

UNIVERZA V LJUBLJANI

FAKULTETA ZA FARMACIJO

KATARINA BUNJEVAC

MAGISTRSKA NALOGA

ENOVITI MAGISTRSKI ŠTUDIJSKI PROGRAM FARMACIJA

Ljubljana, 2017

UNIVERZA V LJUBLJANI

FAKULTETA ZA FARMACIJO

KATARINA BUNJEVAC

**RAZVOJ FARMAKOKINETIČNEGA MODELA INDUKCIJE
PRESNOVE RIFAMPICINA PRI BOLNIKI Z OKUŽBAMI
ORTOPEDSKIH ENDOPROTEZ**

**DEVELOPMENT OF A PHARMACOKINETIC MODEL OF
INDUCTION OF RIFAMPICIN METABOLISM IN PATIENTS WITH
ORTHOPEDIC ENDOPROSTHESIS INFECTIONS**

ENOVITI MAGISTRSKI ŠTUDIJSKI PROGRAM FARMACIJA

Ljubljana, 2017

Magistrsko nalogo sem opravljala na Fakulteti za farmacijo na Katedri za biofarmacijo in farmakokinetiko pod mentorstvom izr. prof. dr. Iztoka Grabnarja, mag. farm. in somentorstvom Nataše Faganeli, mag. farm., spec. klin. farm.

Zahvala

Zahvaljujem se mentorju izr. prof. dr. Iztoku Grabnarju za usmerjanje pri izdelavi magistrske naloge. Prav tako ne bi šlo brez delovnega mentorja, Jurija Zdovca, ki se mu iskreno zahvaljujem za potrpežljivost, nasvete in nesebično pomoč pri nastajanju izdelka. Nataši Faganeli, mag. farm., spec. klin. farm. se zahvaljujem za dostop do vseh podatkov, potrebnih za nalogo, za vso pomoč in pregled naloge. Prof. dr. Odonu Planinšku in doc. dr. Tihomirju Tomašiču se zahvaljujem za strokoven pregled naloge.

Zahvaljujem se svoji družini za podporo v času izobraževanja, za vse nasvete, spodbudne besede, motivacijske govore in brezpogojno ljubezen. Hvala, da sem lahko postala to, kar sem si sama želela.

Zahvala gre tudi fantu Roku, ker je vedno verjel vame in me spodbujal. Hvala ti za vso ljubezen in čudovite trenutke.

Na koncu pa hvala tudi vsem kolegicam in prijateljem, ki so mi vedno stali ob strani. Hvala za vaše prijateljstvo, zelo ga cenim.

Izjava

Izjavljam, da sem magistrsko nalogo samostojno izdelala pod mentorstvom izr. prof. dr. Iztoka Grabnarja, mag. farm. in somentorice Nataše Faganeli, mag. farm., spec. klin. farm.

Katarina Bunjevac

Predsednik komisije: prof. dr. Odon Planinšek

Član komisije: doc. dr. Tihomir Tomašič

Ljubljana, 2017

KAZALO VSEBINE

POVZETEK.....	VI
ABSTRACT	VII
KLJUČNE BESEDE	VIII
SEZNAM OKRAJŠAV	VIII
1 UVOD.....	1
1.1 Ortopedski vsadki	1
1.1.1 Metode zdravljenja okužb ortopedskih umetnih vsadkov	2
1.1.2 Preprečevanje okužb ortopedskih umetnih vsadkov.....	2
1.2 Rifampicin.....	3
1.2.1 Način delovanja	3
1.2.2 Indikacije in uporaba	4
1.2.3 Farmakokinetika in farmakodinamika	5
1.2.3.1 Absorpcija in distribucija	5
1.2.3.2 Presnova in (avto)indukcija.....	6
1.2.3.3 Izločanje	7
1.2.4 Toksičnost in neželeni učinki	7
1.2.5 Bakterijska odpornost	8
1.3 Populacijska farmakokinetika	8
1.3.1 Razlike med klasično in populacijsko farmakokinetiko	8
1.3.2 Nelinearni model mešanih učinkov (NLME)	10
1.3.3 Pregled modelov, s katerimi opisujemo absorpcijo	11
1.3.4 Pregled modelov, s katerimi opisujemo indukcijo presnove	12
1.3.4.1 Pregled encimskih modelov	14
2 NAMEN DELA	16
3 MATERIALI IN METODE.....	17
3.1 Populacija bolnikov in podatki	17
3.2 Programska oprema za analizo podatkov.....	19
3.3 Razvoj populacijskega farmakokinetičnega modela.....	19

3.3.1	1-prostorni model brez indukcije presnove.....	21
3.3.2	1-prostorni modeli z indukcijo presnove	22
3.3.2.1	EkspONENTNI model s konstanto indukcije (k_i)	22
3.3.2.2	Sigmoidni model	23
3.3.2.3	Encimski model.....	23
3.3.3	2-prostorni model.....	24
3.4	Validacija	25
3.5	Simulacija odmerjanja.....	26
4	REZULTATI IN RAZPRAVA	27
4.1	Populacija bolnikov.....	27
4.2	Razvoj populacijskega farmakokinetičnega modela.....	28
4.2.1	1-prostorni model brez indukcije presnove.....	28
4.2.2	1-prostorni modeli indukcije presnove	30
4.2.2.1	EkspONENTNI model s konstanto indukcije (k_i)	30
4.2.2.2	Sigmoidni model	31
4.2.2.3	Encimski model.....	33
4.2.3	2-prostorni model.....	34
4.3	Končni populacijski farmakokinetični model.....	36
4.4	Validacija končnega modela.....	44
4.5	Simulacija odmerjanja.....	46
5	SKLEP	48
6	LITERATURA.....	49

