



**UNIVERZITET U NIŠU  
MEDICINSKI FAKULTET**

**FARMAKOKINETIČKA ISPITIVANJA TAKROLIMUSA  
KOD PACIJENATA SA PRESAĐENIM BUBREGOM**

**Doktorska disertacija**

*mentor:*

*Doc. dr Radmila Veličković- Radovanović*

*kandidat:*

*Aleksandra Catić-Đorđević*

Niš, 2013.

*Najiskrenije se zahvaljujem svom mentoru, poštovanoj doc.dr Radmili Veličković-Radovanović za sav trud uložen u mene, neizmerno strpljenje i podstrek, otvorena vrata i pruženu ruku na putu nauke. Prof.dr Momiru Mikovu i prof.dr Milanu Jokanoviću zahvaljujem na pomoći i važnim sugestijama pri izradi teze. Zahvaljujem se prof.dr Slobodanu Jankoviću i doc.dr Jasmini Milovanović na pomoći oko populacione farmakokinetičke analize. Veliko hvala uvaženim kolegama sa Klinike za nefrologiju i Centra za medicinsku biohemiju KC Niš, članovima našeg istraživačkog tima. Za pruženu pomoć oko statističke obrade rezultata zahvaljujem se dr Marioli Stojanović. Takođe, želim da se zahvalim svojoj porodici- roditeljima, na beskrajnom razumevanju i podršci i sinovima, na ljubavi koja me vodi kroz život.*

**Komisija za ocenu i odbranu doktorske disertacije:**

Prof. dr Milan Jokanović, predsednik

---

Doc. dr Radmila Veličković- Radovanović, mentor i član

---

Prof. dr Momir Mikov, član sa Medicinskog fakulteta Univerziteta u Novom Sadu

---

Prof. dr Tatjana Cvetković, član

---

Doc. dr Branka Mitić, član

---

**Datum odbrane:**

---

## LISTA SKRAĆENICA

ALP - alkalna fosfataza  
ALT - alanin aminotransferaza  
AST - aspartat aminotransferaza  
AUC<sub>0-12</sub> - dvanaestočasovna AUC  
AUC<sub>p</sub> - predviđena vrednost ukupne AUC  
AUC (PIK)- površina ispod krive(area under the curve)  
BMI - indeks telesne mase  
C<sub>1</sub>, C<sub>2</sub>, C<sub>3</sub>, .....,C<sub>n</sub>- plazma koncentracije leka u vremenu t<sub>1</sub>, t<sub>2</sub>, t<sub>3</sub>, .....,t<sub>n</sub>  
C<sub>1</sub><sup>SS</sup>, C<sub>2</sub><sup>SS</sup>, C<sub>3</sub><sup>SS</sup>, ....., C<sub>n</sub><sup>SS</sup>- plazma koncentracije leka u ravnotežnom stanju u vremenu t<sub>1</sub>, t<sub>2</sub>, t<sub>3</sub>, .....,t<sub>n</sub>  
CD<sub>3-28</sub> - antitela za odgovarajuće antigene  
CDK - ciklin zavisna kinaza  
CL - klirens leka  
CNI - inhibitori kalcineurina  
C<sub>pt</sub> - plazma koncentracija leka u vremenu t  
CRP - C reaktivni protein  
CsA - ciklosporin  
CV - koeficijent varijacije  
CYP - enzim citohrom P450  
D - doza leka  
DD - ukupna dnevna doza Tac  
DNK - dezoksiribonukleinska kiselina  
DV - izmerene vrednosti koncentracija Tac  
EDTA - etilendiamino tetrasirčetna kiselina  
EVE - everolimus  
F - stepen bioraspoloživosti  
FD - farmakodinamička  
FK - farmakokinetička  
FKBP-12 - takrolimus vezujući intracelularni protein  
GIT - gastrointestinalni trakt  
Hb - hemoglobin  
HPLC/MS/MS - tečna hromatografija pod visokim pritiskom/ masena sprektroskopija/  
masena sprektroskopija  
IL-1, IL-2, IL-6 - interleukini  
ILGF - faktor rasta sličan insulinu  
KS -kortikosteroidi  
KV - kardiovaskularni  
MDR-1 - gen za ekspresiju transportnih proteina  
MEIA - Microparticle Enzyme Immunoassay  
MM - mikofenolat mofetil  
MOF - minimum objektivne funkcije  
MPA - mikofenolna kiselina  
MPE - srednja greška predviđenja  
MRT - srednje vreme zadržavanja leka u organizmu  
MSPE - srednja statistička greška  
m-TOR -mammalian target of rapamycin  
NF-AT - nuklearni faktor aktiviranog T-limfocita

NONMEM - **NON**linear **Mixed Effects Modelling**-softver za populacionu farmakokinetičku analizu  
p - nivo statističke značajnosti  
PFK- populaciona farmakokinetička analiza  
P-gp - P glikoprotein  
PIK (AUC) - površina ispod krive  
PRED - predviđene vrednosti koncentracija Tac  
PREDPP - PredPopulation Pharmacokinetics  
PRO - prednizolon  
r - Piersov koeficijent korelacije  
 $r^2$  - koeficijent determinacije  
RMSE - rezidualna srednja greška predviđanja  
SCr - serumski kreatinin  
SRL - sirolimus  
SS - ravnotežno stanje (stady state)  
 $t_1, t_2, t_3, \dots, t_n$  - vreme proteklo od primene leka u kojem je merena koncentracija  
 $t_{1/2}$  - vreme koje je potrebno da se organizam očisti od polovine unete količine leka - poluvreme eliminacije leka  
Tac - takrolimus  
TDM - terapijski monitoring lekova  
TGF-beta1 - tkivni faktor rasta  
TMA - trombocitna mikroangiopatija  
TNF- $\alpha$  - tkivni nekrozis faktor- $\alpha$   
Tx - dan transplantacije bubrega  
Vd - volumen distribucije  
WRES - rezidualna varijabilnost između predviđenih i izmerenih vrednosti koncentracija takrolimusa  
 $\beta$  ( $K_{el}$ )-konstanta brzine eliminacije leka  
 $\theta_{1-3}$  - populacione vrednosti FK parametara takrolimusa

## SADRŽAJ:

UVOD .....	1
1. FARMAKOKINETIČKA ANALIZA .....	2
1.1. Uvod.....	2
1.2. Vrste farmakokinetičkih analiza.....	2
1.2.1. Model – zavisna ( prostorna ) farmakokinetička analiza .....	2
1.2.2. Neprostopna farmakokinetička analiza.....	3
1.2.3. Populaciona farmakokinetička analiza.....	5
1.2.4. Fiziološki (perfuzioni) model farmakokinetičke analize .....	8
1.2.5. Pristup vremenskih konstanti (the time constant approach).....	8
1.2.6. FK/FD Modelovanje .....	9
1.3. Terapijski monitoring lekova (TDM).....	9
1.4. Imunosupresivni lekovi u terapiji pacijenata sa presađenim bubregom .....	11
1.4.1. Značaj imunosupresivne terapije u transplantaciji .....	11
1.4.2. Kortikosteroidi .....	13
1.4.3. Inhibitori proliferacije limfocita.....	14
1.4.3.1. Mikofenolna kiselina (MPA) .....	14
1.4.3.2. Azatioprin.....	15
1.4.3.3. Sirolimus (Rapamicin) i Everolimus.....	16
1.4.4. Antilimfocitna antitela.....	17
1.4.5. Monoklonalna antitela.....	17
1.4.6. Inhibitori kalcineurina (CNI) .....	18
1.4.6.1. Ciklosporin (CsA) .....	18
1.4.6.2. Takrolimus (Tac).....	19
1.5. Takrolimus .....	19
1.5.1. Značaj TDM takrolimusa .....	22
2. RADNA HIPOTEZA .....	24
2.1. Radna hipoteza .....	24
2.2. Pomoćne radne hipoteze.....	24
3. CILJEVI RADA .....	25
4. PACIJENTI I METODE .....	26
4.1. Pacijenti.....	26
4.2. Analitičke metode .....	26
4.3. Farmakokinetička analiza i statistička obrada podataka .....	27
5. REZULTATI.....	29

5.1. Rezultati farmakokinetičke analize prve doze Tac kod pacijenata sa presađenim bubregom.....	29
5.2. Rezultati neprostorne farmakokinetičke analize Tac u ravnotežnom stanju (SS) kod pacijenata sa presađenim bubregom.....	34
5.3. Rezultati populacione FK analiza (PFK) takrolimusa kod pacijenata sa presađenim bubregom.....	39
5.4. Rezultati praćenja interakcija i pojave neželjenih dejstava takrolimusa kod pacijenata sa presađenim bubregom.....	44
5.5. Rezultati ispitivanja uticaja pola na farmakokinetičke parametre takrolimusa kod pacijenata sa presađenim bubregom.....	51
6. DISKUSIJA.....	56
6.1. Farmakokinetička analiza takrolimusa nakon primene inicijalne doze i u ravnotežnom stanju (SS) kod pacijenata sa presađenim bubregom.....	56
6.2. Populaciona farmakokinetička analiza takrolimusa kod pacijenata sa presađenim bubregom.....	63
6.3. Praćenje neželjenih efekata imunosupresivne terapije i interakcija takrolimusa kod pacijenata sa presađenim bubregom.....	65
7. ZAKLJUČAK.....	69
8. LITERATURA.....	71

## UVOD

Transplantacija bubrega predstavlja najbolju metodu lečenja terminalne bubrežne insuficijencije (1). Jedan od preduslova uspešne transplantacije bubrega je optimalna imunosupresivna terapija. Terapijski cilj imunosupresije je postizanje imunotolerancije recipijenta uz minimiziranje neželjenih i toksičnih efekata.

Kombinacijom imunosupresivnih lekova različitih mehanizama delovanja smanjuju se pojedinačne doze lekova i minimiziraju se njihovi neželjeni efekti, što ima veliki značaj za kvalitet i produženje života pacijenata sa presađenim bubregom. Optimalan izbor imunosupresivnog protokola treba da bude usklađen sa individualnim karakteristikama pacijenta, njegovom osnovnom bubrežnom bolešću, komorbiditetima i koterapijom, stepenom podudarnosti davaoca i primaoca organa (2).

Na izbor imunosupresivnih lekova utiču brojni faktori: imunološki i neimunološki. Neimunološki aspekt obuhvata medicinske, socijalne, kulturološke i ekonomske specifičnosti transplantiranog pacijenta (3).

Takrolimus (Tac\*) je efikasan imunosupresivni lek koji predstavlja deo standardnog imunosupresivnog protokola pacijenata sa presađenim bubregom. Njegova vodeća uloga u imunosupresivnoj terapiji se zasniva na dokazanoj prednosti u odnosu na ostale imunosupresive, u prevenciji akutne reakcije odbacivanja presađenog bubrega i očuvanju funkcije grafta (4). Međutim, pokazano je da Tac tokom dugotrajne upotrebe ispoljava nefrotoksične i neurotoksične efekte i utiče na pojavu post transplantacijskog dijabetesa, gastrointestinalnih tegoba i metaboličkog disbalansa. Zbog varijabilnosti farmakokinetike, malog terapijskog indeksa i korelacije koncentracije i toksičnog efekta, monitoring Tac je od posebnog značaja.

Primena različitih farmakokinetičkih (FK) pristupa dovodi do novih saznanja o farmakokinetičkom profilu i populacionim FK karakteristikama Tac, što je posebno važno u cilju povećanja efikasnosti i bezbednosti terapije kod postojećih i *de novo* transplantiranih pacijenata(5).

---

\* Lista svih skraćenica nalazi se na početku rada



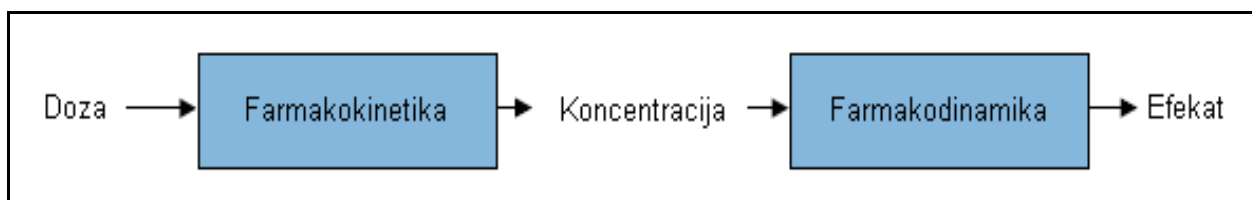
# 1. FARMAKOKINETIČKA ANALIZA

## 1.1. Uvod

Farmakokinetička analiza daje matematički model procesa resorpcije, raspodele, metabolizma i ekskrecije, praćenjem koncentracija leka i njegovih metabolita u telesnim tečnostima, pre svega u krvnoj plazmi (6). Osnovni pristup farmakokinetičkoj analizi predstavlja prostorna, kompartmentalna, model-zavisna FK analiza. U poslednje vreme sve više dobijaju na značaju drugi pristupi kao što su model nezavisna FK analiza, farmakokinetičko-farmakodinamičko (FK/FD) modelovanje, pristup vremenskih konstanti, a posebno populaciona farmakokinetička analiza (7,8).

Farmakokinetička ispitivanja se sprovode u cilju određivanja FK parametara: klirensa leka (Cl), volumena distribucije (Vd), poluvremena eliminacije ( $t_{1/2}$ ), površine ispod krive (PIK, AUC), konstante brzina resorpcije i eliminacije ( $\alpha, \beta$ ) i drugih. Poznavanje FK parametara omogućava određivanje koncentracije leka u željenom trenutku (C<sub>pt</sub>) i bolje razumevanje farmakodinamike (FD) leka. Farmakokinetička ispitivanja su osnova za:

- izračunavanje i modifikovanje režima doziranja lekova
- procenu biološke raspoloživosti leka
- utvrđivanje farmakokinetičko-farmakodinamičke (FK/FD) korelacije



Slika 1.1. Shematski prikaz odnosa farmakokinetike i farmakodinamike leka

## 1.2. Vrste farmakokinetičkih analiza

### 1.2.1. Model – zavisna ( prostorna ) farmakokinetička analiza

Osnovni tip ispitivanja koji se koristi u farmakokinetici je model zavisna (prostorna) FK analiza, koja kvantitativno definiše procese kroz koje lek prolazi u organizmu. Prostorni modeli se klasifikuju na osnovu broja prostora potrebnih da se opiše ponašanje leka u organizmu (7). Prostor ili kompartment predstavlja deo organizma (nekada to može da bude

ceo organizam) koji u kinetičkom smislu predstavlja jedinstvenu i homogenu celinu, dok je u suštini hipotetička struktura. Prostor je definisan volumenom i koncentracijom leka u njemu (6,7).

$$\text{koncentracija leka} = \frac{\text{količina leka}}{\text{zapremina u kojoj se nalazi lek}}$$

Definisanjem prostora stvoreni su preduslovi za matematički model, jednačinu ili sistem jednačina koje daju opis datog prostora ili sistema prostora. Prostorna FK analiza nije uvek optimalan izbor farmakokinetičke analize za upotrebu u kliničkoj praksi. Strogo kontrolisani uslovi ispitivanja i veliki broj podataka po pacijentu koji su neizostavni deo prostorne FK analize ne odgovaraju specifičnostima kliničke prakse (8). Zbog toga se kompartmentalni farmakokinetički pristup primenjuje najviše u pretkliničkim ispitivanjima. Farmakokinetički modeli koji postavljaju manje zahteva u smislu sprovođenja ispitivanja pogodniji su za klinička ispitivanja od prostornog FK modela.

### 1.2.2. Neprostrorna farmakokinetička analiza

Matematički model dobijen prostornom FK analizom je previše komplikovan kada se raspodela leka odvija u većem broju prostora a posebno u slučaju nelinearnih farmakokinetičkih procesa. Model-nezavisna, neprostrorna FK analiza nametnula se kao pristup koji znatno više odgovara kliničkoj praksi i često je sastavni deo sprovođenja racionalne farmakoterapije (9). Ova vrsta analize zasniva se na određivanju koncentracije leka u biološkom materijalu i izračunavanju farmakokinetičkih parametara. Vrednosti izmerenih koncentracija leka omogućavaju izračunavanje konstante brzine eliminacije ( $\beta$ ) i vremena polueliminacije leka. Iz istih podataka, metodom trapezoida, dobija se površina ispod krive (AUC), koja predstavlja meru količine leka u organizmu. Matematičkim izračunavanjima dobija se uvid u kompletnu kinetiku leka, pri čemu su izbegnuti strogi uslovi ispitivanja koji karakterišu prostornu analizu.

Ukoliko se kao biološki materijal koristi krv/krvna plazma izmerene koncentracije leka omogućavaju matematičko dobijanje konstante brzine eliminacije leka prema sledećem obrascu:

$$\beta = Kel = \frac{\ln C_1 - \ln C_2}{t_2 - t_1} (=)h^{-1}$$

$C_1, C_2$  izmerene koncentracije leka u vremenu  $t_1$  i  $t_2$

Brzina eliminacije leka određuje vreme za koje se koncentracija leka smanji na polovinu početne vrednosti i to predstavlja vreme polueliminacije leka (poluvreme eliminacije leka):

$$t_{1/2} = \frac{0,693}{\beta} (=)h$$

Ukupnu količinu leka u organizmu, a time i izloženost organizma leku moguće je izračunati metodom trapezoida korišćenjem podataka o koncentraciji leka i vremenu merenja koncentracije (6,9). Na taj način dobija se FK parametar površina ispod krive - AUC (PIK) koji se matematički predstavlja izrazom:

$$AUC = \sum_{i=1}^n \left[ \frac{(C_{n+1} + C_n)}{2} (t_{n+1} - t_n) \right]$$

$t_n$  - vreme merenja koncentracija leka

$C_n$  - koncentracija leka u datom vremenu

Klirens leka predstavlja teoretski volumen telesne tečnosti koji se očisti od leka u jedinici vremena. Poznavanjem volumena distribucije leka i vremena polueliminacije moguće je izračunati klirens leka. Smanjena bubrežna funkcija uslovljava promenu ovog FK parametra, što je od posebnog značaja za pacijente sa presađenim bubregom i za lekove koji pokazuju nefrotoksičnost, kakav je takrolimus. Klirens leka predstavljen je matematički jednačinom:

$$Cl = Kel \cdot V_d$$

$Kel$  - konstanta eliminacije leka

$Cl$  - klirens

$V_d$  - volumen distribucije

Prednost neprostorne FK analize je što ne zahteva stroge uslove istraživanja kao klasičan, prostorni FK pristup. Farmakokinetički parametri dobijeni neprostornom FK analizom pokazuju stalnost i pored manjih promena uslova ispitivanja. Ovaj farmakokinetički pristup pogodan je za FK analizu takrolimusa kod pacijenata sa presađenim bubregom. Poznavanje farmakokinetičkih parametara takrolimusa omogućava adekvatnu imunosupresiju transplantiranih pacijenata uz minimiziranu nefrotoksičnost, pa je značajno FK analizu obaviti nakon administracije prve doze leka. Za olakšanu individualizaciju režima doziranja takrolimusa kod transplantiranih bolesnika neophodno je u toku analize uspostaviti korelaciju između određene koncentracije  $Tac$  u krvi i vrednosti AUC (10,11). Definisane vremena u kome koncentracija  $Tac$  najpreciznije predviđa vrednost AUC predstavljalo bi indikator

ukupne izloženosti organizma leku, što bi omogućilo postavljanje optimalnog režima doziranja Tac kod transplantiranih pacijenata (10).

### 1.2.3. Populaciona farmakokinetička analiza

Populaciona farmakokinetička analiza (PFK) je našla mesto u savremenoj farmakoterapiji zahvaljujući pronalaženju jedinstvenog modela za određenu populaciju ispitanika. Sa razvojem kliničke farmakokinetike raste značaj populacionog pristupa FK analizi, koji je u osnovi zadržao klasičan FK pristup sa dodatnim definisanjem patofizioloških, demografskih, inter- i intra- individualnih faktora varijabilnosti (6,13). Definisanjem matematičkog modela populacionim pristupom daje se zavisnost između takozvanih ulaznih i izlaznih informacija za dati sistem. Sam proces modelovanja je traženje funkcije koja najbolje predviđa izlazne informacije i procenjuje parametre modela (13). Kada govorimo o terapiji takrolimusom ulazne informacije može predstavljati režim doziranja ili doza leka dok je izlazna informacija koncentracija Tac ili njegov klirens u datom vremenu. Populaciono FK ispitivanje takrolimusa je od značaja za kliničku praksu jer daje specifične, populacione FK parametre ispitivane populacije transplantiranih pacijenata i definiše faktore koji mogu uticati na vrednosti FK parametara. Poznavanje populacionih vrednosti FK parametara i faktora varijabilnosti doprinosi pravilnijem definisanju režima doziranja kod *de novo* transplantiranih pacijenata.

Karakteristično za populacionu FK analizu je da individualni pacijent ne predstavlja centar ispitivanja, već se teži dobijanju populacionog profila leka, zbog čega je neophodna brojna i heterogena grupa pacijenata. Ispitanici se među sobom razlikuju po polu, starosti, telesnoj masi, prisustvu/odsustvu drugog oboljenja i primeni drugih lekova (13,14). U populacionoj FK analizi Tac pored pola, uzrasta i telesne mase, varijablu predstavlja vremenski period protekao od transplantacije, dnevna doza kortikosteroida koja je deo imunosupresivne terapije, odnos enzima jetre, prisustvo drugih lekova u terapiji.

Populaciona FK analiza zasnovana je na poznavanju parametara dobijenih klasičnom prostornom analizom. Osnovna razlika je u broju, uslovima i dužini trajanja ispitivanja. U prostornoj analizi učestvuje mali broj ispitanika koji čine homogenu grupu i pretežno su zdravi dobrovoljci, dok se u populacionom pristupu ispitivanje obavlja u brojnoj, heterogenoj grupi bolesnika. Klasična analiza se sprovodi brzo, u kontrolisanim uslovima, dok populaciona analiza koristi podatke dobijene u toku rutinskih kontrola u dužem vremenskom intervalu. Broj podataka po ispitaniku koji su neophodni za prostornu analizu unapred je

definisani i uvek znatno veći od broja podataka po pacijentu za populacionu analizu (od jedan do šest). Zahvaljujući tim razlikama, populaciona FK analiza daje nove informacije o leku i omogućava dobijanje klinički relevantnih podataka o farmakokinetici leka u ciljnoj populaciji ispitanika (13). Identifikacija demografskih, patofizioloških i drugih faktora koji utiču na vrednosti FK parametara daje nefrologu mogućnost kompletnijeg sagledavanja pacijenta i veću sigurnost postavljanja optimalnog terapijskog režima takrolimusa (15,16).

Posebnu vrednost pokazuje populaciona FK analiza koja koristi i farmakodinamičke (FD) parametre leka i FK/FD populaciona analiza.

Osnovu postavljanja populacionog modela čini statistička obrada podataka ispitivane populacije pacijenata. Postoje tri osnovna statistička pristupa u populacionoj analizi:

1. Pristup objedinjenih podataka
2. Dvostepeni pristup
3. Metod kombinovanih efekata

Svaki od pomenutih pristupa ima za cilj dobijanje populacionih vrednosti FK parametara na osnovu individualnih podataka, a razlikuju se po načinu dobijanja tih vrednosti i mogućnostima procene interindividualnih i intraindividualnih varijabilnosti. U našem istraživanju korišćeno je nelinearno modelovanje kombinovanih efekata.

Naziv *Metod kombinovanih efekata* potiče od dva nivoa efekata koji ostvaruju uticaj na vrednost FK parametara: stalni i slučajni. Stalni efekti imaju samo jednu vrednost parametra, i to je tipična, prosečna populaciona vrednost, dok slučajni efekti imaju raspon vrednosti i određenu distribuciju vrednosti parametara (17,18). Ukoliko je distribucija parametara populacionog modela unapred zadata u pitanju je parametarski, linearni populacioni pristup, a u suprotnom je neparametarski, odnosno nelinearni pristup. Pristup nelinearnog modelovanja kombinovanih efekata - *NONlinear Mixed Effects Modelling*- (NONMEM) se danas najviše koristi, a uveden je 1979. godine od strane Lewisa B Sheinera i Stuarta L Beala (19,20).

Velika prednost ovog pristupa je način prikupljanja podataka za analizu. Podaci se prikupljaju u dužem vremenskom periodu u toku rutinskih kliničkih kontrola pacijenata. Uprkos složenosti algoritama i neophodnog iskustva u modelovanju, NONMEM predstavlja sve zastupljeniji populacioni FK pristup.

### **Prednosti NONMEM analize kod pacijenata sa presađenim bubregom**

- podaci dobijeni u različito vreme mogu se uključiti u bazu podataka i koristiti za FK analizu populacije pacijenata sa presađenim bubregom
- podaci su reprezentativni za populaciju i pomažu u postavljanju režima doziranja kod *de novo* pacijenata
- omogućava ispitivanje različitosti u farmakokinetici uzimajući u obzir godine, genetiku, faktore spoljašnje sredine, fiziološke i patofiziološke faktore
- omogućava ispitivanje postojanja i značaja uticaja drugih lekova neophodnih u terapiji transplantiranih pacijenata uz određivanje minimalne doze leka koji ostvaruje uticaj na koncentraciju Tac

### **Nedostaci NONMEM analize kod pacijenata sa presađenim bubregom**

- softver neophodan za NONMEM analizu je složen i zahteva stručnost i obuku
- za pouzdanost dobijenih podataka potreban je veliki broj pacijenata (preko četrdeset, a poželjno je znatno veći broj – oko 100 pacijenata)
- proces prikupljanja podataka traje dugo, nekada više godina

U populacionoj NONMEM farmakokinetičkoj analizi postoje tri osnovna koraka:

**I korak-** prikupljanje podataka potrebnih za analizu u populaciji transplantiranih bolesnika

**II korak-** razvijanje modela

**III korak-** validacija konačnog modela

Prikupljanje podataka zahteva istrajnost i sistematičnost jer se odvija u toku rutinskih kontrola transplantiranih pacijenata.

Razvijanje modela je najsloženiji proces u populacionom ispitivanju. Za populacionu FK analizu Tac koristi se odgovorajuća subrutina iz PREDPP (PRED Population Pharmacokinetics) biblioteke softvera izabrana na osnovu njegovih farmakokinetičkih karakteristika i načina primene. Povezivanje ovako definisanog modela sa izvršnim modelom omogućava dobijanje populacionih vrednosti FK parametara Tac i definisanje varijabli koje imaju uticaj na farmakokinetiku Tac u ispitivanoj populaciji.

Validacija daje pouzdanost i pokazuje ispravnost dobijenog populacionog modela Tac.

NONMEM se sastoji iz tri dela: **strukturni** ( opisuje osnovne FK parametre leka), **kovarijantni** (opisuje uticaj demografskih i ostalih karakteristika na FK parametre leka) i **statistički** (opisuje interindividualnu i intraindividualnu varijabilnost parametara) (13,21).

Poslednji korak u PFK modelovanju je validacija pomoću grupe pacijenata koji pripadaju ispitivanoj populaciji ali nisu uključeni u proces izgradnje modela. Ukoliko se

pokaže pouzdanost populacionih vrednosti FK parametara dobijenih u procesu izgradnje modela na novoj grupi podataka može se smatrati da je NONMEM modelovanje uspešno završeno, a faktori intraindividualne i interindividualne varijabilnosti unutar ispitivane populacije definisani.

#### **1.2.4. Fiziološki (perfuzioni) model farmakokinetičke analize**

Osnovna odlika ovog pristupa FK analizi je integracija faktora hemodinamike ljudskog organizma. Prostore kod fiziološkog modela određuje brzina protoka krvi i stepen prokrvljenosti tkiva, što je osnovna razlika u odnosu na prostornu analizu (22). Fiziološki model je pogodan za FK analizu pre svega u prekliničkim ispitivanjima leka na eksperimentalnim životinjama, jer može doprineti predviđanju FK leka kod ljudi. Ovaj FK analitički pristup daje mogućnost ekstrapolacije podataka između različitih životinjskih vrsta i između ljudi i eksperimentalnih životinja, što nije moguće kod prostornog modelovanja upravo zbog definisanja prividnog volumena (6,22).

#### **1.2.5. Pristup vremenskih konstanti (the time constant approach)**

Ovaj pristup karakterističan je po tome što predstavlja sintezu prostorne i neprostorne FK analize, uključujući i statističku obradu. Pristup vremenskih konstanti definiše vremensku konstantu kao vreme potrebno da se ekvivalent leka premesti iz jednog prostora u drugi. Time je dobijena kombinacija fizioloških prostora i FK procesa što čini jedinstvenost ovog pristupa (6). Kao rezultat analize uspostavlja se korelacija između opisnih FK parametara (maksimalna izmerena koncentracija leka, biološko vreme polueliminacije i prividni volumen raspodele) i vremenskog trajanja pojedinačnih procesa kroz koje lek prolazi- oslobađanje iz farmaceutskog oblika, resorpcija, raspodela leka, zadržavanje u organizmu, trajanje efekta leka. Korelacija između farmakokinetičkih procesa i farmakokinetičkih parametara daje mogućnost prilagođavanja terapije prema karakteristikama organizma (npr. ukoliko je povećana resorpcija leka, potrebno je dati nešto manju dozu od uobičajene kako se ne bi ispoljili neželjeni efekti terapije (7).

### 1.2.6. FK/FD Modelovanje

Osnovni cilj FK/FD ispitivanja je uspostavljanje FK/FD odnosa za dati lek. Kako je ovaj odnos složen tako su i matematički modeli koji se dobijaju vrlo složeni. Pomoću FK/FD modelovanja moguće je identifikovati ključne osobine leka koje će omogućiti kvantifikovanje i predviđanje vremenskog toka efekta leka pod fiziološkim i patološkim uslovima (23). Farmakokinetičko/farmakodinamički model spaja FK model koji daje odnos između doze i koncentracije u zavisnosti od vremena i FD model koji daje odnos između koncentracije i efekta leka u funkciji vremena. Zadatak FK analize je pronalaženje funkcije koja spaja ove modele i statistički ih opisuje (24,25). Kao rezultat FK/FD ispitivanja konstruiše se sigmoidni model efekta leka koji prikazuje zavisnost efekta leka od njegove koncentracije u odabranoj biološkoj tečnosti. FK/FD modelovanje se pojednostavljuje kada lek ima direktno merljiv farmakodinamički efekat.

Savremena FK ispitivanja stavljaju akcenat na FK/FD populacionu analizu koja daje

- procenu uticaja promenljivih (demografskih i farmakoterapijskih faktora ciljne populacije)
- određivanje ili potvrđivanje odnosa doza– efekat leka kod ciljne populacije i
- procenu podešavanja doza kod specifičnih populacija pacijenata.

### 1.3. Terapijski monitoring lekova (TDM)

Terapijski monitoring lekova predstavlja precizno i unapred planirano praćenje koncentracije leka i/ili njegovih metabolita u krvnoj plazmi ili drugim biološkim tečnostima, pri čemu je izmerena koncentracija u jasnoj vezi sa efektom leka (26). TDM se preporučuje kada postoji velika interindividualna varijabilnost u FK leka, što zahteva individualizaciju terapije. Monitoring je od velikog značaja kada lek pokazuje mali terapijski indeks, saturacionu kinetiku i kod pacijenata sa patološkim stanjima koja mogu imati uticaj na FK procese leka, kao što je presađivanje bubrega (27, 28).

Takrolimus, zbog malog terapijskog indeksa, varijabilne kinetike i visokog interakcijskog potencijala zahteva redovno praćenje koncentracija u krvi bolesnika nakon presađivanja bubrega. Terapijski monitoring omogućava modifikaciju terapijskog režima u zavisnosti od individualnih karakteristika bolesnika (29).

