromatogr*, 26, 761-8.
- GUTTMAN, Y., NUDEL, A. & KEREM, Z. 2019. Polymorphism in Cytochrome P450 3A4 Is Ethnicity Related. *Front Genet*, 10, 224.
- HANRATTY, C. G., MCGLINCHEY, P., JOHNSTON, G. D. & PASSMORE, A. P. 2000. Differential pharmacokinetics of digoxin in elderly patients. *Drugs Aging*, 17, 353-62.
- HAROLDSSEN, P. E., GAROVOY, M. R., MUSSON, D. G., ZHOU, H., TSURUDA, L., HANSON, B. & O'NEILL, C. A. 2015. Genetic variation in aryl N-acetyltransferase results in significant differences in the pharmacokinetic and safety profiles of amifampridine (3,4-diaminopyridine) phosphate. *Pharmacol Res Perspect*, 3, e00099.
- HARPER, K. W., COLLIER, P. S., DUNDEE, J. W., ELLIOTT, P., HALLIDAY, N. J. & LOWRY, K. G. 1985. Age and nature of operation influence the pharmacokinetics of midazolam. *Br J Anaesth*, 57, 866-71.
- HARTTER, S., SENNEWALD, R., NEHMIZ, G. & REILLY, P. 2013. Oral bioavailability of dabigatran etexilate (Pradaxa((R))) after co-medication with verapamil in healthy subjects. *Br J Clin Pharmacol*, 75, 1053-62.
- HASSELSTROM, J., ERIKSSON, S., PERSSON, A., RANE, A., SVENSSON, J. O. & SAWE, J. 1990. The metabolism and bioavailability of morphine in patients with severe liver cirrhosis. *Br J Clin Pharmacol*, 29, 289-97.
- HAUFROID, V. & HANTSON, P. 2015. CYP2D6 genetic polymorphisms and their relevance for poisoning due to amfetamines, opioid analgesics and antidepressants. *Clin Toxicol (Phila)*, 53, 501-10.
- HEUBERGER, J., SCHMIDT, S. & DERENDORF, H. 2013. When is protein binding important? *J Pharm Sci*, 102, 3458-67.
- HILDEBRAND, M., HELLSTERN, A., HUMPEL, M., HELLENBRECHT, D. & SALLER, R. 1990. Plasma levels and urinary excretion of lormetazepam in patients with liver cirrhosis and in healthy volunteers. *Eur J Drug Metab Pharmacokinet*, 15, 19-26.
- HINES, R. N. 2013. Developmental expression of drug metabolizing enzymes: impact on disposition in neonates and young children. *Int J Pharm*, 452, 3-7.
- HOCHMAN, J., TANG, C. & PRUEKSARITANONT, T. 2015. Drug-drug interactions related to altered absorption and plasma protein binding: theoretical and regulatory considerations, and an industry perspective. *J Pharm Sci*, 104, 916-29.
- HOLFORD, N., HEO, Y. A. & ANDERSON, B. 2013. A pharmacokinetic standard for babies and adults. *J Pharm Sci*, 102, 2941-52.
- HOLFORD, N. H. 1996. A size standard for pharmacokinetics. *Clin Pharmacokinet*, 30, 329-32.
- HUANG, N. N. & HIGH, R. H. 1953. Comparison of serum levels following the administration of oral and parenteral preparations of penicillin to infants and children of various age groups. *J Pediatr*, 42, 657-8.
- HUKKANEN, J. 2000. *Xenobiotic-metabolizing cytochrome P450 enzymes in human lung*, Oulu, University of Oulu.
- HUNT, C. M., WESTERKAM, W. R. & STAVE, G. M. 1992. Effect of age and gender on the activity of human hepatic CYP3A. *Biochem Pharmacol*, 44, 275-83.

- IANNUZZI, E., IANNUZZI, M., CIRILLO, V., VIOLA, G., PARISI, R., CERULLI, A. & CHIEFARI, M. 2004. Peri-intubation cardiovascular response during low dose remifentanil or sufentanil administration in association with propofol TCI. A double blind comparison. *Minerva Anestesiol*, 70, 109-15.
- IISALO, E. 1977. Clinical pharmacokinetics of digoxin. *Clin Pharmacokinet*, 2, 1-16.
- INGELMAN-SUNDBERG, M., SIM, S. C., GOMEZ, A. & RODRIGUEZ-ANTONA, C. 2007. Influence of cytochrome P450 polymorphisms on drug therapies: pharmacogenetic, pharmacoeconomic and clinical aspects. *Pharmacol Ther*, 116, 496-526.
- INOUE, K., YAMAZAKI, H., IMIYA, K., AKASAKA, S., GUENGERICH, F. P. & SHIMADA, T. 1997. Relationship between CYP2C9 and 2C19 genotypes and tolbutamide methyl hydroxylation and S-mephenytoin 4'-hydroxylation activities in livers of Japanese and Caucasian populations. *Pharmacogenetics*, 7, 103-13.
- ISHIKAWA, T., ONISHI, Y., HIRANO, H., OOSUMI, K., NAGAKURA, M. & TARUI, S. 2004. Pharmacogenomics of drug transporters: a new approach to functional analysis of the genetic polymorphisms of ABCB1 (P-glycoprotein/MDR1). *Biol Pharm Bull*, 27, 939-48.
- ISHIZAWA, Y., YASUI-FURUKORI, N., TAKAHATA, T., SASAKI, M. & TATEISHI, T. 2005. The effect of aging on the relationship between the cytochrome P450 2C19 genotype and omeprazole pharmacokinetics. *Clin Pharmacokinet*, 44, 1179-89.
- IWANARI, M., NAKAJIMA, M., KIZU, R., HAYAKAWA, K. & YOKOI, T. 2002. Induction of CYP1A1, CYP1A2, and CYP1B1 mRNAs by nitropolycyclic aromatic hydrocarbons in various human tissue-derived cells: chemical-, cytochrome P450 isoform-, and cell-specific differences. *Arch Toxicol*, 76, 287-98.