KAZALO SLIK

Slika 1: Strukturna formula rifampicina (8).	3
Slika 2: Tridimenzionalna struktura kompleksa RNAP-RIF (10).	4
Slika 3: Shema tranzitnega modela (33).	11
Slika 4: Eksponenten časovni potek indukcije presnove rifampicina (23).	12
Slika 5: Shema strukturnega modela indukcije presnove z jetrnim modelom dobrega mešanja (34).	13
Slika 6: Shema encimskega modela (35).	14
Slika 7: Shema 2-prostornega modela.	24
Slika 8: Prileganje modela z absorpcijo brez ocene IIV.	29
Slika 9: Prileganje eksponentnega modela brez ocene IIV.	31
Slika 10: Prileganje sigmoidnega modela brez ocene IIV.	33
Slika 11: Primerjava dveh grafov očistka v odvisnosti od časa za eksponentni in sigmoidni model.	36
Slika 12: Prileganje končnega modela z oceno IIV na Cl_1 in $Cl_{2_{max}}$.	38
Slika 13: Očistek v odvisnosti od časa za vsakega bolnika v razvoju končnega modela.	39
Slika 14: Očistek v odvisnosti od časa za vsakega bolnika v končnem modelu.	41
Slika 15: Prileganje končnega modela z oceno IIV vseh parametrov, razen k_a .	41
Slika 16: Prileganje končnega modela z logaritemsko skalo.	43
Slika 17: VPC analiza za končni model.	45
Slika 18: pcVPC analiza za končni model.	45
Slika 19: Graf povprečnih individualnih napovedi koncentracij RIF v odvisnosti od časa.	46

KAZALO PREGLEDNIC

Preglednica I: Najpogostejši povzročitelji okužb umetnih vsadkov (1).....	1
Preglednica II: Pregled razlik med klasično in populacijsko FK (30).....	9
Preglednica III: Demografski podatki o populaciji bolnikov.	27
Preglednica IV: Vrednosti parametrov za osnovni model brez ocene IIV.	28
Preglednica V: Vrednosti parametrov za eksponentni model brez ocene IIV.....	30
Preglednica VI: Vrednosti parametrov za sigmoidni model brez ocene IIV.....	32
Preglednica VII: Vrednosti parametrov za encimski model brez ocene IIV.....	34
Preglednica VIII: Vrednosti parametrov za 2-prostorni model brez ocene IIV.	35
Preglednica IX: Vrednosti parametrov za končni model z oceno IIV Cl_1 in $Cl_{2_{max}}$	37
Preglednica X: Vrednosti parametrov za končni model z oceno IIV vseh parametrov, razen k_a	40
Preglednica XI: Primerjava parametrov za končni model.....	42
Preglednica XII: Vrednosti parametrov za končni model v primerjavi z analizo "bootstrap".	44

POVZETEK

Rifampicin je antibiotik, ki se že desetletja uporablja za zdravljenje tuberkuloze, v zadnjem času pa je postal zlati standard za terapijo stafilokoknih okužb ortopedskih endoprotez. Uporaba rifampicina za to indikacijo še ni uradno potrjena, zato še ni razvitih enotnih smernic zdravljenja, tudi uporabljeni odmerki se razlikujejo in niso optimizirani. Pri kroničnem zdravljenju se farmakokinetika rifampicina spremeni zaradi indukcije metabolnih encimov (avtoindukcija presnove), zato terapevtski odmerki niso več ustrezni.

Namen raziskave je bil razviti populacijski farmakokinetični model za rifampicin za 55 bolnikov z okužbami ortopedskih vsadkov, ki so se zdravili v Ortopedski bolnišnici Valdoltra. Za farmakokinetično analizo smo uporabili metodo nelinearnega modeliranja mešanih učinkov. Za opis kinetike absorpcije rifampicina smo uporabili model prvega reda, za porazdeljevanje smo testirali eno- in dvoprostorni model, analizirali pa smo tudi različne modele za opis (avto)indukcije presnove in eliminacije rifampicina.

Za najboljšega se je izkazal enoprostorni model, kjer smo indukcijo očistka opisali s sigmoidno krivuljo. Ocenjena vrednost konstante hitrosti absorpcije je bila $0,660 \text{ h}^{-1}$ (z relativno standardno napako 37,0 %), začetni očistek je bil 7,56 L/h (17,7 %), maksimalno povečanje očistka 18,2 L/h (41,9 %), čas, v katerem pride do 50 % indukcije 398,0 h (94,5 %) in volumen centralnega prostora 66,1 L (16,6 %). Ocenjena vrednost interindividualne variabilnosti začetnega očistka je bila 77,9 % (45,4 %), maksimalnega povečanja očistka 136,3 % (60,4 %), časa, v katerem pride do 50 % indukcije 82,2 % (82,2 %) in volumna centralnega prostora 28,8 % (97,2 %). Interindividualne variabilnosti konstante hitrosti absorpcije nismo uspeli oceniti zaradi premajhnega obsega podatkov v absorpcijski fazi. Ocenili smo tudi rezidualno variabilnost; kombinacijo aditivne napake, ki je znašala 0,0206 mg/L (18,3 %) in proporcionalne napake, ki je znašala 82,4 % (7,22 %).

Končni model smo vrednotili s prikazi grafičnih prileganj, validacijo "bootstrap" in metodo vizualnega vrednotenja modelov. Analiza je pokazala, da model dobro opiše razpoložljive podatke. S simulacijo odmerjanja rifampicina pri tisoč bolnikih smo pokazali, da koncentracije s časom res padajo in da bi bilo smiselno povečati odmerek glede na čas zdravljenja.