Takrolimus pokazuje linearnu kinetiku u okviru terapijskih koncentracija, što omogućava modifikaciju doze na osnovu izmerene koncentracije leka u krvi u stanju ravnoteže (7).



$$D_{0(nova)} = \frac{C_{(željena)}}{C_{(izmerena)}} \times D$$

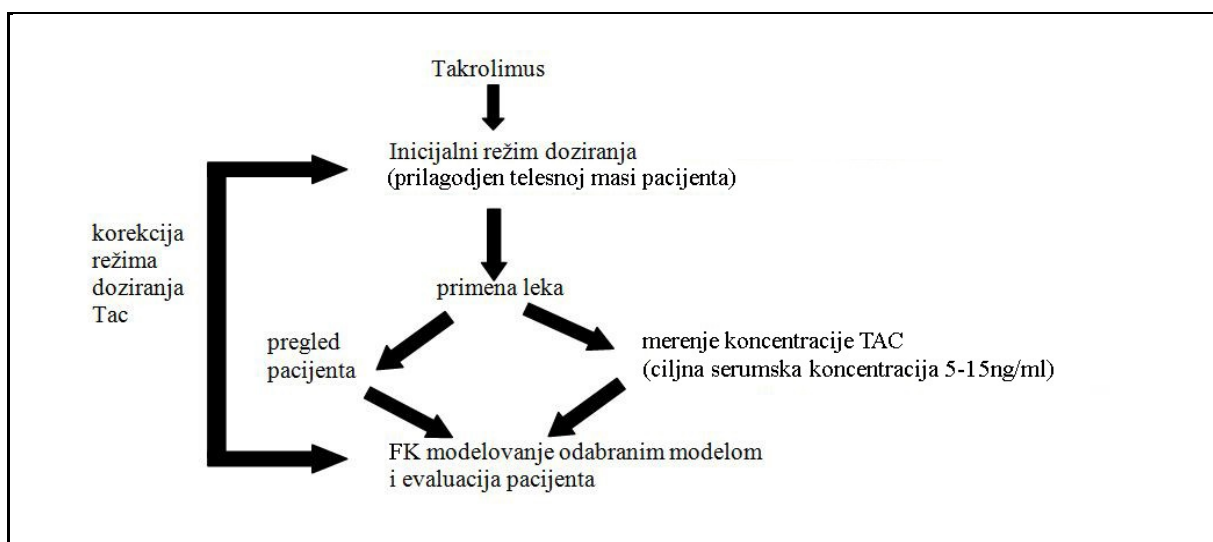
$C_{(željena)}$  - koncentracija leka koju želimo da postignemo u ravnotežnom stanju

$C_{(izmerena)}$  - koncentracija leka koja je izmerena u ravnotežnom stanju

$D_{0(nova)}$  - doza leka potrebna za postizanje željene koncentracije leka

$D$  - data doza Tac

Terapijski monitoring podrazumeva pravilno uzorkovanje biološkog materijala i validiran analitički postupak (28,30). Pravilna interpretacija dobijenih rezultata je od posebnog značaja za modifikaciju terapije. Cilj sprovođenja monitoringa Tac je kreiranje optimalnog režima doziranja, što omogućava minimiziranje neželjenih efekata terapije transplantiranih bolesnika (5,29). Sakupljanjem podataka o izmerenim koncentracijama Tac u dužem vremenskom periodu kod većeg broja pacijenata stvara se baza podataka za populacionu farmakokinetičku analizu.



Slika 1.2. Shematski prikaz TDM-a takrolimusa

Na slici 2. je shematski prikazan pravilan TDM takrolimusa u nekoliko osnovnih koraka. Nakon primene inicijalne doze Tac, određene na osnovu telesne mase pacijenta, vrši se klinička procena i merenje koncentracije leka u krvi. Farmakokinetička analiza omogućava modifikovanje postojećeg doznog režima u skladu sa individualnim karakteristikama pacijenta (30,31).

Populacionim FK modelovanjem podataka o izmerenim koncentracijama Tac u toku terapijskog monitoringa dobijaju se specifične, populacione vrednosti FK parametara i određuju značajne varijable, što predstavlja osnovu za kreiranje doznog režima kod *de novo* transplantiranih pacijenata.

## 1.4. Imunosupresivni lekovi u terapiji pacijenata sa presađenim bubregom

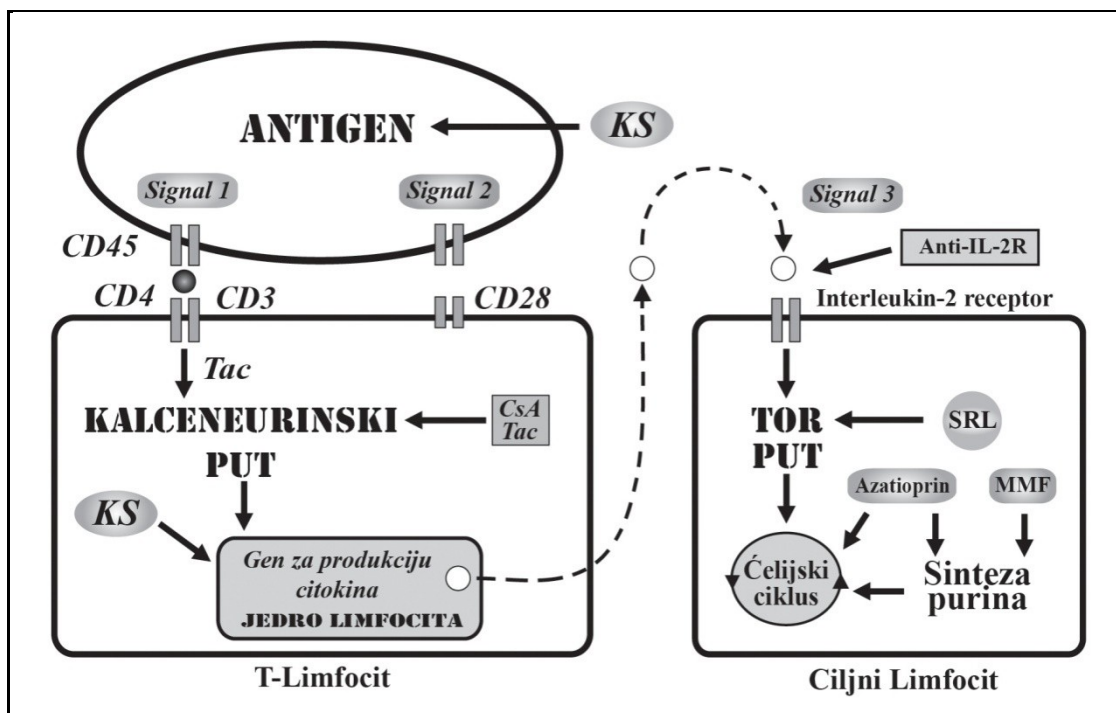
### 1.4.1. Značaj imunosupresivne terapije u transplantaciji

Cilj imunosupresivne terapije je postizanje imunitetne tolerancije primaoca organa na presađeni organ uz minimiziranje neželjenih dejstava izabranih lekova (32). Veliki broj imunosupresivnih lekova mogu dovesti do akutne i hronične intoksikacije, posebno nefrotoksičnosti, zbog čega je neophodna njihova racionalna primena (1,33). Imuni odgovor organizma na presađeni bubreg se ostvaruje kroz tri faze. To su: faza indukcije, faza održavanja i lečenje epizoda akutnog odbacivanja bubrega (3). Imunosupresivni lekovi se koriste u sve tri faze.

Najvažnije grupe imunosupresivnih lekova su:

- kortikosteroidi
- kalcineurinski inhibitori
- inhibitori proliferacije limfocita
- antilimfocitna antitela

Shematski prikaz mesta delovanja imunosupresivnih lekova dat je na slici 1.3.



Slika 1.3. Shematski prikaz mesta i mehanizma delovanja imunosupresiva

Da bi se imunosupresivnom terapijom ostvarila efikasnost, uz zadovoljavajući bezbedonosni profil trebalo bi da ovi lekovi poseduju sledeće osobine :

- mehanizam dejstva mora biti selektivan
- treba da pokazuje adaptivnu specifičnost
- ciljni molekul leka mora biti u limfocitu
- biotransformacija leka treba da se odvija nezavisno od enzima citohroma P450
- sinergističko delovanje u kombinaciji sa drugim imunosupresivima

Imunosupresivne lekove karakterišu ozbiljna neželjena dejstva i visok interakcioni potencijal, zbog čega je potreban terapijski monitoring i evaluacija doznog režima kod osetljivih transplantiranih pacijenata (34).

Preduslov pravilnog izbora lekova koji će izvršiti optimalnu imunosupresiju nakon Tx bubrega je poznavanje njihovih farmakoloških karakteristika zbog čega je u tabeli 1.1. dat pregled imunosupresivnih lekova koji se koriste u savremenoj praksi (26,35).

Tabela 1.1. Pregled imunosupresivnih lekova

Farmakološka grupa	Sastav	Aktivnost u organizmu	Neželjena dejstva	Terapijski režim
Glukokortikoidi	Prednizon	nespecifična blokada imunog odgovora	kušing – habitus, osteoporoza, dijabetes, leukocitoza, atrofija kože, otežano zarastanje rana	terapija održavanja inicijalna terapija
Kalcineurinski inhibitori	Ciklosporin A	inhibicija kalcineurina u izgradnji imunofila	nefrotoksičnost, hipertenzija, hirzuitizam, hiperplazija gingive	terapija održavanja
	Takrolimus	inhibicija kalcineurina u izgradnji kompleksa sa FK506 vezujućim proteinom	neurotoksičnost, nefrotoksičnost, dijabetes	terapija održavanja
Poliklonalna antitela	Antitimocitni antiglobulin	nespecifična razgradnja limfocita	alergijski šok, pancitopenija, oportunističke infekcije, povećan rizik za nastanka maligniteta	indukciona terapija inicijalna terapija
Monoklonalna antitela	Baziliksimumab Daklizumab	blokada IL-2 receptora	nauzeja, edemi, hipertenzija, hiperkalijemija	indukciona terapija
m-TOR inhibitori	Sirolimus Everolimus	blokada T-limfocita aktiviranih preko IL-2	pancitopenija, hiperlipidemije otežano zarastanje rana	terapija održavanja
Antimetaboliti	Azatioprin Mikofenolat-mofetil	blokada inozin-monofosfat dehidrogenaze	pancitopenija, alopecija, holestaza gastrointestinalne tegobe, leukopenija	terapija održavanja

Odabir imunosupresivne terapije vrši se individualno, prema pacijentu, u cilju pronalaženja optimalne kombinacije imunosupresivnih lekova. U tabeli 1.2. dat je pregled preporučenih doza najčešće primenjivanih imunosupresivnih lekova u savremenoj kliničkoj praksi (26).

Tabela 1.2. Doziranje imunosupresiva

Lek	Doza
Takrolimus	0,1 – 0,2 mg / kg TM / dnevno
Ciklosporin A	3 – 6 mg / kg TM / dnevno
Mikofenolat – mofetil	2 x 1g
Metilprednizolon	0,5 mg / kg TM / dnevno redukcija u prvih 6 meseci do 0,1 mg / kg TM / dnevno
Azatioprin	inicijalna terapija: 3 - 6 mg / kg TM / dnevno produženje terapije 1-2 mg / kg TM / dnevno
Baziliksimumab	2 x 20mg (preoperativno i četvrtog dana nakon transplantacije)
Antitimocitni globulin	1,5 mg / kg TM / dnevno kumulativni max. 4,5mg/kg TM

#### 1.4.2. Kortikosteroidi

Prednizolon i metilprednizolon su kortikosteroidi (KS) koji se uspešno koriste za razvoj imunotolerancije transplantiranog pacijenta. Kortikosteroidi su efikasni u prevenciji i terapiji odbacivanja presađenog organa zbog čega se koriste neposredno pre i prolongirano nakon transplantacije (Tx). Prednizolon i njegov derivat metilprednizolon vrše inhibiciju transkripcionih faktora čime smanjuju transkripciju gena za interleukin-2 (IL-2) i druge citokine (IL-1, pirogen, kolagenaza, elastaza, aktivator plazminogena i faktor tumorske nekroze) (35,1). Kortikosteroidi se vezuju za citoplazmatske receptore preko ćelijske membrane, formirajući kompleks lek-receptor koji putuje do ćelijskog jedra (slika 3.). Antiinflamatorno i limfolitičko delovanje zasnovano je na sprečavanju proliferacije T-limfocita, stabilizaciji membrane lizozoma i blokadi sinteze antitela (36). Direktnim i indirektnim sprečavanjem sinteze interferona i interleukina IL-1, IL-2, IL-6, kortikosteroidi interferiraju sa senzibilizacijom ćelija koje stvaraju antitela, smanjuju oslobađanje antigena iz presađenog tkiva i odlažu revaskularizaciju.

**Farmakokinetika:** Biološka raspoloživost prednizolona, nakon oralne primene iznosi 70-80% , zbog brze biotransformacije prilikom prvog prolaza kroz jetru. U plazmi se vezuje za proteine plazme do 95%. Redukcijom i konjugacijom stvaraju se neaktivni metaboliti koji se zatim izlučuju preko bubrega. U nepromenjenom obliku se eliminiše 3-5% unetog leka. Poluvreme eliminacije prednizolona iznosi 1,5-6 sati. Indukcijom mikrozomalnih enzime jetre

KS znatno utiču na koncentracije lekova koji se metabolišu posredstvom istih enzima (37,38). Induktori mikrozomalnih enzima ubrzavaju metabolizam KS, dok ga inhibitori usporavaju.

U farmakoterapiji transplantiranih pacijenata doza KS se značajno menja u zavisnosti od vremena proteklog od transplantacije ( na dan transplantacije primenjuje se udarna doza od 500 mg metilprednizolona, dok se 15. dana nakon Tx doza prednizolona redukuje na 40 - 60mg ) (39,40). Od posebnog značaja je određivanje doze KS kojom prestaje značajan uticaj KS na indukciju mikrozomalnih enzima jetre, odnosno na farmakokinetiku Tac (16,41). Pri istovremenoj primeni KS i mikofenolne kiseline smanjuje se njena bioraspoloživost što može imati klinički značaj (42).

Dugotrajnom upotrebom KS dolazi do supresije kore nadbubrega i potencijalnih neželjenih dejstava u vidu: Kušingovog sindroma, poremećaja u rastu, bolesti koštano-mišićnog sistema, katarakte, dijabetesa, poremećaja endogenih steroida, dislipidemije, peptičkog ulkusa, hipertenzije, povećanja telesne mase i sporog zarastanja rana.

Savremeni farmakoterapijski pristup podrazumeva što ranije smanjenje doze KS i dužine trajanja terapije kako bi se brojni neželjeni efekti minimizirali (43).

### **1.4.3. Inhibitori proliferacije limfocita**

Ova grupa immunosupresiva smanjuje imuni odgovor organizma na presađeni organ sprečavanjem proliferacije limfocita. Lekovi koji pripadaju ovog grupi pokazuju različitost u hemijskoj strukturi i po mestu delovanja.

#### **1.4.3.1. Mikofenolna kiselina (MPA)**

Mikofenolna kiselina je nekompetitivni i reverzibilni inhibitor inozin-monofosfat dehidrogenaze, a time i inhibitor *de novo* puteva za sintezu guanozin nukleotida i njegove ugradnje u DNK. Kako je proliferacija T i B limfocita zavisna od *de novo* sinteze purina, MPA ima citostatički efekat na limfocite (44,45). Mikofolna kiselina selektivno inhibira proliferaciju i funkcije limfocita i formiranje antitela, adheziju i migraciju ćelija (slika 3). U farmaceutskim preparatima nalazi se u obliku estera, mikofenolat-mofetila, koji se dobija polusintetski od antibiotika izolovanog iz jedne vrste gljiva. U telu se konvertuje u aktivnu supstancu, MPA. Mikofenolat mofetil je deo kvaternarnog immunosupresivnog protokola, koji se sprovodi u Kliničkom centru Niš prilikom transplantacije bubrega.

**Farmakokinetika:** Mikofenolat-mofetil (MM) se odlikuje dobrom resorpcijom nakon peroralne primene. Istovremena primena MM i KS značajno smanjuje njegovu bioraspoloživost. Aktivni oblik leka, MPA, podleže enterohepatičnom ciklusu i eliminiše se preko bubrega u obliku neaktivnog  $\beta$ -glukuronida. Bezbednost i podnošljivost MPA je velika (44,46,47). U praksi se koristi u kombinaciji sa drugim imunosupresivnim lekovima, koji mogu imati uticaj na koncentraciju MPA. Najčešći neželjeni efekti MPA su poremećaji na nivou GIT-a: dijareja, mučnina, povraćanje, bol u stomaku, a retko mogu da se jave krvarenja i crevne perforacije (48). Česta je pojava leukopenije. Većina neželjenih efekata se brzo povlači redukcijom doze ili prekidom terapije. Zbog nepostojanja toksičnih efekata na ekskretorne organe i kardiovaskularni sistem, kao i činjenice da ne zahteva terapijski monitoring, MPA je u potpunosti zamenio azatioprin.

#### ***1.4.3.2. Azatioprin***

Azatioprin je imidazolski derivat mekaptopurina koji po mehanizmu delovanja pripada grupi antimetabolita. Azatioprin u organizmu oslobađa 6-merkaptopurin koji se konvertuje u tkivni inhibitor metaloproteinaze, zbog čega dolazi do ometanja sinteze DNK i genetskih oštećenja posredovanih tioguanin nukleotidom (30). Razaranjem stimulisanih limfoidnih ćelija blokira imuni odgovor i sekundarnu produkciju antitela u serumu bez izražene selektivnosti.

**Farmakokinetika:** Azatioprin poseduje visok stepen bioraspoloživosti, dobro se resorbuje iz gastrointestinalnog trakta i brzo dostiže maksimalnu koncentraciju u plazmi. U jetri se metaboliše u 6-merkaptopurin. Enzim ksantin-oksidaza pretvara ovu aktivnu supstancu u tio-mokraćnu kiselinu, koja se zatim izlučuje urinom (35). Poluvreme eliminacije kod pacijenata sa očuvanom bubrežnom funkcijom je 3 sata, a pri oštećenju bubrežne funkcije može biti produženo do 50 sati.

Neželjeni efekti azatioprina manifestuju se kroz pojavu leukemije, anemije, trombocitopenije, kao i pojave gastrointestinalnih tegoba – mučnine, povraćanja, dijareje i akutnog pankreatitisa, retko holestaze i nekroze jetre. Sa alopurinolom stupa u klinički značajnu interakciju čiji je rezultat povećana toksičnost azatioprina zbog inhibicije aktivnosti ksantin oksidaze. Primena azatioprina povećava rizik od nastajanja oportunističkih infekcija i limfoproliferativnih poremećaja.

### 1.4.3.3. Sirolimus (Rapamicin) i Everolimus

Sirolimus (rapamicin) i everolimus su makrolidni antibiotici, strukturno slični Tac, ali po mehanizmu delovanja različiti. Njihov immunosupresivni efekat nije baziran na inhibiciji kalcineurina već na inhibiciji odgovora organizma na IL-2 vezivanjem za ciljno mesto-mamalian target of rapamycin (m-TOR). Time se blokira aktivacija T- i B- limfocita, a sirolimus i everolimus su nazvani anti m-TOR immunosupresivni lekovi (49). Vezivanjem za protein takrolimus vezujući protein 12 (FKBP12) stvara se kompleks koji ostvaruje inhibiciju signalnog puta meta-rapamicina i tako smanjuje produkciju IL-2 i proliferaciju T-limfocita (slika 3). Ovi savremeni lekovi su sve zastupljeniji u immunosupresivnim protokolima zbog protektivnog delovanja na presađeni bubrež i manjeg rizika maligniteta kod transplantiranih pacijenata. Primena sirolimusa (SRL) ili everolimusa (EVE) bez inhibitora kalcineurina dovodi do povećanog rizika odbacivanja grafta i nastanka hirurških komplikacija nakon Tx. Inicijalna terapija sa niskim dozama anti-mTOR i kalcineurinskih inhibitora usporava razvoj ateroskleroze ali povećava rizik nastanka uremijskog sindroma kod pacijenata sa presađenim bubregom (50,51,52). Lipidni status pacijenata zahteva kontinuirano praćenje zbog očekivane dozno zavisne dislipidemije (53). Moguća neželjena dejstva su: pojava akni, usporeno zarastanje rana i produženi period oporavka od akutne tubularne nekroze kod transplantiranih pacijenata, smanjenje koncentracije testosterona, proteinurija, pojava tremora. Everolimus u retkim slučajevima izaziva leukopeniju.

**Farmakokinetika:** Nakon peroralne primene SRL i EVE se brzo resorbuju a maksimalnu koncentraciju u krvi postižu nakon dva sata kod pacijenata sa transplantiranim bubregom. Sirolimus je supstrat za CYP3A4 i P-gp, zbog čega nije preporučiva njegova istovremena primena sa snažnim inhibitorima ili induktorima CYP3A4 i P-gp. Metabolizam everolimusa se odvija u jetri, preko citohromalnih enzima CYP3A4 i 3A5 (50,51). Metaboliti se izlučuju putem žuči i bubrega. Racionalni farmakoterapijski pristup upotrebi SRL podrazumeva TDM zbog izražene interindividualne farmakokinetičke varijabilnosti (54).

Kliničke studije pokazuju da godine, pol i telesna masa nemaju uticaja na FK everolimusa, dok je kod pacijenata crne rase primećeno povećanje vrednosti klirensa za 20% u odnosu na pripadnike drugih rasa (55).

#### 1.4.4. Antilimfocitna antitela

Antilimfocitni serum se dobija imunizacijom konja humanim limfoidnim ćelijama. Značajna je IgG frakcija antilimfocitnog seruma. Antilimfocitna antitela koja se nalaze u IgG frakciji deluju pre svega na male periferne limfocite blokadom specifičnih membranskih proteina - CD2, CD3, CD45, nakon čega dolazi do razaranja T-limfocita (slika 3). Delovanje ovih antitela uzrokuje specifični poremećaj kasne preosetljivosti, dok stvaranje humoralnih antitela ostaje skoro nepromenjeno. Česta pojava anafilaktičke reakcije i serumske bolesti prilikom primene antilimfocitnog seruma uslovlila je pronalazak monoklonalnih antitela.

#### 1.4.5. Monoklonalna antitela

Monoklonalna antitela su imunoglobulini proizvedeni u ćelijskim kulturama odabranim da reaguju na antigene koji specifično ekspimiraju ćelije kancera (56). U savremenim imunosupresivnim protokolima koriste se tri tipa monoklonalnih antitela:

- a- Anti CD3 antitela (blokiraju T limfocite) - muromonab-CD3
- b- Anti CD20 antitela (blokira B limfocite) - rituksimab
- c- Anti CD25 antitela (antagonisti IL-2 receptora) - daklizumab, baziliksimumab

U Kliničkom centru Niš se pri transplantaciji bubrega sprovodi kvaternarna imunosupresija, koja podrazumeva i primenu antagonista IL-2 predstavnika. baziliksimumaba.

Baziliksimumab se u terapiju uključuje u fazi indukcije imunosupresije, preoperativno i četvrtog dana od Tx radi sprečavanja ranog odbacivanja transplantiranog bubrega (26,57,58). Baziliksimumab se vezuje za alfa lanac IL-2 receptora na aktiviranim T-limfocitima, što dovodi do njihovog uništenja. Hemijski, on predstavlja himarno monoklonalno antitelo koje se vezuje za IL2 receptor aktiviranih T-limfocita, odnosno IL-2R antitelo. Farmakokinetički parametri basiliksimumaba ( $C_{max}$ , AUC) pokazuju doznu zavisnost, dok je proces raspodele leka za sada nedovoljno poznat (59). Volumen distribucije i klirens pokazuju interindividualnu varijabilnost. Maksimalna koncentracija se postiže 30 minuta nakon primene leka. Pol, uzrast ili rasa nemaju uticaja na poluvreme eliminacije, koje iznosi  $7,2 \pm 3,2$  dana. Istovremena upotreba mikofenolat mofetila i azatioprina može redukovati klirens basiliksimumaba do 22% (60,61). Osnovni neželjeni efekat je reakcija preosetljivosti na lek.

Od najnovijih monoklonalnih antitela značajan je belatacept, koji se nalazi u drugoj fazi kliničkih istraživanja. Njegova specifičnost ogleda se u vezivanju za CD28, pri čemu ne



uslovljava razaranje antitela što omogućava dugotrajnu primenu sa perspektivno boljom funkcijom bubrega i smanjenim rizikom hronične nefropatije alografta (61).

#### 1.4.6. Inhibitori kalcineurina (CNI)

Otkriće kalcineurinskih inhibitora (CNI) predstavljalo je veliki pomak u immunosupresivnoj terapiji. Na slici 3. prikazan je njihov mehanizam delovanja.

Molekuli ovih lekova unutar ćelija grade kompleks sa imunofilom (imunofilin-vezujući lekovi), inhibirajući aktivnost kalcineurin fosfataze. Posledica ove inhibicije je defosforilacija i nuklearna translokacija u T-limfocitima i njihova smanjena aktivnost. T-pomoćni limfociti su glavna meta, iako i T-supresorske ćelije mogu biti pogođene. Inhibicijom kalcineurin fosfataze inhibira se stvaranje i otpuštanje citokina uključujući interleukin 2 (IL-2), interleukin 3 (IL-3) i interferon- $\gamma$ . U grupu inhibitora kalcineurina spadaju ciklosporin, takrolimus i novootkriveni ISA 247 koji je još uvek u fazi kliničkih ispitivanja.

##### 1.4.6.1. Ciklosporin (CsA)

Od predstavnika CNI prvi je pronađen CsA, lek peptidne strukture koji blokira aktivaciju T- ćelija u ranom stadijumu njihove antigenom izazvane diferencijacije. Na molekularnom nivou CsA takođe inhibira stvaranje i oslobađanje limfokina inhibicijom transkripcije gena za IL-2, IL-3 i interferon- $\gamma$ , pri čemu ne dolazi do sprečavanja interakcije sa antigenom. Vezivanjem za ciklofilin CsA inhibira kalcineurin-fosfatazu, zbog čega dolazi do inaktivacije pomoćnih i supresorskih T-ćelija. Efikasnost CsA zavisi od specifične i reverzibilne inhibicije limfocita u G<sub>0</sub> i G<sub>1</sub> fazi ćelijskog ciklusa. CsA ne utiče na funkciju fagocita i ne izaziva supresiju kostne srži (29,62).

**Farmakokinetika:** Nakon oralnog davanja leka, resorpcija CsA je nekompletna, zavisno od vrste i količine unete hrane. Procesom distribucije CsA dospeva duboko u tkiva i telesne tečnosti sa volumenom distribucije u stanju ravnoteže 3-5 l/kg TM, pri čemu se vezuje za proteine plazme do 90%. Metabolizam se odvija preko mikrozomalnih enzima jetre, pre svega CYP 3A4 (63). Manji deo biotransformacije se odigrava u gastrointestinalnom traktu i preko bubrega. Ekskrecija CsA se primarno odvija putem bilijarnog trakta, dok se svega 6% unete doze u obliku nepromenjenog CsA i metabolita izlučuje putem urina. Lek prolazi placentu i može se ekskretovati ljudskim mlekom (63). Istraživanja su pokazala da farmakokinetiku CsA karakteriše cikardijalni ritam (64).

Akutna toksičnost CsA je povezana sa bubrežnom vazokonstrikcijom a funkcionalne promene koje tada nastaju su potencijalno reverzibilne. Hronična toksičnost je povezana sa strukturnim promenama u bubrezima (65,66). Klinički relevantne koncentracije CsA mogu da ispolje direktan toksični efekat na tubularne epitelijalne ćelije i potpomognu fibrogenezu stimulisanu autokrinom sekrecijom faktora rasta sličnih insulinu (insulin like growth factor-ILGF) i parakrinu sekreciju TGF-beta1 proksimalnog tubularnog epitela (67). Terapijskim monitoringom je moguće odrediti najnižu efektivnu dozu CsA i prevenirati nefrotoksičnost. Najčešći neželjeni efekti CsA su: nefrotoksičnost, hepatotoksičnost, hipertenzija (zbog vaskularnih oštećenja i povećanja tonusa simpatikusa), hiperlipidemija, dijabetes, neurotoksičnost, glavobolje, često migrenozne prirode i tremor. CsA može da izazove hipertrofiju gingiva a kod žena hirzutizam (67,68).

#### **1.4.6.2. Takrolimus (Tac)**

Takrolimus je uveden u terapiju nakon CsA kao predstavnik CNI sa boljim bezbedonosnim profilom.

### **1.5. Takrolimus**

Takrolimus je makrolidni antibiotik izolovan iz *Streptomyces tsukubaensis*. Njegov mehanizam delovanja zasniva se na vezivanju za FKBP12 ( takrolimus vezujući protein 12) koji inhibira kalcineurin znatno selektivnije od CsA. Takrolimus blokira aktivaciju T-limfocita u ranom stadijumu antigenom izazvane diferencijacije T-ćelija. Imuni odgovor organizma se modifikuje inhibicijom transkripcije gena za IL-2, IL-3, interferon gama i drugih produkata stimulisanih T-limfocita, dok interakcija sa antigenom ostaje nepromenjena. Takrolimus pokazuje veću specifičnost na T-ćelije limfocitne loze, posebno na T-pomoćne ćelije, a ne utiče na funkciju fagocita i kostne srži (69,70).

**Farmakokinetika:** Bioraspoloživost peroralnih preparata Tac pokazuje visoku inter i intraindividualnu varijabilnost kod pacijenata sa presađenim bubregom. Hrana bogata mastima može smanjiti resorpciju i maksimalnu koncentraciju leka za 37-77%, dok unos ugljenih hidrata smanjuje njegovu bioraspoloživost za 28-65% kod transplantiranih pacijenata. Tac pokazuje visok afinitet vezivanja za albumine plazme,  $\alpha$ 1-kiseli glikoprotein i eritrocite (5,71). Proces raspodele Tac između krvi i plazme zavisi od hematokrita, temperature, koncentracije leka i ukupne količine proteina u plazmi. Tabela 1.3. pokazuje farmakokinetičke parametre takrolimusa u zavisnosti od načina primene i karakteristika ispitanika (preuzeto sa Rxlist).

Tabela 1.3. Farmakokinetički parametri Tac

Grupa (način primene)	Doza	C <sub>max</sub> (mg/mL)	T <sub>max</sub> (h)	t <sub>1/2</sub> (h)	AUC (ngh/mL)	CL (L/h/kg)	Vd (mL)
zdravi (i.v.)	0,025mg/kg na 4 sata	/	/	34,2± 7,7	598±125	0,040±0,009	1,91±0,31
zdravi (per os)	5mg	29,7± 7,2	1,6±0,7	34,8±11,6	243± 73	0,041±0,008	1,94±0,53
Tx pacijenti (i.v.)	0,02mg/kg na 12 sati	/	/	18,8±16,7	294±262	0,083±0,050	1,41±0,66
Tx pacijenti (per os)	0,1mg/kg na 12 sati	19,2±10,3	3	/	203± 42	/	/

/ nije dostupan podatak

Tx- pacijenti sa presađenim bubregom

Takrolimus se znatno selektivnije od CsA vezuje za proteine koji ulaze u sastav kalcineurina inhibirajući njegovu aktivnost (72,73). Formiranjem kompleksa takrolimus-FKBP-12, kalcijum, kalmodulin i kalcineurin dolazi do inhibicije kalcineurina. Ovo prevenira defosforilaciju i translokaciju nuklearnog faktora aktivisanih T-limfocita (NF-AT), nuklearne komponente preko koje se inicira transkripcija gena za formaciju citokina (IL-2, IL-3, gama interferon). Tac takođe inhibira transkripciju gena koji kodiraju interleukine uključene u ranu fazu aktivacije T-limfocita (74).

