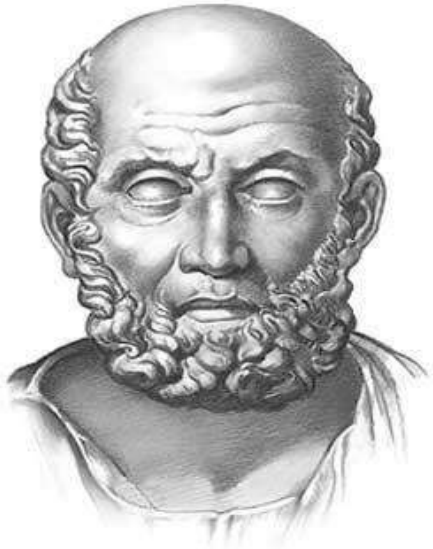
Терапевтический лекарственный мониторинг – лабораторные аспекты

Безвуляк Екатерина Игоревна

ФГБУ «НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ЦЕНТР ИМЕНИ В.А. АЛМАЗОВА» МЗ РФ

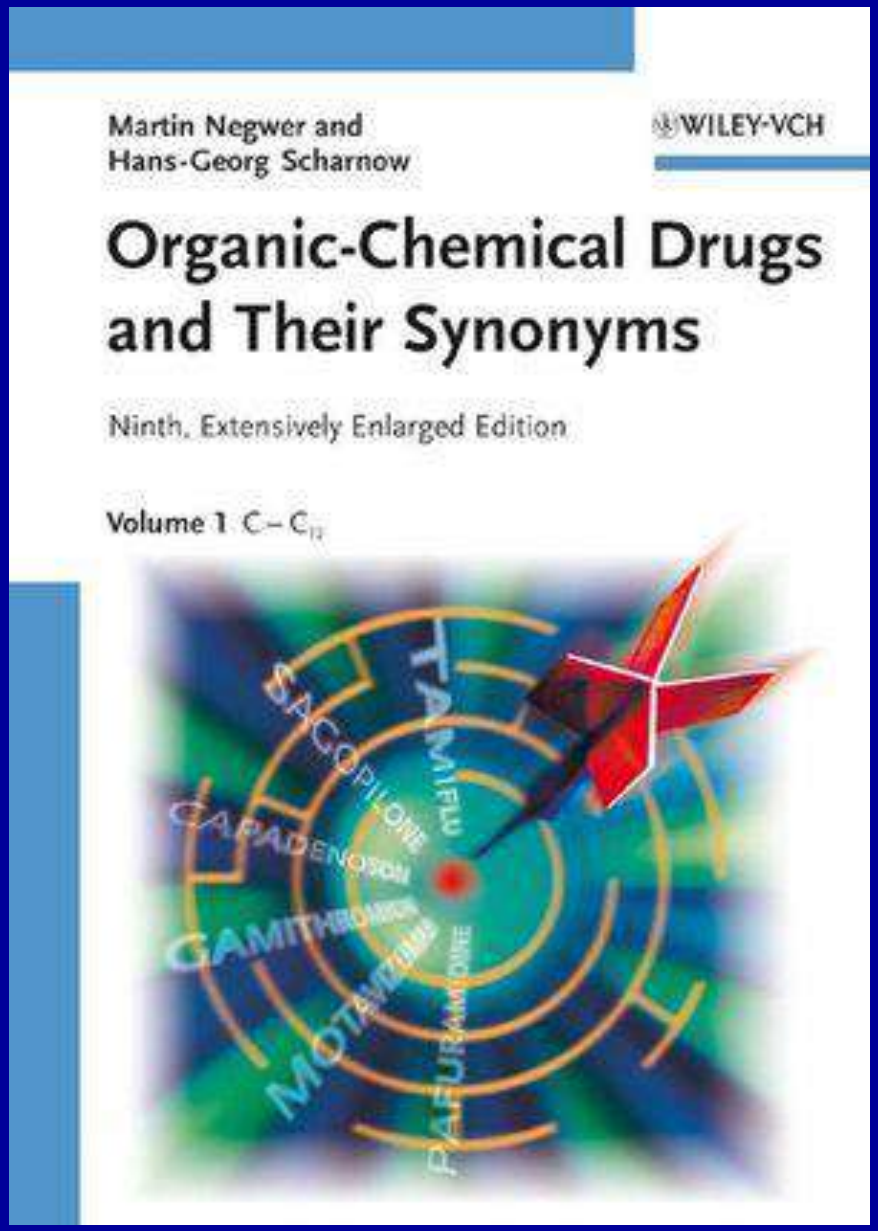
Кафедра лабораторной медицины и генетики

Санкт-Петербург 19.04.2018 г.



ГИППОКРАТ
460-370 до н. э.

АВИЦЕННА
(Абу-Али ибн Сина)
ок. 980-1037



1961 г. – 2600

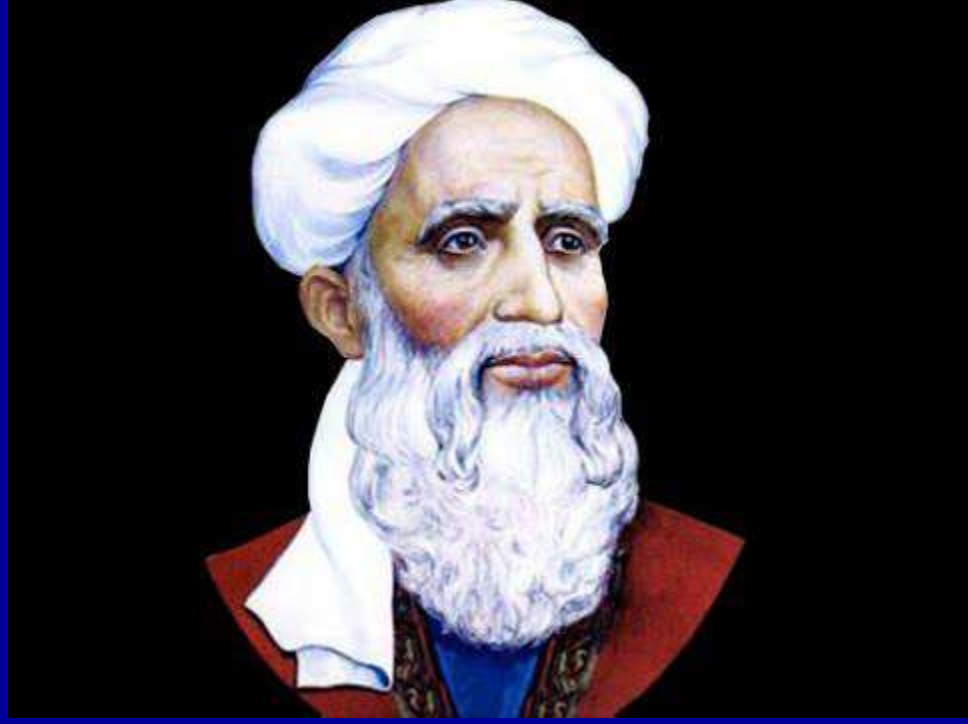
1971 г. – 5276

1987 г. - более 9000

Thymine
Adenine

“Что ныне снадобьем слывет, то завтра станет ядом. И что ж? Лекарством этот яд опять сочтут больные”

Рудаки



“Ядом становится любое химическое вещество, если при его соприкосновении с организмом, оно вызвало заболевание или гибель”

С.А. Куценко

Наиболее ранним документом, свидетельствующим о знаниях древних о ядах, считают Эберский папирус, написанный примерно за 1500 лет до н.э.. Сегодня его рассматривают как самую раннюю фармакопею, дошедшую из древности до наших дней. Она содержит сведения о некоторых ядах — опии, мышьяке, аконите, циансодержащих гликозидах и др. Упоминается также яд, получаемый из калабарских бобов (Physostigmine venenesa) и используемый в то время для судебных наказаний (пыток).