V nadaljnjih raziskavah bi lahko v model postopno vključili še posamezne sočasne spremenljivke in izvedli genotipizacijo.

ABSTRACT

Rifampicin is an antibiotic that has been used for decades to treat tuberculosis and has just recently become a gold standard for the treatment of staphylococcal orthopedic endoprosthesis infections. The use of rifampicin for this indication has not yet been officially confirmed, therefore treatment guidelines have not yet been developed and the dosages used are different and have not been optimized. In the course of chronic treatment, the pharmacokinetics of rifampicin changes due to the induction of metabolic enzymes (autoinduction of metabolism). Therefore, therapeutic doses are no longer appropriate.

The aim of the study was to develop a population pharmacokinetic model of rifampicin for 55 patients with orthopedic implantants who were treated in Orthopedic Hospital Valdoltra. For the pharmacokinetics analysis, we used nonlinear mixed effects modelling method. We used a first order model to describe the absorption kinetics of rifampicin and one- and two-compartment models to test the distribution. Various models were analyzed to describe metabolic (auto)induction and elimination of rifampicin.

The best pharmacokinetics model consisted of an one-compartment model with induction of clearance described by a sigmoid curve. The estimated value of the absorption rate constant was $0,660 \text{ h}^{-1}$ (relative standard error was 37,0 %), the initial clearance was 7,56 L/h (17,7 %), the maximum increase in clearance was 18,2 L/h (41,9 %), the time in which 50 % induction occurs was 398,0 h (94,5 %) and the volume of central compartment was 66,1 L (16,6 %). The estimated value of the interindividual variability of the initial clearance was 77,9 % (45,4 %), the maximum increase in clearance was 136,3 % (60,4 %), the time in which 50 % induction occurs was 82,2 % (82,2 %) and the volume of central compartment was 28,8 % (97,2 %). The interindividual variability of the absorption rate constant was not estimated due to the insufficient data in the absorption phase. We also estimated residual variability; an additive error was 0,0206 mg/L (18,3 %) and a proportional error was 82,4 % (7,22 %).

The final model was evaluated with graphic fittings and validated with bootstrap method and visual predictive check. The analysis showed that the model sufficiently describes the available data. We simulated the dosing of rifampicin in a population of a thousand patients and we showed that concentration of the drug decreases as time increases. It would be reasonable to increase the dosage according to the time of treatment.

In further research we could gradually incorporate covariats and also study genotypization.

KLJUČNE BESEDE

Rifampicin, Ortopedski vsadki, Populacijska farmakokinetika, NONMEM, Indukcija presnove.

Rifampicin, Orthopedic implants, Population pharmacokinetics, NONMEM, Induction of metabolism.

SEZNAM OKRAJŠAV

ALT- alanin-aminotransferaza

AST- aspartat-aminotransferaza

AUC- površina pod plazemsko koncentracijsko krivuljo

BSEP- eksportna črpalka žolčnih soli (ang. bile salt exporter pump)

CV- koeficient variacije

DNA- deoksiribonukleinska kislina

FDA- ameriška agencija za hrano in zdravila

FK- farmakokinetika

FO- aproksimacijska metoda prvega reda

FOCE- aproksimacijska metoda za pogojno ocenjevanja prvega reda

FOCE INTER- aproksimacijska metoda za pogojno ocenjevanja prvega reda z interakcijo

γ -GT- gama-glutamiltransferaza

IIV- interindividualna variabilnost

LC-MS/MS- tekočinska kromatografija s tandemsko masno spektrometrijo

MBC- minimalna baktericidna koncentracija

MDR1- multi rezistentni gen (ang. multidrug resistance gene)

MIC- minimalna inhibitorna koncentracija

MRSA- proti meticilinu odporni *Staphylococcus aureus*

NLME- metoda nelinearnega modeliranja mešanih učinkov

NONMEM- programska oprema za nelinearno modeliranje mešanih učinkov

OFV- vrednost objektivne funkcije

PopFK- populacijska farmakokinetika

PXR- pregnanski receptor X

RIF- rifampicin

RNA- ribonukleinska kislina

RNAP- RNA polimeraza

RSE- relativna standardna napaka

VPC- metoda vizualnega vrednotenja populacijskih farmakokinetičnih modelov (ang.

Visual Predictive Check)

1 UVOD

1.1 Ortopedski vsadki

V zadnjih desetletjih se je pogostost zdravljenja z umetnimi sklepi v svetu zelo povečala. Ortopedski vsadki so pomagali milijonom ljudi olajšati bolečino, izboljšati gibljivost ter pridobiti samostojnost in boljšo kakovost življenja. Največji delež vsadkov predstavljata kolenska in kolčna endoproteza. Do okužb sicer pride redko, vendar so zelo neprijetne za bolnike in občutno zvišajo stroške zdravljenja zaradi podaljšane rehabilitacije (1-4). Najpogostejši povzročitelji okužb so zbrani v preglednici I (1).

Preglednica I: Najpogostejši povzročitelji okužb umetnih vsadkov (1).

Povzročitelj	% okužb s tem povzročiteljem
»koagulaza« negativni stafilokoki	30-43 %
<i>Staphylococcus aureus</i>	12-23 %
streptokoki	9-10 %
po Gramu negativne bakterije	3-6 %
enterokoki	3-7 %
anaerobne bakterije	2-4 %
ni dokaza prisotnosti bakterij	11%
več različnih povzročiteljev	10-11 %

Okužbe nastanejo, ko telo prepozna umetni vsadek kot tujek, ki potem povzroči vnetje, slabša imunski sistem in ustvari novo površino za vezavo mikroorganizmov (1). Ustvari se biofilm, ki je skupek mikrobnih mikrokolonij. Prepleten je s kanali, skozi katere vstopajo hranila in se odvajajo celični produkti. V njem so bakterije zaščitene pred gostiteljevim imunskim sistemom in protibakterijskimi učinkovinami, zato imajo ugodne pogoje za počasno delitev. To je razlog, da se odločamo za zdravljenje z antibiotiki, ki delujejo na počasno rastoče mikroorganizme (kot na primer rifampicin, ki smo ga uporabili tudi v naši študiji) (2).