Delovanjem Tac ostvaruje se inhibicija progresije ćelijskog ciklusa preko ciklina, koji su povezani sa ciklin-zavisnim kinazama (CDK), neophodnim u ćelijskoj deobi. Selektivni CDK inhibitori sprečavaju ulazak ćelije u ćelijski ciklus čime ometaju aktivaciju T limfocita . Metabolizam Tac odvija se u jetri pod dejstvom citohromalnih enzima, pre svega CYP 3A4 i 3A5, pri čemu nastaje veći broj metabolita od kojih osam poseduju imunološku aktivnost. Demetilacija i hidroksilacija su primarni mehanizmi biotransformacije *in vitro* a glavni metabolit je 13-demetil takrolimus. 31-demetil derivat Tac u *in vitro* studiji pokazao je istu aktivnost kao Tac (71). Takrolimus je supstrat za P - transportni glikoprotein (P-gp), koji je član familije ABC transportera supstanci. Njegova aktivnost uslovljava izbacivanje leka iz ćelija refluks pumpom, što utiče na bioraspoloživost Tac (75,76). Lekovi koji inhibiraju aktivnost P-gp proteina mogu ostvariti značajan uticaj na metabolizam lekova koji su supstrat za P-gp. Ekskrecija Tac se uglavnom odvija putem žuči, preko 90% unete količine leka, dok se manje od 1% peroralno unetog leka izlučuje putem urina u nepromenjenom obliku. Insuficijencija bubrega ili jetre zahteva korekciju doze Tac .

Istovremena primena Tac i induktora enzima CYP3A4 (barbiturati, rifampicin, fenitoin, karbamazepin, metamizol, izoniazid, prednizolon i metilprednizolon) uslovljava smanjenje

koncentracije Tac (77). Zbog toga je neophodno odrediti stepen uticaja KS, koji su deo imunosupresivnog protokola na koncentraciju i FK parametre Tac (78,79). Studije su pokazale promenu koncentracije Tac i povećanje vrednosti njegove AUC nakon ukidanja prednizolona kod pacijenata sa presađenim organom, što dokazuje postojanje interakcije Tac između njih (10,11).

Lekovi koji inhibiraju aktivnost CYP3A4 (bromokriptin, ergotamin, etinilestradiol, gestoden, itrakonazol, lidokain, fenitoin, mikonazol, midazolam, nikardipin, nifedipin, noretisteron, hinidin, tamoksifen, verapamil) povećavaju koncentraciju Tac (80). Inhibitorno deluju: kaptopril, hloramfenikol, cimetidin, klaritromicin, ciklosporin, danazol, flukonazol, ketokonazol, metoklopramid, omeprazol i sulindak (77). Naringenin, sastojak soka od grejpfruta utiče na bioraspoloživost Tac inhibicijom prevashodno intestinalnog CYP3A4. Pri istovremenoj primeni inhibitora CYP3A4 enzima i Tac povećan je njegov toksični potencijal.

Polimorfizam CYP3A5 je važan faktor varijabilnosti farmakokinetike Tac (81). Postoje dokazi da je u opštoj populaciji dominantan CYP3A5\*3/\*3 genotip. Manje zastupljeni CYP3A5\*1/\*3 korelira sa signifikantno nižim plazma koncentracijama i većim volumenom distribucije Tac. Pacijenti sa CYP3A5\*1/\*3 genotipom zahtevaju korekciju doznog režima Tac u cilju postizanja zadovoljavajućeg imunosupresivnog efekta (81,82,83).

Farmakogenetičko ispitivanje o zastupljenosti CYP3A5\*1/\*3 kod naše populacije omogućilo bi utvrđivanje značaja ove karakteristike za populaciono modelovanje takrolimusa.

Nefrotoksični i neurotoksični efekti predstavljaju najznačajnija neželjena dejstva Tac. U toku primene takrolimusa moguća je pojava hipertenzije, posttransplantacijskog dijabetesa (PTDM) i dislipidemije. Terapija takrolimusom retko uzrokuje gastrointestinalne tegobe, hipertrofiju desni i hirzutizam (84). U poređenju sa CsA, Tac poseduje bolji bezbedonosni profil sa manjim rizikom od razvoja hipertenzije i hiperlipidemije, pojave hirzutizma i hiperplazije gingiva (67,85,86). Nefrotoksičnost Tac može biti akutna i hronična.

Akutna nefrotoksičnost Tac je dozno zavisna i vezana za vazokonstrikciju aferentne arteriole, što smanjenje perfuziju bubrega i brzinu glomerularne filtracije (87,88). Funkcionalne promene krvnih sudova i tubula koje se javljaju pri akutnoj intoksikaciji su dozno zavisne i reverzibilne prirode. Biohemijski parametri nefrotoksičnosti su povećane vrednosti serumskog kreatinina i uree. Elektrolitni i acidobazni disbalansa ukazuju na akutnu tubularnu disfunkciju. Usled smanjene ekskrecije kalijuma, vodoničnog jona i mokraćne kiseline dolazi do hiperkalijemije, metaboličke acidoze i hiperurikemije, dok smanjena resorpcija magnezijuma izaziva hipomagnezijemiju. Intrarenalna vazokonstrikcija se objašnjava istovremenom promenom ekspresije tromboksana i prostanglandina, endotelina i azot oksida.

Utvrđene su promene u koncentraciji intracelularnog kalcijuma, u funkciji sistema renin-angiotenzin, dok je povećan tonus simpatikusa i produkcija slobodnih radikala (89,90).

Patogeneza hronične nefrotoksičnosti izazvane Tac nije u potpunosti razjašnjena, kao ni njena povezanost sa povišenim nivoom leka u krvi. Pretpostavlja se da je povezana sa povećanom produkcijom TGF-beta 1 koja dovodi do povećane sinteze matriksnih proteina i endotelina, povećane renalne simpatičke aktivnosti i produkcije angiotenzina II, potentnog vazokonstriktora, koji se smatra značajnim za razvoj hronične nefrotoksičnosti Tac (91,92).

Biohemijski parametri hronične nefrotoksičnosti su blago povećanje uree i kreatinina u serumu, zbog čega je bitan monitoring biohemijskih parametara bubrežne funkcije u post-transplantacijskom periodu (93). Morfološke promene su ireverzibilne i ogledaju se u nastanku mononuklearne infiltracije i vakuolizacije, intersticijalne fibroze i hijaline arteriolopatije. Animalne studije pokazale su da se funkcionalni parametri oštećenja bubrega mogu ustanoviti znatno ranije u odnosu na morfološke promene. Pretpostavlja se da Tac ima manji fibrogenski potencijal u poređenju sa CsA, zbog manje indukcije TGF-beta ( pokazano radom sa pacovima) (67,94). Studije sa izolovanim glomerulima, dobijenim biopsijom transplantiranih bubrega, pokazuju da je Tac manje stimulativan za profibrotske gene u odnosu na CsA (95).

Trombocitna mikroangiopatija (TMP) predstavlja posebnu formu akutne vaskularne toksičnosti CNI. To je retka, ali ozbiljna komplikacija, koja se ogleda u akutnom pogoršanju renalne funkcije. Povezana je sa trombocitopenijom i hemolitičkom anemijom. Patogeneza uključuje oštećenje endotela uzrokovano lekom, sa posledičnim oslobađanjem citokina, aktivacijom trombocita i formiranjem mikrotromba. TMP povećava rizik ranog gubitka transplantata i ugrožava život primaoca organa (96, 97).

### **1.5.1. Značaj TDM takrolimusa**

Terapijski monitoring Tac je neophodan uslov optimalnog farmakoterapijskog protokola transplantiranih bolesnika zbog njegove varijabilne farmakokinetike, malog terapijskog indeksa i postojanja korelacije između akutne nefrotoksičnosti i nivoa leka (4). Poseban oprez zahtevaju pacijenti sa hroničnom infekcijom virusom hepatitisa B i C zbog moguće disfunkcije jetre. Nefrotoksičnost takrolimusa se povećava prilikom istovremene primene drugih lekova sa nefrotoksičnim potencijalom (aminoglikozidnih antibiotika, amfotericina B, nesteroidnih antiinflamatornih lekova). Redukcijom doze Tac neposredno

nakon uočavanja prvih znakova nefrotoksičnosti ili nefropatije presađenog bubrega moguće je smanjiti posledice toksičnih efekata leka.

Nova formulacija preparata takrolimusa, sa modifikovanim oslobađanjem lekovite supstance, koja omogućava primenu leka jednom dnevno može značajno da poboljša adherencu transplantiranih pacijenata. Ispitivanja su pokazala da formulacija sa modifikovanim oslobađanjem predstavlja efikasniji oblik terapije Tac sa boljim bezbedonosnim profilom (98,99).

Takrolimus pokazuje visok interakcioni potencijal. Najvažnije klinički značajne interakcije Tac, njihov mehanizam nastanka i efekat prikazani su u tabeli 1.4.

*Tabela 1.4. Klinički značajne interakcije takrolimusa*

<b>Lek koji stupa u interakciju sa Tac</b>	<b>Mehanizam nastanka</b>	<b>Efekat interakcije</b>
Trimetoprim+sulfametoksazol	nejasan mehanizam	↓ konc.Tac
Ditiazem	kompeticija u metabolizmu	↑ konc.Tac
Fenitoin	indukcija enzima jetre	↓ konc.Tac
Fenobarbiton	indukcija enzima jetre	↓ konc.Tac
Rifampicin	indukcija enzima jetre	↓ konc.Tac
Izoniazid	indukcija enzima jetre	↓ konc.Tac
Sirolimus	adicija terapijskog efekta	↑ imunosupresija
Ketokonazol	inhibicija enzima jetre	↑ konc. Tac
Eritromicin	kompeticija u metabolizmu	↑ konc. Tac
Kortikosteroidi	indukcija enzima jetre	↓ konc. Tac
Amfotericin B	adicija toksičnog efekta	↑ nefrotoksičnosti
Aminoglikozidni antibiotici	adicija toksičnog efekta	↑ nefrotoksičnosti
Alopurinol	inhibicija metabolizma	↑ konc. Tac
Diklofenak	povećana resorpcija diklofena	↑ konc diklofenaka
Metotreksat	povećana resorpcija metotreksata.	↑ konc.metotreksata
Hyperici herba	indukcija enzima jetre	↓ konc. Tac
Echinaceae herba	imunostimulacija	kontraindikovana primena
Naringenin	inhibicija intestinalnog CYP 3A4	↑ konc.leka
Oralni kontraceptivi	modifikacija metabolizma	smanjen efekat kontraceptiva
Nifedipin	inhibicija metabolizma	↑ konc. Tac
Bromokriptin	inhibicija metabolizma	↑ konc. Tac

Generalno, indukcija CYP3A4 enzima dovodi do smanjenja koncentracije i efikasnosti Tac što povećava mogućnosti odbacivanja grafta, dok za inhibitore CYP3A4 enzima važi suprotno, što povećava rizik pojave neželjenih efekata i toksičnih oštećenja ciljnih organa. Optimizacija doznog režima Tac pomoću terapijskog monitoringa predstavlja efikasnu prevenciju neželjenih efekata, povećava kvalitet života bolesnika i omogućava optimalnu funkciju grafta.

## **2. RADNA HIPOTEZA**

### **2.1. Radna hipoteza**

Glavna radna hipoteza ovog rada bila je:

H: Validnost farmakokinetičkih parametara dobijenih nakon analize prve doze takrolimusa potvrđuje se u stanju ravnoteže kod pacijenata sa presađenim bubregom

Zasnovana je na činjenici da takrolimus pokazuje visok stepen farmakokinetičke varijabilnosti. Zbog toga je neophodno odabrati odgovarajuću farmakokinetičku analizu čiji će rezultat definisati najvažnije faktore koji utiču na farmakokinetičke parametre takrolimusa. Obzirom da imunosupresija transplantiranih pacijenata podrazumeva primenu većeg broja lekova, neophodno je sprovesti odgovarajuću farmakokinetičku analizu nakon primene inicijalne doze takrolimusa i u stanju ravnoteže.

### **2.2. Pomoćne radne hipoteze**

U toku istraživačkog rada postavljene su sledeće pomoćne hipoteze:

H1: Primenjena doza kortikosteroida i prateća koterapija može uticati na nivo takrolimusa u krvnoj plazmi kod pacijenata sa presađenim bubregom

H2: Moguće je postojanje značajne razlike u farmakokinetici takrolimusa u zavisnosti od pola transplantiranih pacijenata.

### **3. CILJEVI RADA**

Postavljeni su sledeći ciljevi ovog istraživanja:

- 1. Izvršiti farmakokinetičku analizu nakon primene prve per os doze Tac kod pacijenata sa presađenim bubregom*
- 2. Nakon postizanja ravnotežnog stanja ponoviti farmakokinetičku analizu takrolimusa i uporediti sa rezultatima dobijenim nakon prve doze*
- 3. Populacionom farmakokinetičkom analizom odrediti populacione farmakokinetičke parametre takrolimusa i ispitati uticaj pojedinih čimilaca na njihove vrednosti*
- 4. Pratiti neželjena dejstva takrolimusa u toku imunosupresivne terapije pacijenata sa presađenim bubregom*
- 5. Utvrditi da li postoji polna razlika u farmakokinetici takrolimusa kod pacijenata sa presađenim bubregom*



## **4. PACIJENTI I METODE**

### **4.1. Pacijenti**

U studiji je učestvovalo 64 pacijenta starosti od 27 do 57 godina, kojima je presađivanje bubrega obavljeno u periodu od 2007. do 2011. godine. Ispitivanja su vršena na Klinici za nefrologiju i Centralnoj biohemijskoj laboratoriji Kliničkog centra Niš. Farmakokinetička analiza je obavljena na odseku za farmaciju Medicinskog fakulteta Univerziteta u Nišu. U toku ispitivanja pacijenti su bili na kontrolisanom, bolničkom dijetetskom režimu ishrane, koji podrazumeva adekvatan odnos ugljenih hidrata, masti i proteina sa odgovarajućim brojem kalorija. Obroci su servirani u 9.00, 13.00 i 18.00 časova, a takrolimus je primenjivan u 8.00 i 20.00 časova. Inicijalna doza Tac određivana je prema telesnoj masi pacijenta (0,05mg/kg TM). Režim doziranja Tac je tokom ispitivanja modifikovan prema izmerenoj koncentraciji na kraju doznog intervala. U prvih šest nedelja nakon transplantacije (Tx) ciljna koncentracija Tac je iznosila 10-15ng/mL a nakon tog perioda 5-15ng/mL. Kod pacijenata je primenjivan kompleksan imunosupresivni protokol – takrolimus, mikofenolat mofetil, kortikosteroidi i monoklonalno antitelo baziliksimumab. Baziliksimumab je primenjivan prvog i četvrtog dana u dozi od 20mg/dan. Doza mikofenolat mofetila iznosila je 1500-2000mg/dan. Kortikosteroidnu terapiju pacijenti su započinjali intravenskim metilprednizolonom, a tri dana nakon Tx nastavljali peroralno sa prednizolonom u dozi od 1mg/kgTM/dan u trajanju od sedam dana. U daljem periodu dnevna doza prednizolona je sukcesivno redukovana do dostizanja doze održavanja od 10mg/dan. Pored imunosupresivnih lekova pacijenti su imali prateću antihipertenzivnu i drugu koterapiju u zavisnosti od indikacija. Antihipertenzivna terapija transplantiranih pacijenata obuhvatala je primenu nifedipina (prosečno 68mg za muškarce, 32mg za žene) i diltiazema (prosečno 160mg za muškarce i 120mg za žene).

### **4.2. Analitičke metode**

Koncentracija Tac je merena u Centralnoj biohemijskoj laboratoriji KC Niš na Imx - Abbott analajzeru (Imx, Abbot, Abbot Park,IL,USA) iz uzoraka pune krvi nakon dodatka precipitirajućeg reagensa (cink-sulfat u mešavini metanola i etilenglikola), sa EDTA kao antikoagulansom. Određivanje koncentracije Tac vršeno je po Microparticle Enzyme Immunoassay (MEIA) tehnologiji, sa limitom kvantifikacije 1,5 ng/mL i linearnošću u rangu 3,7-24,3 ng/mL. Analitička osetljivost metode omogućena je sa 1,5 ng/mL. Preciznost metode ustanovljena je i opisana u Nacionalnom komitetu za kliničke laboratorijske standarde. MEIA tehnologija omogućava rezultate sa koeficijentom varijacije CV<15%. Korelacioni koeficijent sa HPLC/MS/MS analitičkim metodom iznosi 0,987.

Određivanje standardnih biohemijskih parametara - urea, serumski kreatinin, aspartat amino transferaza (AST), alanin amino transferaza (ALT), alkalna fosfataza (ALP), holesterol, glukoza, trigliceridi, hematokrit kod pacijenata sa presađenim bubregom vršeno je u biohemijskoj laboratoriji Klinike za nefrologiju KC Niš.

Istraživanja su odobrena od Etičkog komiteta Medicinskog fakulteta Univerziteta u Nišu.

### **4.3. Farmakokinetička analiza i statistička obrada podataka**

Podaci dobijeni tokom istraživačkog rada korišćeni su za 3 analitičke procedure.

#### ***Procedura 1.***

Proceduru 1. predstavljala je neprostorna FK analiza dobijenih koncentracija Tac, nakon primene inicijalne doze leka (0,05mg/kgTM) i u ravnotežnom stanju (stady state - SS). Neprostorna FK analiza podataka obavljena je upotrebom farmakokinetičkog softvera WinNonLin, verzija 4.1 (Pharrsight, St Louis, MO, USA). Vrednosti za površinu ispod krive (AUC) dobijene su linearnim trapezoidnim pravilom. Korelacija izmerenih koncentracija Tac u određenim vremenima i vrednosti  $AUC_{0-12}$  utvrđena je regresionom analizom i izražena Pears-ov koeficijentom korelacije  $r$ . Predvidljivost koncentracije Tac u određenom vremenu za vrednost  $AUC_p$  određena je koeficijentom determinacije  $r^2$ .

#### ***Procedura 2.***

Populaciona FK analiza obavljena je NONMEM softverom (verzija 5, nivo 1.1) na katedri za farmakologiju Medicinskog fakulteta u Kragujevcu. Analiza je obavljena upotrebom 89 podataka dobijenih od 63 pacijenta koji su bili podeljeni u dve grupe (grupa za izgradnju modela- 44 ispitanika, grupa za validaciju- 19 ispitanika).

Izabrana je ADVAN2 programska subrutina za izračunavanje populacionih vrednosti klirensa, bioraspoloživosti i volumena distribucije Tac i određivanje uticaja izabranih varijabli. Podaci o izmerenim koncentracijam i doznom režimu Tac su dobijeni u stanju ravnoteže na kraju doznog intervala, zbog čega nije određena vrednost konstante resorpcije. Proces populacione farmakokinetičke analize (PFK) sastojao se od tri osnovne faze:

- definisanje baznog modela
- građenje modela uz analizu i uključivanje značajnih izabranih varijabli u finalni model
- validacija dobijenog finalnog modela.

Rezultat prve faze su populacione vrednosti FK parametara - populaciona vrednost klirensa, volumena distribucije i bioraspoloživosti. U izgradnji baznog modela razmatrani su izabrani stalni efekti modela i određena je interindividualna i intraindividualna varijabilnost u ispitivanoj populaciji. Interindividualna varijabilnost i rezidualna greška izmerenih koncentracija izražene su preko modela eksponencijalne i aditivne greške.

U drugoj fazi je univarijantnom selekcijom utvrđen značaj pojedinačnih varijabli. Za svaki parametar je utvrđen minimum objektivne funkcije u modelu koji se definiše kao negativni dvostruki logaritam verovatnoće podataka (Beal, Sneiner;1998). Osnovni kriterijum koji je korišćen za procenu statističke značajnosti varijable je redukcija u minimumu objektivne funkcije (MOF) između modela ( $\chi^2=6,64$ ;  $p<0,01$ ). U sledećem koraku druge faze zahtevana je veća statistička značajnost varijable izražena preko MOF=10,83 ( $\chi^2=10,83$ ;  $p<0,01$ ). Formiranje konačnog modela zahtevalo je redukciju interindividualne i rezidualne varijabilnosti i procenu odnosa:

1) predviđenih (PRED) i izmerenih vrednosti (DV) koncentracija Tac

2) utvrđene rezidualne varijabilnosti (WRES) i predviđenih koncentracija (PRED) Tac tokom celokupne druge faze, od baznog do finalnog modela.

Treću fazu PFK predstavljala je validacija finalnog populacionog modela - proces koji je bio neophodan za potvrdu predvidljivosti konačnog modela. Validacioni set podataka nije uključivao podatke niti pacijente koji su učestvovali u izgradnji modela. Preciznost formiranog konačnog populacionog modela Tac i njegova validnost dobijeni su izračunavanjem grešaka u predviđanju po sistemu koji su utvrdili Sheiner i Beal (izračunavane su srednja greška predviđanja - MPE; srednja statistička greška - MSPE i rezidualna srednja greška predviđanja - RMSE)

### ***Procedura 3.***

Ispitivanje uticaja primenjene doze KS na koncentraciju Tac kod transplantiranih pacijenata je obavljeno statističkom obradom podataka o primenjenim dozama KS, izmerenim koncentracijama Tac, vrednostima serumskog kreatinina, uree, glukoze, holesterola, AST, ALT i ALP. Biohemijski podaci dobijeni u ispitivanom periodu upoređivani su neparametarskim Fridmman-ovim testom za vezane uzorke, izraženim pomoću Friedman Shisquare vrednosti. Statistički značajnost je potvrđena za vrednost  $p<0,05$ . Statističkim Wilcox testom procenjen je uticaj dnevne doze KS na koncentraciju Tac u izabranim vremenskim intervalima. Mann-Witney test je korišćen za poređenje doze, koncentracije Tac i dozno korigovane koncentracije Tac unutar grupa.

Statistička obrada demografskih karakteristika ispitivanih pacijenata izvršena je Statistic R softverom i SPSS (verzija 10). Statističkim t-testom određena je značajnost razlike u demografskim karakteristikama ispitivanih pacijenata različitog pola. Statistička značajnost je potvrđena za vrednost  $p<0,05$ .

Dobijeni rezultati svih izvršenih analiza su klasifikovani i prikazani tabelarno i grafički, sa izraženom statističkom značajnošću.

## 5. REZULTATI

### 5.1. Rezultati farmakokinetičke analize prve doze Tac kod pacijenata sa presađenim bubregom

Ispitivanje je obuhvatilo 18 pacijenata (10 muškaraca i 8 žena) kojima je obavljeno presađivanje bubrega sa živog davaoca tokom 2008. u Kliničkom centru Niš. Inicijalna doza takrolimusa (0,05mg/kg TM) je primenjena četvrtog dana nakon transplantacije. Koncentracija leka je određivana 0,5; 1; 1,5; 2; 4; 8 i 12 sati nakon peroralne primene radi izrade FK profila takrolimusa. Farmakokinetičko ispitivanje prve doze Tac obavljeno je neprostornom FK analizom prema proceduri 1. Demografski podaci pacijenata koji su učestvovali u ovom ispitivanju prikazani su u tabeli 5.1.

Tabela 5.1. Demografski podaci transplantiranih pacijenata

	<i>Starost (godine)</i>	<i>BMI(kg/m<sup>2</sup>)</i>	<i>Scr (μmol/L)</i>
<b>Muškarci</b>			
Srednja vrednost ±SD	40±8,7	23,5±3,1	282,88
Min	31	17,53	185,64
Max	51	28,06	344,76
t-test	p=0,69	p=0,81	
<b>Žene</b>			
Srednja vrednost ±SD	39±5,7	23,7±3,0	229,84
Min	33	16,41	167,96
Max	47	25,39	274,04
<b>Ukupno</b>			
Srednja vrednost ±SD	40±7,4	23,6±2,9	245,66
Min	31	16,41	167,96
Max	51	28,58	344,76

Scr – serumski kreatinin; p- statistički značajnim se smatra vrednost manja od 0,05

Dobijeni podaci su pokazali slične demografske karakteristike kod ispitivanih pacijenata, u pogledu starosti i indeksa telesne mase (BMI). Prosečna starost ispitivanih pacijenata iznosila je kod žena 39±5,7, kod muškaraca 40±8,7 godina (31-51). Prosečna vrednost BMI ispitanika iznosila je 23,5±3,1 kg/m<sup>2</sup>. Zapažena je statistički značajna razlika u nivou serumskog kreatinina između muškaraca i žena (282,88 μmol/L kod muškaraca : 229,84 μmol/L kod žena; p<0,05), dok brzina glomerularne filtracije nije pokazala značajne razlike u odnosu na pol (31,2 mL/min kod muškaraca : 30,8 mL/min kod žena).

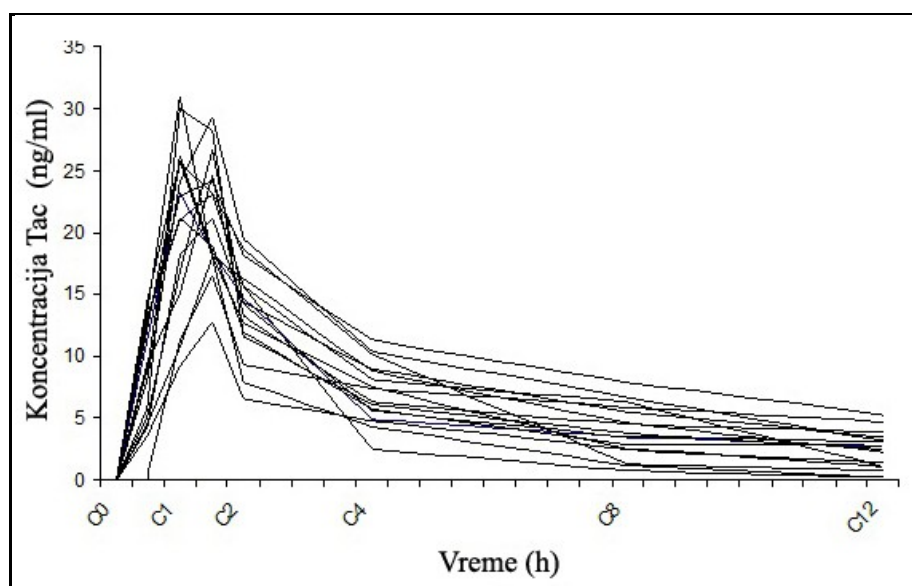
Izmerene koncentracija Tac nakon primene inicijalne doze prikazane su u tabeli 5.2.

Tabela 5.2. Koncentracije Tac kod nakon primene prve doze kod transplantiranih pacijenata

ukupno	Vreme merenja koncentracije Tac (h)							AUC <sub>0-12</sub> (ngh/mL)
	0,5	1	1,5	2	4	8	12	
C <sub>n</sub> ±SD	9,7±5,1	19,6±7,1	19,7±6,1	12,8±4,5	6,5±2,8	3,6±2,2	2,2±1,6	78,90±25,7
Min	0,3	10,7	6,4	3,9	1,7	0,8	0,2	48,25
Max	21,3	30,0	26,6	19,5	11,3	7,9	5,3	128,62
<b>Žene</b>								
C <sub>n</sub> ±SD	11,6±5,6	18,7±8,1	16,6±6,3	10,9±5,5	4,6±2,7	1,8±1,2	1,2±1,1	60,50±20,8
Min	3,6	9,2	12,8	6,6	2,5	0,8	0,2	48,25
Max	21,3	25,6	23,2	18,6	10,2	3,5	3,1	78,97
<b>Muškarci</b>								
C <sub>n</sub> ±SD	8,3±4,5	20,4±6,6	22,3±4,8	14,3±3,1	8,1±1,8	5,1±1,7	3,0±1,4	93,80±19,1
Min	0,3	11,2	16,5	9,3	5,7	2,9	1,1	75,95
Max	14,5	30,0	26,6	19,5	11,3	7,9	4,7	128,62

*C<sub>n</sub>* – srednja vrednost izmerene koncentracije Tac (ng/mL) u vremenu *n*  
*SD* – standardna devijacija  
*AUC<sub>0-12</sub>* - površina ispod krive u prvih 12 sati nakon peroralne primene Tac  
*Min* - minimalna vrednost izmerene koncentracije Tac  
*Max* - maksimalna vrednost izmerene koncentracije Tac

Naši rezultati su pokazali veliku interindividualnu varijabilnost izmerenih koncentracija Tac kod pacijenata sa presađenim bubregom. Grafički prikaz izmerenih koncentracija Tac nakon prve doze predstavljen je na slici 5.1.



Slika 5.1. Interindividualna varijabilnost koncentracija Tac kod ispitivanih pacijenata

Grafik  $c=f(t)$  jasno pokazuje farmakokinetički profil i interindividualnu varijabilnost u farmakokinetici Tac kod ispitivanih pacijenata.

Neprostornom FK analizom izmerenih koncentracija Tac prema proceduri 1. dobijeni su FK parametri koji su prikazani u tabeli 5.3.

Tabela 5.3. Farmakokinetički parametri Tac dobijeni neprostornom FK analizom

	AUC <sub>0-12</sub> (ngh/mL)	AUC (ngh/mL)	Kel (h <sup>-1</sup> )	T <sub>1/2</sub> (h)	C <sub>max</sub> (ng/l)	T <sub>max</sub> (h)	MRT (h)
<b>Oba pola</b>	78,98±25,72	102,84±41,77	0,17±0,10	5,89±3,35	22,96±5,26	1,19±0,35	7,81±4,79
<b>žene</b>	60,48±20,82	72,94±30,87	0,21±0,12	5,07±3,46	21,40±6,03	1,06±0,42	7,56±5,50
<b>muškarci</b>	93,79±19,08	126,77±33,53	0,13±0,07	6,55±3,28	24,22±4,47	1,29±0,26	9,20±4,90

*AUC<sub>0-12</sub> – skraćena vrednost površine ispod krive*

*AUC – ukupna površina ispod krive*

*Kel – konstanta eliminacije*

*T<sub>1/2</sub> – poluvreme eliminacije*

*C<sub>max</sub> – maksimalna izmerena koncentracija Tac*

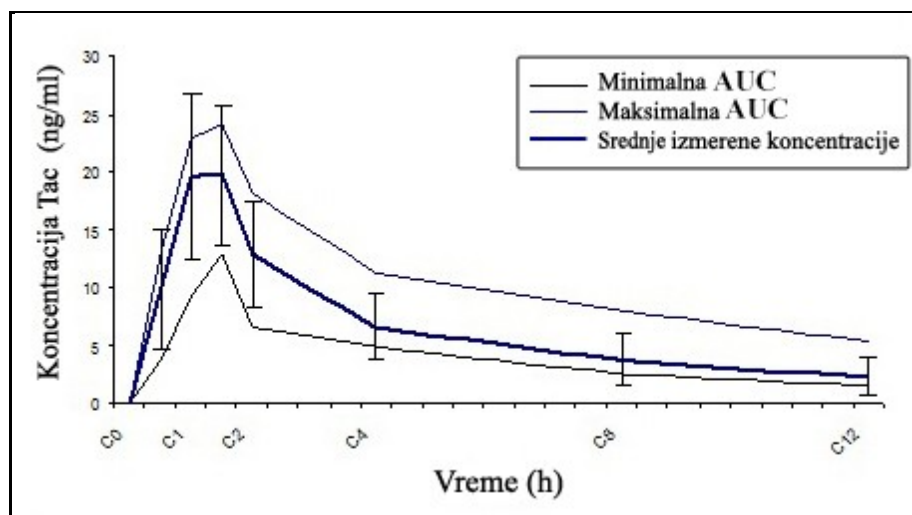
*T<sub>max</sub> – vreme postizanja maksimalne koncentracije Tac*

*MRT – srednje vreme zadržavanja Tac*

Neprostornom FK analizom podataka dobijeni su: konstanta eliminacije Tac, maksimalna koncentracija leka, vreme dostizanja C<sub>max</sub>, vreme polueliminacije (T<sub>1/2</sub>), srednje vreme zadržavanja Tac u organizmu (MRT), površina ispod krive u prvih 12 sati (skraćena AUC, AUC<sub>0-12</sub>) i ukupna AUC. Volumen distribucije i klirens Tac nisu određivani zbog peroralne primene Tac.

Pregledom dobijenih rezultata merenja koncentracija Tac kod Tx-pacijenata, ustanovljeno je da se maksimalna koncentracija Tac postiže sat i po nakon peroralne primene leka (srednja vrednost T<sub>max</sub> iznosi 1,19±0,35 h). Uočena je statistički značajna razlika vrednosti AUC<sub>0-12</sub> između muškaraca i žena (93,8±19,1 : 60,5±20,8; p<0,01). Ostali FK parametri nisu pokazali polom uslovljene statistički značajne razlike.