- JANKOVIC, S. M., MILOVANOVIC, J. R. & JANKOVIC, S. 2010. Factors influencing valproate pharmacokinetics in children and adults. *Int J Clin Pharmacol Ther*, 48, 767-75.
- JAPANESE MINISTRY OF HEALTH, L., AND WELFARE 2001. Clinical Pharmacokinetic Studies of Pharmaceuticals.
- JOHNSON, J. A. 2000. Predictability of the effects of race or ethnicity on pharmacokinetics of drugs. *Int J Clin Pharmacol Ther*, 38, 53-60.
- KAHAN, B. D., KRAMER, W. G., WIDEMAN, C., FLECHNER, S. M., LORBER, M. I. & VAN BUREN, C. T. 1986. Demographic factors affecting the pharmacokinetics of cyclosporine estimated by radioimmunoassay. *Transplantation*, 41, 459-64.
- KARL, H. W., ROSENBERGER, J. L., LARACH, M. G. & RUFFLE, J. M. 1993. Transmucosal administration of midazolam for premedication of pediatric patients. Comparison of the nasal and sublingual routes. *Anesthesiology*, 78, 885-91.
- KARLSSON, L., HIEMKE, C., CARLSSON, B., JOSEFSSON, M., AHLNER, J., BENGTTSSON, F., SCHMITT, U. & KUGELBERG, F. C. 2011. Effects on enantiomeric drug disposition and open-field behavior after chronic treatment with venlafaxine in the P-glycoprotein knockout mice model. *Psychopharmacology (Berl)*, 215, 367-77.
- KENDALL, M. J., CHELLINGSWORTH, M. C., JUBB, R., THAWLEY, A. R., UNDRE, N. A. & KILL, D. C. 1989. A pharmacokinetic study of the active metabolite of nabumetone in young healthy subjects and older arthritis patients. *Eur J Clin Pharmacol*, 36, 299-305.
- KESKITALO, J. E., ZOLK, O., FROMM, M. F., KURKINEN, K. J., NEUVONEN, P. J. & NIEMI, M. 2009. ABCG2 polymorphism markedly affects the pharmacokinetics of atorvastatin and rosuvastatin. *Clin Pharmacol Ther*, 86, 197-203.
- KEYVANJAH, K., DIPRIMEO, D., LI, A., OBAIDI, M., SWEARINGEN, D. & WONG, A. 2017. Pharmacokinetics of neratinib during coadministration with lansoprazole in healthy subjects. *Br J Clin Pharmacol*, 83, 554-561.
- KIM, R. B. & O'SHEA, D. 1995. Interindividual variability of chlorzoxazone 6-hydroxylation in men and women and its relationship to CYP2E1 genetic polymorphisms. *Clin Pharmacol Ther*, 57, 645-55.
- KINIRONS, M. T. & O'MAHONY, M. S. 2004. Drug metabolism and ageing. *Br J Clin Pharmacol*, 57, 540-4.

- KIRCHHEINER, J. & BROCKMOLLER, J. 2005. Clinical consequences of cytochrome P450 2C9 polymorphisms. *Clin Pharmacol Ther*, 77, 1-16.
- KLOTZ, U. 2009. Pharmacokinetics and drug metabolism in the elderly. *Drug Metab Rev*, 41, 67-76.
- KLOTZ, U., AVANT, G. R., HOYUMPA, A., SCHENKER, S. & WILKINSON, G. R. 1975. The effects of age and liver disease on the disposition and elimination of diazepam in adult man. *J Clin Invest*, 55, 347-59.
- KOBYLINSKA, K., BARLINSKA, M. & KOBYLINSKA, M. 2003. Analysis of nabumetone in human plasma by HPLC. Application to single dose pharmacokinetic studies. *J Pharm Biomed Anal*, 32, 323-8.
- KOZIOLEK, M., ALCARO, S., AUGUSTIJNS, P., BASIT, A. W., GRIMM, M., HENS, B., HOAD, C. L., JEDAMZIK, P., MADLA, C. M., MALIEPAARD, M., MARCIANI, L., MARUCA, A., PARROTT, N., PAVEK, P., PORTER, C. J. H., REPPAS, C., VAN RIET-NALES, D., RUBBENS, J., STATELOVA, M., TREVASKIS, N. L., VALENTOVA, K., VERTZONI, M., CEPO, D. V. & CORSETTI, M. 2019. The mechanisms of pharmacokinetic food-drug interactions - A perspective from the UNGAP group. *Eur J Pharm Sci*, 134, 31-59.
- KRECIC-SHEPARD, M. E., PARK, K., BARNAS, C., SLIMKO, J., KERWIN, D. R. & SCHWARTZ, J. B. 2000. Race and sex influence clearance of nifedipine: results of a population study. *Clin Pharmacol Ther*, 68, 130-42.
- KROON, L. A. 2007. Drug interactions with smoking. *Am J Health Syst Pharm*, 64, 1917-21.
- KULO, A., HENDRICKX, S., DE HOON, J., MULABEGOVIC, N., VAN CALSTEREN, K., VERBESSELT, R. & ALLEGAERT, K. 2013. The impact of pregnancy on urinary ketorolac metabolites after single intravenous bolus. *Eur J Drug Metab Pharmacokinet*, 38, 1-4.
- LAGAS, J. S., SPARIDANS, R. W., WAGENAAR, E., BEIJNEN, J. H. & SCHINKEL, A. H. 2010. Hepatic clearance of reactive glucuronide metabolites of diclofenac in the mouse is dependent on multiple ATP-binding cassette efflux transporters. *Mol Pharmacol*, 77, 687-94.
- LAL, S., WONG, Z. W., SANDANARAJ, E., XIANG, X., ANG, P. C., LEE, E. J. & CHOWBAY, B. 2008. Influence of ABCB1 and ABCG2 polymorphisms on doxorubicin disposition in Asian breast cancer patients. *Cancer Sci*, 99, 816-23.