1.1.1 Metode zdravljenja okužb ortopedskih umetnih vsadkov

Glavni cilj in želja je odstraniti vnetje in zmanjšati možnost ponovitve vnetja. Običajno se kombinira kirurško (v preteklosti so ob taki okužbi izvedli resekcijsko artroplastiko ali popolno odstranitev vsadka) in antibiotično zdravljenje, vse pa je odvisno od patogeneze, trajanja okužbe, občutljivosti povzročitelja in stanja kosti (3). Prvi korak pri zdravljenju je določanje protimikrobne občutljivosti patogena. Idealen antibiotik naj bi imel baktericidno aktivnost (v stacionarnem stanju na mestu okužbe) proti počasno rastočim mikroorganizmom, prav tako pa naj bi dobro prodiral skozi plasti biofilma. Vse te lastnosti združuje rifampicin (RIF), ki se zato zadnja desetletja uporablja za zdravljenje stafilokokne okužbe ortopedskih vsadkov (2). Zaradi razvoja odpornosti ga je vedno potrebno predpisovati v kombinaciji z drugo protibakterijsko učinkovino, najpogosteje s kinoloni (ciprofloksacin, ofloksacin, levofloksacin) (1-5).

1.1.2 Preprečevanje okužb ortopedskih umetnih vsadkov

Okužbe najbolje preprečimo, če upoštevamo dva ukrepa:

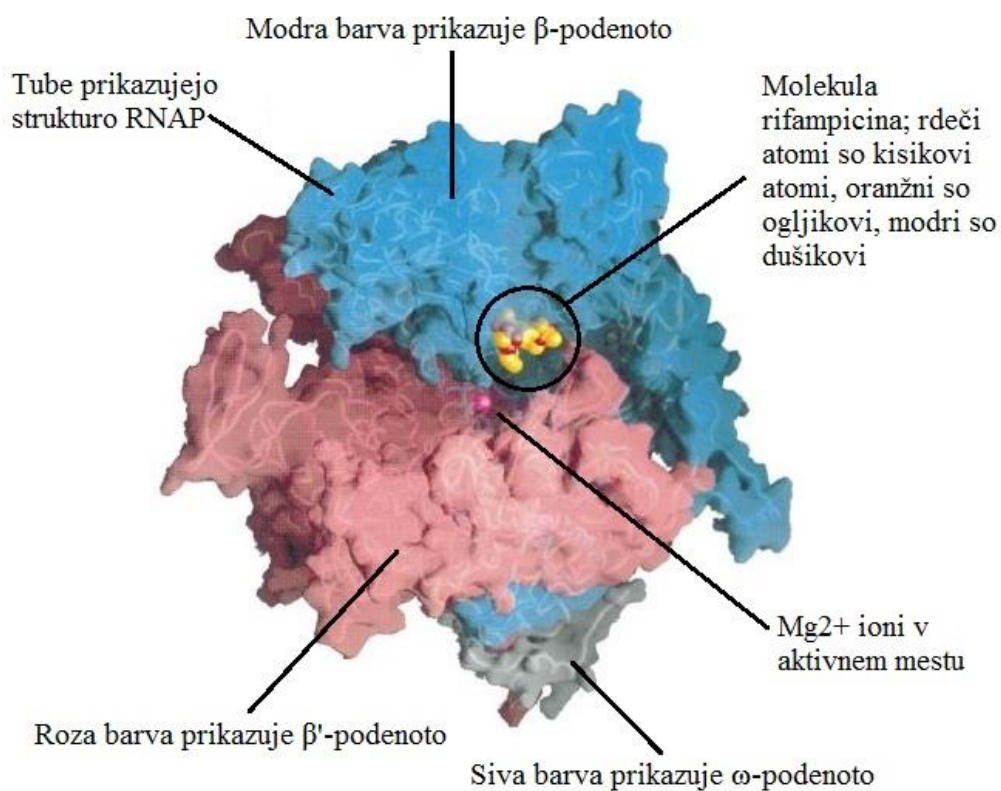
1. Priprava bolnika

Pred operacijo bolnik ne sme imeti potrjene sistemske ali lokalne okužbe, ker to poveča tveganje za okužbo endoproteze. Prav tako je potrebno preveriti ali je bolnik koloniziran s *Staphylococcus aureus*, kajti ta predstavlja pomemben dejavnik tveganja (3). Pri diabetikih mora biti nivo glukoze v krvi urejen, kadilcem se priporoča prenehanje s kajenjem (4).

2. Perioperativna antibiotična zaščita

Perioperativna antibiotična profilaksa je v primeru vstavitve endoproteze obvezna. Antibiotik izbora je cefazolin. Uporablja se zaradi učinkovitega protistafilokoknega delovanja, farmakokinetičnega profila, lahke dostopnosti in cene. Vankomicin se aplicira redko in sicer v primeru potrjene alergije na β -laktamske antibiotike ali prisotnosti MRSA (3,4).

specifično na bakterijsko RNAP, ki jo inaktivira že v nizkih koncentracijah, ne deluje pa na RNAP sesalcev (6,10).