Srednje koncentracije Tac i njihov odnos sa maksimalnom i minimalnom AUC kod Tx pacijenata prikazani su na slici 5.2.

Slika 5.2. Komparacija maksimalne, minimalne i srednje vrednosti AUC<sub>0-12</sub> kod Tx pacijenata

Slika 5.2. pokazuje da su se srednje izmerene koncentracije Tac nalazile u terapijskom opsegu, uz pojedinačna odstupanja. Minimalna vrednost  $AUC_{0-12}$  je skoro četiri puta manja od maksimalne, što prati izraženu varijabilnost izmerenih koncentracija Tac.

Tabela 5.4. pokazuje korelaciju dobijenih srednjih vrednosti koncentracija Tac i srednje vrednosti  $AUC_{0-12}$  sa izračunatom statističkom značajnošću. Prema proceduri 1. je određen Piersov koeficijent korelacije i pripadajući nivo statističke značajnosti za srednje koncentracije Tac u svim mernim vremenima. Rezultati su prikazani u tabeli 5.4.

*Tabela 5.4. Korelacija između srednjih vrednosti koncentracija Tac i  $AUC_{0-12}$  ispitanika*

	Koncentracija Tac (ng/mL)	r	p	
$C_{0,5}$	9,75±5,14	-0,195	0,219	>0,051
$C_1$	19,63±7,13	0,518	0,014	<0,051
$C_{1,5}$	19,74±6,07	0,768*	0,000	<0,001
$C_2$	12,76±4,54	0,853*	0,000	<0,001
$C_4$	6,51±2,82	0,911*	0,000	<0,001
$C_8$	3,63±2,20	0,846*	0,000	<0,001
$C_{12}$	2,22±1,56	0,665*	0,000	<0,005

*Nivo značajnosti za korelaciju je  $p < 0,05$*

Izračunavanjem koeficijenta korelacije potvrđena je statistički značajna korelacija srednje vrednosti koncentracija i  $AUC_{0-12}$  Tac u svim posmatranim vremenima osim koncentracije izmerene pola sata nakon peroralne primene Tac.

Regresiona analiza je postavila sistem jednačina koje daju matematički model sistema sukcesivnim uvođenjem nezavisno promenljivih. Srednje vrednosti izmerenih koncentracija Tac predstavljale su nezavisno promenljive, a vrednost AUC ( $AUC_p$ ) zavisnu promenljivu u dobijenim jednačinama. Jednačine regresione analize su prikazane u tabeli 5.5.

Tabela 5.5. Regresiona analiza korelacije predviđene vrednosti AUC (AUC<sub>p</sub>) na osnovu srednjih vrednosti izmerenih koncentracija (C) sa vrednostima regresionog koeficijenta r i koeficijenta linearne determinacije r<sup>2</sup>

Regresiona jednačina	r	r <sup>2</sup>
1 AUC <sub>p</sub> = 24,885 + 8,316 * C <sub>4</sub>	0,911	0,829
2 AUC <sub>p</sub> = 9,638 + 6,454 * C <sub>4</sub> + 1,386 * C <sub>1,5</sub>	0,946	0,895
3 AUC <sub>p</sub> = 11,231 + 4,164 * C <sub>4</sub> + 1,304 * C <sub>1,5</sub> + 4,151 * C <sub>8</sub>	0,974	0,949
4 AUC <sub>p</sub> = -3,263 + 3,962 * C <sub>4</sub> + 1,444 * C <sub>1,5</sub> + 5,034 * C <sub>8</sub> + 0,996 * C <sub>0,5</sub>	0,991	0,982
5 AUC <sub>p</sub> = 0,739 + 3,020 * C <sub>4</sub> + 0,983 * C <sub>1,5</sub> + 5,114 * C <sub>8</sub> + 0,770 * C <sub>0,5</sub> + 1,145 * C <sub>2</sub>	0,996	0,991
6 AUC <sub>p</sub> = 0,242 + 2,972 * C <sub>4</sub> + 0,719 * C <sub>1,5</sub> + 5,155 * C <sub>8</sub> + 0,545 * C <sub>0,5</sub> + 1,103 * C <sub>2</sub> + 0,363 * C <sub>1</sub>	0,998	0,996
7 AUC <sub>p</sub> = 0,00014 + 3,000 * C <sub>4</sub> + 0,5 * C <sub>1,5</sub> + 4,000 * C <sub>8</sub> + 0,500 * C <sub>0,5</sub> + 1,250 * C <sub>2</sub> + 0,500 * C <sub>1</sub> + 2,00 C <sub>12</sub>	1,000	1,000

1 nezavisna promenljiva C<sub>4</sub> i zavisno promenljiva AUC<sub>p</sub>

2 nezavisne promenljive: C<sub>4</sub>, C<sub>1,5</sub> i zavisno promenljiva AUC<sub>p</sub>

3 nezavisne promenljive: C<sub>4</sub>, C<sub>1,5</sub>, C<sub>8</sub> i zavisno promenljiva AUC<sub>p</sub>

4 nezavisne promenljive: C<sub>4</sub>, C<sub>1,5</sub>, C<sub>8</sub>, C<sub>0,5</sub> i zavisno promenljiva AUC<sub>p</sub>

5 nezavisne promenljive: C<sub>4</sub>, C<sub>1,5</sub>, C<sub>8</sub>, C<sub>0,5</sub>, C<sub>2</sub> i zavisno promenljiva AUC<sub>p</sub>

6 nezavisne promenljive: C<sub>4</sub>, C<sub>1,5</sub>, C<sub>8</sub>, C<sub>0,5</sub>, C<sub>2</sub>, C<sub>1</sub> i zavisno promenljiva AUC<sub>p</sub>

7 nezavisne promenljive: C<sub>4</sub>, C<sub>1,5</sub>, C<sub>8</sub>, C<sub>0,5</sub>, C<sub>2</sub>, C<sub>1</sub>, C<sub>12</sub> i zavisno promenljiva AUC<sub>p</sub>

Za svaku regresionu jednačinu izračunat je regresioni koeficijent i koeficijent determinacije prema proceduri 1. radi procene značajnosti. Koncentracija Tac izmerena četiri sata nakon peroralno primenjene inicijalne doze (C<sub>4</sub>) je određena kao najbolja nezavisna promenljiva za predviđanje vrednosti zavisno promenljive AUC<sub>p</sub>, zbog najbolje korelacije između AUC<sub>p</sub> i izračunate stvarne vrednosti AUC<sub>0-12</sub>. Na taj način je pokazano da se korišćenjem ove koncentracije može postići zadovoljavajuća predvidljivost AUC, prediktora ukupne izloženosti pacijenta takrolimusu.



## 5.2. Rezultati neprostorne farmakokinetičke analize Tac u ravnotežnom stanju (SS) kod pacijenata sa presađenim bubregom

Farmakokinetičko ispitivanje je obuhvatilo 16 pacijenata (8 muškaraca i 8 žena) kojima je presađivanje bubrega obavljeno u Kliničkom centru Niš. Prilikom uvođenja takrolimusa u terapiju merene su koncentracije Tac 0,5; 1; 1,5; 2; 4; 8 i 12 sati nakon peroralne primene, na osnovu kojih su neprostornom FK analizom određene vrednosti njegovih FK parametara. Na osnovu izmerenih koncentracija Tac u krvi na kraju doznog intervala pomoću terapijskog monitoringa modifikovan je dozni režim Tac kod Tx bolesnika do postizanja ravnotežnog stanja.

Demografski podaci ispitivanih transplantiranih pacijenata u saglasnosti su u pogledu starosti i BMI sa podacima dobijenim tokom neprostorne FK analize prve doze Tac. Merenje koncentracija Tac je u SS stanju je vršeno u toku izabranog dvanaestočasovnog doznog intervala - 0,5; 1; 1,5; 2; 4; 8 i 12 sati nakon peroralne primene leka. Neprostorna FK analiza Tac izvršena je prema proceduri 1.

Izmerene koncentracije Tac nakon postizanja ravnotežnog stanja kod transplantiranih pacijenata prikazane su u tabeli 5.6.

Tabela 5.6. Koncentracije Tac dobijene u SS stanju kod transplantiranih pacijenata

ukupno	Vreme merenja koncentracije Tac (h)							$AUC_{0-12}^{SS}$ (ngh/mL)
	0,5	1	1,5	2	4	8	12	
$C_n^{SS} \pm SD$	7,72±3,5	13,33±6,9	14,55±5,1	12,34±3,54	9,61±2,27	7,24±1,25	5,99±1,53	104,49±20,02
Min <sup>SS</sup>	2,1	4,7	6,2	6,5	6,3	5,2	3,7	73,45
Max <sup>SS</sup>	14,8	28,0	24,8	18,9	15,0	9,2	8,5	129,35
<b>Žene</b>								
$C_n^{SS} \pm SD$	8,89±4,35	14,98±8,76	15,14±6,2	12,66±3,91	9,8±2,15	7,34±1,48	6,06±1,91	107,72±23,44
Min <sup>SS</sup>	3,8	5,8	6,2	6,5	6,3	5,2	3,7	73,45
Max <sup>SS</sup>	14,8	28,0	24,8	18,6	12,6	9,2	8,5	129,35
<b>Muškarci</b>								
$C_n^{SS} \pm SD$	6,56±2,06	11,68±4,36	13,96±3,9	12,03±3,70	9,43±2,51	7,14±1,06	5,91±1,17	101,26±16,91
Min <sup>SS</sup>	2,1	4,7	7,1	8,4	6,6	5,8	4,6	74,7
Max <sup>SS</sup>	8,2	18,4	20,1	18,9	15,0	8,8	8,2	125,13

$AUC_{0-12}^{SS}$  - površina ispod krive u prvih 12 sati nakon peroralne primene Tac u ravnotežnom stanju

$C_n^{SS}$  - srednja vrednost izmerene koncentracije Tac (ng/mL) u vremenu n u ravnotežnom stanju

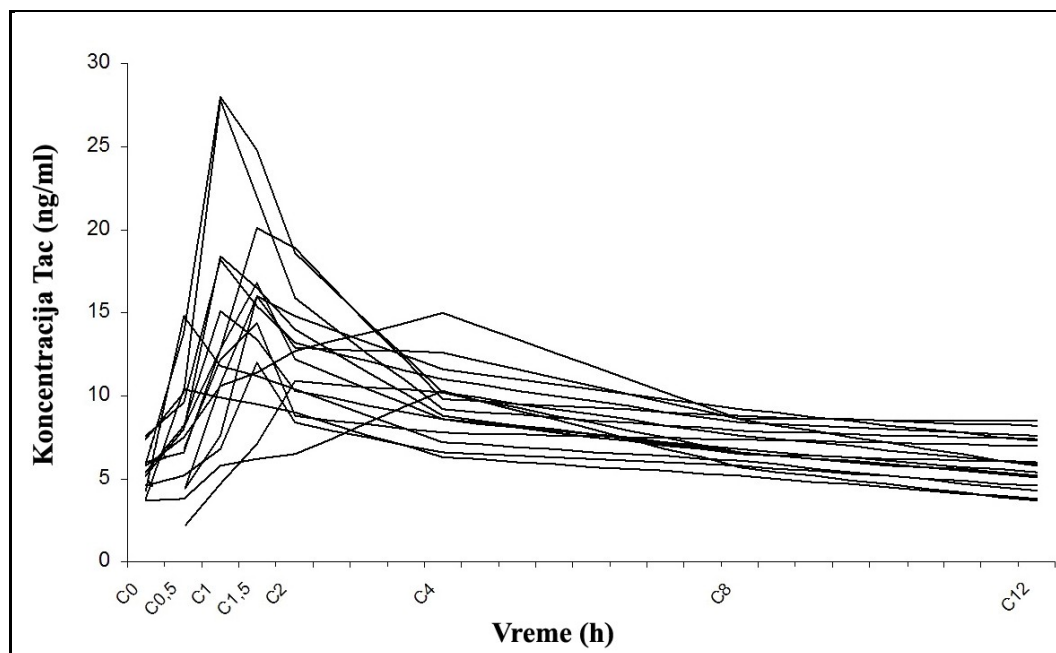
SD - standardna devijacija

Min<sup>SS</sup> - minimalna vrednost izmerene koncentracije Tac

Max<sup>SS</sup> - maksimalna vrednost izmerene koncentracije Tac

Izmerene koncentracije Tac su nakon postizanja ravnotežnog stanja pokazale veliku interindividualnu varijabilnost kod ispitivanih pacijenata. Opseg izmerenih vrednosti

koncentracija Tac u SS je značajno manji u odnosu na prvu dozu. Grafički prikaz izmerenih koncentracija Tac nakon postizanja ravnotežnog stanja predstavljen je na slici 5.3.



Slika 5.3. Interindividualna varijabilnost koncentracija Tac u SS kod ispitivanih pacijenata

Grafički prikaz koncentracije Tac u funkciji vremena proteklog od peroralne primene leka pokazuje sličnost u interindividualnoj varijabilnosti kod ispitanika nakon primene inicijalne doze leka i u ravnotežnom stanju.

Neprostornom FK analizom izmerenih koncentracija Tac prema proceduri 1. dobijeni su FK parametri ravnotežnog stanja koji su prikazani u tabeli 5.7. Tabela prikazuje FK parametre grupe ispitanika i parametre dobijene polno sektivnim FK pristupom.

Tabela 5.7. Farmakokinetički parametri Tac dobijeni neprostornom FK analizom u ravnotežnom stanju kod pacijenata sa presađenim bubregom

	$AUC_{0-12}^{SS}$ (ngh/mL)	$AUC^{SS}$ (ngh/mL)	$K_{el}^{SS}$ (h <sup>-1</sup> )	$T_{1/2}^{SS}$ (h)	$C_{max}^{SS}$ (ng/L)	$T_{max}^{SS}$ (h)	$MRT^{SS}$ (h)
<b>Oba pola</b>	104,49±20,02	240,04±111,80	0,047	14,72± 8,31	16,51±5,28	1,56±1,03	56,89±58,10
<b>žene</b>	107,72±23,44	227,76± 94,55	0,053	12,97± 5,81	17,69±6,87	1,38±1,13	41,46±29,98
<b>muškarci</b>	101,26±16,91	252,32±132,29	0,042	16,47±10,36	15,34±3,07	1,75±0,96	72,32±76,09

$AUC_{0-12}^{SS}$ -skraćena vrednost površine ispod krive

$AUC^{SS}$ -ukupna površina ispod krive

$K_{el}^{SS}$ -konstanta eliminacije

$T_{1/2}^{SS}$ -poluvreme eliminacije

$C_{max}^{SS}$ -maksimalna izmerena koncentracija Tac

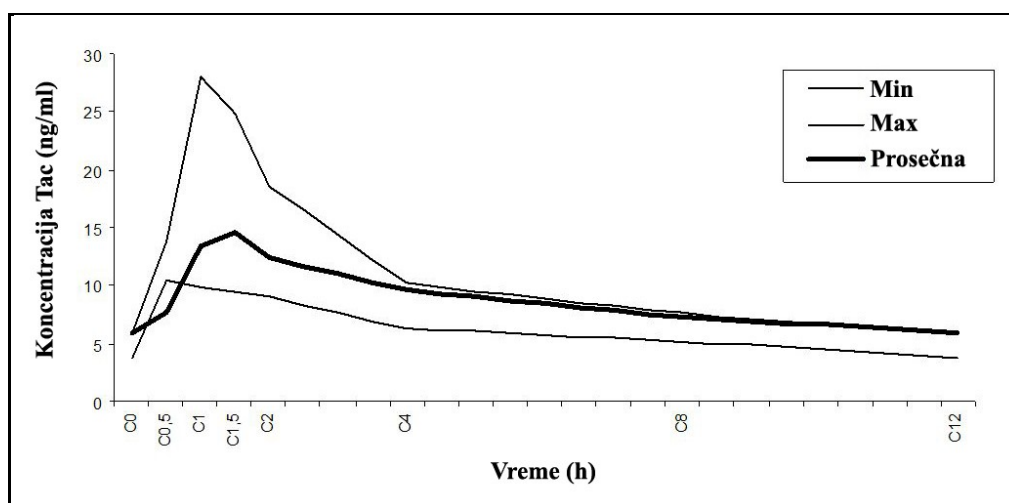
$T_{max}^{SS}$ -vreme postizanja maksimalne koncentracije Tac

$MRT^{SS}$ -srednje vreme zadržavanja Tac

Neprostornom FK analizom podataka dobijeni su: konstanta eliminacije Tac, maksimalna koncentracija leka, vreme dostizanja maksimalne koncentracije, vreme polueliminacije ( $T_{1/2}$ ), srednje vreme zadržavanja Tac u organizmu (MRT), površina ispod krive u prvih 12 sati (skraćena AUC,  $AUC_{0-12}$ ) i ukupna AUC koji karakterišu ravnotežno stanje.

Pregledom dobijenih rezultata merenja koncentracija Tac kod Tx-pacijenata, ustanovljeno je da se maksimalna koncentracija Tac postiže sat i po nakon peroralne primene leka (srednja vrednost iznosi  $1,34 \pm 0,83$  h). Srednja vrednost  $AUC_{0-12}^{SS}$  ispitanika iznosila je  $104,49 \mu\text{gh/mL}$ . Srednja vrednost maksimalne koncentracije Tac u ravnotežnom stanju iznosila je  $16,51 \pm 5,28 \text{ ng/L}$ .

Srednje koncentracije Tac i njihov odnos sa maksimalnom i minimalnom AUC kod ispitivanih pacijenata nakon postizanja SS prikazani su na slici 5.4.



Slika 5.4. Komparacija maksimalne, minimalne i srednje vrednosti  $AUC_{0-12}^{SS}$  u SS kod Tx pacijenata

Vrednosti dobijenih  $AUC_{0-12}$  su pokazale izraženu interindividualnu varijabilnost u ravnotežnom stanju u nakon neprostrorne FK analize Tac. Statistički značajna polna razlika u vrednostima  $AUC_{0-12}$  nije potvrđena u SS stanju.

Tabela 5.8. pokazuje korelaciju dobijenih srednjih vrednosti koncentracija Tac i srednje vrednosti  $AUC_{0-12}$  sa izračunatom statističkom značajnošću.

Regresiona analiza je izvršena prema proceduri 1. Srednjim vrednostima izmerenih koncentracija Tac u svim mernim vremenima je određen Piersov koeficijent korelacije i pripadajući nivo statističke značajnosti.

Tabela 5.8. Korelacija između srednjih vrednosti koncentracija Tac i  $AUC_{0-12}$  u stanju ravnoteže kod transplantiranih pacijenata

	Koncentracija Tac (ng/mL)	r	p	
$C_{0,5}$	7,72±3,50	0,197	0,464	>0,05
$C_1$	13,32±6,90	0,590	0,016	<0,05
$C_{1,5}$	14,55±5,06	0,771	0,000	<0,001
$C_2$	12,34±3,54	0,873	0,000	<0,001
$C_4$	9,61±2,27	0,644	0,005	<0,01
$C_8$	7,24±1,24	0,905	0,000	<0,001
$C_{12}$	5,99±1,53	0,810	0,000	<0,001

Nivo značajnosti za korelaciju je  $p < 0,05$

Izračunavanjem koeficijenta korelacije  $r$ , potvrđena je statistički značajna korelacija srednjih vrednosti koncentracija i  $AUC_{0-12}$  Tac u svim posmatranim vremenima osim za koncentraciju izmerenu pola sata nakon peroralne primene Tac.

Regresiona analiza je postavila sistem jednačina koje daju matematički model sistema sukcesivnim uvođenjem nezavisno promenljivih. U dobijenim jednačinama srednje vrednosti izmerenih koncentracija Tac predstavljale su nezavisne promenljive, a vrednost AUC ( $AUC_p$ ) zavisnu promenljivu. Jednačine regresione analize su prikazane u tabeli 5.9.

Tabela 5.9. Regresiona analiza korelacije predviđene vrednosti AUC ( $AUC_p$ ) na osnovu srednjih vrednosti izmerenih koncentracija ( $C$ ) u ravnotežnom stanju. Izražene su vrednosti regresionog koeficijenta  $r$  i koeficijenta linearne determinacije  $r^2$ 

Regresiona jednačina	r	$r^2$
1. $AUC_p = -0,427 + 14,289 * C_8$	0,905	0,819
2. $AUC_p = -3,999 + 12,751 * C_8 + 1,104 * C_1$	0,979	0,959
3. $AUC_p = -0,509 + 10,655 * C_8 + 0,775 * C_1 + 1,301 * C_2$	0,987	0,975
4. $AUC_p = -0,452 + 7,608 * C_8 + 0,857 * C_1 + 1,503 * C_2 + 1,914 * C_4$	0,998	0,995
5. $AUC_p = 2,356 + 5,471 * C_8 + 0,833 * C_1 + 1,582 * C_2 + 2,295 * C_4 + 1,394 * C_{12}$	0,998	0,997
6. $AUC_p = 0,573 + 4,225 * C_8 + 0,679 * C_1 + 1,581 * C_2 + 2,694 * C_4 + 2,344 * C_{12} + 0,433 * C_{0,5}$	0,999	0,999
7. $AUC_p = 0,000000497 + 4,0 * C_8 + 0,5 * C_1 + 1,25 * C_2 + 3,0 * C_4 + 2,0 * C_{12} + 0,50 * C_{0,5} + 0,50 * C_{1,5}$	1,000	1,000

1 nezavisno promenljiva  $C_8$  u SS stanju ( $C_8^{SS}$ ) i zavisno promenljiva  $AUC_p$

2 nezavisne promenljive:  $C_1, C_8$  u SS stanju ( $C_1^{SS}, C_8^{SS}$ ) i zavisno promenljiva  $AUC_p$

3 nezavisne promenljive:  $C_1, C_2, C_8$  u SS stanju ( $C_1^{SS}, C_2^{SS}, C_8^{SS}$ ) i zavisno promenljiva  $AUC_p$

4 nezavisne promenljive:  $C_1, C_2, C_4, C_8$  u SS stanju ( $C_1^{SS}, C_2^{SS}, C_4^{SS}, C_8^{SS}$ ) i zavisno promenljiva  $AUC_p$

5 nezavisne promenljive:  $C_1, C_2, C_4, C_8, C_{12}$  u SS stanju ( $C_1^{SS}, C_2^{SS}, C_4^{SS}, C_8^{SS}, C_{12}^{SS}$ ) i zavisno promenljiva  $AUC_p$

6 nezavisne promenljive:  $C_{0,5}, C_1, C_2, C_4, C_8, C_{12}$  u SS stanju ( $C_{0,5}^{SS}, C_1^{SS}, C_2^{SS}, C_4^{SS}, C_8^{SS}, C_{12}^{SS}$ ) i zavisno promenljiva  $AUC_p$

7 nezavisne promenljive:  $C_{0,5}, C_1, C_{1,5}, C_2, C_4, C_8, C_{12}$  u SS stanju ( $C_{0,5}^{SS}, C_1^{SS}, C_{1,5}^{SS}, C_2^{SS}, C_4^{SS}, C_8^{SS}, C_{12}^{SS}$ ) i zavisno promenljiva  $AUC_p$

Za svaku regresionu jednačinu izračunat je regresioni koeficijent i koeficijent determinacije ukupne AUC prema proceduri 1. kako bi se procenila značajnost date koncentracije za predviđanje AUC. Koncentracija Tac izmerena osam sati nakon peroralne primene ( $C_8^{SS}$ ) je određena kao najbolja nezavisna promenljiva za predviđanje vrednosti zavisno promenljive  $AUC_p$  u ravnotežnom stanju. Korišćenjem ove koncentracije može se

postići zadovoljavajuća predvidljivost  $AUC_{ss}$ , prediktora ukupne izloženosti pacijenta takrolimusu nakon postizanja ravnoteže kod transplantiranih pacijenata nezavisno od pola. Veću pouzdanost predviđanja ukupne izloženosti organizma Tac omogućava metod tri tačke- $C_1^{ss}$ ,  $C_2^{ss}$ ,  $C_8^{ss}$ .

Zbog značajnosti polno selektivnog pristupa nakon primene prve doze Tac i pokazane različitosti u predviđanju AUC u odnosu na pol, selektivnom regresionom analizom su dobijene regresione jednačine predstavljene u tabeli 5.10.:

*Tabela 5.10. Selektivna regresiona analiza korelacije predviđene vrednosti AUC ( $AUC_p$ ) na osnovu srednjih vrednosti izmerenih koncentracija ( $C$ ) muškaraca i žena sa izraženim vrednostima regresionog koeficijenta  $r$  i koeficijenta linearne determinacije  $r^2$  u SS*

Regresiona analiza u grupi žena		$r$	$r^2$
A	$AUC_p = 38,163 + 5,373 * C_2^{ss}$	0,913	0,834
B	$AUC_p = 26,309 + 3,494 * C_2^{ss} + 5,881 * C_2^{ss}$	0,985	0,969
Regresiona analiza u grupi muškaraca		$r$	$r^2$
A	$AUC_p = -4,442 + 14,602 * C_8^{ss}$	0,926	0,858

Rezultati regresione analize su potvrdili visok stepen predvidljivosti za koncentraciju  $C_8^{ss}$ , u grupi muškaraca, što je u skladu sa rezultatima dobijenim u SS za grupu ispitanika.

U grupi Tx pacijenata ženskog pola najveću pouzdanost predviđanja ukupne izloženosti organizma Tac pokazala je koncentracija  $C_2^{ss}$ . Metod dve tačke koji uključuje koncentraciju na kraju doznog intervala i dva sata nakon primene leka ( $C_0^{ss}$  i  $C_2^{ss}$ ) takođe poseduje visok stepen predviđanja AUC Tac kod žena nakon postizanja ravnotežnog stanja.

### 5.3. Rezultati populacione FK analiza (PFK) takrolimusa kod pacijenata sa presađenim bubregom

Kod pacijenata sa presađenim bubregom je sprovedena populaciona FK analiza takrolimusa korišćenjem retrospektivno, terapijskim monitoringom sakupljenih podataka. Određene su populacione vrednosti FK parametara Tac i identifikovani faktori koji imaju uticaja na njegovu farmakokinetiku.

Demografske karakteristike ispitivanih pacijenata predstavljene su tabelom 5.11.

Tabela 5.11. Karakteristike ispitivanih pacijenata (N=63)

Karakteristike	Grupa pacijenata za građenje modela	Opseg vrednosti grupe	Validaciona grupa	Opseg validacione grupe
Broj pacijenata	46		17	
Broj uzoraka	77		19	
pol (muškarci/žene)	32/14		12/5	
TM (kg)	69,03±11,23	45-97	68,50±10,71	49-95
uzrast (godine)	40,88± 7,01	28-57	35,63± 7,11	27-54
Tac dnevna doza (mg/dan)	6,53± 4,94	1-22	4,95± 3,10	1-11
Tac koncentracija (ng/mL)	8,34± 4,49	0,5-25,7	7,85± 0,88	5,7-12,4
Tac + mikofenolat mofetil	40		14	
Tac + prednizolon>25mg	24		4	
Tac + kotrimoksazol	39		7	
Tac + omeprazol	12		3	
Tac monoterapija	0		2	
Tac politerapija	46		15	
Vreme proteklo od Tx (dan)	514,32±688,77	7-2882	272,84±220,69	12-635
Hemoglobin (g/L)	nedostaju podaci		126,89± 16,2	90-163
AST/ALT	nedostaju podaci		0,69± 0,31	0,292-1,75
CRP (g/L)	nedostaju podaci		4,86± 13,48	0,3-59,8

*Rezultati su izraženi preko srednjih vrednosti sa izraženom standardnom varijacijom i opsegom vrednosti*

Kod pacijenata je primenjivana kombinovana imunosupresivna terapija koja je uključivala Tac, prednizolon, mikofenolat mofetil i druge lekove u zavisnosti od stanja i karakteristika pacijenata, kao što je prikazano u tabeli 5.11.. Populaciona FK analiza zahtevala je podelu ispitanika u dve grupe:

- grupa koja služi za građenje populacionog modela (46 pacijenata)
- validaciona grupa (17 pacijenata) koja potvrđuje ispravnost analitičke metode i dobijenog populacionog FK modela.

Ukupno je obrađeno 96 podataka, 77 za izgradnju populacionog modela, 19 za validaciju dobijenog modela. U obe grupe dominirali su muškarci (32 muškarca i 14 žena u grupi za modelovanje, a 12 muškaraca i 5 žena u validacionoj grupi). Prosečna starost

pacijenata iznosila je  $40,88 \pm 7,01$  u osnovnom setu i  $35,63 \pm 7,11$  godina u validacionom setu podataka.

U tabeli 5.11. prikazane su varijable koje su podeljene u tri grupe:

- 1) varijable pacijenta - telesna masa, uzrast, pol i vremenski period protekao od transplantacije (u danima)
- 2) varijable leka - ukupna dnevna doza Tac (mg), prednizolona (mg) (PRO), mikofenolat mofetila (mg) i upotreba drugih lekova: kotrimoksazola (da/ne) i omeprazola (da/ne)
- 3) biohemijski podaci: odnos nivoa aspartat aminotransferaze i alanin aminotransferaze (AST/ALT), nivo C reaktivnog proteina (CRP) i hemoglobina (Hb).

Populaciono FK modelovanje vršeno je prema predviđenim fazama procedure 2.

Prva faza populacionog FK modelovanja sastojala se u definisanju baznog modela. Za našu analizu iz NONMEM biblioteke izabrana je ADNVAN2 subrutina koja opisuje model sa jednim odeljkom, sa resorpcijom prvog reda. U FK analizu su uključene vrednosti koncentracija Tac u krvi dobijene na kraju doznog intervala.

Bazni model je odredio populacione vrednosti FK parametara – tipičnu, populacionu vrednost klirensa CL (populacioni parametar  $\theta_1$ ), tipičnu, populacionu vrednost volumena distribucije Vd (populacioni parametar  $\theta_2$ ) i bioraspoloživost F (populacioni parametar  $\theta_3$ ).

U izgradnji baznog modela razmatrani su izabrani stalni efekti modela. Distribucija i značaj ovih parametara dati su kroz raspodelu i varijansu  $\omega^2$  za svakog pacijenta individualno. Matematički oblik baznog modela predstavljen je jednačinom klirensa Tac:

$$CL = \theta_1 * \text{EXP}(\text{ETA}(1))$$

U toku NONMEM populacionog modelovanja Tac neophodno je uključivanje parametara slučajnih efekata. Oni predstavljaju odstupanje izmerene vrednosti pojedinca od populacione vrednosti grupe ispitanika. Interindividualna varijabilnost daje uvid u bezbednosni profil leka, dok intraindividualna varijabilnost podataka uglavnom potiče od greške u merenju ili pogrešno izabranog modela, a jednim delom i usled neobjašnjive varijabilnosti, što označavamo  $\sigma^2$ .