Поразительно, что этот препарат — физостигмин (эзерин) входит и во все современные фармакопеи в качестве лекарственного средства из класса обратимых ингибиторов холинэстеразы, производных карбаминовой кислоты. Одновременно он широко известен и как достаточно сильное ядовитое химическое соединение. Точно так же из далекой древности пришел к нам строфантин.

Доисторические охотники масаи, населявшие Кению несколько тысяч лет назад, использовали экстракт растения вида Strophantus для смазывания дротиков и стрел, которыми они убивали животных на охоте и своих врагов в различных столкновениях. Сведения о ядах содержатся во многих древних книгах: в древнеиндийских текстах — Ведах (XII и IX столетия до н.э.), в "Одиссее" Гомера (около 850 г. до н.э.), в сочинениях Аристотеля (384—322 гг. до н.э.), Овидия (43 г. до н.э. — 18 г. н.э.) и др.

В древнекитайской медицине ядам придавалось огромное значение. Легенды говорят о том, что император Шен-Нунгу прожил 140 лет и знал не менее 70 ядов и противоядий. Утверждают, что китайские императоры умирали, выпив настойку из волшебных снадобьев, которые даровали им якобы вечную жизнь.

10 млн. химических веществ, 60 000 – лекарственные препараты

Острое отравление - 268 511;

52 465 – летальный исход (40 000 - ЛС), ср. возраст – 27 лет;

РФ, 2002 г.

В 60 – е годы XX века в Великобритании было официально признано, что ни один фармакологически эффективный препарат не может быть совершенно лишен риска и, что не все риски могут быть распознаны до выхода препарата на рынок. С этим тезисос согласны эксперты ООН и ВОЗ.

Система безопасности лекарственных препаратов

1958 г. – США – первая официальная организация для исследования побочных эффектов ЛС - деапартамент по изучению дискразий крови, вызываемых лекарствами;

1958 г. – ФРГ – комиссия по лекарствам Германского медицинского общества;

1963 г. – Великобритания – комитет по безопасности ЛС при министерстве здравоохранения Соединенного Королевства;

1973 г. – Франция – 30 региональных центров контроля безопасности лекарств;

1936 г. – РСФСР – резолюция “О порядке испытания новых ЛС и методик, которые могут представлять опасность для здоровья и жизни человека”;
1973 г. – СССР – Всесоюзный организационно-методический центр по изучению побочных действий лекарств;

1968 г. – ВОЗ –

Pilot Research Progect

- участвует 80 стран

- 150 – 200 тыс. сообщений о НПР в год

“Метод спонтанных сообщений”

ВРАЧ или другое лицо, сообщающее о НПР
ФИО:
Должность и место работы:
Адрес учреждения:
Телефон:
Дата:

Лечение: □ амбулаторное □ стационарное □ самолечение
Сообщение: □ первичное
□ повторное (дата первичного _____)

ИНФОРМАЦИЯ О ПАЦИЕНТЕ
№ амбулаторной карты или истории болезни _____
Пол: □ М □ Ж
Возраст: _____ Вес (кг): _____
Наличие беременности □
Нарушение функции печени
□ да □ нет □ не известно
Нарушение функции почек
□ да □ нет □ не известно
Аллергия (указать на что):

ЛЕКАРСТВЕННОЕ СРЕДСТВО (ЛС), предположительно вызвавшее НПР

Международное непатентованное название (МНН)				Торговое название (ТН)	
Производитель		Страна		Номер серии	
Показание к назначению	Путь введения	Разовая/Суточная доза	Дата начала терапии	Дата обнаружения НПР	Доза, вызвавшая НПР
			/ /	/ /	

ДРУГИЕ ЛЕКАРСТВЕННЫЕ СРЕДСТВА, принимаемые в течение последних 3 месяцев, включая ЛС принимаемые пациентом самостоятельно (по собственному решению)
Укажите «НЕТ», если других лекарств пациент не принимал

МНН	ТН	Путь введения	Дата начала терапии	Дата прекращения терапии	Показание
			/ /	/ /	
			/ /	/ /	
			/ /	/ /	
			/ /	/ /	
			/ /	/ /	

Описание НПР:

Дата начала НПР: ___/___/___
Дата разрешения: ___/___/___

Сопровождалось ли отмена ЛС исчезновением НПР? □ да □ нет □ ЛС не отменялось

Отмечено ли повторение НПР после повторного назначения ЛС? □ да □ нет □ ЛС повторно не назначалось

Предпринятые меры:
□ Без лечения
□ Отмена подозреваемого ЛС
□ Снижение дозы подозреваемого ЛС
□ Отмена сопутствующего лечения
□ Лекарственная терапия
□ Немедикаментозная терапия (в т.ч. хирургическое вмешательство)
□ Другое, указать _____

Лекарственная терапия НПР (если понадобилась)

Исход:
□ выздоровление без последствий
□ госпитализация или ее продление
□ угроза жизни
□ инвалидность
□ состояние без динамики
□ рождение ребенка с врожденной аномалией
□ смерть
□ не известно
□ другое, указать _____

Значимая дополнительная информация
Данные клинических, лабораторных, рентгенологических исследований и аутопсии, включая определение концентрации ЛС в крови/тканях, если таковые имеются и связаны с НПР (пожалуйста, приведите даты).
Сопутствующие заболевания.
Анамнестические данные, подозреваемые лекарственные взаимодействия.
Для врожденных аномалий указать все другие ЛС, принимаемые во время беременности, а также дату последней менструации.
Пожалуйста, приложите дополнительные страницы, если это необходимо.

Для обозначения количества вещества, действующего на биологический объект, используют понятие *«доза».*

Токсическая доза (D) **–**

количество вещества, попавшее во внутренние среды организма (в/ж, ч/к, в/в, в/м)

и вызвавшее токсический эффект.

Токсическая доза (D) выражается в единицах массы вещества на единицу массы организма :