- LEA-HENRY, T. N., CARLAND, J. E., STOCKER, S. L., SEVASTOS, J. & ROBERTS, D. M. 2018. Clinical Pharmacokinetics in Kidney Disease: Fundamental Principles. *Clin J Am Soc Nephrol*, 13, 1085-1095.
- LEE, Y.-J., JANG, E.-J., LEE, J.-U., HAN, Y.-H., CHUNG, S.-J., LEE, M.-H. & SHIM, C.-K. 1995. Bioequivalence study of nabumetone tablets in man. *Archives of Pharmacol Research*, 18, 340-345.
- LEUNG, J. W., CHAN, R. C., CHEUNG, S. W., SUNG, J. Y., CHUNG, S. C. & FRENCH, G. L. 1990. The effect of obstruction on the biliary excretion of cefoperazone and ceftazidime. *J Antimicrob Chemother*, 25, 399-406.
- LEWIS, J., AGODOA, L., CHEEK, D., GREENE, T., MIDDLETON, J., O'CONNOR, D., OJO, A., PHILLIPS, R., SIKI, M., WRIGHT, J., JR., AFRICAN-AMERICAN STUDY OF, H. & KIDNEY, D. 2001. Comparison of cross-sectional renal function measurements in African Americans with hypertensive nephrosclerosis and of primary formulas to estimate glomerular filtration rate. *Am J Kidney Dis*, 38, 744-53.
- LI, M., SEISER, E. L., BALDWIN, R. M., RAMIREZ, J., RATAIN, M. J., INNOCENTI, F. & KROETZ, D. L. 2018. ABC transporter polymorphisms are associated with irinotecan pharmacokinetics and neutropenia. *Pharmacogenomics J*, 18, 35-42.
- LIANG, L., WAN, S., XIAO, J., ZHANG, J. & GU, M. 2011. Rapid UPLC-MS/MS method for the determination of sufentanil in human plasma and its application in target-controlled infusion system. *J Pharm Biomed Anal*, 54, 838-44.
- LINDEMAN, R. D., TOBIN, J. & SHOCK, N. W. 1985. Longitudinal studies on the rate of decline in renal function with age. *J Am Geriatr Soc*, 33, 278-85.

- LOCKRIDGE, O., NORGRÉN, R. B., JR., JOHNSON, R. C. & BLAKE, T. A. 2016. Naturally Occurring Genetic Variants of Human Acetylcholinesterase and Butyrylcholinesterase and Their Potential Impact on the Risk of Toxicity from Cholinesterase Inhibitors. *Chem Res Toxicol*, 29, 1381-92.
- LOVRIC, M., BOZINA, N., HAJNSEK, S., KUZMAN, M. R., SPORIS, D., LALIC, Z., BOZINA, T. & GRANIC, P. 2012. Association between lamotrigine concentrations and ABCB1 polymorphisms in patients with epilepsy. *Ther Drug Monit*, 34, 518-25.
- LU, H. & ROSENBAUM, S. 2014. Developmental pharmacokinetics in pediatric populations. *J Pediatr Pharmacol Ther*, 19, 262-76.
- LYNCH, T. & PRICE, A. 2007. The effect of cytochrome P450 metabolism on drug response, interactions, and adverse effects. *Am Fam Physician*, 76, 391-6.
- MACDONALD, J. I., WALLACE, S. M., MAHACHAI, V. & VERBEECK, R. K. 1992. Both phenolic and acyl glucuronidation pathways of diflunisal are impaired in liver cirrhosis. *Eur J Clin Pharmacol*, 42, 471-4.
- MACLEOD, S. M., GILES, H. G., BENGERT, B., LIU, F. F. & SELLERS, E. M. 1979. Age- and gender-related differences in diazepam pharmacokinetics. *J Clin Pharmacol*, 19, 15-9.
- MADSEN, J. L. 1992. Effects of gender, age, and body mass index on gastrointestinal transit times. *Dig Dis Sci*, 37, 1548-53.
- MAHMOOD, I. 2014a. Designing first-in-human dose of coagulation factors: application of pharmacokinetic allometric scaling. *Haemophilia*, 20, 32-8.
- MAHMOOD, I. 2014b. Dosing in children: a critical review of the pharmacokinetic allometric scaling and modelling approaches in paediatric drug development and clinical settings. *Clin Pharmacokinet*, 53, 327-46.
- MARCELLIN, P., DE BONY, F., GARRET, C., ALTMAN, C., BOIGE, V., CASTELNAU, C., LAURENT-PUIG, P., TRINCHET, J. C., ROLAN, P., CHEN, C., MAMET, J. P. & BIDAULT, R. 2001. Influence of cirrhosis on lamotrigine pharmacokinetics. *Br J Clin Pharmacol*, 51, 410-4.
- MARQUES, S. C. & IKEDIOBI, O. N. 2010. The clinical application of UGT1A1 pharmacogenetic testing: gene-environment interactions. *Hum Genomics*, 4, 238-49.
- MARTENS-LOBENHOFFER, J. 2002. Very sensitive and specific determination of sufentanil in human serum applying liquid chromatography-two stage mass spectrometry. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 769, 227-33.
- MATSUMOTO, K., NEMOTO, E., HASEGAWA, T., AKIMOTO, M. & SUGIBAYASHI, K. 2011. In vitro characterization of the cytochrome P450 isoforms involved in the metabolism of 6-methoxy-2-naphthylacetic acid, an active metabolite of the prodrug nabumetone. *Biol Pharm Bull*, 34, 734-9.
- MCGREADY, R., STEPNIIEWSKA, K., EDSTEIN, M. D., CHO, T., GILVERAY, G., LOOAREESUWAN, S., WHITE, N. J. & NOSTEN, F. 2003. The pharmacokinetics of atovaquone and proguanil in pregnant women with acute falciparum malaria. *Eur J Clin Pharmacol*, 59, 545-52.