Druga faza je predstavljala složeni proces modelovanja uz uključivanje izabranih varijabli i jednačina regresione analize. Uključivane varijable: telesna masa, uzrast, pol i vremenski period nakon Tx (u danima), nivo AST, ALT, CRP i Hb, ukupna dnevna doza Tac, dnevna doza prednizolona veća od 25mg, primena kotrimoksazola i omeprazola su prikazane u tabeli 5.11. Univarijantnom selekcijom je određen statistički značaj izabranih varijabli. Kriterijum statističke značajnosti prikazan je kroz redukciju u minimumu objektivne

funkcije (MOF) između pojedinih univarijantnih modela a vrednosti su prikazane u tabeli 5.12. Zahtevana vrednost redukcije MOF-a iznosila je 6,64 ( $\chi^2=6,64$ ;  $p<0,01$ ). Simultanim ubacivanjem varijabli koje ispunjavaju kriterijum statističke značajnosti u bazni matematički model dobijen je puni populacioni model Tac:

$$CL = \theta_1 * EXP(ETA(1)) + \theta_9 * CRP + \theta_{12} * OME + \theta_{14} * PRO + \theta_{15} * DD$$

Tabela 5.12. Nivo MOF baznog modela, univarijantnih modela i punog PFK modela takrolimusa

MODEL	MOF	Razlika u MOF	P-vrednost **	Zaključak
<b>BAZNI MODEL</b>				
CL= $\theta_1 * EXP(ETA(1))$	478,122			
<b>UNIVARIJANTNI MODELI</b>				
CL= $\theta_1 * EXP(ETA(1)) + \theta_4 * TM$	477,313	-0,809	>0,01	NS
CL= $\theta_1 * EXP(ETA(1)) + \theta_5 * POL$	477,903	-0,219	>0,01	NS
CL= $\theta_1 * EXP(ETA(1)) + \theta_6 * UZRAST$	477,969	-0,153	>0,01	NS
CL= $\theta_1 * EXP(ETA(1)) - \theta_7 * Vreme$	477,844	-0,278	>0,01	NS
CL= $\theta_1 * EXP(ETA(1)) + \theta_8 * Hb$	478,301	-0,179	>0,01	NS
CL= $\theta_1 * EXP(ETA(1)) + \theta_9 * CRP$	455,645	22,477	<0,01	SZ
CL= $\theta_1 * EXP(ETA(1)) + \theta_{10} * ALT/AST$	475,472	2,65	>0,01	NS
CL= $\theta_1 * EXP(ETA(1)) + \theta_{11} * TMP$	478,050	0,072	>0,01	NS
CL= $\theta_1 * EXP(ETA(1)) + \theta_{12} * OME$	422,835	55,287	<0,01	SZ
CL= $\theta_1 * EXP(ETA(1)) + \theta_{13} * MFM$	477,972	0,15	>0,01	NS
CL= $\theta_1 * EXP(ETA(1)) + \theta_{14} * PRO$	396,743	81,379	<0,01	SZ
CL= $\theta_1 * EXP(ETA(1)) + \theta_{15} * DD$	333,290	144,832	<0,01	SZ
<b>PUNI MODEL</b>				
CL= $\theta_1 * EXP(ETA(1)) + \theta_9 * CRP$ + $\theta_{12} * OME + \theta_{14} * PRO + \theta_{15} * DD$			317,551	

*CL –klirens(L/h)*

*$\theta_1$  -tipična, populaciona vrednost klirensa*

*ETA (1) interindividualna varijabilnost u klirensu*

*$\theta_4 - \theta_{15}$  izabrane varijable*

*TM telesna masa (kg)*

*POL - 1 za muškarce, 0 za žene*

*Vreme - broj dana od transplantacije do određivanja koncentracija Tac*

*Hb - nivo hemoglobina*

*CRP - nivo C- reaktivnog proteina*

*AST/ALT - odnos aspartat i alanin aminotransferaze*

*DD - ukupna dnevna doza TAC (mg/dan)*

*TMP, OME, MFM i PRO - komedikacija sa kotrimoksazolom, omeprazolom, mikofenolat mofetilom i prednizolonom u dozi većoj od 25 mg (uzimajući nivo 1 kada jesu i 0 kada nisu prisutni),*

*\*\*P-nivo MOF razlike između baznog i testiranog modela*

*NS: bez statističkog značaja*

*SZ: statistički značajno*

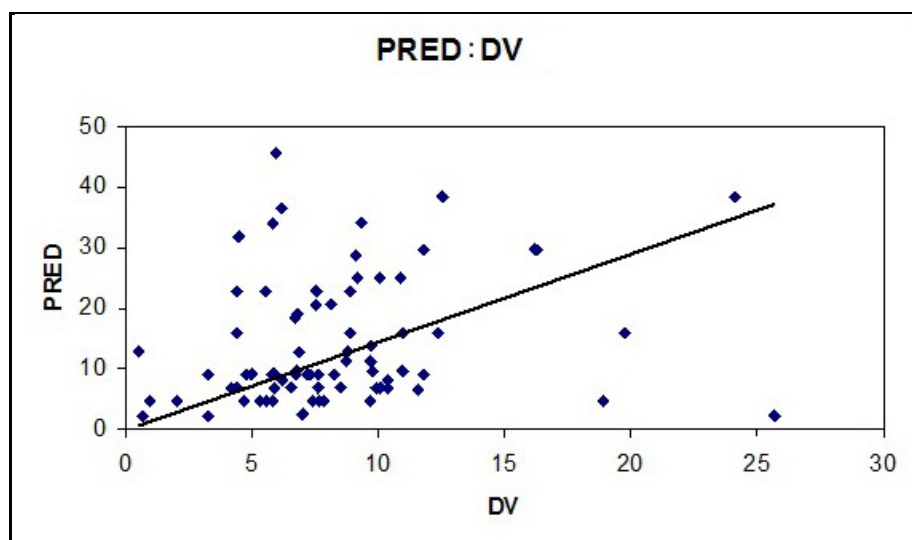
U tabeli 5.12. prikazani su:

- bazni model koji predstavlja dobijene populacione vrednosti FK parametara,
- univarijantni modeli definisani za svaku varijablu
- vrednosti MOF i
- puni populacioni model Tac.

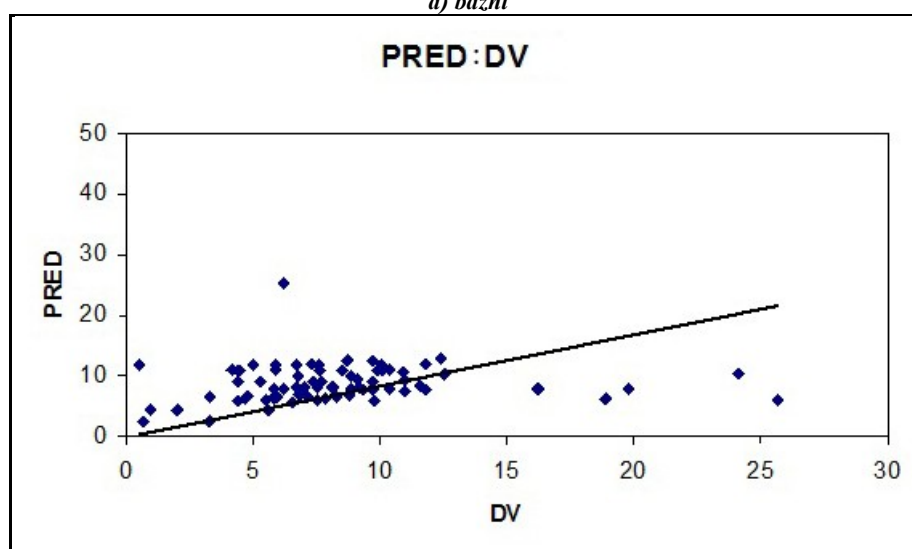


Krajnji korak u ovoj fazi populacionog FK ispitivanja bio je proces pretvaranja punog u finalni model. Finalni model je razvijen uz zahtev ispunjenja strogih statističkih kriterijumima za redukciju u MOF-u ( $\chi^2 = 10,83$  za  $p < 0,01$ ), što je omogućilo smanjenje interindividualne i rezidualne varijabilnosti u ispitivanoj grupi.

Smanjenje varijabilnosti predviđenih i izmerenih vrednosti koncentracija Tac tokom matematičkog modelovanja grafički je prikazano na slici 5.5.



a) bazni



b) finalni

*PRED* - predviđena koncentracija Tac za datog pacijenta  
*DV* – izmerena koncentracija Tac za datog pacijenta

Slika 5.5. Odnos predviđenih i izmerenih koncentracija Tac u ispitivanoj grupi za svakog pacijenta korišćenjem baznog (a) i finalnog (b) modela

Slika 5.5. pokazuje značaj redukovanja rezidualne varijabilnosti FK parametara, koja se postiže modelovanjem od baznog do finalnog modela, uz postizanje bolje raspodele rezultata na regresionoj pravoj.

Matematičkim modelovanjem NONMEM softverom izvršena je redukcija varijabilnosti i formiran finalni populacioni model koji uključuje dve varijable koje su pokazale značajnost za vrednost klirensa Tac - dnevna doza prednizolona veća od 25mg i dnevna doza Tac. Konačni matematički model populacionog klirensa Tac predstavljen je jednačinom:

$$\text{CL (L/h)} = 0,862 + 0,32 * \text{DD} + 1,16 * \text{PRO}$$

Validacija je obavljena u trećoj fazi populacione FK analize Tac. Validacioni postupak je omogućio procenu predvidljivosti FK parametara dobijenih korišćenjem finalnog modela. Provera ispravnosti dobijenog populacionog FK modela izvršena je uključivanjem podataka validacione grupe pacijenata (karakteristike grupe su prikazane u tabeli 5.11.) u finalni populacioni FK model.

#### 5.4. Rezultati praćenja interakcija i pojave neželjenih dejstava takrolimusa kod pacijenata sa presađenim bubregom

Ispitivanje je obuhvatilo 30 pacijenata (12 muškaraca i 18 žena) na imunosupresivnoj terapiji u trajanju od šest meseci nakon presađivanja bubrega. U okviru terapijskog monitoringa određivana je koncentracija Tac u krvi, dok su neželjeni efekti imunosupresivne terapije praćeni prema opisanoj proceduri 3., biohemijskim monitoringom koji je obuhvatao određivanje vrednosti C-reaktivnog proteina (CRP), glukoze, holesterola, alanin amino transferaze (ALT), aspartat amino transferaze (AST), serumskog kreatinina (SCr), uree, i alkalne fosfataze (ALP).

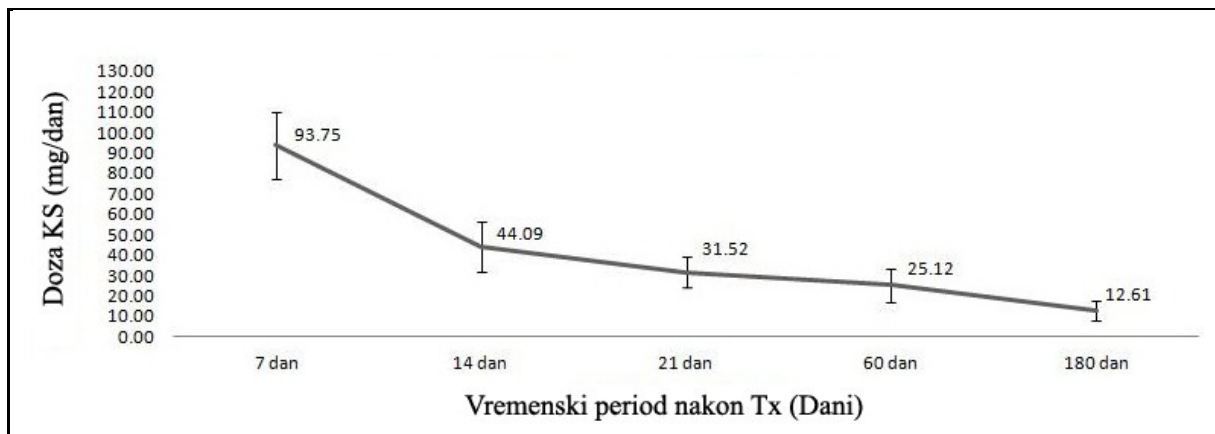
Demografski podaci ispitivanih transplantiranih pacijenata dati su u tabeli 5.13.

Tabela 5.13. Karakteristike ispitivane grupe pacijenata

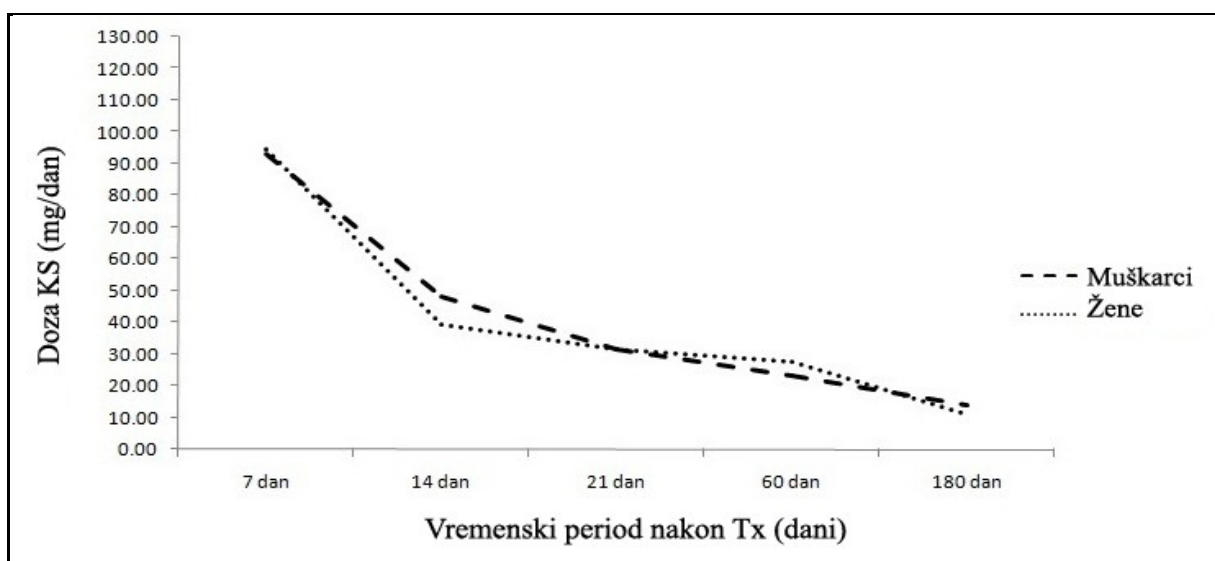
Pol	
Muškarci	18
Žene	12
Starost (godine)	$40,11 \pm 7,35$
<b>Telesna masa (kg)</b>	
Neposredno pre Tx	$70,75 \pm 13,81$
7.dan nakon Tx	$72,39 \pm 14,64$
14.dan nakon Tx	$71,14 \pm 14,63$
21.dan nakon Tx	$71,19 \pm 14,55$
60.dan nakon Tx	$71,33 \pm 13,97$
180.dan nakon Tx	$73,67 \pm 12,60$
<b>Tip transplantacije</b>	
Živi donor	26
Kadaverična transplantacija	4

Prosečna starost ispitanika iznosila je  $40,11 \pm 7,35$  godina. U toku ispitivanja nisu utvrđene statistički značajne razlike u telesnoj masi kod ispitivanih pacijenata. Dozni režim Tac je modifikovan redovnim terapijskim monitoringom u posmatranom vremenskom periodu.

Kortikosteroidna terapija kod ispitivanih pacijenata započeta je intravenskom primenom metilprednizolona prva tri dana nakon Tx, a zatim nastavljena peroralnom primenom prednizolona uz postepeno smanjenje dnevne doze. Sukcesivno smanjenje dnevne doze primenjenog KS u posmatranom periodu prikazano je grafički slikom 5.6.



a) srednje dnevne doze KS u ispitivanoj grupi transplantiranih pacijenata tokom prvih šest meseci nakon Tx bubrega



b) srednje dnevne doze KS tokom prvih šest meseci nakon transplantacije bubrega u zavisnosti od pola ispitanika

Slika 5.6. Prosečne dnevne doze kortikosteroida u posmatranom vremenskom perioda nakon transplantacije kod ukupnog broja ispitanika (a) i prema polu (b)

Srednje vrednosti dnevnih doza KS u toku ispitivanog perioda kod muškaraca su iznosile:  $93,18 \pm 14,54$ ;  $47,92 \pm 13,39$ ;  $31,54 \pm 7,18$ ;  $23,13 \pm 7,62$ ;  $13,96 \pm 5,98$  mg, a kod žena  $94,44 \pm 19,28$ ;  $39,50 \pm 9,56$ ;  $31,50 \pm 8,1$ ;  $27,78 \pm 8,61$ ;  $10,83 \pm 1,77$  mg. Tokom posmatranog vremenskog perioda srednja dnevna doza KS smanjena je oko 4,5 puta (7.dan-93,75mg; 180.dan- 12,61 mg).

Obzirom na individualno doziranje, vrednosti izmerenih koncentracija Tac korigovane su datom dozom leka radi komparacije rezultata. Vrednosti srednje dnevne doze Tac, izmerenih koncentracija Tac i dozno korigovane srednje koncentracije Tac u odgovarajućim vremenskim intervalima posle transplantacije prikazane su tabelom 5.14.

Tabela 5.14. Srednje dnevne doze Tac, koncentracije Tac i dozno korigovane srednje koncentracije Tac u toku ispitivanja kod Tx pacijenata

Dani nakon Tx	Dnevna doza Tac (mg/kg/dan)	Koncentracija Tac (ng/mL)	Koncentracija Tac korigovana datom dozom (ng/mL po mg/kg/dan)
7.dan	0,15±0,05	8,57±4,22	58,01±31,78
14.dan	0,17±0,06	10,40±3,41	67,51±25,95
21.dan	0,19±0,16	10,83±3,44	82,84±37,08 <sup>a</sup>
60.dan	0,13±0,06	9,65±2,06	82,45±32,78 <sup>a</sup>
180.dan	0,08±0,04 <sup>a</sup>	7,46±2,50	107,06±48,70 <sup>b</sup>

a:p<0,01; b: p <0,05

Tabelom 5.14. je pokazana statistički značajna razlika u primenjenoj dnevnoj dozi Tac 180. dana u odnosu na 7., 14., 21. i 60. dan nakon Tx (Friedman Shi-square=23,64; p<0,0001), Između ostalih vremenskih intervala nije pokazana statistički značajna razlika u primenjenoj dnevnoj dozi Tac.

Pregledom rezultata prikazanih u tabeli 5.14. utvrđena je statistički značajna razlika između dozno korigovanih koncentracija Tac 7.dana nakon Tx u odnosu na ostale posmatrane vremenske intervale (Friedman Shi-square=15,2; p<0,004). Statistički značajna razlika ustanovljena je između sledećih dozno korigovanih koncentracija Tac nakon Tx:

- 7. i 21. dana nakon Tx (58,01±31,78 ng/mL po mg/kg/dan : 82,84 ± 37,08 ng/mL po mg/kg/dan)
- 7. i 60. dana nakon Tx (58,01±31,78 ng/mL po mg/kg/dan : 82,45±32,78 ng/mL po mg/kg/dan)
- 7. i 180. dana nakon Tx (58,01±31,78 ng/mL po mg/kg/dan : 107,06±48,7 ng/mL po mg/kg/dan).

Međutim, 7. i 14. dana nakon Tx nije pokazana statistički značajna razlika u dozno korigovanoj koncentraciji Tac.

Dobijeni rezultati grupisani prema polu ispitanika prikazani su u tabeli 5.15.

Tabela 5.15. Vrednosti srednje dnevne doze Tac, izmerenih koncentracija Tac i dozno korigovanih koncentracija Tac grupisane prema polu ispitanika

Dani nakon Tx	Doza Tac (mg/kg/dan)	
	Muškarci	Žene
7.dan	0,17 ± 0,05	0,14 ± 0,05
14.dan	0,17 ± 0,05	0,17 ± 0,07
21.dan	0,14 ± 0,05	0,16 ± 0,08
60.dan	0,11 ± 0,03	0,15 ± 0,07
180.dan	0,07 ± 0,03	0,09 ± 0,06
Koncentracija Tac (ng/mL)		
	Muškarci	Žene
7.dan	10,08 ± 3,49	6,71 ± 4,48
14.dan	11,04 ± 3,73	9,62 ± 2,98
21.dan	12,05 ± 2,64	9,24 ± 3,83 <sup>a</sup>
60.dan	9,61 ± 1,65	9,70 ± 2,63
180.dan	7,46 ± 3,04	7,47 ± 1,69
Koncentracija Tac korigovana datom dozom Tac (ng/mL po mg/kg/dan)		
	Muškarci	Žene
7.dan	66,44 ± 36,96	48,65 ± 23,40
14.dan	70,59 ± 23,31	63,82 ± 29,65
21.dan	95,55 ± 38,63	66,32 ± 28,87
60.dan	91,00 ± 26,47	71,05 ± 38,30 <sup>b</sup>
180.dan	114,41 ± 49,33	96,03 ± 48,84

a : p < 0,01; b: p < 0,05

Rezultati našeg istraživanja nisu pokazali statistički značajnu razliku u primenjenoj dnevnoj dozi Tac između muškaraca i žena. Pokazana je statistički značajna, polno zavisna razlika u koncentraciji Tac 21.dana nakon Tx (12,05±2,64 ng/mL kod muškaraca : 9,24±3,83ng/mL kod žena; p<0,01).

U grupi muškaraca pokazana je statistička značajnost u primenjenim dnevnim dozama Tac (između 180. i 7.; 14. i 21. dana; p<0,01 a između 180. i 60. dana; 7. i 60. dana; 14. i 60. dana; p<0,05), Kod ispitanika ženskog pola ustanovljena je razlika u primenjenoj dozi Tac između 60. i 180. dana (p<0,05).

Statistički značajna razlika uslovljena polom u dozno-korigovanim koncentracijama Tac pokazana je 60. dana (91,00 ± 26,47 ng/mL po mg/kg/dan kod muškaraca u poređenju sa 71,05 ± 38,30 ng/mL po mg/kg/dan kod žena).

Postojanje statistički značajne razlike u korigovanim koncentracijama Tac u grupi ispitanika muškog pola potvrđeno je između 7. i 60. dana (p<0,01).

Kod žena nije uočena statistički značajna razlika u dozno korigovanim koncentracijama Tac u ispitivanom vremenskom intervalu.

Biohemijski parametri funkcije grafta i jetre kod transplantiranih pacijenata prikazani su u tabeli 5.16.

Tabela 5.16. Uporedne vrednosti nivoa uree, serumskog kreatinina (Scr), ALT, AST i alkalne fosfataze u krvi pacijenata neposredno pre transplantacije i određenim vremenskim intervalima posle Tx

Vreme nakon Tx (dani)	Urea (mmol/L)	Scr ( $\mu$ mol/L)	ALP (IU/L)	AST (IU/L)	ALT (IU/L)
Tx dan	17,89 $\pm$ 7,34	613,14 $\pm$ 149,15	55,84 $\pm$ 21,80	17,95 $\pm$ 5,86	17,71 $\pm$ 8,91
7. dan	9,91 $\pm$ 4,61	153,84 $\pm$ 94,47	60,34 $\pm$ 26,45	21,23 $\pm$ 14,96	47,01 $\pm$ 59,75
14. dan	9,64 $\pm$ 3,99	151,22 $\pm$ 79,56	62,47 $\pm$ 23,19	18,95 $\pm$ 8,75	49,74 $\pm$ 58,64
21. dan	10,28 $\pm$ 5,06	164,00 $\pm$ 114,52	113,29 $\pm$ 48,97	17,25 $\pm$ 6,56	47,06 $\pm$ 32,83
60. dan	8,06 $\pm$ 2,55	133,06 $\pm$ 38,48	87,00 $\pm$ 56,29	21,77 $\pm$ 13,69	40,73 $\pm$ 36,96
180. dan	7,96 $\pm$ 3,39	138,59 $\pm$ 39,39	79,57 $\pm$ 48,75	22,14 $\pm$ 8,76	41,38 $\pm$ 33,43
<i>Fr</i>	31,582	37,403	16,214	6,539	20,569
<i>p</i>	0,0001	0,0001	0,006	0,257	0,001

*Tx dan – dan transplantacije*

*ALT - alanin aminotransferaza*

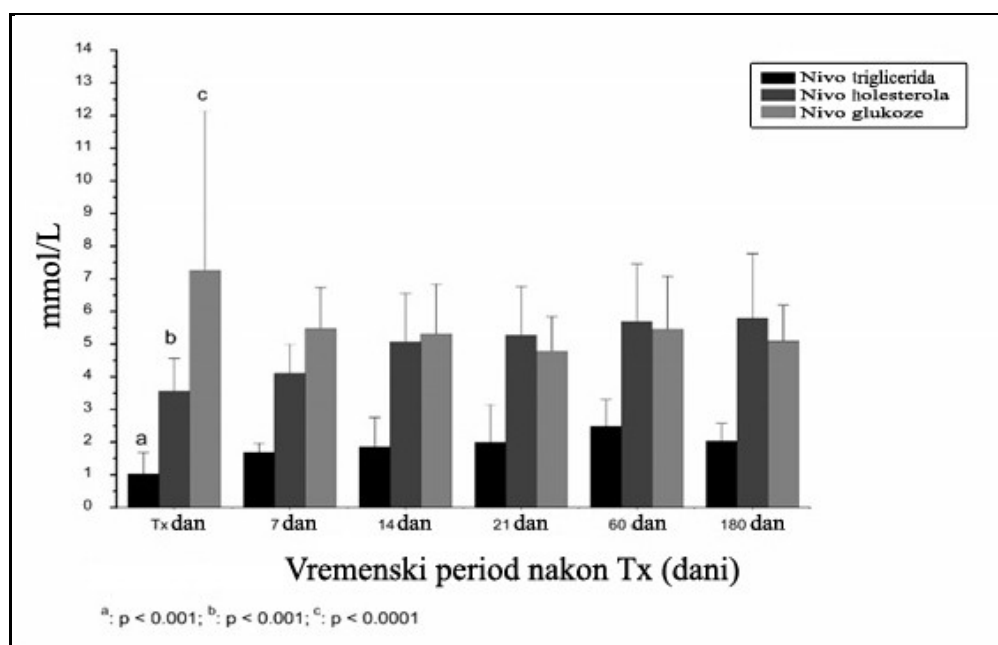
*AST – aspartat aminotransferaza*

*ALP - alkalna fosfataza*

*Fr- Friedman Shi-square test; p<0,05 je statistički značajno*

Procena funkcije grafta vršena je određivanjem nivoa serumskog kreatinina i uree. Nivoi transaminaza jetre i alkalne fosfataze predstavljali su indikatore disfunkcije jetre.

Rezultati praćenja biohemijskih parametara koji ukazuju na pojavu neželjenih dejstava Tac i koterapije prikazani su grafički na slici 5.7.

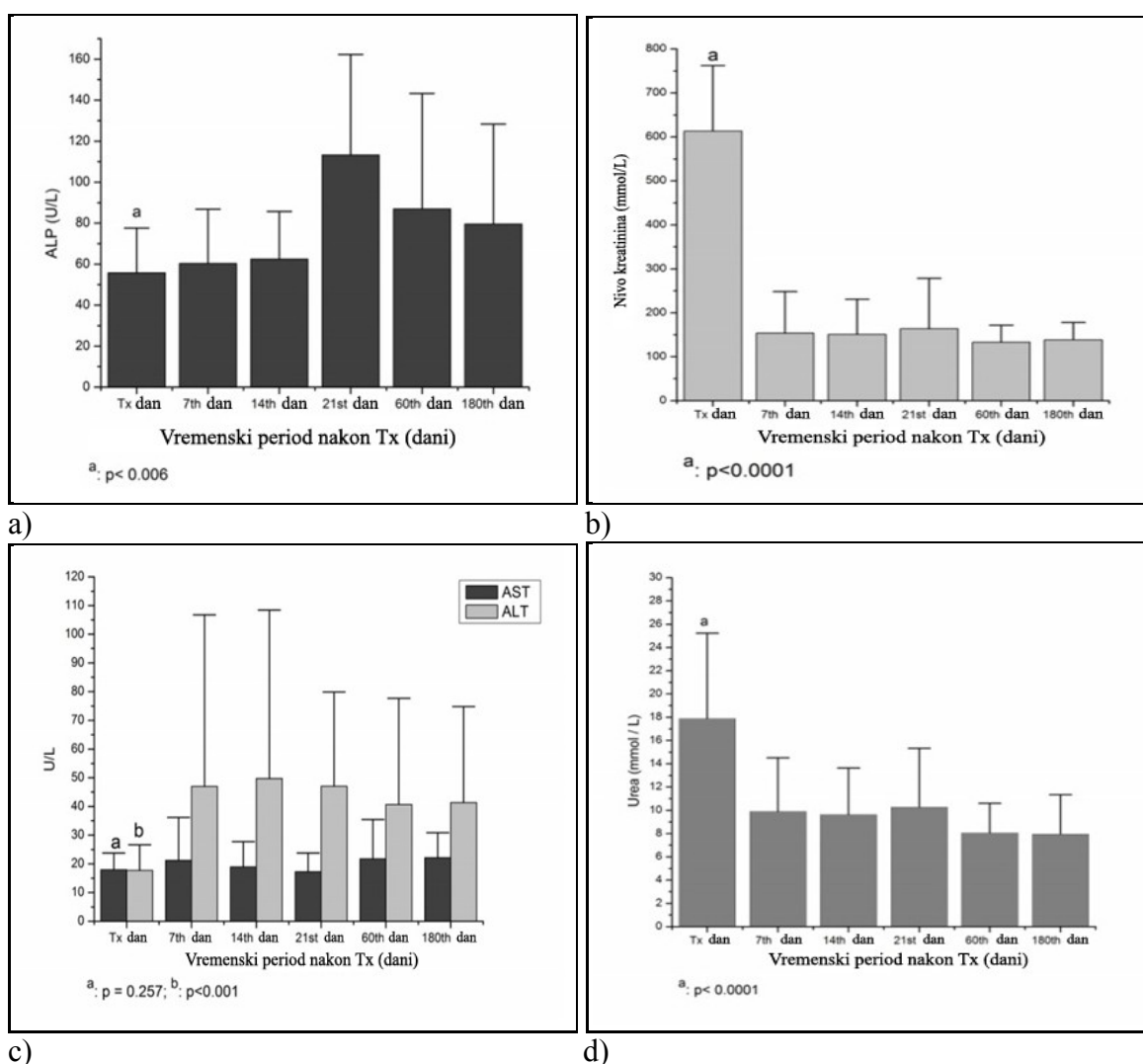


Slika 5.7. Uporedne vrednosti nivoa holesterola, triglicerida i glukoze u krvi pacijenata na dan transplantacije i određenim vremenskim periodima nakon Tx

Tokom ispitivanog perioda uočen je porast nivoa serumskih lipida, holesterola i triglicerida, što je prikazano na slici 5.7.

Prema proceduri 3. je pomoću Friedman Shi-square testa za poređenje vezanih neparametrijskih uzoraka, utvrđena značajnost promena odabranih parametara. Rezultati su pokazali statistički značajan porast nivoa holesterola (Friedman Shi-square=42,316;  $p<0,0001$ ) i triglicerida kod transplantiranih pacijenata (Friedman Shi-square =21,865;  $p<0,001$ ). Upoređivanjem nivoa glukoze radi procene dijabetogenog delovanja Tac uočena je smanjena glikemija u ranom posttransplantacijskom periodu.

Na slici 5.8. dat je grafički prikaz biohemijskih parametara procene funkcije grafta.



Slika 5.8. Prikaz nivoa ALP(a), serumskog kreatinina(b), enzima ALT, AST(c) i uree(d) u ispitivanom periodu kod pacijenata sa presađenim bubregom

Utvrđen je statistički značajan pad vrednosti nivoa Scr (Friedman Shi-square=37,403;  $p<0,0001$ ) i uree (Friedman Shi-square=31,582;  $p<0,0001$ ) tokom ispitivanog perioda.



Naša istraživanja pokazala su statistički značajan porast aktivnosti ALP (Friedman Shi-square=16,214;  $p<0,006$ ) dvadeset prvog dana nakon Tx.

Komparacijom nivoa alanin amino transferaze utvrđen je njen statistički značajan porast u ispitivanom periodu (Friedman Shi-square=20,569;  $p<0,001$ ). U istom periodu nije utvrđena statistička značajnost u promeni nivoa aspartat amino transferaze.

### 5.5. Rezultati ispitivanja uticaja pola na farmakokinetičke parametre takrolimusa kod pacijenata sa presađenim bubregom

Ispitivanje uticaja pola na farmakokinetiku Tac sprovedeno je u grupi od 20 transplantiranih pacijenata, 10 muškaraca i 10 žena (prosečne starosti  $38,2 \pm 9,7$  godina).

Neprostopna FK analiza sprovedena je prema proceduri 1. na osnovu izmerenih koncentracija Tac nakon peroralne primene inicijalne doze leka i ponovljena nakon postignutog ravnotežnog stanja. Demografske karakteristike ispitivanih pacijenata prikazane su u tabeli 5.17.