мкг/кг; мг/кг; г/кг; Моль/кг; г/чел

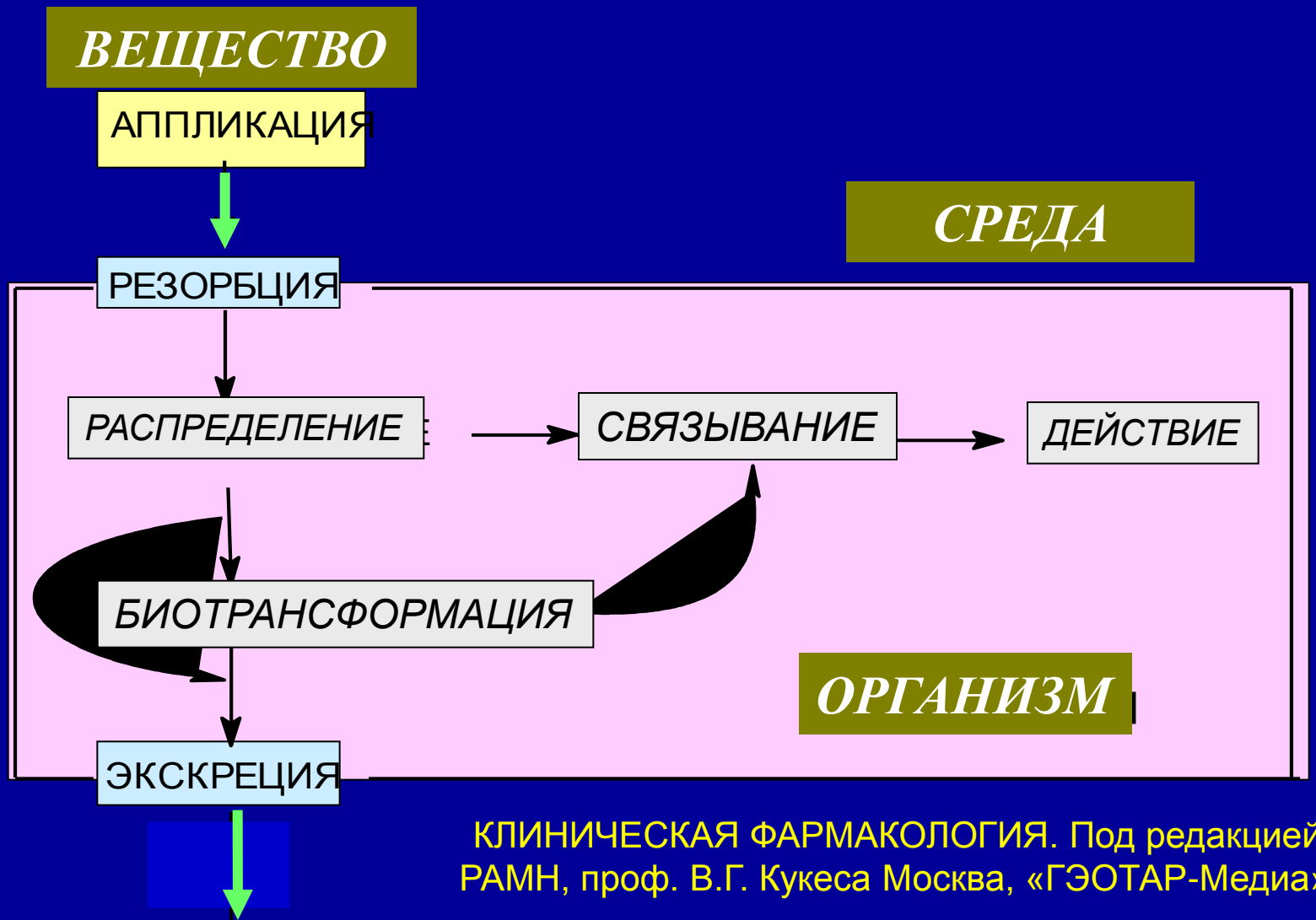
Терапевтическая концентрация – это концентрация лекарственного вещества в крови (сыворотке, плазме) человека, при которой препарат оказывает эффективное клиническое лечение без значительных побочных эффектов;

Токсическая концентрация – это концентрация лекарственного вещества в крови (сыворотке, плазме) человека, при которой появляются значительные токсические симптомы;

Летальная концентрация – это концентрация лекарственного вещества в крови (сыворотке, плазме) человека, которая вызывает смерть.

Единицы концентрации: мг, мкг, нг / л, мл; ммоль/л.

Факторы, влияющие на формирование концентрации препарата в крови



КЛИНИЧЕСКАЯ ФАРМАКОЛОГИЯ. Под редакцией акад. РАМН, проф. В.Г. Кукеса Москва, «ГЭОТАР-Медиа» 2006

Резорбция - это процесс

- проникновения вещества из внешней среды в кровяное русло организма
- проникновения вещества из внешней среды в лимфатическое русло организма

Ю.Б. Белоусова, В.Г. Кукес и др.
“Клиническая фармакология: национальное руководство”, 2014

Факторы, влияющие на скорость резорбции веществ через отделы ЖКТ

- различия pH содержимого отделов
- неодинаковая площадь всасывающей поверхности
- количество и качество пищи, принятой вместе (до, после) с токсикантом

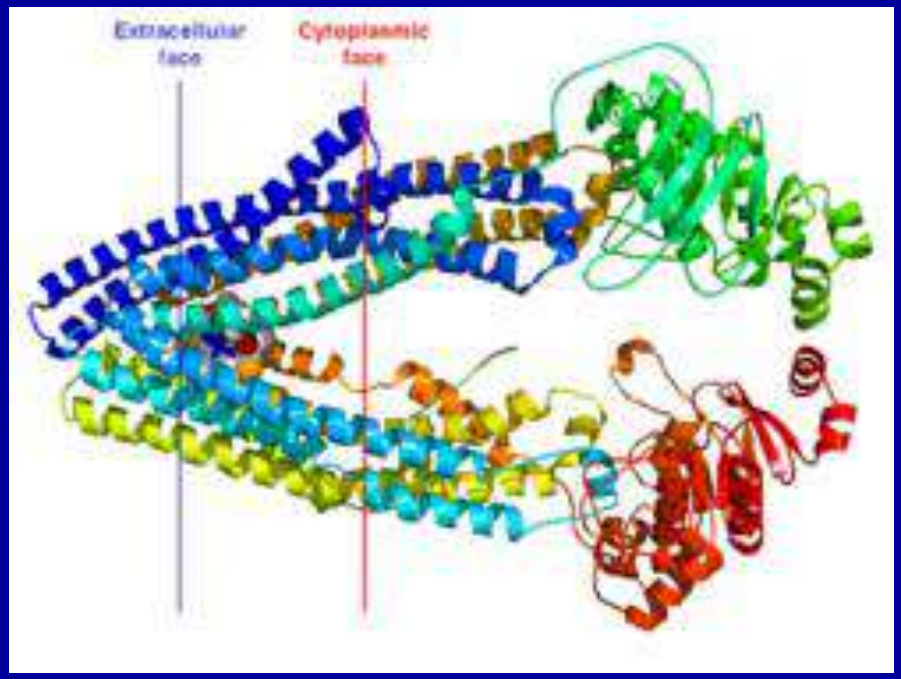
Основные свойства барьеров

- их толщина и суммарная площадь
- наличие и размеры пор
- наличие или отсутствие механизмов активного или облегченного транспорта химических веществ.

Площадь “всасывающих” поверхностей тела человека, м^2

Орган	Площадь
Кожа	1,2 - 2
Полость рта	0,02
Желудок	0,1 - 0,2
Тонкий кишечник	100
Толстый кишечник	0,5 - 1,0
Прямая кишка	0,04 - 0,07
Полость носа	0,01
Легкие	70