- MCNAMARA, P. J. & ALCORN, J. 2002. Protein binding predictions in infants. *AAPS PharmSci*, 4, E4.
- MEINEKE, I., FREUDENTHALER, S., HOFMANN, U., SCHAEFFELER, E., MIKUS, G., SCHWAB, M., PRANGE, H. W., GLEITER, C. H. & BROCKMOLLER, J. 2002. Pharmacokinetic modelling of morphine, morphine-3-glucuronide and morphine-6-glucuronide in plasma and cerebrospinal fluid of neurosurgical patients after short-term infusion of morphine. *Br J Clin Pharmacol*, 54, 592-603.
- MEYER, B. R. 1989. Renal function in aging. *J Am Geriatr Soc*, 37, 791-800.
- MIDHA, K. K., RAWSON, M. J. & HUBBARD, J. W. 2005. The bioequivalence of highly variable drugs and drug products. *Int J Clin Pharmacol Ther*, 43, 485-98.
- MILLER, J. M., BEIG, A., KRIEG, B. J., CARR, R. A., BORCHARDT, T. B., AMIDON, G. E., AMIDON, G. L. & DAHAN, A. 2011. The solubility-permeability interplay: mechanistic modeling and predictive application of the impact of micellar solubilization on intestinal permeation. *Mol Pharm*, 8, 1848-56.

- MINERS, J. O., ATTWOOD, J. & BIRKETT, D. J. 1983. Influence of sex and oral contraceptive steroids on paracetamol metabolism. *Br J Clin Pharmacol*, 16, 503-9.
- MINERS, J. O. & BIRKETT, D. J. 1998. Cytochrome P4502C9: an enzyme of major importance in human drug metabolism. *Br J Clin Pharmacol*, 45, 525-38.
- MINERS, J. O., ROBSON, R. A. & BIRKETT, D. J. 1986. Paracetamol metabolism in pregnancy. *Br J Clin Pharmacol*, 22, 359-62.
- MITCHELL, S. C. 2020. N-acetyltransferase: the practical consequences of polymorphic activity in man. *Xenobiotica*, 50, 77-91.
- MO, S. L., LIU, Y. H., DUAN, W., WEI, M. Q., KANWAR, J. R. & ZHOU, S. F. 2009. Substrate specificity, regulation, and polymorphism of human cytochrome P450 2B6. *Curr Drug Metab*, 10, 730-53.
- MOMPER, J. D., MULUGETA, Y., GREEN, D. J., KARESH, A., KRUDYS, K. M., SACHS, H. C., YAO, L. P. & BURCKART, G. J. 2013. Adolescent dosing and labeling since the Food and Drug Administration Amendments Act of 2007. *JAMA Pediatr*, 167, 926-32.
- MORSELLI, P. L. 1976. Clinical pharmacokinetics in neonates. *Clin Pharmacokinet*, 1, 81-98.
- MORTIMER, P. R., MACKIE, D. B. & HAYNES, S. 1969. Ampicillin levels in human bile in the presence of biliary tract disease. *Br Med J*, 3, 88-9.
- MUECK, W., KUBITZA, D. & BECKA, M. 2013. Co-administration of rivaroxaban with drugs that share its elimination pathways: pharmacokinetic effects in healthy subjects. *Br J Clin Pharmacol*, 76, 455-66.
- NAUD, J., NOLIN, T. D., LEBLOND, F. A. & PICHETTE, V. 2012. Current understanding of drug disposition in kidney disease. *J Clin Pharmacol*, 52, 10S-22S.
- NELSON, D. R. 2009. The cytochrome p450 homepage. *Hum Genomics*, 4, 59-65.
- NEUGEBAUER, G., GABOR, M. & REIFF, K. 1992. Disposition of carvedilol enantiomers in patients with liver cirrhosis: evidence for disappearance of stereoselective first-pass extraction. *J Cardiovasc Pharmacol*, 19 Suppl 1, S142-6.
- NEUVONEN, A. M., PALO, J. U. & SAJANTILA, A. 2011. Post-mortem ABCB1 genotyping reveals an elevated toxicity for female digoxin users. *Int J Legal Med*, 125, 265-9.
- NIESTERS, M., OVERDYK, F., SMITH, T., AARTS, L. & DAHAN, A. 2013. Opioid-induced respiratory depression in paediatrics: a review of case reports. *Br J Anaesth*, 110, 175-82.
- NOBILIS, M., KOPECKY, J., KVETINA, J., SVOBODA, Z., POUR, M., KUNES, J., HOLCAPEK, M. & KOLAROVA, L. 2003. Comparative biotransformation and disposition studies of nabumetone in humans and minipigs using high-performance liquid chromatography with ultraviolet, fluorescence and mass spectrometric detection. *J Pharm Biomed Anal*, 32, 641-56.
- NOCK, N. L., TANG, D., RUNDLE, A., NESLUND-DUDAS, C., SAVERA, A. T., BOCK, C. H., MONAGHAN, K. G., KOPROWSKI, A., MITRACHE, N., YANG, J. J. & RYBICKI, B. A. 2007. Associations between smoking, polymorphisms in polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH) metabolism and conjugation genes and PAH-DNA adducts in prostate tumors differ by race. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 16, 1236-45.
- OBASE, Y., SHIMODA, T., KAWANO, T., SAEKI, S., TOMARI, S. Y., MITSUTA-IZAKI, K., MATSUSE, H., KINOSHITA, M. & KOHNO, S. 2003. Polymorphisms in the CYP1A2 gene and theophylline metabolism in patients with asthma. *Clin Pharmacol Ther*, 73, 468-74.
- OCHS, H. R., GREENBLATT, D. J., DIVOLL, M., ABERNETHY, D. R., FEYERABEND, H. & DENGLER, H. J. 1981. Diazepam kinetics in relation to age and sex. *Pharmacology*, 23, 24-30.
- OLYAEI, A. J. & BENNETT, W. M. 2009. Drug dosing in the elderly patients with chronic kidney disease. *Clin Geriatr Med*, 25, 459-527.