Slika 2: Tridimenzionalna struktura kompleksa RNAP-RIF (10).

1.2.2 Indikacije in uporaba

Rifampicin je antibiotik širokega spektra. Nanj so praviloma občutljivi naslednji mikroorganizmi:

- *Neisseria meningitidis*,
- *Mycobacterium tuberculosis*,
- stafilokoki (tudi MRSA),
- *Haemophilus influenzae*,
- *Mycobacterium leprae*.

Terapevtske indikacije ima za zdravljenje vseh oblik tuberkuloze in okužb z nekaterimi drugimi mikobakterijami. Lahko ga apliciramo peroralno ali intravensko. Skupaj z

izoniazidom in pirazinamidom se uporablja v uvodni in intenzivni fazi zdravljenja, ki traja dva meseca. Po koncu začetne faze pa se lahko nadaljuje zdravljenje še najmanj štiri mesece s kombinacijo RIF in izoniazida. Priporočena shema je ob pravilni uporabi 100 % učinkovita. Zdravljenje se po potrebi nadaljuje, če so še vedno prisotne bakterije, ali če so bakterije postale odporne. Pojavu rezistence se izognemo z uporabo kombinacije antibiotikov (7,8). Uporablja se tudi za zdravljenje gobavosti skupaj z dapsonom in klofaziminom in za zdravljenje bruceloze skupaj s tetraciklini, streptomycinom in/ali s trimetoprimom/ sulfametoksazolom (11).

V monoterapiji se RIF uporablja za eradikacijo meningokokov pri asimptomatskih nosilcih bakterije *Neisseria meningitidis*, ki se nahaja v njihovih nosovih ali grlu. Na ta način delujemo profilaktično; preprečimo okužbo drugih ljudi. Pri pojavu bolezni (meningokokni meningitis) pa se RIF ne uporablja zaradi možnosti pojava rezistence (8).

Kot že zgoraj omenjeno, pa se peroralni RIF v zadnjih desetletjih uporablja tudi za zdravljenje stafilokoknih okužb ortopedskih vsadkov. Ta terapevtska indikacija še ni uradno potrjena, gre torej za nenamensko uporabo (ang. *off-label use*), vendar so v številnih raziskavah dokazali učinkovitost. To je razlog, da še ni razvitih enotnih smernic in režima odmerjanja za to indikacijo. Zdravljenje traja načeloma tri mesece, če gre za kolčno in šest mesecev, če gre za kolensko endoprotezo. Preiskovani odmerki so zelo različni, nekateri so uporabili 300 ali 450 mg dvakrat na dan, drugi so uporabili odmerke 600-900 mg, ki so jih razdelili na enega do tri odmerke. RIF se vedno uporablja v kombinaciji s spremljajočim antibiotikom, običajno s kinoloni, ker je tako zmanjšana možnost za pojav rezistence. Prav tako so izidi zdravljenja boljši, kot če uporabimo kinolon (na primer ciprofloksacin) v monoterapiji (5,12-18).

1.2.3 Farmakokinetika in farmakodinamika

1.2.3.1 Absorpcija in distribucija

RIF se brez težav absorbira iz gastrointestinalnega trakta. Priporoča se zaužitje na prazen želodec (vsaj trideset minut pred obrokom ali dve uri po jedi), saj se absorpcija zdravila, zaužitega skupaj s hrano, zmanjša za kar 30 %. Največjo koncentracijo v serumu doseže

dve do štiri ure po odmerku, vendar pa se koncentracije znotraj posameznika in populacije (intra- in interindividualna variabilnost) zelo razlikujejo (7-9). Pri enkratnem odmerku 150 mg se pričakuje največja serumska koncentracija okoli 2 mg/L, pri 300 mg 4 mg/L, pri 450 mg okoli 6 mg/L, pri 600 mg pričakujemo koncentracijo reda velikosti okoli 10 mg/L, pri odmerku 1200 mg pa okoli 30 mg/L (9,19). V območju odmerkov 150 do 1200 mg je torej farmakokinetika rifampicina nelinearna.

RIF se zaradi svoje sposobnosti prehajanja bioloških membran obsežno porazdeli po telesu. Prisoten je tudi v cerebrospinalni tekočini in materinem mleku. V približno 80 % je reverzibilno vezan na beljakovine, glavna nevezane frakcije pa je neionizirana in lahko zato prosto prehaja v tkiva (7,8,19).

1.2.3.2 Presnova in (avto)indukcija

Pri zdravih ljudeh je povprečen razpolovni čas učinkovine v serumu po 600 mg odmerku 3.35 ± 0.66 ur, po 900 mg odmerku pa 5.08 ± 2.45 ur. Pri zdravljenju z večkratnimi odmerki pa se farmakokinetika (FK) izrazito spremeni, razpolovni čas se zmanjša in doseže povprečno vrednost dve do tri ure (7,8). Razlog za to je verjetno avtoindukcija rifampicina. RIF aktivira pregnanski receptor X (PXR), ki regulira transkripcijo nekaterih metaboličnih encimov in transportnih prenašalcev. RIF je induktor:

1. citokromov P-450 (CYP), CYP3A4 in CYP2C9,
2. prenašalnega P-glikoproteina (v enterocitih in hepatocitih), imenovanega tudi MDR1,
3. β -esteraz, ki so odgovorne za biotransformacijo RIF v njegov metabolit, 25-deacetil-RIF,

RIF je induktor svojega lastnega metabolizma (avtoindukcija), kot posledica indukcije zgoraj naštetih encimov (20,21).