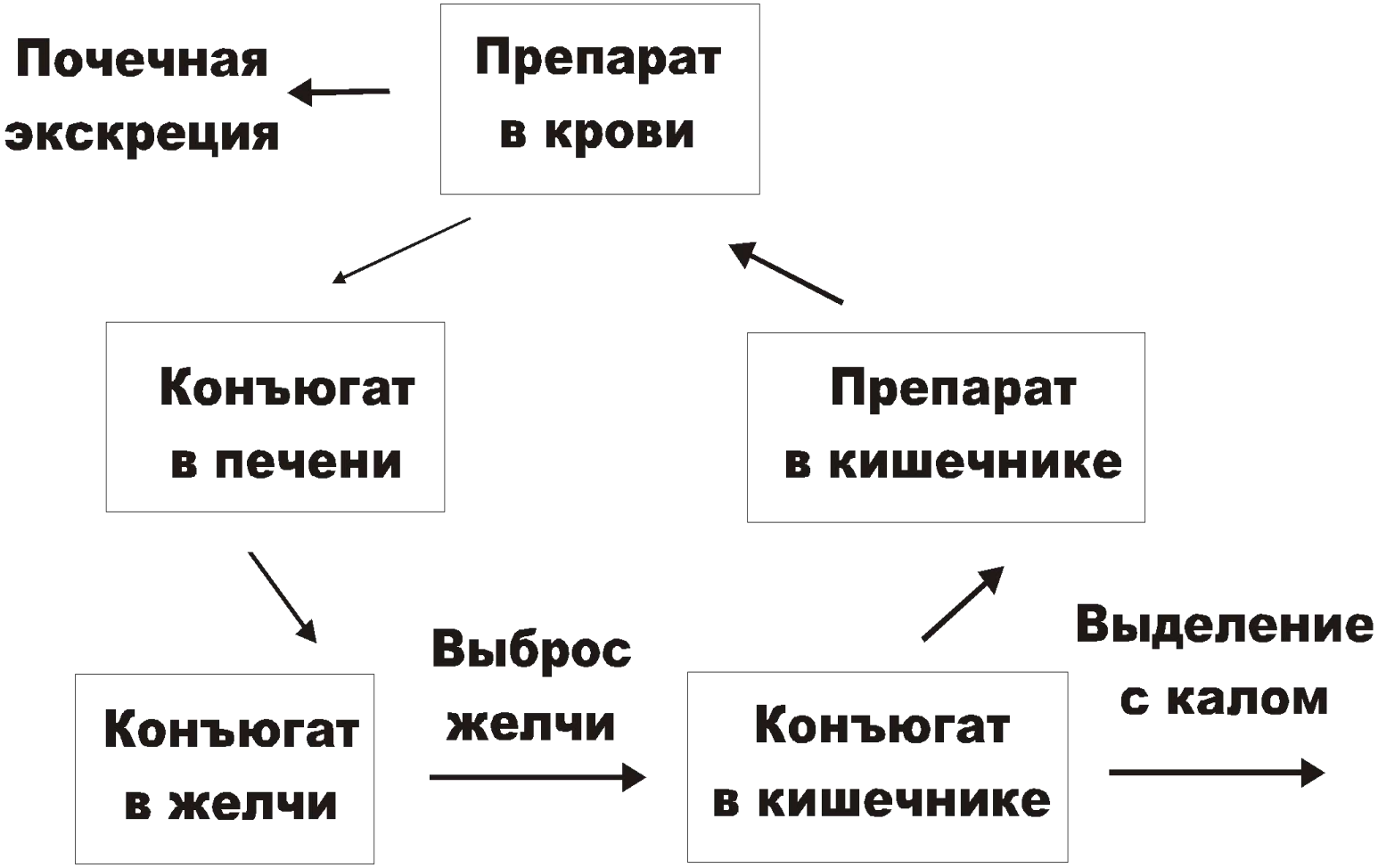
Роль Р - гликопротеина



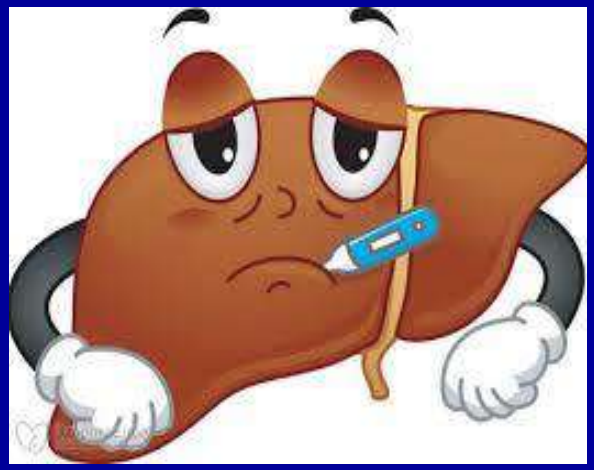
Белок – переносчик

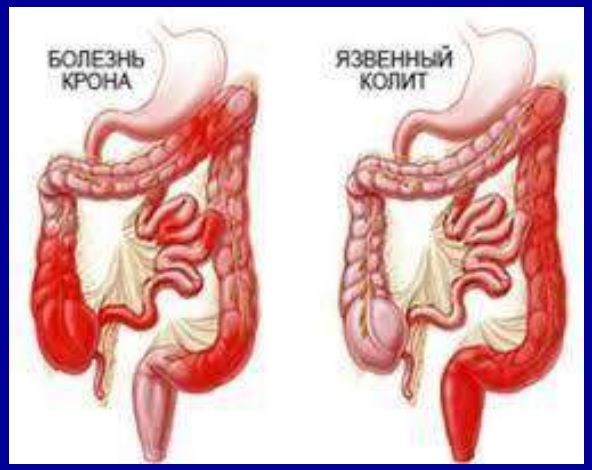
- Эпителиальные клетки тонкой кишки;
- Поверхность желчных канальцев пчени;
- Проксимальные канальцы почек;

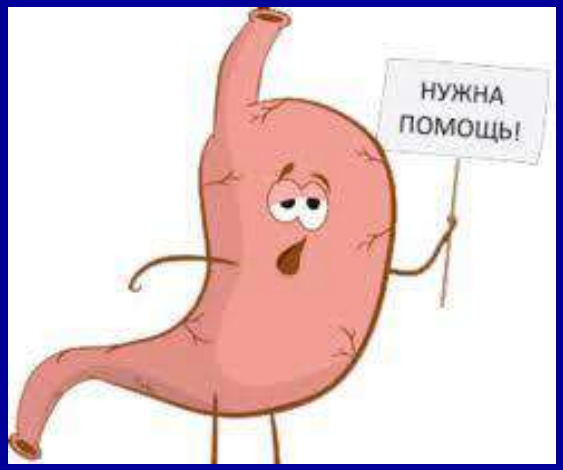
Кишечно-печеночная рециркуляция лекарственных веществ