- OPDAM, F. L., GELDERBLOM, H. & GUCHELAAR, H. J. 2012. Phenotyping drug disposition in oncology. *Cancer Treat Rev*, 38, 715-25.
- PAI, M. P. 2012. Drug dosing based on weight and body surface area: mathematical assumptions and limitations in obese adults. *Pharmacotherapy*, 32, 856-68.

- PAPANTONIOU, N., ISMAILOS, G., DASKALAKIS, G., KARABINAS, C., MESOGITIS, S., PAPAPANAGIOTOU, A. & ANTSAKLIS, A. 2007. Pharmacokinetics of oral cefatrizine in pregnant and non-pregnant women with reference to fetal distribution. *Fetal Diagn Ther*, 22, 100-6.
- PARIENTE, G., LEIBSON, T., CARLS, A., ADAMS-WEBBER, T., ITO, S. & KOREN, G. 2016. Pregnancy-Associated Changes in Pharmacokinetics: A Systematic Review. *PLoS Med*, 13, e1002160.
- PARKER, G., BULLINGHAM, R., KAMM, B. & HALE, M. 1996. Pharmacokinetics of oral mycophenolate mofetil in volunteer subjects with varying degrees of hepatic oxidative impairment. *J Clin Pharmacol*, 36, 332-44.
- PARKIN, D. P., VANDENPLAS, S., BOTHA, F. J., VANDENPLAS, M. L., SEIFART, H. I., VAN HELDEN, P. D., VAN DER WALT, B. J., DONALD, P. R. & VAN JAARVELD, P. P. 1997. Trimodality of isoniazid elimination: phenotype and genotype in patients with tuberculosis. *Am J Respir Crit Care Med*, 155, 1717-22.
- PASQUALOTTO, A. C., SHAH, M., WYNN, R. & DENNING, D. W. 2008. Voriconazole plasma monitoring. *Arch Dis Child*, 93, 578-81.
- PATIDAR, D., RAJPUT, M. S., NIRMAL, N. P. & SAVITRI, W. 2013. Implementation and evaluation of adverse drug reaction monitoring system in a tertiary care teaching hospital in Mumbai, India. *Interdiscip Toxicol*, 6, 41-6.
- PECHANDOVA, K., BUZKOVA, H., MATOUSKOVA, O., PERLIK, F. & SLANAR, O. 2012. Genetic Polymorphisms of CYP2C8 in the Czech Republic. *Genet Test Mol Biomarkers*.
- PECHANDOVA, K., BUZKOVA, H., SLANAR, O. & PERLIK, F. 2006. Polymorphisms of the MDR1 gene in the Czech population. *Folia Biol (Praha)*, 52, 184-9.
- PERLIK, F. [Smoking and pharmacological interactions]. *Cas Lek Cesk*, 156, 13-14.
- PHILIPSON, A., STIERNSTEDT, G. & EHRNEBO, M. 1987. Comparison of the pharmacokinetics of cephadrine and cefazolin in pregnant and non-pregnant women. *Clin Pharmacokinet*, 12, 136-44.
- PIQUETTE-MILLER, M. & GRANT, D. M. 2007. The art and science of personalized medicine. *Clin Pharmacol Ther*, 81, 311-5.
- PLATTEN, H. P., SCHWEIZER, E., DILGER, K., MIKUS, G. & KLOTZ, U. 1998. Pharmacokinetics and the pharmacodynamic action of midazolam in young and elderly patients undergoing tooth extraction. *Clin Pharmacol Ther*, 63, 552-60.
- PLEYM, H., SPIGSET, O., KHARASCH, E. D. & DALE, O. 2003. Gender differences in drug effects: implications for anesthesiologists. *Acta Anaesthesiol Scand*, 47, 241-59.
- PU, J., WANG, N., HUANG, Z. K., HE, X. Y. & YUAN, H. B. 2019. Correlation between gene polymorphism and opioid efficacy in patients with gastric or intestinal cancer. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 23, 9393-9410.
- PURANIK, Y. G., BIRNBAUM, A. K., MARINO, S. E., AHMED, G., CLOYD, J. C., REMMEL, R. P., LEPIK, I. E. & LAMBA, J. K. 2013. Association of carbamazepine major metabolism and transport pathway gene polymorphisms and pharmacokinetics in patients with epilepsy. *Pharmacogenomics*, 14, 35-45.
- RAKHMANINA, N. Y. & VAN DEN ANKER, J. N. 2006. Pharmacological research in pediatrics: From neonates to adolescents. *Adv Drug Deliv Rev*, 58, 4-14.
- RAYBURN, W., SHUKLA, U., STETSON, P. & PIEHL, E. 1986. Acetaminophen pharmacokinetics: comparison between pregnant and nonpregnant women. *Am J Obstet Gynecol*, 155, 1353-6.
- RENDIC, S. 2002. Summary of information on human CYP enzymes: human P450 metabolism data. *Drug Metab Rev*, 34, 83-448.
- REYNOLDS, K. K., MCNALLY, B. A. & LINDER, M. W. 2016. Clinical Utility and Economic Impact of CYP2D6 Genotyping. *Clin Lab Med*, 36, 525-42.
- ROBERTS, J. A., PEA, F. & LIPMAN, J. 2013. The clinical relevance of plasma protein binding changes. *Clin Pharmacokinet*, 52, 1-8.

- ROBERTS, R. K., DESMOND, P. V., WILKINSON, G. R. & SCHENKER, S. 1979. Disposition of chlordiazepoxide: sex differences and effects of oral contraceptives. *Clin Pharmacol Ther*, 25, 826-31.
- RODBRO, P., KRASILNIKOFF, P. A. & CHRISTIANSEN, P. M. 1967. Parietal cell secretory function in early childhood. *Scand J Gastroenterol*, 2, 209-13.
- RODGMAN, A. & PERFETTI, T. A. 2013. *The chemical components of tobacco and tobacco smoke*, Boca Raton, CRC Press.