Tabela 5.17. Demografske karakteristike transplantiranih pacijenata

	Starost (godine)	BMI	Scr ( $\mu\text{mol/L}$ )
<b>Muškarci</b>			
Srednja vrednost $\pm$ SD	$38,2 \pm 9,7$	$23,5 \pm 3,1$	282,88
Min	31	17,53	185,64
Max	51	28,58	344,76
t-test	$p=0,69$	$p=0,81$	
<b>Žene</b>			
Srednja vrednost $\pm$ SD	$34,1 \pm 5,7$	$21,7 \pm 3,0$	247,52
Min	28	16,41	185,64
Max	47	25,39	274,04

*p- nivo značajnosti za statističku korelaciju je  $p < 0,01$*

Demografski podaci ne pokazuju statistički značajne razlike između muškaraca i žena. Grupa muškaraca pokazala je veće vrednosti serumskog kreatinina u odnosu na grupu žena ( $3,2\text{mg/dL}$  :  $2,8\text{mg/dL}$  ili  $282,88 \mu\text{mol/L}$  :  $247,52 \mu\text{mol/L}$ ), dok je brzina glomerularne filtracije (GFR) veoma slična kod ispitanika oba pola ( $32,8 \text{ mL/min}$  kod muškaraca i  $31,6 \text{ mL/min}$  kod žena). Srednja terapijska doza Tac je za muškarce iznosila  $3,63 \text{ mg}$ , a za žene  $3,28 \text{ mg}$ . Prateću antihipertenzivnu terapiju transplantiranih pacijenata sačinjavali su nifedipin (srednja dnevna doza  $68 \text{ mg}$  za muškarce,  $32\text{mg}$  za žene) ili diltiazem (srednja dnevna doza  $160 \text{ mg}$  za muškarce,  $120\text{mg}$  za žene).

Izmerene koncentracije Tac u krvi ispitivanih pacijenata i izračunate vrednosti  $\text{AUC}_{0-12}$  koje su dobijene nakon peroralne primene inicijalne doze Tac predstavljene su u tabeli 5.18.

Tabela 5.18. Koncentracije Tac (ng/mL) u određenim vremenima i  $AUC_{0-12}$  (ngh/mL) kod Tx pacijenata nakon prve doze Tac

	Vreme proteklo od peroralne primene Tac (h)							$AUC_{0-12}$ (ngh/mL)
	0,5	1	1,5	2	4	8	12	
<b>Žene</b>								
$C_{II} \pm SD$	11,1 $\pm$ 5,3	18,5 $\pm$ 7,5	15,8 $\pm$ 6,2	9,9 $\pm$ 5,4	4,3 $\pm$ 2,5	1,8 $\pm$ 1,1	1,2 $\pm$ 1,1	58,2 $\pm$ 23,3
Min	3,6	8,0	6,4	3,6	1,7	0,8	0,2	28,5
Max	21,3	30,9	23,2	18,6	10,2	3,5	3,1	91,2
<b>Muškarci</b>								
$C_{II} \pm SD$	8,3 $\pm$ 4,5	20,4 $\pm$ 6,6	22,3 $\pm$ 4,8	14,3 $\pm$ 3,1	8,1 $\pm$ 1,8	5,1 $\pm$ 1,7	3,1 $\pm$ 1,4	94,4 $\pm$ 19,3*
Min	0,3	11,2	16,5	9,3	5,7	2,9	1,1	67,2
Max	14,5	30,0	29,3	19,5	11,3	7,9	4,7	128,6

*C<sub>n</sub>* - koncentracija Tac u vremenu *n*  
\**p*<0,01 u poređenju sa ženama

Na osnovu vrednosti izmerenih koncentracija Tac neprostornom farmakokinetičkom analizom izračunati su FK parametri i tabelarno prikazani u tabeli 5.19.

Tabela 5.19. Farmakokinetički parametri Tac kod ispitivanih pacijenata nakon prve per os doze Tac

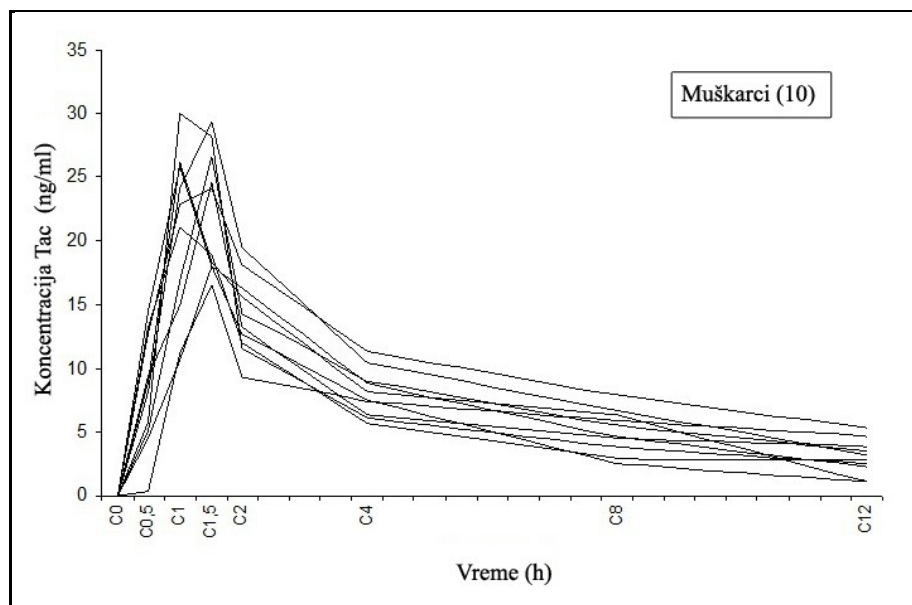
	$AUC_{0-12}$ (ngh/mL)	$AUC_{uk}$ (ngh/mL)	$K_{el}$ (l/h)	$t_{1/2}$ (h)	$C_{max}$ (ng/mL)	$T_{max}$ (h)	MRT(h)
<b>Ž</b>	58,20 $\pm$ 23,3	71,08 $\pm$ 33,83	0,18 $\pm$ 0,11	5,51 $\pm$ 3,17	20,83 $\pm$ 6,70	1,04 $\pm$ 0,40	6,25 $\pm$ 3,73
<b>M</b>	94,40 $\pm$ 19,3*	131,72 $\pm$ 33,46*	0,12 $\pm$ 0,05	7,08 $\pm$ 3,02	24,22 $\pm$ 4,46	1,30 $\pm$ 0,26	9,44 $\pm$ 4,10

\**p*<0,05 u poređenju sa ženama  
*K<sub>el</sub>* - konstanta eliminacije Tac  
*t<sub>1/2</sub>* - poluvreme eliminacije  
*MRT* - srednje vreme zadržavanja  
*C<sub>max</sub>* - maksimalna koncentracija Tac  
*T<sub>max</sub>* - vreme dostizanja *C<sub>max</sub>*  
*AUC<sub>0-12</sub>* - skraćena, 12-časovna površina ispod krive  
*AUC<sub>uk</sub>* - ukupna vrednost AUC

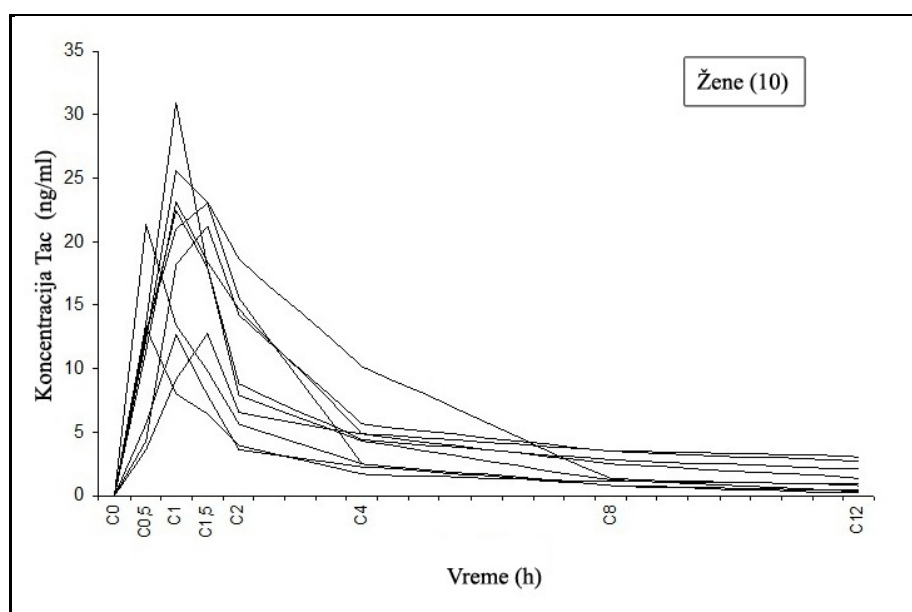
Podaci ukazuju na izraženu varijabilnost vrednosti dvanaestočasovne površine ispod krive ( $AUC_{0-12}$ ). Minimalna vrednost  $AUC_{0-12}$  iznosila je 28,2 ngh/mL, a maksimalna 128,6ngh/mL.

U tabeli se uočava statistički značajna razlika u vrednosti  $AUC_{0-12}$  muškaraca i žena (*p*<0,05). Volumen distribucije i klirens Tac nisu računati zbog peroralne upotrebe leka i činjenice da je bioraspoloživost Tac mala i veoma varijabilna.

Izmerene koncentracije Tac kod transplantiranih pacijenata predstavljene su grafički na Slici 5.9.a. za muškarce i 5.9.b. za žene.



Slika 5.8.a. Zavisnost koncentracije Tac u funkciji vremena kod ispitanika muškog pola



Slika 5.8.b. Zavisnost koncentracije Tac u funkciji vremena kod ispitanika ženskog pola

Izmerene vrednosti koncentracija Tac pokazale su korelaciju sa dvanaestočasovnom AUC. Postavljen je sistem regresionih jednačina koje omogućavaju predviđanje vrednosti AUC na osnovu dobijenih koncentracija Tac u mernim vremenima. Korelacija izmerene koncentracije Tac i vrednosti AUC evoluirana je pomoću Pears-ovog korelacionog koeficijenta ( $r$ ). Korelacija između vrednosti izračunate  $AUC_{0-12}$  i predviđene vrednosti AUC (AUC<sub>p</sub>) data je linearnim regresionim koeficijentom kompleksne determinacije ( $r^2$ ).

U tabeli 5.20. data je regresiona jednačina za  $AUC_{0-12}$  za ispitanike ženskog pola koja najbolje predviđa vrednost AUC, uz izražen koeficijent korelacije  $r$  i koeficijent determinacije  $r^2$ .

Tabela 5.20. Regresiona jednačina koja predviđa vrednost AUC kod žena na osnovu izmerene koncentracije Tac u vremenu  $C_2$

Regresiona jednačina	$r$	$r^2$
1 $AUC_p = 22,879 + 3,453 * C_2$	0,911	0,830

*nezavisno promenljiva  $C_2$  i zavisno promenljiva  $AUC_p$*

Rezultati regresione analize u grupi ispitanika muškog pola prikazani su u tabeli 5.21.

Tabela 5.21. Regresione jednačine koje daju vrednost zavisno promenljive  $AUC_p$  kod grupe muških ispitanika na osnovu poznatih koncentracija Tac u određenom vremenu, sa izraženim koeficijentom korelacije  $r$  i koeficijentom determinacije  $r^2$

Regresiona jednačina	$r$	$r^2$
1. $AUC_p = 20,664 + 9,073 * C_4$	0,878	0,770
2. $AUC_p = 5,342 + 8,488 * C_4 + 0,982 * C_1$	0,940	0,884
3. $AUC_p = -2,406 + 7,351 * C_4 + 1,209 * C_1 + 4,043 * C_{12}$	0,977	0,954
4. $AUC_p = -5,390 + 4,082 * C_4 + 0,895 * C_1 + 5,001 * C_{12} + 2,302 * C_2$	0,990	0,981
5. $AUC_p = 0,791 + 1,982 * C_4 + 0,708 * C_1 + 3,670 * C_{12} + 2,550 * C_2 + 2,979 * C_8$	0,999	0,998

1- nezavisno promenljiva:  $C_4$   
 2- nezavisne promenljive:  $C_4, C_1$   
 3- nezavisne promenljive:  $C_4, C_1, C_{12}$   
 4- nezavisne promenljive:  $C_4, C_1, C_{12}, C_2$   
 5- nezavisne promenljive:  $C_4, C_1, C_{12}, C_2, C_8$   
 zavisno promenljiva:  $AUC_p$

Na osnovu regresione analize određeno je vreme merenja koncentracija Tac kod pacijenata ženskog, odnosno muškog pola, pomoću kojih se brzo i jednostavno može predvideti vrednosti AUC, što predstavlja značajan doprinos racionalnoj farmakoterapiji pacijenata sa presađenim bubregom jer se time omogućava uvid u ukupnu izloženost organizma leku.

Jednostavnim merenjem koncentracije Tac dva sata nakon peroralne primene kod pacijenata ženskog pola je moguće predvideti ukupnu izloženost organizma leku ( $r=0,911$ ;  $r^2=0,830$ ), što je predstavljeno matematički pomoću jednačine:

$$AUC_p = 22,879 + 3,453 * C_2$$

Kod ispitivanih pacijenata ženskog pola  $C_2$  ostaje dobar prediktor za AUC i nakon postizanja ravnotežnih stanja, pri čemu jednačina za izračunavanje  $AUC_p$  izgleda:

$$AUC_p = 38,163 + 5,373 * C_2^{SS}$$

Kod muškaraca je pri uvođenju Tac u terapiju neophodno primeniti metod ograničenih uzoraka, koji podrazumeva merenje koncentracije 1, 4 i 12 sati nakon peroralne primene leka u cilju dobijanja vrednosti AUC ( $r=0,977$ ;  $r^2=0,954$ ) prema jednačini:

$$AUC_p = -2,406 + 7,351 * C_4 + 1,209 * C_1 + 4,043 * C_{12}$$

Prilikom polno selektivnog FK razmatranja Tac u ravnotežnom stanju, uočena je promena korelacije u grupi muškaraca, pa jednačina dobija jednostavniji oblik, korišćenjem koncentracije  $C_8^{SS}$ :

$$AUC_p = -4,442 + 14,602 * C_8^{SS}$$

## 6. DISKUSIJA

### 6.1. Farmakokinetička analiza takrolimusa nakon primene inicijalne doze i u ravnotežnom stanju (SS) kod pacijenata sa presađenim bubregom

Procena farmakokinetičkog profila Tac predstavlja važan segment farmakoterapije transplantiranih pacijenata. Dosadašnja istraživanja pokazala su izraženu varijabilnost u bioraspoloživosti i sistenskoj izloženosti organizma leku nakon peroralne primene Tac. Bioraspoloživost Tac zavisi od aktivnosti intestinalnog enzima CYP3A4 i transportnog P-gp glikoproteina, dok se njegov metabolizam odvija uz učešće CYP3A4 i CYP3A5 (40,100). Novije populacione FK studije i farmakogenetička istraživanja posvećuju posebnu pažnju polimorfizmu CYP3A5 kod primaoca i donora bubrega (41).

U oblasti kliničke farmakokinetike i farmakogenetike za sada postoje nedovoljno jasni stavovi vezani za polne razlike u metabolizmu lekova, zbog čega su poslednjih godina intenzivirana istraživanja koja se bave tom problematikom (101,102). U toku naših istraživanja obavljena je neprostorna farmakokinetička analiza takrolimusa nakon primene inicijalne doze i u ravnotežnom stanju u cilju optimizacije imunosupresije kod pacijenata sa presađenim bubregom. Jedan od ciljeva našeg istraživanja je predstavljalo utvrđivanje polne diferencijacije u farmakokinetičkom profilu Tac.

Neprostorna FK analiza prve peroralne doze Tac je pokazala veliku interindividualnu varijabilnost u ispitivanoj grupi transplantiranih pacijenata. Izmerene koncentracije Tac u ispitivanom dvanaestočasovnom periodu su pokazale širok opseg vrednosti (Tabela 5.2., Slika 5.1.). Maksimalna vrednost površine ispod krive ( $AUC_{max}$ ) je pokazala četiri puta veću vrednost u odnosu na minimalnu ( $AUC_{min}$ ), što potvrđuje interindividualnu različitost u sistenskoj izloženosti leku i važnost praćenja koncentracija Tac (10). Pokazana varijabilnost koncentracija Tac i FK parametara u skladu je sa istraživanjima Chen i sar. sprovedenim kod 16 kineskih pacijenata sa presađenim bubregom (11). Veće vrednosti koncentracija Tac kod kineskih transplantiranih ispitanika u odnosu na našu populaciju pacijenata se mogu objasniti razlikom u primenjenom imunosupresivnom protokolu. Kod kineskih ispitanika, imunosupresivni protokol je podrazumevao primenu metilprednizolona 500mg/dan, mikofenolat mofetila 2000mg/dan i anitilimfocitnog globulina 300mg/dan prva tri dana nakon Tx, dok je Tac uključen četvrtog dana nakon Tx u dozi od 0,075mg/kg TM. Kod naših pacijenata je primenjivan kvaternarni imunosupresivni protokol– metilprednizolon 500mg/dan, mikofenolat mofetil 1500mg/dan i baziliksimumab 20mg prvog i četvrtog dana od Tx, dok je Tac uključen četvrtog dana nakon Tx u dozi od 0,05mg/kg TM. Kvaternarna

terapija je našim pacijentima omogućila postizanje adekvatne imunosupresije sa manjim dozama pojedinačnih imunosupresivnih lekova.

Ponovljenom neprostornom FK analizom takrolimusa u ravnotežnom stanju, utvrđena je veća izloženost organizma leku ( $78,9 \pm 25,7 \text{ ng/mL}$  nakon prve doze prema  $104,49 \pm 20,02 \text{ ng/mL}$  nakon postizanja SS), sa manjom varijabilnošću vrednosti AUC. U ravnotežnom stanju smanjene su varijacije u koncentracijama leka, dok je srednja vrednost maksimalne koncentracije Tac statistički značajno niža kod ispitivanih pacijenata ( $16,51 \pm 5,28 \text{ ng/L}$  u ravnotežnom stanju prema  $22,96 \pm 5,28 \text{ ng/mL}$  nakon prve doze) (Tabela 5.2.,5.6). Time je smanjen rizik od neželjenih efekata takrolimusa, što poboljšava bezbedonosni profil leka.

Novija istraživanja su pokazala da se izostavljanjem KS iz imunosupresivnog protokola postižu slične vrednosti AUC, uz istovremeno veće maksimalne koncentracije Tac, što može imati kliničke posledice u vidu ispoljavanja njegovih toksičnih efekata (103). Ovakvi rezultati upućuju da je racionalnije smanjenje doze KS u odnosu na njihovu obustavu iz farmakoterapijskog imunosupresivnog protokola transplantiranih pacijenata.

Neprostornom FK analizom Tac nakon primene prve doze utvrđena je statistički značajna razlika u vrednostima AUC muškaraca i žena, što je ukazalo na potrebu selektivnog FK ispitivanja. U istraživanju Chen i sar. kod kineskih ispitanika nije uočena razlika u vrednostima AUC između polova, što se može delimično objasniti neadekvatnim odnosom polova ispitanika (12 muškaraca i 4 žene) (11). Prethodnim istraživanjima je potvrđena razlika farmakokinetičkih parametara ciklosporina kod žena i muškaraca (104). Istraživanjima kod zdravih dobrovoljaca i kod transplantiranih pacijenata pokazana je polno zavisna razlika u biorasploživosti, maksimalnoj koncentraciji, AUC i klirensu CsA (105,106). Malobrojna su istraživanja koja se bave razlikom u farmakokinetici Tac među polovima.

Smatra se da je varijabilnost biorasploživosti Tac povezana sa aktivnošću intestinalnog CYP3A4 enzima i kapacitetom transportnog proteina P-gp, koji je determinisan MDR-1 genom (100,107). Dosadašnja istraživanja su utvrdila da je ekspresija enzima CYP3A4 determinisana izloženosti organizma leku i polom ispitanika. Zbog toga je moguća polna razlika u klirensu lekova čiji se metabolizam odvija preko CYP3A4, uključujući i takrolimus. Dosadašnji podaci ukazuju na to da je kod pacijenata ženskog pola prisutna veća aktivnost enzima CYP3A4. Wolbold R. i sar. su utvrdili da je kod žena dva puta veći nivo CYP3A4 u poređenju sa muškarcima ( $p < 0,0001$ ) (102). Veći hepatski sadržaj CYP3A4 kod žena predstavlja fiziološki razlog povećanog klirensa i nižih koncentracija lekova koji se metabolišu preko njega. Utvrđena je statistički značajna razlika u nivou CYP3A4 kod pre i post menopausalnih žena ( $p = 0,01$ ), što pokazuje da hormonalni status žena vezan za starosno



doba može imati značaj (40,107). Kod premenopauzalnih žena je klirens lekova (korigovan telesnom masom) metabolizovanih pomoću CYP3A4 veći 20 do 30% u odnosu na muškarce sličnih godina. U postmenopauzalnom periodu sadržaj ovog enzima je oko 20% manji čime se njegov uticaj smanjuje. U našem istraživanju su učestvovalе žene u pre menopauzalnom dobu (prosečna starost ispitanica iznosila je  $31,4 \pm 5,7$  godina). Slično rezultatima Wolbold i sar., rezultati našeg istraživanja su pokazali očekivanu, statistički značajno manju srednju vrednost AUC kod žena ( $58,18 \pm 23,33$  :  $94,40 \pm 19,32$ ,  $p < 0,05$ ). Izmerene koncentracije nakon primene prve doze Tac kod oba pola kretale su se u terapijskom opsegu, pri čemu su koncentracije Tac kod muškaraca bile veće u odnosu na koncentracije kod žena, dok je srednje vreme zadržavanja Tac bilo značajno manje kod žena u odnosu na muškarce (Tabela 5.14.).

Nakon postizanja ravnotežnog stanja, ponovljena je neprostorna FK analiza Tac u ispitivanoj grupi pacijenata, čime je potvrđeno postojanje interindividualne varijabilnosti u izmerenim koncentracijama leka. Srednja vrednost maksimalne koncentracije Tac je statistički značajno manja u ravnotežnom stanju, dok je ukupna izloženost organizma leku veća. Vrednosti AUC u ravnotežnom stanju nisu pokazale polno zavisne statistički značajne razlike. Moguće objašnjenje je smanjena dnevna doza KS nakon postizanja ravnotežnog stanja a u skladu sa vremenskim periodom proteklom od Tx, čime je smanjen značaj dozno i polno zavisne interakcije KS i Tac. Vreme dostizanja maksimalne koncentracije Tac nije statistički značajno promenjeno, dok je poluvreme eliminacije Tac značajno produženo u ravnotežnom stanju. Rezultati farmakokinetičke analize Tac u SS su potvrdili prethodno utvrđenu korelaciju vrednosti srednjeg vremena zadržavanja Tac u odnosu na pol bolesnika. Telesna masa pacijenata nije pokazala značajan uticaj na FK parametre Tac.

Dobijeni rezultati potvrđuju značaj TDM-a Tac u cilju postizanja optimalne imunosupresije i povećanja bezbednosti terapije. U cilju kvantifikacije i razjašnjenja molekularnih mehanizama koji su uzrok varijabilnosti u farmakokinetici takrolimusa, ukazala se potreba za identifikacijom novih bioloških faktora.

Farmakogenomička istraživanja CYP3A5 imaju veliki značaj za farmakokinetički profil Tac kod populacija kod kojih je veća zastupljenost CYP3A5\*1/1\* genoma. Press i sar. su pokazali da CYP3A5\*1/1\* genom zahteva 1,5 puta veću inicijalnu dozu Tac u odnosu na zastupljeniji CYP3A5\*3/3\* genom (108,109,110). Dosadašnja saznanja u oblasti farmakogenomike pokazala su da pol i genotip donora takođe imaju značajnu ulogu u farmakokinetici i farmakodinamici lekova. Istraživanje Kuypersa i sar. zasnovano na malom broju transplantiranih pacijenata je pokazalo da je statistički značajno manja inicijalna doza Tac kada je donor bubrega ženskog pola (89). Da bi se odredio praktični značaj potencijalne

razlike u farmakokinetičkim parametrima Tac uslovljene polom donora kod naših transplantiranih pacijenata potrebna su ispitivanja na većem broju ispitanika.

Ustanovljena razlika vrednosti AUC muškaraca i žena nakon primene inicijalne doze Tac može se delom objasniti primenjenom antihipertenzivnom terapijom kod transplantiranih pacijenata. Naši transplantirani pacijenti muškog pola su dobijali veće srednje terapijske doze nifedipina (prosečno 68mg za muškarce, 32mg za žene) i diltiazema (prosečno 160mg za muškarce i 120mg za žene) u odnosu na ispitanike ženskog pola. Primenjeni antagonisti kalcijuma su značajni inhibitori CYP3A4/5. Nifedipin inhibitornim uticajem na enzime CYP3A4/5 smanjuje metaboličku transformaciju takrolimusa za 61-70%, a diltiazem za 41-50%. FK studije lek-lek interakcija pokazale su da istovremena primena inhibitora enzima CYP3A4 (nifedipin, diltiazem) i takrolimusa može inhibitorno da utiče na njegov metabolizam, što povećava njegovu koncentraciju i potencira ispoljavanje neželjenih efekata povećanjem ukupne izloženosti organizma leku (80,111).

Istraživanja koja omogućavaju simulaciju populacionog FK ispitivanja Tac upotrebom odgovarajućih softvera, pretpostavila su pol kao značajnu varijablu u japanskoj populaciji transplantiranih pacijenata (19,112). Rezultati dobijeni PFK analizom srpske populacije transplantiranih pacijenata nisu potvrdili pol kao značajnu varijablu u izgradnji populacionog FK modela Tac (16).

Ulogu pola u farmakokinetici Tac je potrebno razmatrati u kombinaciji sa genetikom, starošću, pridruženim bolestima i socijalno-ekonomskim statusom pacijenata, zbog čega za sada predstavlja nedovoljno razjašnjen fenomen koji zahteva dalja istraživanja.

Neophodnost optimizacije terapijskog režima Tac proizilazi iz njegove male terapijske širine, varijabilne kinetike i neželjenih dejstava (10,85). Poznavanje ukupne izloženosti organizma takrolimusu je preduslov prevencije njegovih neželjenih i toksičnih efekata. Monitoring AUC kao metod optimizacije još uvek nije prihvaćen u rutinskom tretmanu transplantiranih pacijenata zbog ekonomskih razloga i složenosti postupka. Zbog toga se nametnula potreba predviđanja ukupne izloženosti organizma leku na osnovu koncentracije Tac u određenom vremenu nakon primene leka (113,114). Pronalaženje najbolje predvidive koncentracije Tac za AUC je cilj velikog broja istraživanja.

Koncentracija Tac koja predviđa ukupnu izloženost organizma leku treba da obezbedi odgovarajuću korelaciju sa 12-časovnom AUC na osnovu koje može da predvidi vrednost AUC (AUCp). Time je omogućeno korigovanje doznog režima Tac u cilju sprovođenja racionalne imunosupresivne farmakoterapije kod transplantiranih pacijenata, uzimajući u obzir njihove karakteristike, uključujući i pol.

Rezultati prethodnih istraživanja ukazali su na različita vremena merenja koncentracija Tac u cilju predviđanja AUC. Sprovedena istraživanja nisu uključivala polno selektivan pristup FK analizi Tac. Chen i sar. su pokazali značajnost  $C_5$  ( $r=0,92$ ;  $r^2=0,85$ ) za predviđanje ukupne izloženosti organizma leku nakon primene inicijalne doze takrolimusa. Prema ovim autorima, metod merenja dve koncentracije ( $C_{1,5}$  i  $C_5$ ), omogućava značajno viši nivo predvidljivosti i bolje određuje AUC ( $r=0,97$ ;  $r^2=0,94$ ) (11). Prema nekim autorima, minimalna koncentracija Tac ( $C_0$ ) pokazuje dobru korelaciju sa AUC u ranom posttransplantacijskom periodu, dok se metod dve tačke ( $C_2$  i  $C_3$ ), pokazao boljim u smislu predvidljivosti vrednosti skraćene AUC (9). Prospektivne studije novijeg datuma su pokazale važnost praćenja ukupne izloženosti organizma Tac u funkciji proteklog vremenskog perioda nakon Tx (115,116,117).

AUC je pokazala veću pouzdanost kao indikator stepena ispoljavanja neželjenih efekata takrolimusa u odnosu na minimalnu koncentraciju na kraju terapijskog intervala ( $C_0$ ), zbog čega je od važnosti potvrđivanje stepena korelacije između koncentracija Tac i AUC (117). Wong i sar. su utvrdili pouzdanost metod dve tačke ( $C_2$  i  $C_4$ ), za predviđanje vrednosti AUC radeći istraživanje u prvih šest meseci nakon transplantacije (114). Rezultati istraživanja Sholten i sar. su potvrdili veći stepen pouzdanosti predviđanja upotrebom dve u odnosu na jednu izmerenu koncentraciju Tac (118).

Prema rezultatima drugih istraživača, koncentracija Tac izmerena dva sata nakon peroralne primene Tac ( $C_2$ ) ne pokazuje veću pouzdanost u predviđanju AUC u odnosu na koncentracije izmerene u nekom drugom vremenu (119). Istraživanja sprovedena u ranom posttrasplantacijskom periodu ukazala su na potrebu uvođenja metoda dve ili tri tačke radi predviđanja AUC i skrenula pažnju na  $C_9$ , u kojoj se javlja sekundarni porast koncentracije Tac (120). Istraživanje sprovedeno u toku prve godine nakon transplantacije srca potvrdilo je veću pouzdanost  $C_4$  u smislu predviđanja ukupne izloženosti organizma takrolimusu ( $r^2=0,88$ ), u odnosu na koncentraciju  $C_0$  ( $r^2=0,74$ ) (121). Ku i sar. su potvrdili da je  $C_4$  pouzdan indikator ukupne izloženosti takrolimusu nakon uvođenja u ravnotežno stanje kod pacijenata sa transplantiranom jetrom ( $r^2=0,99$ ) (122). Methew i sar. potvrdili su prednost metoda dve tačke u odnosu na  $C_0$  u ravnotežnom stanju kod pacijenata sa transplantiranim bubregom i naveli dve mogućnosti- merenje  $C_0$  i  $C_4$  ili  $C_{1,5}$  i  $C_4$ . Prema rezultatima njihovog istraživanja koncentracije Tac merene dva i više sati nakon peroralne primene leka bolje koreliraju sa AUCp u odnosu na  $C_0$ , dok metod ograničenih uzoraka daje značajno bolju predvidljivost AUCp ( $0,75 < r < 0,93$ ) (12).

Metoda predviđanja ukupne izloženosti organizma leku pomoću skraćene AUC ili na osnovu predvidljive koncentracije Tac, podrazumeva precizno vreme uzorkovanja krvi

pacijenata, zbog validnosti dobijenih rezultata. Neophodno je voditi računa o vremenu proteklom od transplantacije, zbog čega je opravdano ponoviti neprostornu FK analizu Tac i regresionu analizu nakon postizanja ravnotežnog stanja.

Utvrđivanjem polne diferencijacije u izmerenim koncentracijama Tac, ukazala se potreba potvrđivanja pouzdanosti izabrane koncentracije u odnosu na pol Tx pacijenata (112). Cilj našeg istraživanja bio je da se utvrdi da li najbolje predvidljiva koncentracija Tac za AUC nakon inicijalne doze leka predstavlja pouzdani indikator predvidljivosti ukupne izloženosti leku u SS kod pacijenata sa Tx bubregom (123).

Koncentracije Tac u SS su upoređivane sa  $AUC_{0-12}$  i  $AUC_p$ . Regresiona analiza je sprovedena prema proceduri 1. nakon inicijalne doze Tac i nakon postizanja SS u grupi ispitanika i selektivno, prema polu. Regresionom analizom je potvrđena značajna korelacija za koncentraciju  $C_8$ , izmerenu osam sati nakon peroralne primene prve doze Tac ( $r=0,75$ ;  $p<0,05$ ), dok je najbolju korelaciju i predvidljivost AUC kod naših ispitanika pokazala koncentracija  $C_4$  ( $r=0,911$ ;  $r^2=0,829$ ) (10).