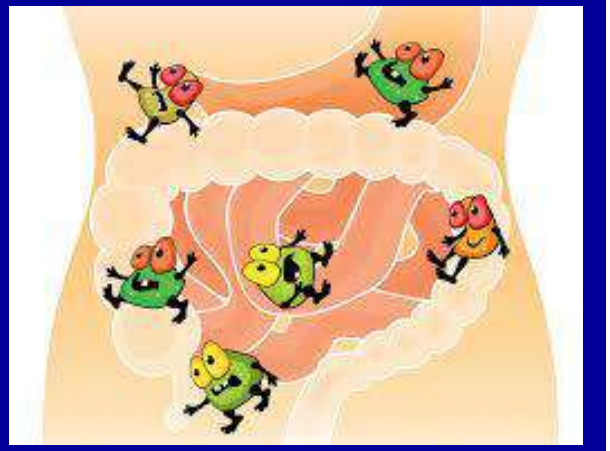


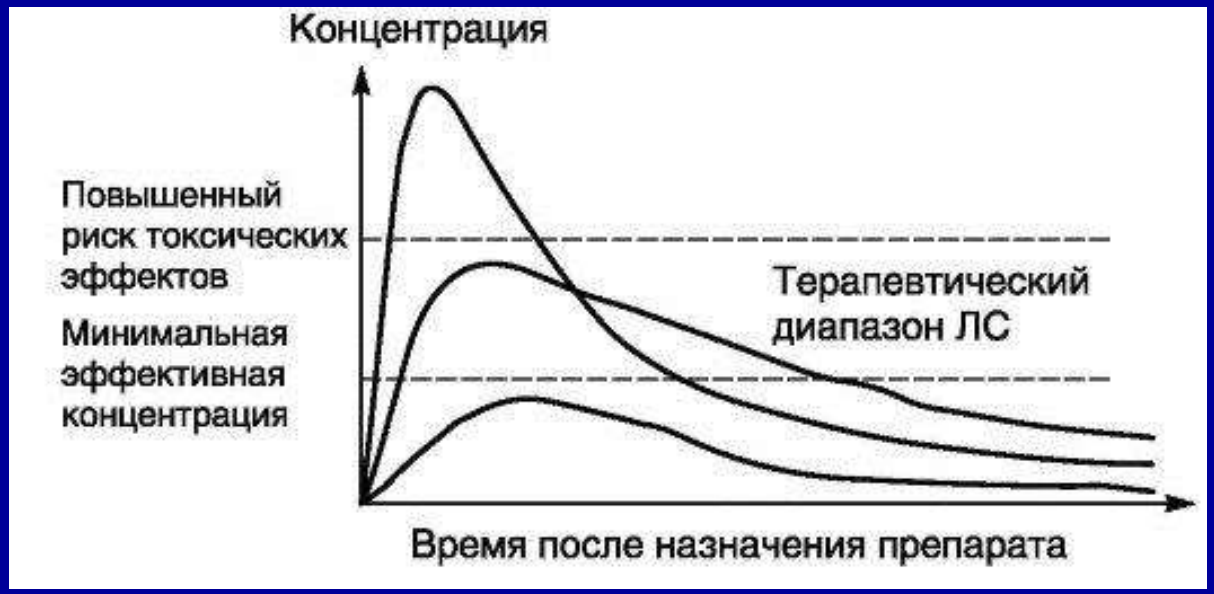
Заболевания ЖКТ











Распределение это процессы

- транспорта веществ кровью
- поступления его в ткани
- депонирования

Ю.Б. Белоусова, В.Г. Кукес и др.
“Клиническая фармакология: национальное руководство”, 2014

Структурно-функциональные особенности органа, влияющие на переход лекарственного средства из крови в ткани

- Свойства стенок капиллярного русла
- Степень васкуляризации и интенсивность кровообращения
- Свойства клеток, формирующих орган
- Степень химического сродства к токсиканту

Интенсивность кровоснабжения органов

КРОВОТОК (мл/мин)	(%)	МАССА ОРГАНА (%)
5000	100	легкие 1
800	15	сердце 0,4
550	11	мозг 2
750	15	печень 2
4500	90	почки 0,3
40	0,8	кожа 7
40	0,8	мышцы 43
10	0,2	жир. ткань 1
10	0,2	соед. ткань 7

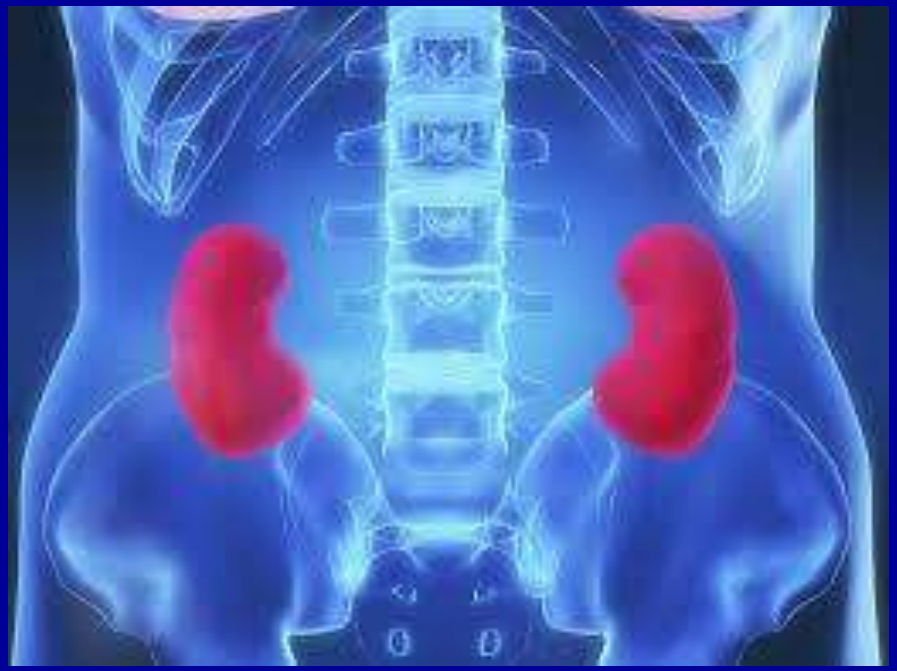
Элиминация - совокупность процессов, приводящих к снижению содержания токсиканта в организме:

- процессы **экскреции** (выведения) ксенобиотика из организма
- процессы **биотрансформации** ксенобиотика

Ю.Б. Белоусова, В.Г. Кукес и др.
“Клиническая фармакология: национальное руководство”, 2014

- Вирусный гепатит
- Токсический гепатит
- НЖБП
- ЖКБ
- Печеночная недостаточность

- Гломерулонефрит
- Диабетическая нефропатия
- Почечная недостаточночть

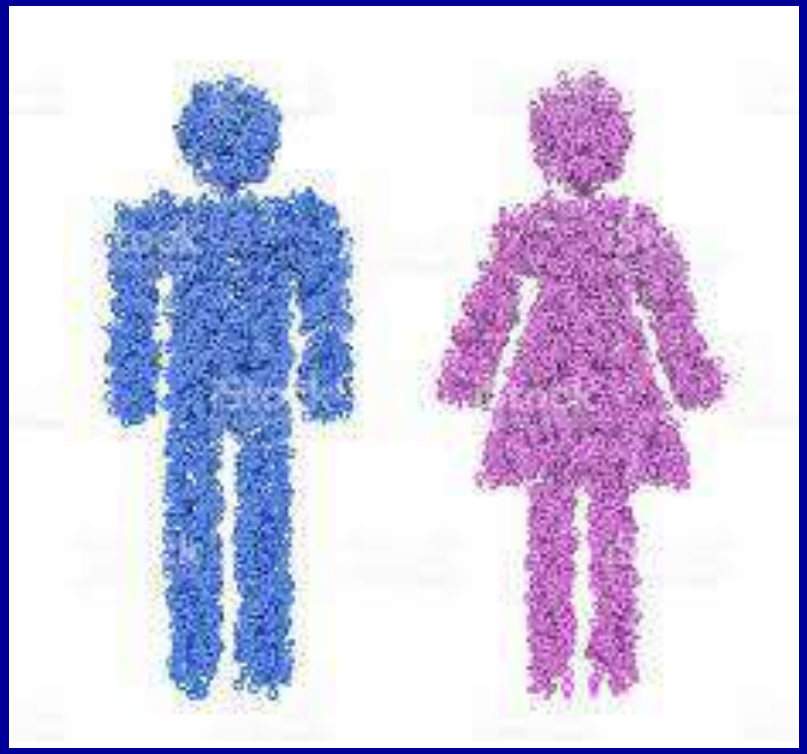


Роль генетических факторов

1960 г. – ФАРМАКОГЕНЕТИКА

- Степень реактивности клеточных рецепторов к ЛС;
- Способность отвечать аллергической реакцией;
- Легкость возникновения токсических проявлений даже от небольших доз при первом же приеме;
- Способность механизмов биотрансформации к обезвреживанию ЛС;

Возраст, пол и полипрагмазия



Терапевтический лекарственный мониторинг –

определение концентрации лекарственных средств в биологических жидкостях, которое проводят для выработки режима дозирования лекарств и выявления передозировки лекарственного средства .

В.В. Долгов, В.В. Меньшиков
“Клиническая лабораторная диагностика: национальное руководство”, 2013

Цели ТЛМ:

- Индивидуальный подбор правильного режима приема и дозировки лекарственного препарата для каждого пациента;
- Определение эффективной концентрации препарата;
- Предупреждение развития токсических эффектов препарата;
- Изменение дозы препарата в зависимости от состояния пациента в течение определенных периодов лечения;
- Определение факторов, влияющих на лечение;
- Контроль содержания ЛП в течение всего периода лечения;

А.Н. Есауленко.
“Терапевтический лекарственный мониторинг”, 2008.