V preteklosti so domnevali, da se indukcija pojavi po enem tednu zdravljenja, izzveni pa predvidoma dva tedna po koncu zdravljenja (21,22). Vendar najnovejše raziskave kažejo, da se indukcija (v približno 50 %) vzpostavi po šestih dneh zdravljenja, popolna indukcija (okoli 97 %) pa v enem mesecu (23). Drug razlog za variabilnost koncentracij RIF pa morda tiči tudi v polimorfizmu genov, ki kodirajo pregnanski receptor X (PXR), ki vpliva na izražanje transportnih proteinov ali β -esteraze, ki sodelujejo pri presnovi (24).

1.2.3.3 Izločanje

Za RIF je značilno enterohepatično kroženje, med katerim je učinkovina izpostavljena procesu deacetilacije. Po šestih urah je skoraj celoten odmerek RIF v žolču v obliki deacetiliranega presnovka, kar pripomore k zmanjšani črevesni reabsorpciji in olajšanemu izločanju. Tudi ta produkt presnove ima protibakterijsko delovanje. Do 30 % odmerka se izloči v urinu (polovica tega kot nespremenjena učinkovina) (8). Bolniki z ledvično okvaro ne potrebujejo prilagojenega odmerka (19).

1.2.4 Toksičnost in neželeni učinki

Najpogostejši neželeni učinki RIF so hepatotoksičnost, rdečkasto obarvanje telesnih tekočin (urin, znoj, sputum, solze), kožne reakcije, reakcije imunološkega izvora (na primer gripozni sindrom, anafilaksija) in boleznι prebavil (najpogosteje se pojavi bruhanje, slabost, izguba apetita, driska) (8). Najbolj resen (lahko tudi smrten) in nevaren neželeni učinek je hepatotoksičnost. Različne raziskave so se ukvarjale s pojavnostjo okvare jeter pri zdravljenju tuberkuloze, vendar so izsledki zelo različni (pojav pri 2 do 28 % bolnikov). Pred začetkom terapije z RIF je zelo težko predvideti, pri katerih bolnikih se bo toksičnost pojavila. Obstajajo pa nekateri dejavniki tveganja, kot so ženski spol, starost, že obstoječa bolezen jeter, žolčnika ali žolčevoda, okužba z virusom HIV in fenotip počasnega acetilatorja. Pri zdravljenju tuberkuloze je kombinacija RIF z izoniazidom še bolj toksična, saj RIF inducira izoniazid-hidrolazo, kar vodi do povečanega nastanka toksičnega hidrazina (25). Mehanizem nastanka hepatotoksičnosti pri RIF je še vedno neznan, verjetno pa je povezan z inhibicijo BSEP (eksportne črpalke žolčnih soli), ki uravnava izločanje žolčnih soli in drugih sestavin žolča. Zaviranje tega prenašalnega proteina poveča možnosti za nastanek holestaze (26,27). RIF lahko povzroči moten privzem bilirubina v jetrne celice, kar vodi v nekonjugirano hiperbilirubinemijo ali zlatenico brez okvare hepatocitov. Zaradi zaviranja izločanja bilirubina na ravni žolčnih kanalikulov pa se lahko pojavi tudi asimptomatska konjugirana hiperbilirubinemija (27).

Vsakemu bolniku se zato pred terapijo z RIF določijo jetrni encimi (AST, ALT, γ -GT), bilirubin, kreatinin, naredi se tudi preiskava celotne krvne slike. Med zdravljenjem je bolnike potrebno podrobno spremljati (7).

1.2.5 Bakterijska odpornost

Bakterijska odpornost proti protibakterijskim učinkovinam postaja vse večji javnozdravstveni problem. Tudi rezistenca proti RIF ni izjema. Mehanizem rezistence vključuje spremembe v genu *rpoB*, ki kodira β -podenoto bakterijske RNAP. Verjetno gre za zamenjavo nekaterih aminokislin v zaporedju, kar vodi do zmanjšane občutljivosti encima za vezavo RIF (6,28). Zaradi razvoja odpornosti ga je vedno potrebno predpisovati v kombinaciji z drugo protibakterijsko učinkovino, najpogosteje s kinoloni (1-5).

1.3 Populacijska farmakokinetika

Populacijska farmakokinetika (PopFK) je področje klinične farmakologije, ki prek uporabe modelov kvantitativno ocenjuje tipične farmakokinetične parametre ter interindividualno in rezidualno variabilnost absorpcije, distribucije, presnove in izločanja zdravil. Modeli so uporabni za načrtovanje in optimizacijo odmerkov, za pripravo smernic zdravljenja in za uspešno komunikacijo z regulatornimi organi. Uporaba PopPK je v zadnjem času postala popularna predvsem zaradi svojih prednosti pred klasičnim FK pristopom (29).

1.3.1 Razlike med klasično in populacijsko farmakokinetiko

Na kratko, klasičen pristop od nas zahteva standardno dvostopenjsko analizo. Če želimo natančno analizo in oceno FK parametrov, to od nas zahteva pogosto vzorčenje in meritve plazemskih koncentracij pri individualnem pacientu (po navadi so to zdravi prostovoljci) (29,30). Študija je izvedena v umetnem okolju, prav tako najdemo tudi razlike v pogojih med študijo in dejanskim okoljem, kjer se bo zdravilo uporabljalo (29). PopFK pa temelji na enem ali več vzorcih individualnega bolnika, ki so ocenjeni s pomočjo analize podatkov iz prostornega modela. Protokol pri tradicionalni FK ima strog kriterij vključevanja/izključevanja in zahteva tudi do deset prejetih vzorcev od istega pacienta. Sicer dobimo bogato zbirko podatkov, s katero opazujemo individualen FK profil določene učinkovine, ampak podvržemo bolnike pogostemu vzorčenju v kratkih časovnih intervalih, kar je neprijetno za bolnike in stroškovno neučinkovito. Za vsakega pacienta v študiji je protokol jemanja vzorcev enak, kar zmanjša interindividualno variabilnost (IIV) (30). FK variabilnost je odvisna od demografskih (spol, rasa, telesna masa, starost), fizioloških/

patofizioloških in okoljskih faktorjev (kajenje, diete), od genotipa, interakcije učinkovin in drugih vzrokov (cirkadiani ritem, vpliv hrane) (29). Prva stopnja dvostopenjske analize je ocena FK parametrov z nelinearno regresijo, v drugi stopnji pa uporabimo individualne vrednosti FK parametrov, izračunamo povprečje, standardno deviacijo, koeficient variabilnosti in varianco (30).