- RODIEUX, F., WILBAUX, M., VAN DEN ANKER, J. N. & PFISTER, M. 2015. Effect of Kidney Function on Drug Kinetics and Dosing in Neonates, Infants, and Children. *Clin Pharmacokinet*, 54, 1183-204.
- ROSMARIN, D., PALLES, C., CHURCH, D., DOMINGO, E., JONES, A., JOHNSTONE, E., WANG, H., LOVE, S., JULIER, P., SCUDDER, C., NICHOLSON, G., GONZALEZ-NEIRA, A., MARTIN, M., SARGENT, D., GREEN, E., MCLEOD, H., ZANGER, U. M., SCHWAB, M., BRAUN, M., SEYMOUR, M., THOMPSON, L., LACAS, B., BOIGE, V., RIBELLES, N., AFZAL, S., ENGHUSEN, H., JENSEN, S. A., ETIENNE-GRIMALDI, M. C., MILANO, G., WADELIUS, M., GLIMELIUS, B., GARMO, H., GUSELLA, M., LECOMTE, T., LAURENT-PUIG, P., MARTINEZ-BALIBREA, E., SHARMA, R., GARCIA-FONCILLAS, J., KLEIBL, Z., MOREL, A., PIGNON, J. P., MIDGLEY, R., KERR, D. & TOMLINSON, I. 2014. Genetic markers of toxicity from capecitabine and other fluorouracil-based regimens: investigation in the QUASAR2 study, systematic review, and meta-analysis. *J Clin Oncol*, 32, 1031-9.
- SACHSE, C., BROCKMOLLER, J., BAUER, S. & ROOTS, I. 1999. Functional significance of a C->A polymorphism in intron 1 of the cytochrome P450 CYP1A2 gene tested with caffeine. *Br J Clin Pharmacol*, 47, 445-9.
- SALES, J. E., SUTCLIFFE, M. & O'GRADY, F. 1972. Cephalixin levels in human bile in presence of biliary tract disease. *Br Med J*, 3, 441-3.
- SAWYER, W. T., CANADAY, B. R., POE, T. E., WEBB, C. E., GAL, P., JOYNER, P. U. & BERRY, J. I. 1983. Variables affecting creatinine clearance prediction. *Am J Hosp Pharm*, 40, 2175-80.
- SCHMIDT, R., BREMERICH, D. H. & GEISLINGER, G. 2006. High sensitive determination of sufentanil in human plasma of parturients and neonates following patient-controlled epidural analgesia (PCEA). *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 836, 98-107.
- SCHMUCKER, D. L., WOODHOUSE, K. W., WANG, R. K., WYNNE, H., JAMES, O. F., MCMANUS, M. & KREMERS, P. 1990. Effects of age and gender on in vitro properties of human liver microsomal monooxygenases. *Clin Pharmacol Ther*, 48, 365-74.
- SCHOOLWERTH, A. C., SICA, D. A., BALLERMANN, B. J., WILCOX, C. S., COUNCIL ON THE KIDNEY IN CARDIOVASCULAR, D. & THE COUNCIL FOR HIGH BLOOD PRESSURE RESEARCH OF THE AMERICAN HEART, A. 2001. Renal considerations in angiotensin converting enzyme inhibitor therapy: a statement for healthcare professionals from the Council on the Kidney in Cardiovascular Disease and the Council for High Blood Pressure Research of the American Heart Association. *Circulation*, 104, 1985-91.
- SCHWARTZ, J. B. 2007. The current state of knowledge on age, sex, and their interactions on clinical pharmacology. *Clin Pharmacol Ther*, 82, 87-96.
- SCOTT, A. M., KELLOW, J. E., ECKERSLEY, G. M., NOLAN, J. M. & JONES, M. P. 1992. Cigarette smoking and nicotine delay postprandial mouth-cecum transit time. *Dig Dis Sci*, 37, 1544-7.
- SEO, T., NAGATA, R., ISHITSU, T., MURATA, T., TAKAISHI, C., HORI, M. & NAKAGAWA, K. 2008. Impact of CYP2C19 polymorphisms on the efficacy of clobazam therapy. *Pharmacogenomics*, 9, 527-37.
- SHAH, S. A. V., PARADKAR, M. U., DESAI, D. C. & ASHAVID, T. F. 2018. Preemptive NUDT15 genotyping: redefining the management of patients with thiopurine-induced toxicity. *Drug Metab Pers Ther*, 33, 57-60.

- SHAKHNOVICH, V., ABDEL-RAHMAN, S., FRIESEN, C. A., WEIGEL, J., PEARCE, R. E., GAEDIGK, A., LEEDER, J. S. & KEARNS, G. L. 2019. Lean body weight dosing avoids excessive systemic exposure to proton pump inhibitors for children with obesity. *Pediatr Obes*, 14.
- SIENKIEWICZ-OLESZKIEWICZ, B. & WIELA-HOJENSKA, A. 2018. CYP2C19 polymorphism in relation to the pharmacotherapy optimization of commonly used drugs. *Pharmazie*, 73, 619-624.
- SLANAR, O., BORTLIK, M., BUZKOVA, H., DONOVAL, R., PECHANDOVA, K., SEBESTA, I., LUKAS, M. & PERLIK, F. 2008a. Polymorphisms of the TPMT gene in the Czech healthy population and patients with inflammatory bowel disease. *Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids*, 27, 835-8.
- SLANAR, O., CHALUPNA, P., NOVOTNY, A., BORTLIK, M., KRKA, Z. & LUKAS, M. 2008b. Fatal myelotoxicity after azathioprine treatment. *Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids*, 27, 661-5.
- SLANAR, O., NOBILIS, M., KVETINA, J., MATOUSKOVA, O., IDLE, J. R. & PERLIK, F. 2007. Pharmacokinetics of tramadol is affected by MDR1 polymorphism C3435T. *Eur J Clin Pharmacol*, 63, 419-21.