Našim ispitivanjem je utvrđeno da metod ograničenih uzoraka predstavlja adekvatnu alternativu AUC monitoringu prilikom uvođenja Tac u imunosupresivnu terapiju kod Tx pacijenata. Metod tri tačke, koji uključuje  $C_{1,5}$ ,  $C_4$ ,  $C_8$ , omogućava pouzdanu korelaciju sa AUC ( $r=0,974$ ;  $r^2=0,949$ ) prilikom primene inicijalne doze Tac kod grupe ispitanika. Pouzdanost predviđanja metodom tri tačke je veća nego upotrebom samo  $C_4$  kao najbolje predvidive koncentracije (10). Barrachough i sar. su analizom prethodnih istraživanja Bayesian metodom utvrdili prednost koncentracije Tac dobijene dva i više sati nakon peroralne primene u cilju predviđanja AUC, bez uzimanja u obzir pola ispitanika (113,115,117). U našem istraživanju, potvrđena je veća preciznost predviđanja AUC upotrebom dve ili tri koncentracije Tac, u slučaju da se ne primenjuje polno selektivan pristup, što je u saglasnosti sa drugim rezultatima.

Sagledavanjem polne diferencijacije u FK parametrima, pokazana je razlika u koncentracijama Tac koje daju uvid u izloženost organizma leku, odnosno AUC. Regresiona analiza dobijenih koncentracija Tac je pokazala različite rezultate u zavisnosti od pola ispitanika i vremena proteklog od transplantacije bubrega.

Rezultati našeg istraživanja prve doze Tac pokazali su da koncentracija  $C_2$ , merena dva sata nakon peroralne primene predstavlja dobar indikator sveukupne izloženosti organizma takrolimusu ( $r=0,911$ ;  $r^2=0,830$ ) kod žena (Tabela 5.20.). Međutim, ispitivanja kod muškaraca su utvrdila da merenjem jedne koncentracije nije moguće pouzdano predvideti vrednost AUC nakon primene inicijalne doze. Koncentracije  $C_1$ ,  $C_4$  i  $C_{12}$  mogu da zamene AUC monitoring i daju dobru predvidljivost AUC kod ispitanika muškog pola ( $r=0,977$ ;  $r^2=0,954$ , Tabela 5.21.).

Metod skraćene AUC daje odgovarajući odnos efikasnosti i cene monitoringa Tac, zbog čega predstavlja prihvatljivu strategiju za izradu farmakokinetičkog profila Tac kod muškaraca pri primeni prve doze (123).

Nakon postizanja ravnotežnog stanja, potvrđena je značajnost koncentracije Tac izmerene osam sati nakon primene leka ( $C_8^{SS}$ ), u smislu predviđanja vrednosti AUC nezavisno od pola. Regresionom analizom je potvrđena koncentracija Tac  $C_8^{SS}$ , kao najbolje predvidiva koncentracija za AUC kod ispitanika muškog pola. Navedena analiza je pokazala da se kod pacijenata ženskog pola bolja predvidljivost za AUC postiže pomoću koncentracije  $C_2^{SS}$  ili metodom dve tačke –  $C_2^{SS}$  i  $C_0^{SS}$ . Sholten E i sar. su ustanovili da metod dve tačke pokazuje prednost u predviđanju vrednosti ukupne AUC u odnosu na samo jednu koncentraciju Tac. Ovaj metod preporučuje upotrebu minimalne koncentracije u SS stanju ( $C_0^{SS}$ ) u kombinaciji sa  $C_2^{SS}$ ,  $C_3^{SS}$  ili  $C_4^{SS}$  što je u skladu sa našim rezultatima za pacijente ženskog pola (118).

Na osnovu pregleda rezultata većeg broja istraživanja, moguće je pretpostaviti da upotreba metoda dve tačke predstavlja pristup slične preciznosti polno selektivnom predviđanju AUC. Rezultati naših istraživanja su nedvosmisleno pokazali važnost sagledavanja polnih razlika u farmakokinetici Tac. Iako ukupna izloženost organizma leku uvođenjem u stanje ravnoteže gubi statistički značajnu polnu različitost, zbog različitosti ukupne kinetike Tac neophodno je selektivno predviđanje AUC, kako bi se postigla zadovoljavajuća preciznost. Nakon postizanja ravnotežnog stanja, predviđanje vrednosti AUC je moguće pojednostaviti praćenjem odgovarajuće koncentracije Tac, zavisno od pola ispitanika. Analizom rezultata naših istraživanja može se pretpostaviti da polne razlike u farmakokinetici Tac predstavljaju razlog neusaglašenosti stavova drugih istraživača. U savremenoj literaturi nedostaju podaci o predvidljivosti AUC Tac u zavisnosti od pola ispitanika, što predstavlja podstrek daljem istraživačkom radu.

Rezultati naših istraživanja potvrđuju kliničku i farmakoekonomsku opravdanost monitoringa Tac i određivanja njegovih FK parametara prilikom primene inicijalne doze leka i nakon postizanja ravnotežnog stanja kod transplantiranih pacijenta u cilju sprečavanja ranog odbacivanja grafta i ispoljavanja neželjenih efekata terapije (10,118,123).

## 6.2. Populaciona farmakokinetička analiza takrolimusa kod pacijenata sa presađenim bubregom

Populaciona analiza omogućava dobijanje klinički relevantnih podataka o FK leka u ciljnoj populaciji ispitanika. Populacioni model daje mogućnost izračunavanja populacionih vrednosti FK parametara leka i utvrđuje izvor i stepen interindividualnih i intraindividualnih varijabilnosti (15,16). Danas je pomoću složenih softvera i posredstvom interneta moguće sagledati rezultate različitih populacionih istraživanja u cilju dobijanja opštih zaključaka. Stoga populaciona FK analiza daje značajan doprinos sprovođenju racionalne farmakoterapije kod transplantiranih pacijenata (19,109).

U saglasnosti sa prethodnim populacionim modelovanjem Tac za tipičnu populacionu vrednost klirensa Tac kod pacijenata sa transplantiranim bubregom koji su učestvovali u našem istraživanju, utvrđena je vrednost 1,03 L/h u baznom modelu (16). Rezultati našeg istraživanja pokazali su da doza prednizona veća od 25mg/dan povećava populacioni klirens Tac za vrednost od +1,16 L/h. Obzirom da su transplantirani pacijenti tretirani visokim dozama metilprednizolona, primenjenim intravenski pre i neposredno posle presađivanja bubrega, a kasnije prevedeni na peroralni prednizolon, jedan od ciljeva naše studije bio je identifikacija doze prednizona koja ne ostvaruje uticaj na klirens Tac. Uticaj prednizona rezultat je indukcije enzima CYP3A4 i uticaja na transportni P-gp protein (16,103). Naši rezultati su u saglasnosti sa prethodno sprovedenim populacionim FK studijama. Antignacet i sar. su 2007. i Press i sar. 2009. godine dobili slične rezultate vezane za povećanje klirensa Tac pri dozi prednizona većoj od 25mg (15,105). Mogućnost postojanja dozno zavisnog uticaja KS na aktivnost enzima CYP3A5 i klirens Tac potvrdili su u svojim istraživanjima Quteineh i sar. 2008. godine (108). Istraživanje koje je obuhvatilo 83 pacijenta sa transplantiranim bubregom, pokazalo je da je pri visokim dozama KS neophodno primeniti povećanu dozu Tac radi postizanja ciljne koncentracije (11). Istraživanja Undre i sar. kod 303 pacijenta u periodu od 2 do 12 meseci nakon transplantacije su pokazala značajan uticaj peroralne doze KS na koncentraciju Tac (37). Naše istraživanje sprovedeno kod 46 pacijenata je pokazalo značajan dozno zavistan uticaj KS na nivo Tac i saglasno je sa drugim sprovedenim populacionim modelovanjem Tac. Rezultati drugih autora navode da dnevne doze prednizolona jednake i manje od 10mg ne ostvaruju značajan uticaj na nivo Tac (14,105,115).

U velikom broju studija hematokrit predstavlja faktor koji značajno utiče na populacione FK parametre Tac kod transplantiranih pacijenata, što ispitivanjem u našoj populaciji nije pokazano (16,124). Važnost hematokrita posebno se navodi pri FK analizama kod ispitanika sa presađenom jetrom, jer je tada izražena interindividualna i intraindividualna

varijabilnost hematokrita (125). Novija istraživanja pokazala su postojanje značajnog uticaja derivata sulfonil uree na klirens Tac (126). U istraživanju koje su sproveli Hisakazu i sar. pomoću softverske simulacije populacione FK analize (Symcyp) postavljena je hipoteza značajnosti pola za populacionu vrednost klirensa Tac (kod japanske populacije  $p < 0,05$ ) (127). Navedena pretpostavka je u suprotnosti sa dosadašnjim populacionim FK analizama Tac, u kojima varijabla pola nije pokazala značaj. Naše populaciono modelovanje nije pokazalo pol kao značajnu varijablu za populacionu vrednost klirensa Tac.

Ispitivanja novijeg datuma ukazuju da farmaceutski oblik takrolimusa može predstavljati značajnu varijablu za populacione vrednosti PK parametara Tac (128).

U prethodnim ispitivanjima kod pacijenata sa presađenom jetrom nivo bilirubina i prisustvo CYP3A5\*3 genotipa kod donora i primaoca organa potvrđeni su kao značajne varijable za populacioni FK model Tac (112,128). Utvrđivanjem povezanosti CYP3A5\*1 genotipa i 25-40% većih vrednosti klirensa Tac pokazana je važnost ispitivanja zastupljenosti oblika CYP3A5\*3 u populaciji transplantiranih pacijenata. Statistička značajnost za sada je potvrđena samo kod populacija azijskog porekla, dok je zastupljenost ovog genotipa znatno manja kod bele rase i dosadašnjim ispitivanjima nije pokazana njena statistička značajnost. Rasprostranjenost CYP3A5\*3 i CYP3A5\*1 genotipa u našoj populaciji, kod transplantiranih pacijenata, predstavlja predmet daljih FK istraživanja.

Naše istraživanje je utvrdilo da primenjene dnevne doze Tac i KS predstavljaju značajne varijable u populacionoj FK analizi. Značajan uticaj na klirens Tac pokazala je dnevna doza KS veća od 25mg/dan (16). Pokazane značajne varijable uključene su u finalni populacioni model klirensa Tac kod pacijenata sa presađenim bubregom:

$$CL (L/h) = 0,862 + 0,32 * DD + 1,16 * PRO$$

Validacija dobijenog populacionog modela Tac potvrdila je dobru predvidljivost i odgovarajući stepen greške predviđanja, što je omogućilo zadovoljavajuće fitovanje dobijenih podataka. Varijable koje nisu pokazale značajnost tokom modelovanja, kao što su pol, starost pacijenta, primena drugih lekova, odnos enzima jetre i nivo hematokrita nisu uključene u finalni model. Hematokrit se nije pokazao kao značajna varijabla u našem populacionom FK modelu potencijalno zbog dužine posttransplantacijskog perioda ( $514,32 \pm 688,77$  dana).

Daljim istraživanjem i uključivanjem dodatnih varijabli za determinaciju populacionih FK karakteristika Tac otvaraju se nove mogućnosti za unapređenje dosadašnjih saznanja o njegovom farmakokinetičkom profilu.

Populacioni FK pristup može biti od koristi pri utvrđivanju najbolje predvidive koncentracije Tac za procenu ukupne izloženosti organizma leku i mogućnosti pojave neželjenih efekata terapije (109).

### 6.3. Praćenje neželjenih efekata imunosupresivne terapije i interakcija takrolimusa kod pacijenata sa presađenim bubregom

Takrolimus je kalcineurinski inhibitor sa boljim bezbedonosnim profilom u odnosu na CsA, što je utvrđeno prethodnim kliničkim istraživanjima kod transplantiranih pacijenata. Prevođenjem pacijenata sa CsA na Tac pokazano je značajno smanjenje vrednosti krvnog pritiska, holesterola, serumskog kreatinina i uree (129). Po Framingham skali konverzijom CsA na Tac dolazi do ukupnog smanjenja rizika od pojave neželjenih efekata ( $5,7 \pm 4,3; 4,8 \pm 5,3$ ) (130). Druga istraživanja potvrđuju prednosti Tac u smislu prevencije reakcije ranog odbacivanja i preživljavanja grafta u prvih godinu dana nakon Tx, smanjenje KV rizika, hipertenzije i upotrebu manjih dnevnih doza antihipertenzivne terapije.

Primenu Tac prati pojava velikog broja neželjenih reakcija kao što je povećana incidenca posttransplantacijskog dijabetes melitusa (PTDM) i neurotoksičnost (131,132). Nastanak hiperholesterolemije, posebno povećane vrednosti holesterola veoma male gustine u prvih godinu dana nakon Tx povezuje se sa disfunkcijom grafta i povećanjem vrednosti serumskog kreatinina. Vazokonstriktorni efekat Tac dovodi do smanjenja renalne rezerve koja je bitna za održanje glomerularne filtracije prilikom gubitka proteina (115,132). Ispitivanja kod transplantiranih pacijenata u dužem vremenskom periodu nakon Tx ukazuju na smanjenje koštane gustine i povećanu učestalost koštanih fraktura (četiri puta je veći broj fraktura kod Tx pacijenata) Pojava osteodistrofije i osteomalacije vezuje se za rani posttransplantacijski period u kome su prisutni metabolički disbalansi – hiperfosfaturija, hiperkalcijemija, acidobazni disbalans, hipomagnezijemija i hiperparatireoidizam (134,135). Novija istraživanja ukazuju na pojavu metaboličkog sindroma kod transplantiranih pacijenata (136). Neželjene efekte Tac je moguće minimizirati održavanjem njegove koncentracije u terapijskom opsegu (5-15 ng/mL). Prema rezultatima Dansirikul i sar. postoji povezanost između minimalne koncentracije Tac ( $C_0$ ) i njegovih neželjenih efekata u ranom posttransplantacijskom periodu (84). U kasnijoj fazi je smanjena mogućnost predviđanja neželjenih efekata praćenjem minimalne koncentracije Tac. Pri primeni imunosupresivne terapije moguće je ispoljavanje neurotoksičnog i nefrotoksičnog dejstva Tac uprkos održavanju  $C_0$  u terapijskom opsegu. Literaturni podaci pokazuju da se pomoću vrednosti AUC omogućava uvid u ukupnu izloženost organizma leku i potencijalne nefrotoksične i neurotoksične efekte Tac (137). Populacionom farmakokinetičkom analizom moguće je utvrditi značaj određene koncentracije Tac i AUC za pojavu neželjenih efekata Tac. Kod



vulnerabilnih pedijatrijskih pacijenata potencijalni neurotoksični efekti su izraženiji u odnosu na odrasle (138). Savremeni farmaceutski oblici koji omogućavaju doziranje Tac jednom dnevno povećavaju adherencu pacijenata i smanjuju pojavu neželjenih efekata (139).

Dosadašnja ispitivanja potvrdila su postojanje interakcije između kortikosteroida i Tac, sa posledičnim povećanjem koncentracije Tac pri primeni visokih doza KS. Poznato je da KS ostvaruju inhibitorni uticaj na aktivnost CYP3A4, ali mehanizam interakcije i uticaj pola još uvek nisu u potpunosti razjašnjeni (140).

Naša istraživanja su saglasna sa istraživanjima Anglicheau i sar. i potvrđuju dozno zavistan uticaj KS na nivo Tac (78,141). Smanjenje srednje dnevne doze KS za 66,38% 21. dana nakon Tx u odnosu na 7. dan ( $93,75 \pm 16,37$  mg/dan :  $31,52 \pm 7,45$  mg/dan) dovodi do statistički značajnog porasta koncentracije Tac. Statistički značajna razlika u dozno korigovanim koncentracijama Tac utvrđena je između 7. i 180. dana od Tx, što se može delimično objasniti prestankom uticaja primenjene doze KS na aktivnost CYP enzima 180. dana ( $12,61 \pm 4,83$  mg KS/dan) nakon Tx. Naši rezultati PFK Tac ukazuju da dnevna doza KS ispod 25mg nema uticaj na nivo Tac, što je u saglasnosti sa rezultatima ovog ispitivanja (16,141). Tokom istraživanja nije uočena polna razlika u dozno zavisnom uticaju KS na koncentraciju Tac. Savremena farmakoterapija transplantiranih bolesnika zasniva se na korišćenju minimalnih dnevnih doza KS, što podrazumeva brzo smanjivanje dnevne doze KS u ranom postransplantacijskom periodu, do dostizanja vrednosti od 10mg prednizolona dnevno.

Redovnim praćenjem biohemijskih parametara kod transplantiranih pacijenata moguće je prevenirati akutno odbacivanje grafta i neželjene efekte imunosupresije. Dislipidemija, hipertenzija i hiperglikemija su očekivani neželjeni efekti primene Tac koji se razvijaju kod većine bolesnika u ranom periodu nakon Tx (132,142). Hiperglikemijski efekat Tac je složen i ostvaruje se povećanjem insulinske rezistencije, smanjenjem sekrecije insulina i direktnim toksičnim delovanjem na beta ćelije pankreasa. Dosadašnja ispitivanja ukazuju na značajan uticaj Tac na pojavu PTDM, pri čemu nije uočena razlika između standardnog farmaceutskog oblika Tac koji se primenjuje na 12 sati i preparata sa produženim oslobađanjem koji se primenjuje jednom dnevno (133,139). Prema rezultatima istraživanja Al-Ghareeb i sar. takrolimus predstavlja statistički značajan ( $p < 0,001$ ) nezavisni faktor za nastanak PTDM. Pored takrolimusa, na pojavu PTDM utiče starost i pol pacijenata, telesna masa u vreme Tx, porodična predispozicija za nastanak dijabetesa i prisustvo virusa hepatitisa C. Prevalenca PTDM kod primene Tac iznosi 33% (132).

Naši rezultati nisu pokazali promenu nivoa glukoze u prvih šest meseci nakon transplantacije. Moguće objašnjenje izostanka hiperglikemijskog efekta Tac je primena kvarternarne imunosupresivne terapije koja uključuje monoklonalno antitelo, što omogućava manje doze imunosupresivnih lekova i smanjenje rizika od pojave neželjenih efekata. Mecule i sar. su pokazali da se bolja glukoregulacija postiže izbegavanjem maksimalnih koncentracija Tac u okviru predviđenog terapijskog opsega (139).

Prethodna istraživanja pokazala su značajan uticaj Tac na metabolizam i koncentraciju lipida kod transplantiranih pacijenata (136). U toku ispitivanog perioda kod naših pacijenata je pokazan statistički značajan porast holesterola i triglicerida, što je u saglasnosti sa očekivanim neželjenim efektima imunosupresivne terapije (141,142).

Praćenje koncentracije serumskog kreatinina predstavlja biohemijski parametar za procenu bubrežne funkcije. U ranom posttransplantacijskom periodu nivo serumskog kreatinina može da ukaže na akutno smanjenje bubrežne funkcije, dok za hronične promene bubrežne funkcije nema značaj. Povećanje nivoa uree u serumu Tx pacijenata može da ukaže na pojavu nefrotoksičnog efekta Tac (143). Ispitivanja novijeg datuma ukazuju na potrebu uporednog praćenja FK i biohemijskih parametara i populacionog FK pristupa radi povećanja bezbednosti terapije vulnerabilnih transplantiranih pacijenata. U našem istraživanju pokazan je statistički značajan pad nivoa serumskog kreatinina i uree u ispitivanom šestomesečnom periodu, što ukazuje na optimalnu, renoprotektivnu farmakoterapiju transplantiranih pacijenata (141).

Povećana aktivnost hepatocelularnih enzima može nastati zbog narušavanja strukture hepatocita i hiperbilirubinemije. Oštećenje hepatocitne membrane izazvano lekovima dovodi do povećane vrednosti alkalne fosfataze, dok se pri težim oštećenjima hepatocita povećavaju vrednosti ALT i AST. Rezultati šestomesečnog praćenja biohemijskih parametara, pokazali su statistički značajno povećanje nivoa ALT (7. dana  $17,71 \pm 8,91$ ; 21. dana  $47,06 \pm 32,83$ ; 180. dana  $41,38 \pm 33,43$ ) i ALP (7. dana  $55,84 \pm 21,8$ ; 21. dana  $11,29 \pm 48,97$ ; 180. dana  $79,57 \pm 48,75$ ), dok vrednost AST-a nije pokazala statistički značajnu promenu kod naših transplantiranih pacijenata (Slika 5.8., Tabela 5.16.). Ovi rezultati ukazuju na inicijalnu hepatotoksičnost primenjene terapije bez disfunkcije jetre. Očuvana funkcija jetre je rezultat redovnog monitoringa i individualizacije terapije u ispitivanom periodu.

Povezanost vrednosti AUC i pojave neželjenih efekata terapije takrolimusom je od značaja zbog mogućeg predviđanja neželjenih efekata Tac (137,143).

U toku našeg ispitivanja utvrđena je klinički značajna interakcija između Tac i metronidazola koja je dovela do značajnog pogoršanja funkcije bubrega. Nakon šestodnevne

primene metronidazola (Met), zbog enterokolitisa uzrokovanog *Clostridium difficile*, utvrđena je izuzetno visoka koncentracije Tac (20,2 ng/mL) kod transplantiranog pacijenta. Pacijent je hospitalizovan zbog razvoja akutne bubrežne insuficijencije.

Pre uvođenja metronidazola u terapiju pacijent je pokazivao stabilnu funkciju grafta. Koncentracija Tac održavana je u terapijskom okviru (5-10ng/mL) primenom trojne imunosupresivne terapije: Tac (4,5mg/12h), mikofenolat mofetil (500mg/12h), prednizolon (20mg/dan). Nivo serumskog kreatinina se kretao od 114,92  $\mu\text{mol/L}$  do 194,48  $\mu\text{mol/L}$ , u posttransplantacijskom četvoromesečnom periodu.

Biohemijski parametri su pokazali postojanje elektrolitnog disbalansa i četverostruki porast serumskog kreatinina (od 176,8  $\mu\text{mol/L}$  do 689,52  $\mu\text{mol/L}$ ) u toku hospitalizacije. Terapija metronidazolom je obustavljena, jedna doza Tac je isključena i dozni režim Tac izmenjen na 2mg/12h. Zbog razvoja akutne bubrežne insuficijencije, uzrokovane nefrotoksičnošću Tac, kod pacijenta je primenjeno lečenje ponavljanim dijalizama, uz korekciju doznog režima (1mg/12 h). Četiri dana nakon isključenja Met nivo Tac je snižen na 8,7ng/mL, dok je serumski kreatinin redukovano na 185,64  $\mu\text{mol/L}$ .

Prikazani slučaj ukazuje na klinički značajnu interakciju Tac i metronidazola uslovljenu inhibicijom enzima CYP3A4, koja je dovelo do porasta koncentracije Tac. Uzročno-posledična veza interakcije, procenjena na osnovu Naranjo skale iznosi 6, što potvrđuje mogućnost interakcije Tac i Met uz potencijalno povećanje nefrotoksičnosti Tac. Inhibitorni uticaj metronidazola na aktivnost CYP3A4 je potvrđen u in vitro uslovima i pretpostavljen u do sada objavljenim istraživanjima i prikazima slučajeva (144,145). Dalja ispitivanja biotransformacije Tac i lek-lek interakcija u in vitro i in vivo uslovima će potvrditi značaj navedene interakcije.

## 7. ZAKLJUČAK

Na osnovu sprovedenih farmakokinetičkih ispitivanja takrolimusa kod pacijenata sa presađenim bubregom, mogu se izvesti sledeći zaključci:

- Visok stepen interindividualne varijabilnosti farmakokinetičkih parametara takrolimusa utvrđen je pri primeni prve doze leka i potvrđen u stanju ravnoteže kod pacijenata sa presađenim bubregom.
- Koncentracija takrolimusa izmerena četiri sata nakon primene inicijalne doze leka ( $C_4$ ) omogućava procenu površine ispod krive (AUC) kao meru ukupne izloženosti organizma leku kod pacijenata sa presađenim bubregom, nezavisno od pola.
- Metod tri tačke- koncentracije izmerene 1,5 , 4 i 8 sati nakon inicijalne doze takrolimusa ( $C_{1,5}$ ,  $C_4$ ,  $C_8$ ) pokazuje veću pouzdanost i predvidljivost ukupne izloženosti organizma u odnosu na  $C_4$ .
- Koncentracija izmerena dva sata nakon peroralne primene takrolimusa ( $C_2$  , odnosno  $C_2^{SS}$ ) omogućava predvidljivost ukupne izloženosti organizma leku kod žena sa presađenim bubregom, što je potvrđeno farmakokinetičkom analizom nakon prve doze leka i u ravnotežnom stanju.
- Metod tri tačke, koncentracije merene 1, 4 i 12 sati nakon peroralne primene ( $C_1$ ,  $C_4$ ,  $C_{12}$ ) predstavlja indikator ukupne izloženosti organizma takrolimusu nakon primene inicijalne doze kod muškaraca sa presađenim bubregom.
- Nakon postizanja ravnotežnog stanja metod tri tačke može biti zamenjen koncentracijom izmerenom osam sati nakon peroralne primene ( $C_8^{SS}$ ), koja poseduje visok stepen korelacije sa izloženošću organizma takrolimusu kod pacijenata muškog pola sa presađenim bubregom.
- Polne razlike u vrednosti površine ispod krive (AUC), prediktoru ukupne izloženosti organizma takrolimusu, utvrđene nakon inicijalne doze nisu potvrđene u stanju ravnoteže.

- Populacionom farmakokinetičkom analizom utvrđeno je da dnevna doza prednizolona veća od 25mg ostvaruje značajan uticaj na klirens takrolimusa kod pacijenata sa presađenim bubregom.
- Dozno zavistan uticaj kortikosteroida na koncentraciju takrolimusa posebno je izražen kod pacijenata muškog pola.
- Potvrđen je značaj praćenja koncentracija uree, lipida, enzima jetre i alkalne fosfataze kod transplantiranih pacijenata u cilju praćenja funkcije bubrega i rane detekcije neželjenih efekata takrolimusa.
- Rezultati farmakokinetičkih ispitivanja takrolimusa predstavljaju naučnu osnovu za individualizaciju imunosupresivne terapije u cilju povećanja bezbednosti tretmana pacijenata sa presađenim bubregom.

## 8. LITERATURA

1. McKay D, Jameson J. Kidney transplantation and the ageing immune system. *Nat Rev Nephrol* 2012;13:8(12):700-8
2. Traynor C, Conlon PJ. Very long-term survivors of kidney transplantation. *Transpl Int* 2012; doi: 10.1111/tri.12028
3. Petrović L, Mišić I, Ćurić S, et al. Immunosuppressive therapy in renal transplantation. *Medicina danas* 2006; 5(1-2):23-7
4. Sprangers B, Kuypers DR, Vanrenterghem Y. Immunosuppression: does one regimen fit all? *Transplantation* 2011;92(3):251-61
5. Velickovic- Radovanovic R, Catic A, Paunovic G, et al. Therapeutic monitoring immunosuppressive drugs. *Acta medica mediana* 2009;1:27-32
6. Pokrajac M, *Farmakokinetika*. 3.izd.Beograd:Birograf;2008
7. Larry A Bauer, *Applied Clinical Pharmacokinetics*. SAD:The mcgraw-Hill Companies Inc 2008
8. Nasiri-Toosi Z, Dashti-Khavidaki S, Nasiri-Toosi M, et al. Clinical Pharmacokinetics of Oral Versus Sublingual Administration of Tacrolimus in Adult Liver Transplant Recipients. *Exp Clin Transplant* 2012; doi: 10.6002/ect.2012.0032
9. Balbontin FG, Kiberd B, Squires J et al. Tacrolimus monitoring by simplified sparse sampling under the concentration time curve. *Transpl Proc* 2003;35(7):2445-8
10. Veličković-Radovanović R, Paunović G, Mikov M, et al. Clinical Pharmacokinetics of tacrolimus after the first oral administration in renal transplant recipients on triple immunosuppressive therapy. *Basic Clin Pharmacol Toxicol* 2010;106(6):505-10
11. Chen Y, Zhang KL, Chen L, et al. Clinical Pharmacokinetics of Tacrolimus After the First Oral Administration in Combination with Mycophenolat Mofetil and Prednisone in Chinese Renal Transplant Recipients. *Transpl Proc* 2005;37:4246-50
12. Mathew SS, Flemind DH, Jeyaseelan V. A limited sampling strategy for Tacrolimus in renal transplant patients. *Br J Clin Pharmacol* 2008;66(4):467-72
13. Vucicevic K, Miljkovic B, Pokrajac M, et al. Karakteristike populacionog farmakokinetickog pristupa analizi podataka i njegov značaj u razvoju i primeni lekova. *Arh farm* 2005;55:489-98
14. Stratta P, Quaglia M, Cena T, et al. The interactions of age, sex, body mass index, genetics, and steroid weight-based doses on tacrolimus dosing requirement after adult kidney transplantation. *Eur J Clin Pharmacol* 2012;68(5):671-80
15. Antignac M, Barrou B, Farinotti R, et al, Population pharmacokinetics and bioavailability of tacrolimus in kidney transplant patients. *Br J Clin Pharmacol* 2007;64(6):750-7
16. Velickovic-Radovanovic R, Catic-Djordjevic A, Milovanovic JR, et al. Population pharmacokinetics of tacrolimus in kidney transplant patients. *Int J Clin Pharmacol Ther* 2010;48(6):375-82
17. Hu C, Zhou A. An Impoved Approach For Confirmatory Phase III Population Pharmacokinetic Analysis. *J Clin Pharm* 2008;48(7):812-22
18. Ette EI, Williams PJ Population pharmacokinetics II: estimation methods. *Ann Pharmacother* 2004;38(11):1907-15
19. Mosuamba FT, Mourad M, Haufroid V, et al. A simultaneous D-optimal Designed Study of Population Pharmacokinetic analysis of Micofenolic Acid and Tacrolimus Early After Renal Transplantation. *J Clin Pharmacol* 2012;52(12):1833-43
20. Premaud A, Weber LT, Tönshoff B. Population pharmacokinetics of mycophenolic acid in pediatric renal transplant patients using parametric and nonparametric approaches. *Pharmacol Res* 2011;63(3):216-24
21. Jelliffe R, Neely M, Schumitzky A, et al. Nonparametric population modeling and Bayesian analysis. *Pharmacol Res* 2011;64(4):426
22. Levitt D et al. PKQuest\_Java: free interactive physiologically based pharmacokinetic software package and tutorial. *BMC Res Notes* 2009;2:158
23. Perez-Urizar J, Granados-Sodo V, Flores-Murrieta FJ at al. Pharmacokinetic-pharmacodynamic modeling: why? *Arch Med Res* 2000; 31(6):539-45
24. Danhof M, de Lange EC, Della Pasqua OE, at al. Mechanism-based pharmacokinetics-pharmacodynamics (PK-PD) modeling in translational drug research. *Trends Pharmacol Science* 2008;29(4):186-91
25. Sheiner LB, Steimer JL. Pharmacokinetic/Pharmacodynamic Modeling in Drug Development. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology* 2000;40:67-95
26. Weber LT. Verbesserung der Arzneimittelsicherheit durch Therapiemonitoring. *Monatsschrift Kinderheilkunde* 2007;8:724-32