Pri PopFK pristopu pa individualen bolnik ni središče študije, cilj je namreč zgraditi populacijski profil učinkovine z izračunanimi vrednostmi individualnih parametrov. Oblika študije nam dovoljuje veliko heterogenost (različna starost, telesna masa), na voljo pa imamo načeloma majhno število vzorcev z manj bogatim obsegom podatkov. Tak način vzorčenja nam omogoči, da pridobimo podatke tudi od populacij bolnikov, ki jih je težko študirati, na primer od zelo bolnih (bolniki z rakom, bolniki na intenzivni negi, bolniki z AIDS-om), od starostnikov, dojenčkov in podobno (29,30). Protokol vzorčenja ni enak za vse, kar nam daje priložnost in prednost, da analiziramo podatke od posameznikov, ki variirajo v številu odvzetih vzorcev. Tudi plazemskih koncentracij pod zaznavnim pragom ne izključimo, ampak jih upoštevamo (30). Slabost takega pristopa pa je, da za tako izvedbo potrebujemo dovolj izkušen kader, ki lahko ustrezno interpretira rezultate (29). Razlike med pristopoma so strnjene v preglednici II (30).

Preglednica II: Pregled razlik med klasično in populacijsko FK (30).

Karakteristike	Tradicionalna FK	Populacijska FK
Narava analize	Model ustreza podatkom posameznega pacienta, kjer so parametri povzeti	Model ustreza podatkom vseh pacientov, parametri so izračunani
Študija	Stroga in kontrolirana oblika	Lahko stroga oblika, ni pa nujno
Vzorec	Zdravi prostovoljci	Tarčna populacija
Velikost študije	Majhna	Velika
Vzorčenje	Pogosto, zbirka podatkov je obsežna	Eden do dva vzorca na pacienta, nimajo vsi enako število odvzetih vzorcev
IIV	Minimalizirana zaradi strogih kriterijev vključitve/izključitve	Lahko poiščemo izvor IIV

Poznamo več različnih metod modeliranja. Za njih se odločamo na podlagi podatkov in cilja študije. Najpogosteje se uporablja nelinearni model mešanih učinkov (NLME), za katerega smo se odločili tudi v naši študiji (31,32).

1.3.2 Nelinearni model mešanih učinkov (NLME)

Tak pristop nam omogoča ocenjevanje variabilnosti, hkrati pa ne zanemara tistih podatkov, ki bi jih drugače težko vključili v študijo (na primer pomanjkljivi podatki, različna shema odmerjanja) (31). Model je:

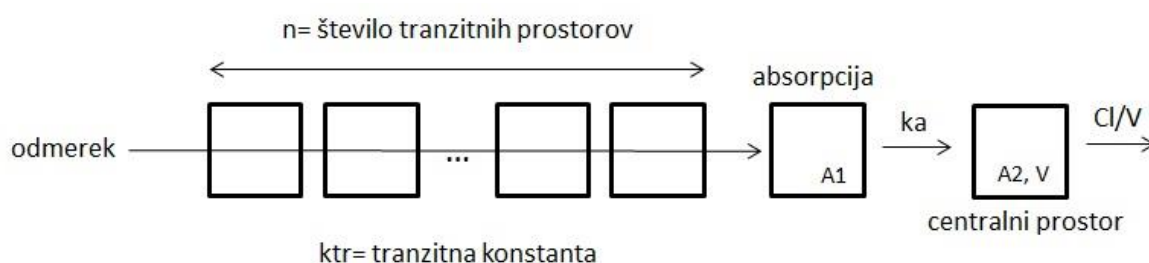
- *nelinearni model*: odvisna spremenljivka je nelinearno povezana s parametri modela in z neodvisnimi spremenljivkami.
- *model mešanih učinkov*: tisti parametri, ki ne variirajo med posamezniki, so označeni kot fiksni oziroma stalni; parametri, ki variirajo, pa so naključni (32).

Tak pristop modeliranja zahteva od posameznika majhen vzorec meritev plazemske koncentracije, po navadi med ena in šest. Model naenkrat analizira podatke vseh posameznikov, vendar upošteva IIV in ustrezno ovrednoti možno neuravnoteženost podatkov. Končni model torej ni reprezentativen za določenega posameznika, temveč za celotno populacijo. Vrednost parametrov se ocenjuje z metodo največjega (maksimalnega) verjetja. Ta metoda izrazi verjetnost, da z ocenami parametrov v resnici dobimo izmerjene vrednosti. Izračun pa je zahteven prav zaradi nelinearnega odnosa, zato so bile razvite aproksimacijske metode, ki olajšajo napoved (na primer NLME, FO). Najbolj uporabljena je FO, kar pomeni *first-order* oziroma aproksimacija prvega reda, poznamo pa še natančnejši metodi FOCE, ang. *first order conditional estimation* (aproksimacijska metoda za pogojno ocenjevanje prvega reda, upošteva tudi IIV) in FOCE INTER, ang. *first order conditional estimation with interaction* (aproksimacijska metoda za pogojno ocenjevanje prvega reda, ki upošteva interakcije med IIV in rezidualno variabilnostjo). FOCE INTER metodo smo uporabili v naši študiji (31). Ocene parametrov so izbrane tako, da je verjetnost največja in vrednost objektivne funkcije ($OFV = -2\log L$; dvakratnik negativnega logaritma verjetja) najmanjša. PopFK model je sestavljen iz **podatkov, strukturnega modela** (opiše FK profil za določeno učinkovino), **statističnega modela** (oceni variabilnost in loči med IIV in rezidualno variabilnostjo), **kovariatnega modela** (opiše odnos med stalnimi učinki in sočasnimi spremenljivkami) in **programske opreme** (združi podatke z modeli, izvede simulacijo in oceni parametre) (32).