- SMALL, B. G., WENDT, B., JAMEI, M. & JOHNSON, T. N. 2017. Prediction of liver volume - a population-based approach to meta-analysis of paediatric, adult and geriatric populations - an update. *Biopharm Drug Dispos*, 38, 290-300.
- SONNE, J., ANDREASEN, P. B., LOFT, S., DOSSING, M. & ANDREASEN, F. 1990. Glucuronidation of oxazepam is not spared in patients with hepatic encephalopathy. *Hepatology*, 11, 951-6.
- STERJEV, Z., TRENCEVSKA, G. K., CVETKOVSKA, E., PETROV, I., KUZMANOVSKI, I., RIBARSKA, J. T., NESTOROVSKA, A. K., MATEVSKA, N., NAUMOVSKA, Z., JOLEVSKA-TRAJKOVIC, S., DIMOVSKI, A. & SUTURKOVA, L. 2012. The association of C3435T single-nucleotide polymorphism, Pgp-glycoprotein gene expression levels and carbamazepine maintenance dose in patients with epilepsy. *Neuropsychiatr Dis Treat*, 8, 191-6.
- SUN, W., KLAMERUS, K. J., YUHAS, L. M., PAWLAK, S., PLOTKA, A., O'GORMAN, M., KIRKOVSKY, L., KOSA, M. & WANG, D. 2017. Impact of Acid-Reducing Agents on the Pharmacokinetics of Palbociclib, a Weak Base With pH-Dependent Solubility, With Different Food Intake Conditions. *Clin Pharmacol Drug Dev*, 6, 614-626.
- SUZUKI, J. & EL-HADDAD, S. 2017. A review: Fentanyl and non-pharmaceutical fentanyls. *Drug Alcohol Depend*, 171, 107-116.
- TABURET, A. M., NAVEAU, S., ZORZA, G., COLIN, J. N., DELFRAISSY, J. F., CHAPUT, J. C. & SINGLAS, E. 1990. Pharmacokinetics of zidovudine in patients with liver cirrhosis. *Clin Pharmacol Ther*, 47, 731-9.
- TAN, A. R., GIBBON, D. G., STEIN, M. N., LINDQUIST, D., EDENFIELD, J. W., MARTIN, J. C., GREGORY, C., SUTTLE, A. B., TADA, H., BOTBYL, J. & STEPHENSON, J. J. 2013. Effects of ketoconazole and esomeprazole on the pharmacokinetics of pazopanib in patients with solid tumors. *Cancer Chemother Pharmacol*, 71, 1635-43.
- TAY, J. K., TAN, C. H., CHONG, S. A. & TAN, E. C. 2007. Functional polymorphisms of the cytochrome P450 1A2 (CYP1A2) gene and prolonged QTc interval in schizophrenia. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, 31, 1297-302.
- TEH, L. K. & BERTILSSON, L. 2012. Pharmacogenomics of CYP2D6: molecular genetics, interethnic differences and clinical importance. *Drug Metab Pharmacokinet*, 27, 55-67.
- THIEBAUT, F., TSURUO, T., HAMADA, H., GOTTESMAN, M. M., PASTAN, I. & WILLINGHAM, M. C. 1987. Cellular localization of the multidrug-resistance gene product P-glycoprotein in normal human tissues. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 84, 7735-8.
- THORN, C. F., AKLILLU, E., KLEIN, T. E. & ALTMAN, R. B. 2012. PharmGKB summary: very important pharmacogene information for CYP1A2. *Pharmacogenet Genomics*, 22, 73-7.
- TOD, M., BOURGUIGNON, L., BLEYZAC, N. & GOUTELLE, S. 2017. A Model for Predicting the Interindividual Variability of Drug-Drug Interactions. *AAPS J*, 19, 497-509.
- TOLBERT, D. & LARSEN, F. 2019. A Comprehensive Overview of the Clinical Pharmacokinetics of Clobazam. *J Clin Pharmacol*, 59, 7-19.

- TSAI, D., JAMAL, J. A., DAVIS, J. S., LIPMAN, J. & ROBERTS, J. A. 2015. Interethnic differences in pharmacokinetics of antibacterials. *Clin Pharmacokinet*, 54, 243-60.
- TUNEK, A., LEVIN, E. & SVENSSON, L. A. 1988. Hydrolysis of 3H-bambuterol, a carbamate prodrug of terbutaline, in blood from humans and laboratory animals in vitro. *Biochem Pharmacol*, 37, 3867-76.
- TURPEINEN, M., HOFMANN, U., KLEIN, K., MURDTER, T., SCHWAB, M. & ZANGER, U. M. 2009. A predominate role of CYP1A2 for the metabolism of nabumetone to the active metabolite, 6-methoxy-2-naphthylacetic acid, in human liver microsomes. *Drug Metab Dispos*, 37, 1017-24.
- UHR, M. & GRAUER, M. T. 2003. abcb1ab P-glycoprotein is involved in the uptake of citalopram and trimipramine into the brain of mice. *J Psychiatr Res*, 37, 179-85.
- UHR, M., GRAUER, M. T., YASSOURIDIS, A. & EBINGER, M. 2007. Blood-brain barrier penetration and pharmacokinetics of amitriptyline and its metabolites in p-glycoprotein (abcb1ab) knock-out mice and controls. *J Psychiatr Res*, 41, 179-88.
- VAN CALSTEREN, K., VERBESSELT, R., OTTEVANGER, N., HALASKA, M., HEYNS, L., VAN BREE, R., DE BRUIJN, E., CHAI, D., DELFORGE, M., NOENS, L., RENARD, V., WITTEVEEN, E., ROB, L., DE HOON, J. & AMANT, F. 2010. Pharmacokinetics of chemotherapeutic agents in pregnancy: a preclinical and clinical study. *Acta Obstet Gynecol Scand*, 89, 1338-45.
- VELENOSI, T. J. & URQUHART, B. L. 2014. Pharmacokinetic considerations in chronic kidney disease and patients requiring dialysis. *Expert Opin Drug Metab Toxicol*, 10, 1131-43.