Показания к проведению ТЛМ:

- Возможность передозировки препарата;
- Необходимость определения его терапевтической дозы;
- Отсутствие клинического эффекта от применяемой дозы ЛС;
- Схожесть симптомов болезни с симптомами токсического действия ЛС;
- Возможность взаимодействия применяемых лекарств;
- Возможность изменения фармакокинетики ЛС при текущем заболевании;

А.А. Кишкун
“Клиническая лабораторная диагностика”, 2013

Критерии отбора ЛС для ТЛМ:

- Узкий терапевтический интервал;
- Токсичность;
- Выраженная внутривидовая и индивидуальная вариабельность фармакокинетики лекарства;
- Возможность изменения фармакокинеткики препарата при сопутствующих заболеваниях;
- Возможность взаимодействия ЛП при одновременном применении;
- Если токсический эффект препарата не может быть установлен при физикальном обследовании пациента;
- Нелинейная фармакокинетика препарата;

В.В. Долгов, В.В. Меньшиков
“Клиническая лабораторная диагностика: национальное руководство”, 2013

Лекарственные средства, требующие ТЛМ

Фармакологическая группа	Лекарственные препараты
ЛС, влияющие на сердечно-сосудистую систему	Дигоксин, дигитоксин, хинидин
ЛС, влияющие на ЦНС	Амитриптиллин, галоперидол
Противосудорожные средства	Карбамазепин, этосукцимид
НПВС	Ацетоминофен
Химиотерапевтические средства	Амфотерицин, ванкомецин
Иммуносупрессоры	Циклоспорин, эверолимус
Средства для лечения онкологических заболеваний	Метотрексат
Определение в моче	Барбитураты, метаболиты морфина

Биологический материал: кровь, моча, слюна, ликвор

Лабораторные методы ТЛМ

Иммунологические методы

Реакция АГ+АТ

Хроматографические методы

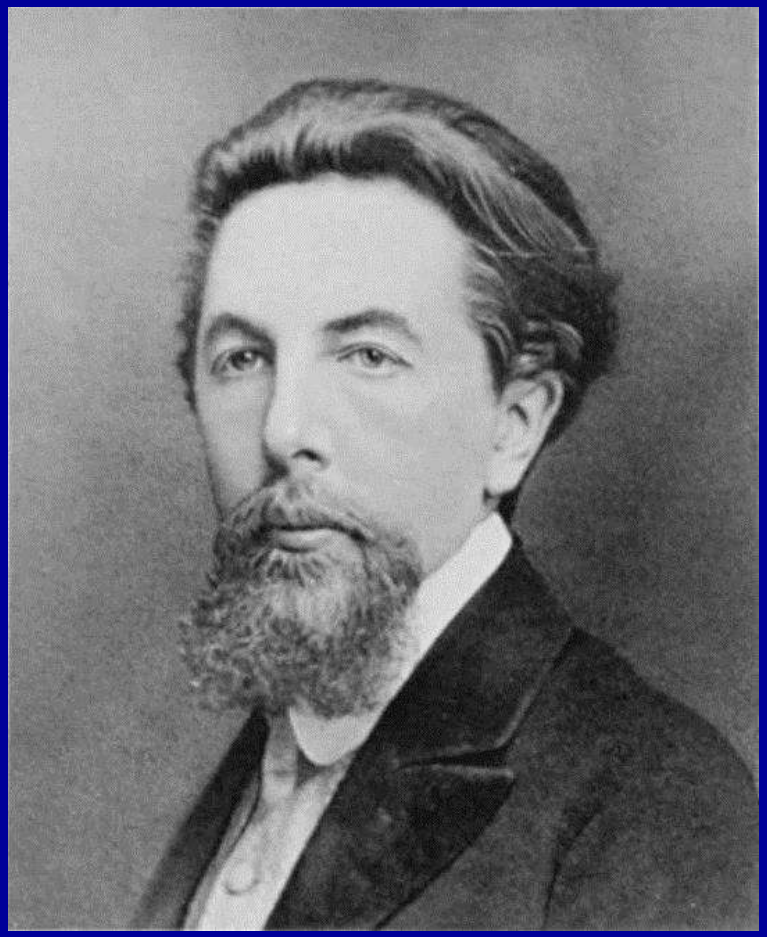
Различие в сорбционной способности веществ на различных сорбентах

Иммунохимический метод

“Отличить свое от чужого – главное условие жизни.”

Сущность метода	Конкурентное связывание Неконкурентное связывание Неравновесный режим
Применение стандартных препаратов	В качестве антигенов на твердой фазе; Для получения антител; Для определения гаптенов;
Характеристика используемых антител	Моно- и поликлональные АТ Нативные и синтетические АТ
Тип применяемой метки	Ферменты Радионуклиды Соли металлов и др.
Способ детектирования	Радиоактивность (РИА) Ферментативная активность (ИФА) Электрический сигнал и др.
По технике выполнения	Жидко- и твердофазные Ручные, полу- и автоматические С экстракцией и без нее Тест - полоски

Хроматографические методы

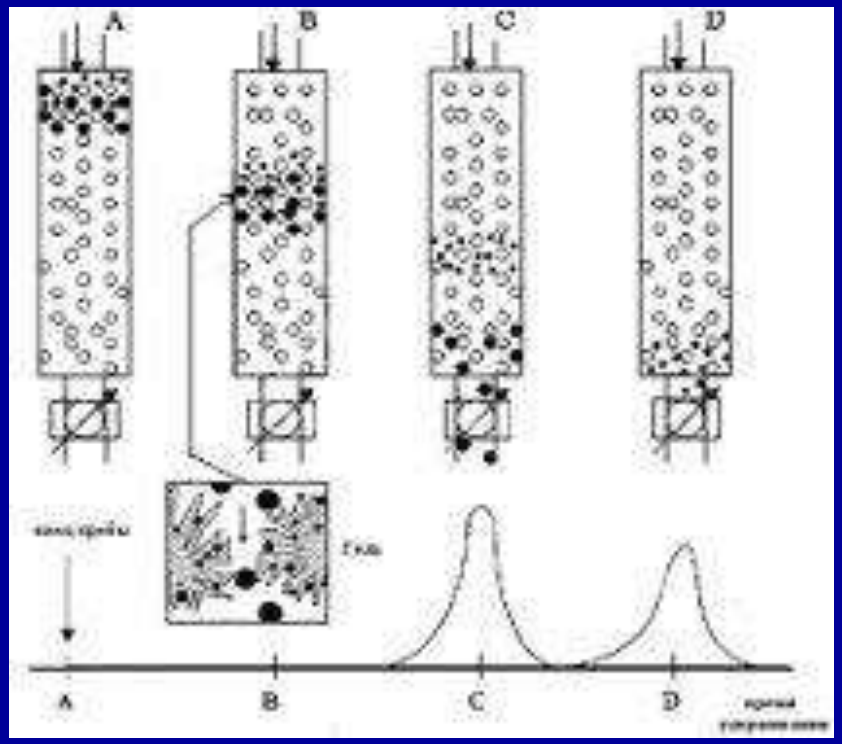


Цвет

Михаил Семенович

(1872 – 1919 гг.)

“Разделяй и определяй ”



- Хроматография – физико-химический метод разделения веществ или частиц в системе несмешивающихся и движущихся относительно друг друга фаз.