27. Johnston A, Holt DW. Therapeutic drug monitoring of immunosuppressant drugs. *Br J Clin Pharmacol* 1999;47:339-50
28. Kahan DB, Keown P, Levy G, Johnston A. Therapeutic drug Monitoring of Immunosuppressant Drug in Clinicle Practice. *Clin Ther* 2002;24(3):330-50
29. Kuypers DR. Immunosuppressive drug monitoring- what to use in clinical practice today to improve renal graft outcome. *Transpl Int* 2005;18(2):140-50
30. Armstrong V, Oellerich M. New developments in the immunosuppressive drug monitoring of cyclosporine tacrolimus, and azathioprine. *Clinic Biochem* 2001;34(1):9-16
31. Velickovic-Radovanovic R i sar. Farmakoterapija.1.izd.ur:Velickovic-Radovanovic R. Niš:Galaksija & Medicinski fakultet u Nišu;2011
32. Wallace JC, Kingsmore DB. Transplantation and immunosuppressive therapy. *Anaesth Intensive Care* 2006;1:196-9
33. Masuda S, Inui K. An update review on individualized dosage adustment of calcineurin inhibitors in organ transplant patients. *Pharmacol Ther* 2006;112(1):184-98
34. Venkat KK, Venkat A. Care of the Renal Transplant Recipient in the Emergency Department. *Ann Emerg Med* 2004;44(4):330-41
35. Gourishankar S, Turner P, Halloran P. New developments in immunosuppressive therapy in renal transplantation. *Expert Opin Biol Ther* 2002;2(5):483-501
36. Rangel EB. The metabolic and toxicological considerations for immunosuppressive drugs used during pancreas transplantation. *Expert Opin Drug Metab Toxicol* 2012;8(12):1531-48
37. Lemahieu WP, Maes BD, Vanrenterghem Y. Different evolution of trough and dose levels during the first year after transplantation for tacrolimus versus cyclosporine. *Transplant Proc* 2005;37(5):2051-3
38. Libetta C, Sepe V, Zucchi M, et al. Influence of Methylprednisolone on Plazma Homocysteine Levels in Cadavere Renal Transplant Recipients. *Tranpl Proc* 2006;38(9):2893-4
39. Hoshinaga K, Aikawa A, Murai M, et al. A Regimen of tacrolimus-based immunosuppression with basiliximab, mycophenolate mofetil, and low-dose steroid reduces acute rejection in kidney transplants. *Transpl Proc* 2005;37(4):1762-3
40. Greenblatt D, Moltke LL. Gender has a small but statistically significant effect on clearance of CYP3A substrate drugs. *J Clin Pharmacol* 2008;48: 1350-5
41. Cattaneo D, Perico N, Remuzzi G. From Pharmacokinetics to Pharmacogenomics: A new Approach to Tailor Immunosuppressive Therapy. *Am J Transplant* 2004;4:299-310
42. Srinivas TR, Kaplan B, Meier-Krieshe H. Mycophenolate mofetil in solid organ transplantation. *Expert Opin Pharmacother* 2003;4(12):2325-45
43. Valenzuela M, Delucchi A, Ferrario M, et al. Early Steroid Withdrawal in Pediatric Renal Transplantation. *Rev Med Child* 2006;134(11):1393-401
44. Shipkova M, Armstrong VW, Oellerich M, et al. Mycophenolat mofetil in organ transplantation- focus on metabolism, safety and tolerability. *Expert Opin Drug Metab Toxicol* 2005;1(3):505-26
45. Staatz CF, Tett SE. Clinical Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of Mycophenolate in Solid Organ Transplant Recipients. *Clin Pharmacokinet* 2007;46(1):13-58
46. Brenner S, Vethe N, Rootwelt H, et al. Mycophenolat pharmacokinetics and pharmacodynamics in belatacept treated renal allograft recipients-a pilot study. *J Transl Med* 2009;7:64
47. Winter B, van Gelder, Glander P, et al. Population Pharmacokinetics of Mycophenolic Acid. *Clin Pharmacokinet* 2008;47(12):827-38
48. Bebarta VS, Heard K, Nadelson C. Lack of Toxic Effects Following Acute Overdose of Cellcept (Mycophenolate Mofetil). *J Toxicol Clin Toxicol* 2004;42(6):917-9
49. Kahan BD. Sirolimus-a comprehensive review. *Expert Opin Pharmacother* 2001;2(11):1903-17
50. Rangan GK. Sirolimus-Associated Proteinuria and Renal Dysfunction. *Drug Saf* 2006;29(12):1153-61
51. Diebli N, Rousseau A, Hoizey G, et al. Sirolimus Population Pharmacokinetic/Pharmacogenetic Analysis and Bayesian Modelling in Kidney Transplant Recipients. *Clin Pharmacokinet* 2006;45(11):1135-48
52. Kirchner G, Meier-Wiedenbach I, Manns M. Clinical Pharmacokinetics of Everolimus. *Clin Pharmacokinet* 2004;43(2):83-95
53. Patel JK, Kobashigawa JA. Everolimus: an immunosuppressant agent in transplantation. *Expert Opin Pharmacother* 2006;7(10):1347-55
54. Kahan BD, Malahati K. Clinical Pharmacokinetic of Sirolimus. *Clin Pharmacokinet* 2001;40(8):573-85
55. Champman TM, Perry CM. Everolimus. *Drugs* 2004;64(8):861-72
56. Kuypers DR, Vanrenterghem YF. Monoclonal antibodies in renal transplantation: old and new. *Nephrol Dial Transplant* 2004;19(2):297-300
57. Pascual SJ, Hernández MD. Immunosuppression for living donor renal allograft recipients. *Nefrologia* 2010;30:2:80-4

58. Wei W, Hang Y, Xiao-peng H, et al. A retrospective comparison of the efficacy and safety in kidney transplant recipients with basiliximab and antithymocyte globulin. *Chin Med J* 2012;125(6):1235-40
59. Viganò J, Gruttadauria S, Mandila L, et al. The Role of Basiliximab Induction Therapy in Adult-to-Adult Living-Related Transplantation and Deceased Donor Liver Transplantation: A Comparative Retrospective Analysis of a Single-Center Series. *Transpl Proc* 2008;40(6):1953-5
60. Vafadari R, Quaedackers ME, Kho MM. Pharmacodynamic analysis of tafacitinib and basiliximab in kidney allograft recipients. *Transplantation* 2012;94(5):465-72
61. Varun V, Sanjiv J. Current immunosuppressive drugs used in transplant: classification and status. *Apollo Medicine* 2008;5(4):373-6
62. Hamwi A, Salomon A, Steinbrugger R, et al. Cyclosporine Metabolism in Patients After Kidney, Bone Marrow, Heart-Lung, and Liver Transplantation in the Early and Late Posttransplant Periods. *Am J Clin Pathol* 2000;114:536-43
63. Kyriakides G, Miller J. Use of Cyclosporine in Renal Transplantation. *Transpl Proc* 2004;36(2):167-72
64. Rodrigues R, Cook J, Lopez G, et al. Circadian variation of Cyclosporin A in renal transplant patients. *Rev Alerg Mex* 2004;51(1):381-8
65. Lee KL, Peng YL, Chou JL, et al. Economic Evaluation of Therapeutic Drug Monitoring Services in Renal Transplant Recipients Treated With Cyclosporin. *Transpl Proc* 2000;32(7):1801-6
66. Morozumi K, Takeda A, Uchida K, et al. Cyclosporine Nephrotoxicity: How Does It Affect Renal Allograft function and Transplant Morphology. *Transpl Proc* 2004;36(2):251-6
67. Martins L, Ventura A, Branco MJ, et al. Cyclosporine Versus Tacrolimus in Kidney Transplantation: Are There Differences in Nephrotoxicity? *Transpl Proc* 2004;36(4):877-9
68. Trojan TD, Khan DA. Calcineurin inhibitors in chronic urticaria. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2012;12(4):412-20
69. Plosker GL, Foster RH. Tacrolimus A Further Update of its Pharmacology and Therapeutic Use in the Management of Organ Transplantation. *Drugs* 2000;59(2):323-89
70. Wallemaca P, Verbeeck R. Comparative Clinical Pharmacokinetics of tacrolimus in Pediatric and Adult Patients. *Clin Pharmacokinet* 2001;40(4):383-96
71. McCormack PL, Keating GM. Tacrolimus in Heart Transplant Recipients. *Drugs* 2006;66(17):2269-79
72. Grover A, Frassetto LA, Benet LZ, et al. Pharmacokinetics differences corroborate observed low tacrolimus dosage in Native American renal transplant patients. *Drug Metab Dispos* 2011;39(11):2017-9
73. Flechner SM, Kobashigawa J, Klintmalm G. Calcineurin inhibitor-sparing regimens in solid organ transplantation: focus on improving renal function and nephrotoxicity. *Clin Transplant* 2008;22(1):1-15
74. Staats C, Tett S. Clinical Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of Tacrolimus in solid Organ Transplantation. *Clin Pharmacokinet* 2004;43(10):623-53
75. Liaudo I, Cassis L, Torras J, et al. Impact of small molecules immunosuppressants on P-glycoprotein activity and T-cell. *J Pharm Pharm Sci* 2012;15(3):407-19
76. Szakacs G, Varadi A, Ozvgy-Laczka C, et al. The role of ABC transporters in drug absorption, distribution, metabolism, excretion and toxicity (ADME-Tox). *Drug Discov Today* 2008;13(9,10):379-93
77. Pelkonen O, Turpeinen M, Hakkola J, et al. Inhibition and induction of human cytochrome P450 enzymes: current status. *Arch Toxicol* 2008;82:667-715
78. Anglicheau D, Flamant D, Schlageter MH, et al. Pharmacokinetics interaction between corticosteroids and tacrolimus after renal transplantation. *Nephrol Dial Transplant* 2003;18:2409-14
79. Maguire M, Franz T, Hains DS. A clinically significant interaction between tacrolimus and multiple proton pump inhibitors in a kidney transplant recipient. *Pediatr Transplant* 2012;16(6):217-20
80. Iwasaki K. Metabolism of Tacrolimus (FK506) and Recent Topics in Clinical Pharmacokinetics. *Drug Metab Pharmacokinet* 2007;22(5):328-35
81. Kuypers D, Naesens M, Jonge H, et al. Tacrolimus Dose Requirement and CYP 3A5 Genotype and the Development of Calcineurin Inhibitor-Associated Nephrotoxicity in Renal Allograft Recipients. *The Drug Monit* 2010;4(32):394-404
82. Dai Y, Herbert MF, Isoherranen N, et al. Effect of CYP 3A5 Polymorphism on Tacrolimus metabolic clearance in vitro. *Drug Metab Dispos* 2006;34(5):836-47
83. Satoh S, Kagaya H, Saito M, et al. Lack of tacrolimus circadian pharmacokinetics and CYP3A5 pharmacogenetics in the early and maintenance stages in Japanese renal transplant recipients. *Br J Clin Pharmacol* 2008;66(2):208-14
84. Dansirikul C, Staats CE, Duffule SB, et al. Relationships of tacrolimus pharmacokinetic measures and adverse outcomes in stable adult liver transplant recipients. *J Clin Pharm Ther* 2006;31(1):17-25
85. Schiff J, Cole E, Cantarovich M. Therapeutic Monitoring of Calcineurin Inhibitors for the Nephrologist. *Clin J Am Soc Nephrol* 2007;2(2):374-84



86. Miyanishi K, Yamamoto T, Irida T, et al. Effect of Tacrolimus (FK506) on the Development of Osteonecrosis in a Rabbit Model. *Immunopharmacol Immunotoxicol* 2008;30(1):79-90
87. Nieman CU, Serkova NJ. Biochemical mechanisms of nephrotoxicity: application for metabolomics. *Expert Opin Drug Metab Toxicol* 2007;3(4):527-44
88. Moore E, Bellomo R, Nichol A. Biomarkers of acute kidney injury in anesthesia, intensive care and major surgery: from the bench to clinical research to clinical practice. *Minerva Anesthesiol* 2010;76(6):425-50
89. Dogan E, Ghanta M, Tanriover B. Collapsing glomerulopathy in a renal transplant recipient: potential molecular mechanisms. *Ann Transplant* 2011;16(2):113-6
90. Ganji MR, HARRIRIAN A. Chronic allograft dysfunction: major contributing factors. *Iran J Kidney Dis* 2012;6(2):88-93
91. Haddad EM, McAlister VC, Renouf E, et al. Cyclosporin versus tacrolimus for liver transplanted patients. *Cochrane Database Syst Rev* 2006;18(4):CD005161
92. Ishii T, Yasuda M, Itami Y, et al. Long-term renoprotective effect of candesartan in renal transplant patients. *Transpl Proc* 2012;44(3):638-41
93. JOKANOVIC M. Toksikologija. 2. izd. Beograd: JOKANOVIC M; 2010
94. Lo A. Strategies to prevent chronic allograft nephropathy in kidney transplantation: focus on calcineurin inhibitors. *Prog Transplant* 2004;14(2):157-64
95. Wang CH, Ko WJ, Chou NK. Efficacy and safety of tacrolimus versus cyclosporine microemulsion in primary cardiac transplant recipients: 6-month results in Taiwan. *Transpl Proc* 2004;36(8):2384-5
96. Carson JM, Newman ED, Farber JL. Tacrolimus-induced thrombotic microangiopathy: natural history of a severe, acute vasculopathy. *Clin Nephrol* 2012;77(1):79-84
97. Anil Kumar M, Irfan Saeed M, Ranganna K, et al. Comparison of four different immunosuppression protocols without long-term steroid therapy in kidney recipients monitored by surveillance biopsy: five-year outcomes. *Transpl Immunol* 2008;20(1-2):32-42
98. Cabello M, Garcia P, Gonzalez-Molina M, et al. Pharmacokinetics of Once-Versus Twice-Daily Tacrolimus Formulations in Kidney Transplant Patients Receiving Expanded Criteria Deceased Donor Organs: A Single-Center Randomized Study. *Transpl Proc* 2010;42:3038-40
99. Nassar T, Rom A, Nyska A, Benita S. Novel double coated nanocapsules for intestinal delivery and enhanced oral bioavailability of tacrolimus a P-gp substrate drug. *J Control Release* 2009;133(1):77-84
100. Lemahieu WP, Maes BD, Verbeke K, et al. Alternation of CYP3A4 and P-glycoprotein activity in vivo with time in renal graft recipients. *Kidney Int* 2004;66(1):433-40
101. Schwartz JB. The current state of knowledge on age, sex, and their interactions on clinical pharmacology. *Clin Pharmacol Ther* 2007;82(1):87-96
102. Wolbold R, Klein K, Burk O, et al. Sex a major determinant of CYP3A4 expression in human liver. *Hepatology* 2003;38:978-88
103. Greanya ED, Poulin E, Partori N, et al. Pharmacokinetics of Tacrolimus and micophenolat mophetil in renal transplant patients on a corticosteroid-free regimen. *Am J Health Sys Pharm* 2012;69(2):134-42
104. Molpeceres J, Chacón M, Guzmán M, et al. Dependency of cyclosporine tissue distribution and metabolism on the age and gender of rats after a single intravenous dose. *Int J Pharm* 2000;197(1-2):129-41
105. Press RR, Ploeger BA, Den Hartigh J, et al. Explaining Variability in Tacrolimus Pharmacokinetics to Optimize Early Exposure in Adult Kidney Transplant Recipients. *Ther Drug Monit* 2009;31(2):187-97
106. Chen B, Zheng WX, Gu ZD, et al. Population pharmacokinetic study on cyclosporine in Chinese renal transplant recipients. *Eur J Clin Pharmacol* 2011;67:601-12
107. Paine MF, Ludington SS, Chen ML, et al. Do men and women differ in proximal small intestinal CYP3A or P-glycoprotein expression? *Drug Metab Dispos*, 2005;33:426-33
108. Quteineh L, Verstuyft C, Furlan V. Influence of CYP3A5 genetic polymorphism on tacrolimus daily dose requirements and acute rejection in renal graft recipients. *Basic Clin Pharmacol Toxicol* 2008;103(6):546-52
109. Han N, Yun H, Hong J, et al. Prediction of the tacrolimus population pharmacokinetics parameters according to CYP3A5 genotype and clinical factors using NONMEM in adult kidney transplant recipients. *Eur J Clin Pharmacol* 2012;doi:10.1007/s00228-012-1296-4
110. Rong G, Jing L, Deng-Qing L, et al. Influence of CYP3A5 and MDR1(ABCB1) polymorphisms on the pharmacokinetics of tacrolimus in Chinese renal transplant recipients. *Transplant Proc* 2010;42(9):3455-8
111. Jones TE, Morris RG. Pharmacokinetics interaction between Tacrolimus and Diltiazem: dose response relationship in kidney transplant patients. *Clin Pharmacokinet* 2002;41(5):381-8
112. Ohtani H, Barter Z, Minematsu T, et al. Bottom-up modeling and simulation of tacrolimus clearance: prospective investigation of blood cell distribution, sex and CYP3A5 expression as covariates and

- assessment of study power. *Biopharm Drug Dispos* 2011;32(9):498-506
113. Barracough KA, Isbel NM, Kirkoatrick CM, et al. Evaluation of limited sampling methods of tacrolimus exposure in adult kidney transplant patients. *Br J Pharmacol* 2011;71(2):207-23
114. Wong KM, Shek C, Chan KF, et al. Abbreviated tacrolimus area-under the curve monitoring for renal transplant recipients. *Am J Kidney Dis* 2000; 35 (4): 660-6
115. Barracough KA, Staats CE, Johnson DW, et al. Kidney transplant outcomes are related to tacrolimus, mycophenolic acid and prednisolone exposure in the first week. *Transplant Int* 2012;25(11):1182-93
116. Zhao W, Fakhoury M, Baudouin V, et al. Limited sampling strategy for estimating individual exposure of Tacrolimus in pediatric kidney transplant patients. *Ther Drug Monit* 2011;33(6):681-7
117. Wallemacq P, Armstrong VW, Brunet M, et al. Opportunities to optimize tacrolimus therapy in solid organ transplantation: report of the European consensus conference. *Ther Drug Monit* 2009;31(2):139-52
118. Scholten EM, Cremers CLM, Schoemaker RC, et al. AUC-guided dosing of tacrolimus prevents progressive systemic overexposure in renal transplant recipients. *Kidney Int* 2005;67(6):2440-7
119. Jorgensen K, Porsen J, Madsen S, et al. C-2(2-h) levels are not superior to trough levels as estimates of the area under the curve in tacrolimus-treated renal-transplant patients. *Nephrol Dial Transpl* 2002; 17:1487-90
120. Miura M, Satoh S, Niioka T, et al. Early phase limited sampling strategy characterizing tacrolimus and mycophenolic acid pharmacokinetics adapted to the maintenance phase of renal transplant patients. *Ther Drug Monit* 2009;31(4):467-74
121. Rubio A, Prado A, Molina LM, et al. Clinical pharmacokinetics of tacrolimus in heart transplantation: new strategies of monitoring. *Transpl Proc* 2003;35(5):1988-91
122. Ku YM, Min D. An abbreviated area- under- the curve monitoring for tacrolimus in patients with liver transplantation. *Ther Drug Monit* 1998; 20 (2): 219- 23
123. Velickovic-Radovanovic R, Mikov M, Paunovic G, et al. Gender Differences in Pharmacokinetics of Tacrolimus and Their Clinical Significance in Kidney Transplant Recipients. *Gend Med* 2011;8(1):23-31
124. Staats CE, Willis C, Taylor PJ, et al. Population Pharmacokinetics of Tacrolimus in Adult Kidney Transplant Recipients. *Clin Pharmacol Ther* 2002;72(6):660-9
125. Monchaud C, de Winter BC, Knoop C, et al. Population pharmacokinetic modelling and design of a Bayesian estimator for therapeutic drug monitoring of tacrolimus in lung transplantation. *Clin Pharmacokin* 2012;51(3):175-86
126. Zhang XQ, Wang ZW, Fan JW, et al. The impact of sulfonylureas on tacrolimus apparent clearance revealed by a population pharmacokinetics analysis in Chinese adult liver-transplant patients. *Ther Drug Monit* 2012 ;34(2):126-33
127. Ohtani H, Barter Z, Aarabi M, et al. A retrospective comparison of the efficacy and safety in kidney transplant recipients with basiliximab and antithymocyte globulin. *Chin Med J* 2012;125(6):1235-40
128. Benkali K, Rostaing L, Premaud A, et al. Population pharmacokinetics and Bayesian estimation of tacrolimus exposure in renal transplant recipients on a new once-daily formulation. *Clin Pharmacokin* 2010;49(10):683-92
129. Morales JM, Andrés A, Dominguez-Gil B, et al. Ten years of treatment with tacrolimus is related to an excellent renal function, allowing monotherapy in a large proportion of cases: unicentric results of the tacrolimus versus cyclosporine A European Multicentric Study in kidney transplant patients. *Transpl Proc* 2005;37(9):3738-42
130. Artz MA, Boots JM, Ligtnerberg G Conversion from cyclosporine to tacrolimus improves quality-of-life indices, renal graft function and cardiovascular risk profile. *Am J Transplant* 2004;4(6):937-45
131. Midtvedt K, Jenssen T, Hartmann A, et al. No change in insulin sensitivity in renal transplant recipients converted from standard to once-daily prolonged release tacrolimus. *Nephrol Dial Transplant* 2010;26(11):3767-72
132. Al-Ghareeb SM, El-Aqroudy AE, Al Arrayed A, et al. Risk Factors and Outcomes of New-Onset Diabetes After Transplant: Single-Centre Experience. *Exp Clin Transplant* 2012; doi 10.6002/ect.2012.0063
133. Sessa A, Esposito A, Iaricohi G, et al. Cardiovascular risk factors in renal transplant patients after switch from standard tacrolimus to prolonged-release tacrolimus. *Transpl Proc* 2012;44(7):1901-6
134. Kurzendorf U, Kramer B, Arns W, et al. Bone disease after renal transplantation. *Nephrol Dial Transplant* 2008;23:450-8
135. Pagadala M, Dasarathy S, Eqtasad B et al. Posttransplant metabolic syndrome: an epidemic waiting to happen. *Liver Transpl* 2009;15(12):1662-70
136. Shu KH, Tsai IC, Ho HC, et al. Coronary artery calcification in kidney transplant recipients with long-term follow-up. *Transpl Proc* 2012;44(3):687-90

137. Hon Y, Chamberlain C, Kleiner D, et al. Evaluation of Tacrolimus abbreviated area-under-the-curve monitoring in renal transplant patients who are potentially at risk for adverse events. *Clin Transplant* 2010; 24(4):557-63
138. Tönshoff B, Höcker B. Treatment strategies in pediatric solid organ transplant recipients with calcineurin inhibitor-induced nephrotoxicity. *Pediatr Transplant* 2006;10(6):721-9
139. Mecule A, Poli L, Nofroni I, et al. Once daily tacrolimus formulation: monitoring of plasma levels, graft function and cardiovascular risk factors. *Transpl Proc* 2010;42(4):1317-9
140. Lam S, Partovi N, Ting LS, et al. Corticosteroid interactions with cyclosporine, tacrolimus, mycophenolate, and sirolimus: fact or fiction? *Ann Pharmacother* 2008;42(7):1037-47
141. Velickovic-Radovanovic R, Mikov M, Catic-Djordjevic A, et al. Tacrolimus as Part of Immunosuppressive Treatment in Kidney Transplantation Patients-sex differences. *Gen Med* 2012;9(6):471-80
142. Ichimaru N, Takahara S, Kokado Y, et al. Changes in lipid metabolism and effect of simvastatin in renal transplant recipients induced by cyclosporine or tacrolimus. *Atherosclerosis* 2001;158(2):417-23
143. Poggio ED, Batty DS, Flechner SM. Evaluation of renal function in transplantation. *Transplantation* 2007;84(2):131-6
144. Prigent A. Monitoring renal function and limitations of renal function tests. *Semin Nucl Med* 2008;38(1):32-46
145. Catic-Djordjevic A, Velickovic Radovanovic R, Stefanovic N, et al. Interaction between Tacrolimus and Metronidazol in a renal transplant patient. *Cent E J Med* 2012;7(5):587-90

## **Farmakokinetička ispitivanja takrolimusa kod pacijenata sa presađenim bubregom**

### **SAŽETAK**

Takrolimus (Tac) je efikasan imunosupresivni lek koji predstavlja deo standardnog imunosupresivnog protokola pacijenata sa presađenim bubregom. Njegova vodeća uloga u imunosupresivnoj terapiji se zasniva na dokazanoj prednosti u prevenciji akutne reakcije odbacivanja presađenog bubrega i očuvanju funkcije grafta. Zbog izražene interindividualne varijabilnosti i malog terapijskog indeksa takrolimusa, sprovođenje monitoringa i adekvatan farmakokinetički pristup su od posebnog značaja za optimalnu imunosupresiju. Farmakokinetičkim ispitivanjem je moguće utvrditi stepen i značaj interindividualne varijabilnosti Tac.

Poznato je da Tac tokom dugotrajne upotrebe ispoljava toksične i neželjene efekte. Farmakokinetičkom analizom podataka dobijenih terapijskim i biohemijskim monitoringom moguće je utvrditi postojanje interakcija lekova i korelaciju između koncentracije takrolimusa i njegovih neželjenih dejstava.

Cilj našeg istraživanja bio je određivanje FK parametara Tac neposredno nakon primene prve doze i njihovo potvrđivanje u ravnotežnom stanju. Osnovu istraživanja je predstavljala neprostorna i populaciona farmakokinetička analiza Tac. Analizom rezultata neprostorne FK analize Tac utvrđena je polna razlika u farmakokinetici, zbog čega su sprovedena selektivna istraživanja pri uvođenju leka u terapiju i nakon postizanja ravnotežnog stanja.

Koncentracija izmerena dva sata nakon peroralne primene je utvrđena kao indikator izloženosti takrolimusu nakon inicijalne peroralne primene leka i u ravnotežnom stanju, kod pacijenata ženskog pola. Kod pacijenata muškog pola, metod tri tačke (koncentracije Tac merene 1, 4 i 12 sati nakon peroralne primene), omogućava dobru predvidljivost ukupne izloženosti organizma leku. Nakon postizanja ravnotežnog stanja, ovaj metod je moguće zameniti merenjem koncentracije Tac postignute osam sati nakon primene leka.

Tokom istraživanja je utvrđena dozna zavisnost i polna diferencijacija interakcije između kortikosteroida i takrolimusa. Rezultati istraživanja pokazali su da uporedno sprovođenje terapijskog i biohemijskog monitoringa omogućava optimalni terapijski efekat uz minimiziranje neželjenih dejstava kompleksne imunosupresivne terapije.

Populacionom farmakokinetičkom analizom potvrđen je značajan uticaj kortikosteroida na koncentraciju Tac pri dnevnoj dozi prednizolona većoj od 25mg.

Rezultati naših istraživanja potvrđuju neophodnost izgradnje farmakokinetičkog modela takrolimusa kao naučne osnove sprovođenja racionalne farmakoterapije kod transplantiranih pacijenata.

## **Pharmacokinetics analysis of tacrolimus in kidney transplant patients**

### **SUMMARY**

Tacrolimus (Tac) is an effective immunosuppressive drug that represents a part of standard immunosuppressive protocol for kidney transplant patients. Its leading role in the immunosuppressive therapy is based on the proven benefits in the prevention of acute rejection of transplanted kidney and preservation of graft function. Therapeutic monitoring of Tac and appropriate pharmacokinetic approach are particularly important for optimal immunosuppression due to its interindividual variability and low therapeutic index. It is possible to determine the extent and significance of interindividual variability of Tac by pharmacokinetic analysis. It is known that Tac during the long-term use exerts toxic and adverse effects. It is possible to determine the presence of drug interactions and the correlation between concentration of tacrolimus and its side effects by pharmacokinetic analysis of therapeutic and biochemical monitoring data.

The aim of our study was to determine the pharmacokinetic parameters of Tac after the first oral dose and their confirmation in steady state. Non-compartment and population pharmacokinetic analysis of Tac was the basis of the research. Our results showed gender differences in the pharmacokinetics of Tac. Therefore, we conducted selective pharmacokinetic approach after first oral dose of Tac and after achieving steady state.

In female patients concentration of Tac two hours after oral administration was determined as an indicator of exposure to tacrolimus after initial oral drug administration and after achieving a steady state. In male patients, three-point method (concentrations of Tac 1, 4 and 12 hours after oral administration), provides a good predictability of the total drug exposure. After reaching a steady state, this method can be replaced by measuring the concentration achieved eight hours after drug administration.

During the study it was determined a dose dependence and gender difference of the interaction between corticosteroids and tacrolimus. The results of our study showed that the implementation of therapeutic and biochemical monitoring together enable optimal therapeutic effect with minimizing adverse effects of complex immunosuppressive therapy.

It was found by population pharmacokinetic analysis that the effects of corticosteroids on Tac concentration stops with prednisolone daily dose reduction to 25mg.

The results of our assessment confirm the necessity for development of pharmacokinetic model of tacrolimus in order to implement a rational pharmacotherapy in renal transplantation patients.

## BIOGRAFIJA KANDIDATA

Ass. Aleksandra Catić – Đorđević je rođena u Nišu, 16.10.1971. godine. Osnovnu i srednju školu završila je u Nišu sa prosekom 5.00. Farmaceutski fakultet Univerziteta u Beogradu upisala je školske 1990/91. godine a diplomirala maja 1995. godine sa ocenom 10 na diplomskom ispitu i prosečnom ocenom 9,43 u toku studija. Kao diplomirani farmaceut radila je u Apotekarskoj ustanovi Niš, Pharmaswiss-u, srednjoj medicinskoj školi Dr Milenko Hadžić u Nišu i apoteci Nevenpharm.

Na Medicinskom fakultetu Univerziteta u Nišu je u zvanju saradnika od decembra 2006.godine, a u zvanju asistenta na predmetima farmakokinetika, farmakoterapija, klinička farmacija i farmakoepidemiologija od 2010.godine. Usavršavala se iz oblasti kliničke farmacije u organizaciji TEMPUS PQ Pharm Networking – u Londonu, novembra 2011.godine (School of Pharmacy London ) i Dablinu, marta 2012.godine (Trinity college, University of Dublin). Angažovana je od 2011. godine na projektu Ministarstva nauke i tehnologije Republike Srbije broj 172044. Učesnik je mnogobrojnih kongresa i simpozijuma i aktivna u radu studentske organizacije NAPSER. Govori ruski, engleski i grčki jezik.

e-mail: [aleksandra@medfak.ni.ac.rs](mailto:aleksandra@medfak.ni.ac.rs)

Prilog:

Zahvaljujem se projektima Ministarstva nauke i tehnologije Republike Srbije broj 172044 i 41018, koji su podržali realizaciju istraživanja tokom izrade doktorske teze “*Farmakokinetička ispitivanja takrolimusa kod pacijenata sa presađenim bubregom*”.

## REPREZENTATIVNE REFERENCE

1. Catic-Djordjevic A, Velickovic-Radovanovic R, Stefanovic N, Cvetkovic T. Interactions between Tacrolimus and Metronidazole in a renal transplant patient. *Central European Journal of Medicine* 2012; 7(5): 587-90 **IF: 0.312** (M23)
2. Velickovic-Radovanovic R, Mikov M, Paunovic G, Djordjevic V, Stojanovic M, Catic-Djordjevic A, Cvetkovic T. Gender differences in pharmacokinetics of tacrolimus and their significance in kidney transplant recipients. *Gender Medicine* 2011; 8(1): 23-31 **IF: 2.101** (M21)
3. Velickovic-Radovanovic R, Paunovic G, Mikov M, Djordjevic V, Stojanovic M, Catic-Djordjevic A, Cvetkovic T. Clinical Pharmacokinetics of Tacrolimus after the First Oral Administration in Renal Transplant Recipients on Triple Immunosuppressive Therapy. *Basic Clin Pharmacol Toxicol* 2010; 106(6): 505-10 **IF: 2.371** (M22)
4. Velickovic-Radovanovic R, Catic-Djordjevic A, Milovanovic JR, Djordjevic V, Paunovic G, Jankovic SM. Population pharmacokinetics of tacrolimus in kidney transplant patients. *Int J Clin Pharmacol Ther* 2010; 48(6): 375-82 **IF: 1.189** (M23)
5. Velickovic-Radovanovic R, Mikov M, Catic-Djordjevic A, et al. Tacrolimus as Part of Immunosuppressive Treatment in Kidney Transplantation Patients-sex differences. *Gender Medicine* 2012;9(6):doi10.1016 **IF: 2.101** (M21)
6. Velickovic-Radovanovic R, Catic A, Paunovic G, et al. Therapeutic monitoring immunosuppressive drugs. *Acta medica mediana* 2009;1:27-32