- VERBEECK, R. K. 2008. Pharmacokinetics and dosage adjustment in patients with hepatic dysfunction. *Eur J Clin Pharmacol*, 64, 1147-61.
- VERBEECK, R. K. & MUSUAMBA, F. T. 2009. Pharmacokinetics and dosage adjustment in patients with renal dysfunction. *Eur J Clin Pharmacol*, 65, 757-73.
- WATTS, D. H., STEK, A., BEST, B. M., WANG, J., CAPPARELLI, E. V., CRESSEY, T. R., AWEEKKA, F., LIZAK, P., KREITCHMANN, R., BURCHETT, S. K., SHAPIRO, D. E., HAWKINS, E., SMITH, E., MIROCHNICK, M. & TEAM, I. S. S. 2014. Raltegravir pharmacokinetics during pregnancy. *J Acquir Immune Defic Syndr*, 67, 375-81.
- WAXMAN, D. J. & HOLLOWAY, M. G. 2009. Sex differences in the expression of hepatic drug metabolizing enzymes. *Mol Pharmacol*, 76, 215-28.
- WEDEMEYER, R. S. & BLUME, H. 2014. Pharmacokinetic drug interaction profiles of proton pump inhibitors: an update. *Drug Saf*, 37, 201-11.
- WILLENS, J. S. & MYSLINSKI, N. R. 1993. Pharmacodynamics, pharmacokinetics, and clinical uses of fentanyl, sufentanil, and alfentanil. *Heart Lung*, 22, 239-51.
- WYNNE, H. A., COPE, L. H., MUTCH, E., RAWLINS, M. D., WOODHOUSE, K. W. & JAMES, O. F. 1989. The effect of age upon liver volume and apparent liver blood flow in healthy man. *Hepatology*, 9, 297-301.
- YAMAGUCHI, H., HISHINUMA, T., ENDO, N., TSUKAMOTO, H., KISHIKAWA, Y., SATO, M., MURAI, Y., HIRATSUKA, M., ITO, K., OKAMURA, C., YAEGASHI, N., SUZUKI, N., TOMIOKA, Y. & GOTO, J. 2006. Genetic variation in ABCB1 influences paclitaxel pharmacokinetics in Japanese patients with ovarian cancer. *Int J Gynecol Cancer*, 16, 979-85.
- YOU, G. & MORRIS, M. E. 2007. *Drug transporters : molecular characterization and role in drug disposition*, Hoboken, N.J., Wiley-Interscience.
- ZANGER, U. M., RAIMUNDO, S. & EICHELBAUM, M. 2004. Cytochrome P450 2D6: overview and update on pharmacology, genetics, biochemistry. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol*, 369, 23-37.
- ZELCER, N., VAN DE WETERING, K., HILLEBRAND, M., SARTON, E., KUIL, A., WIELINGA, P. R., TEPHLY, T., DAHAN, A., BEIJNEN, J. H. & BORST, P. 2005. Mice lacking multidrug resistance protein 3 show altered morphine pharmacokinetics and morphine-6-glucuronide antinociception. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 102, 7274-9.

- ZHANG, W., YU, B. N., HE, Y. J., FAN, L., LI, Q., LIU, Z. Q., WANG, A., LIU, Y. L., TAN, Z. R., FEN, J., HUANG, Y. F. & ZHOU, H. H. 2006. Role of BCRP 421C>A polymorphism on rosuvastatin pharmacokinetics in healthy Chinese males. *Clin Chim Acta*, 373, 99-103.
- ZHAO, Z., LV, B., ZHAO, X. & ZHANG, Y. 2019. Effects of OPRM1 and ABCB1 gene polymorphisms on the analgesic effect and dose of sufentanil after thoracoscopic-assisted radical resection of lung cancer. *Biosci Rep*, 39.
- ZHOU, S. F. 2009a. Polymorphism of human cytochrome P450 2D6 and its clinical significance: Part I. *Clin Pharmacokinet*, 48, 689-723.
- ZHOU, S. F. 2009b. Polymorphism of human cytochrome P450 2D6 and its clinical significance: part II. *Clin Pharmacokinet*, 48, 761-804.
- ZUCKERMAN, M. J., MENZIES, I. S., HO, H., GREGORY, G. G., CASNER, N. A., CRANE, R. S. & HERNANDEZ, J. A. 2004. Assessment of intestinal permeability and absorption in cirrhotic patients with ascites using combined sugar probes. *Dig Dis Sci*, 49, 621-6.
- ZURLINDEN, T. J. & REISFELD, B. 2017. Characterizing the Effects of Race/Ethnicity on Acetaminophen Pharmacokinetics Using Physiologically Based Pharmacokinetic Modeling. *Eur J Drug Metab Pharmacokinet*, 42, 143-153.

8. Seznam příloh

- BOLESLAVSKA, T., SVETLIK, S., ZVATORA, P., BOSAK, J., DAMMER, O., BERANEK, J., KOZLIK, P., KRIZEK, T., KUTINOVA CANOVA, N., SIMA, M., SLANAR, O. & STEPANEK, F. 2020. Preclinical evaluation of new formulation concepts for abiraterone acetate bioavailability enhancement based on the inhibition of pH-induced precipitation. *Eur J Pharm Biopharm.* IF (2018) 4,708
- SVETLIK, S., STICHA, M., MATOUSKOVA, O., NESPEŠNA, L., SKLENAR, Z., BARTUNEK, A., PERLIK, F. & SLANAR, O. 2016. Nabumetone and 6-MNA Pharmacokinetics, Assessment of Intrasubject Variability and Gender Effect. *Am J Ther*, 23, e1498-e1503. IF (2016) 1,588
- SVETLIK, S., SACHL, R., VECKA, M., STICHA, M. & SLANAR, O. 2020. Sensitive and simple LC-MS/MS method for determination of sufentanil in human plasma. TBD, [In preparation].