Хроматография = запись цвета

“Никакое другое открытие не оказало на исследования в органической химии такого огромного продолжительного влияния, как анализ с помощью адсорбционной хроматографии Цвета”

Каррер

“Очевидно, что описанный феномен адсорбции не ограничивается хлорофильными пигментами, но может проявляться по тем же законамдля всех классов окрашенных и бесцветных химических соединений”

И. Цвет

Что такое хроматография?

Метод аналитической химии

Предназначен для исследования сложных смесей - от изотопов газов до пептидов, белков, ДНК

Используется в научных лабораториях и в системах управления химическими процессами

Применяются сложные приборы, объединеные с другими методами в едином комплексе

Определение хроматографии

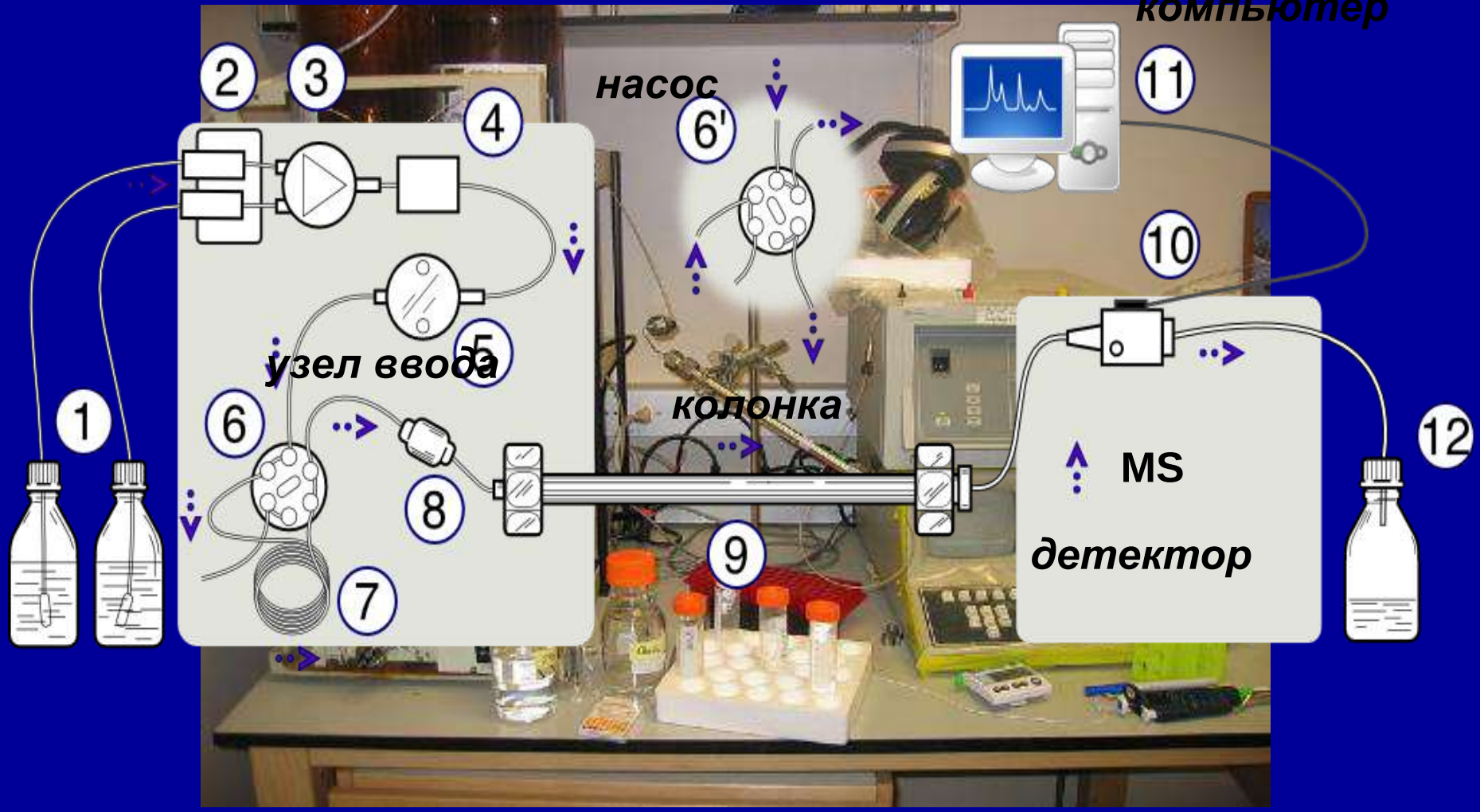
- **IUPAC**

“… *физический* метод *разделения* смеси веществ, в котором разделяемые компоненты распределяются между двумя фазами, одна из которых (называемая *неподвижной фазой*) неподвижна, а другая (называемая *подвижной фазой*) - двигается в определенном направлении….”

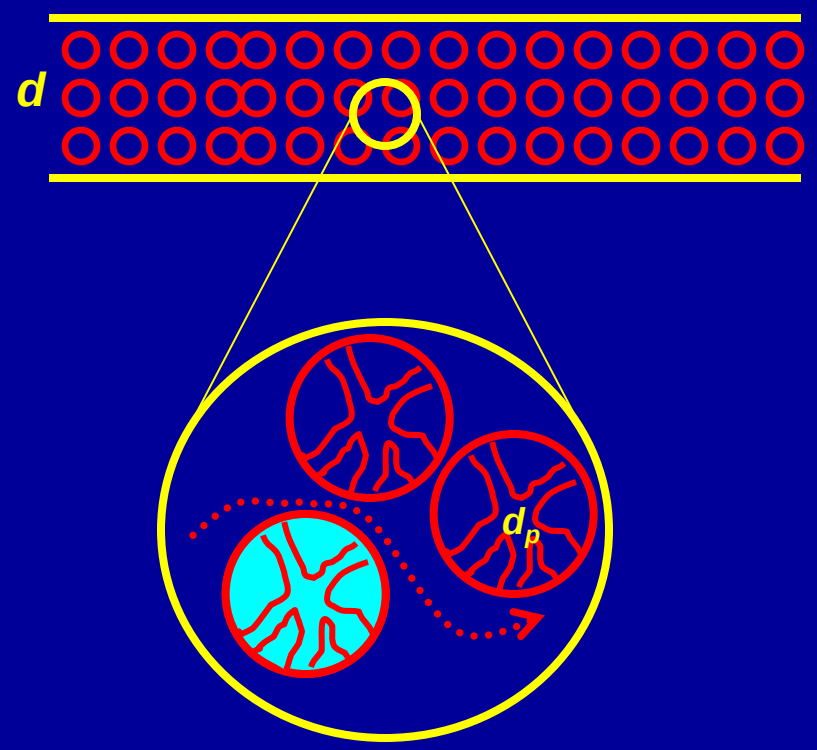
- физический и *химический* метод исследования, основанный на *адсорбционном* взаимодействии

- метод разделения и *идентификации*

Хроматограф



Колонка с пористым адсорбентом



подвижная фаза -
газ или растворитель в межчастичном пространстве

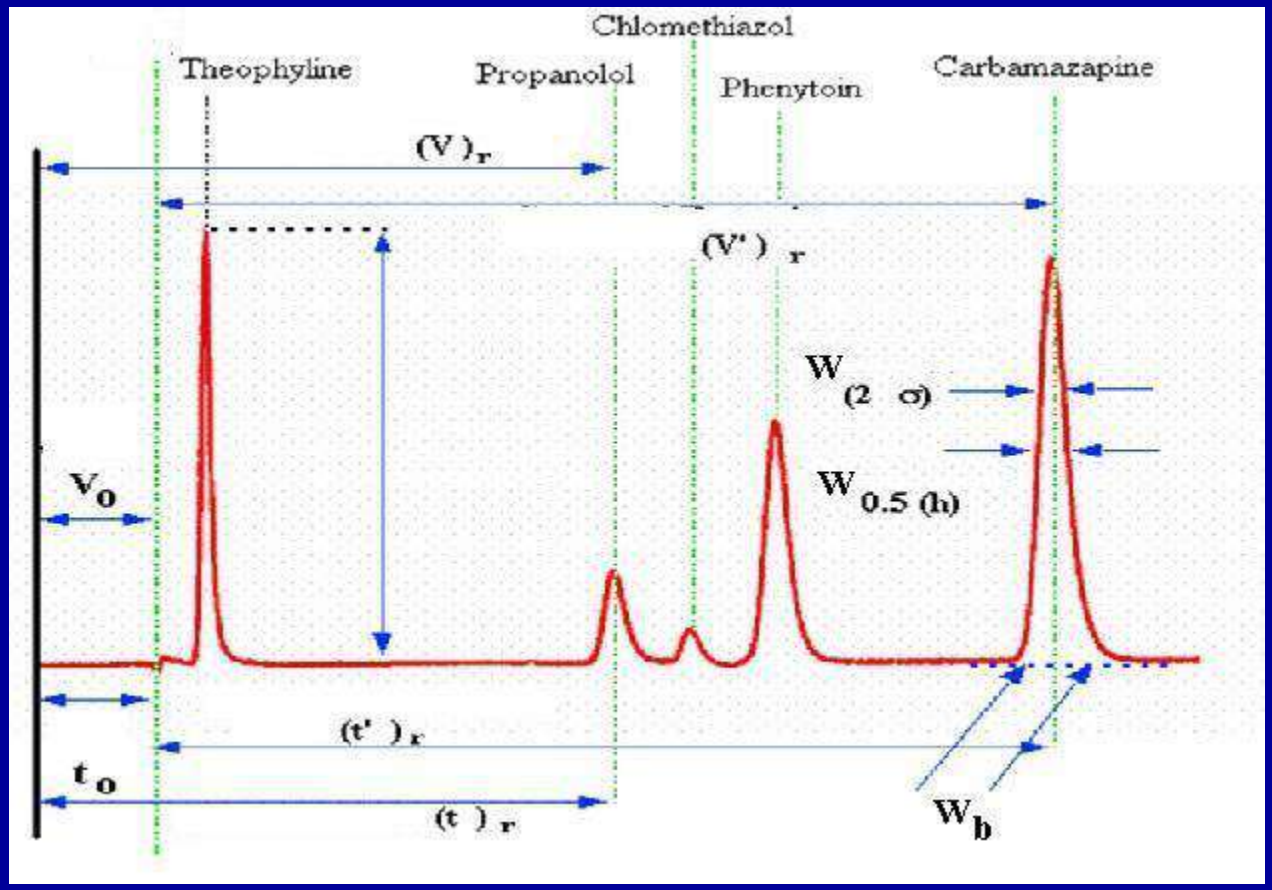
неподвижная фаза -
газ или растворитель в порах частицы

Хроматографический эксперимент

1. Насос задает *постоянный* поток жидкости/газа через систему
2. Узел ввода в момент $t = 0$ в колонку вбрасывает *узкую зону* анализируемой смеси
3. В процессе движения с потоком жидкости по колонке смесь *разделяется*
4. Детектор фиксирует *время выхода* t_R отдельных компонентов смеси

разделение в колонке – за счет различий во взаимодействии с поверхностью

Параметры хроматограммы



t_0 / V_0 – время / объем элюирования несорбируемого компонента

t_R / V_R– время / объем удерживания

t'_R / V'_R– исправленные время / объем удерживания

W – ширина пика

W_b – ширина у основания

$W_{0.5}$ или $W_{1/2}$ – ширина на полувысоте

Хроматограмма – зависимость концентрации (сигнала) от времени

Достоинства:

- Высокая чувствительность
- Воспроизводимость
- Специфичность
- Одномоментное определение нескольких аналитов
- Исключается кросс-реактивность метаболитов
- Относительно небольшая стоимость одного исследования

Недостатки:

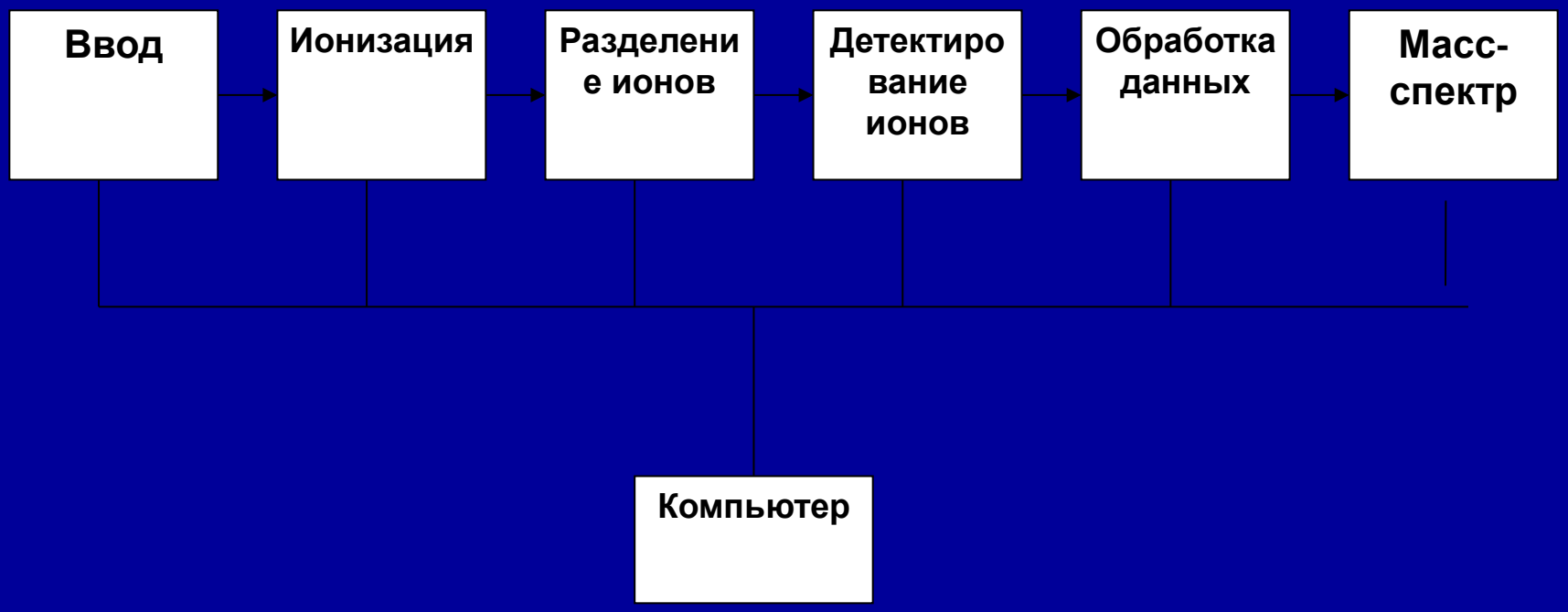
- Высокая стоимость оборудования
- Необходимость обучения персонала
- Длительность и трудоемкость постановки методики

“Теория становится материальной силой, как только она овладевает массами…”

К. Маркс

- Масс – спектрометрия – физико-химический метод анализа, заключающийся в переводе молекул образца в ионизированную форму с последующим разделением и регистрацией образующихся при этом положительных или отрицательных ионов.

1901 г., В. Кауфман



Принципиальная схема масс-спектрометра

БЛАГОДАРЮ ЗА ВНИМАНИЕ