Tudi v procesu razvoja PopFK modela za RIF smo sprva pregledali literaturo in poskušali določiti osnovni strukturni model. Osredotočili smo se na dve vrsti modelov: modeli, ki ne vključujejo opisovanja indukcije presnove in modele, s katerimi opisujemo tudi indukcijo presnove. Za modele, ki ne vključujejo opisovanja indukcije predpostavimo, da se očistek s časom ne spreminja, zato modeliramo le absorpcijo in porazdeljevanje. Za modele, s katerimi opisujemo indukcijo pa predpostavimo, da se očistek s časom spreminja zaradi avtoindukcije.

1.3.3 Pregled modelov, s katerimi opisujemo absorpcijo

Rifampicin se kot zdravilo za zdravljenje tuberkuloze uporablja že od leta 1971, zato največ objavljenih študij raziskuje FK učinkovine prav pri bolnikih s tuberkulozo (9,33). V številnih raziskavah so zastopane različne populacije ljudi- zdravi prostovoljci, Azijci, Indijci, Južnoafričani, pacienti z ali brez HIV ter tudi otroci. Aplicirani odmerki RIF se gibljejo od 450 do 600 mg. Po pregledu literature smo ugotovili, da je najpogosteje uporabljen model 1-prostorni farmakokinetični model s tranzitnim modelom absorpcije. Tranzitni prostori opisujejo zamik v absorpciji. Shema modela je vidna na sliki 3 (33).



Slika 3: Shema tranzitnega modela (33).

V študiji **Wilkinsa in Savica s sodelavci**, ki je preučevala FK RIF pri Južnoafriških bolnikih s tuberkulozo, je bilo vključenih 261 pacientov. Testirali so 1- in 2-prostorne modele, encimske modele, modele z indukcijo in tranzitne modele. Podatke je najbolje opisal 1-prostorni model s tranzitnim modelom absorpcije. Uporabljen odmerek je bil apliciran peroralno, in sicer 450 mg pri bolnikih s telesno maso pod 50 kg, tisti nad 50 kg pa so dobivali odmerek 600 mg. Ocenjena vrednost očistka je bila 19,2 L/h, volumna distribucije pa 53,2 L. Uspeli so oceniti še IIV očistka, ki je bila 52,8 % in IIV volumna

distribucije, ki je znašala 43,4 %. V članku je narejen tudi pregled in primerjava z drugimi podobnimi študijami, ima pa ta raziskava od vseh najštevilčnejši vzorec bolnikov (33).

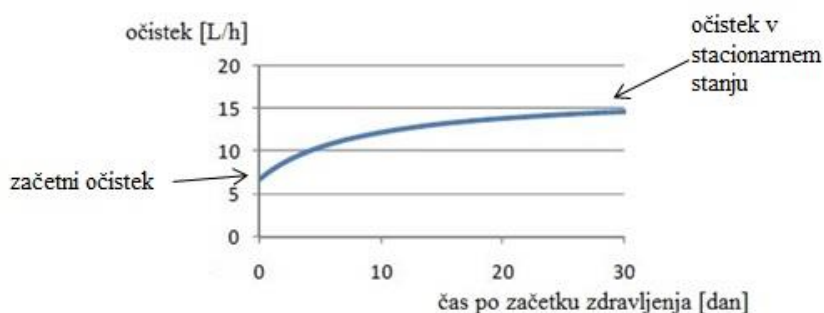
1.3.4 Pregled modelov, s katerimi opisujemo indukcijo presnove

V literaturi je moč najti raziskave, ki opisujejo (avto)indukcijo presnove RIF pri bolnikih s tuberkulozo. V uvodu sta opisani dve taki raziskavi, s katerima so opisali indukcijo presnove RIF pri Južnoafriških bolnikih s tuberkulozo (23,34).

Denti s sodelavci je v raziskavo vključil 61 Južnoafriških bolnikov s tuberkulozo in virusom HIV. Večina pacientov je prejela tedenski odmerek RIF razdeljen na pet odmerkov, deset pacientov pa je prejelo 8-12 mg/kg RIF enkrat dnevno. Končni strukturni model je enak modelu iz predhodne raziskave (slika 3). Ocenjena vrednost očistka na začetku je bila 6,94 L/h/42,2 kg, očistek v stacionarnem stanju je bil 15,1 L/h/42,2 kg, čas, v katerem pride do 50 % indukcije 6,04 dni, volumen distribucije 45,6 L/42,2 kg in konstanta hitrosti absorpcije $1,07 \text{ h}^{-1}$. IIV očistka je bila 25,2 %, volumna distribucije pa 13,8 %, IIV konstante hitrosti absorpcije niso uspeli oceniti. Ocenili so, da pride do 50 % indukcije v šestih dneh, do 97 % indukcije pa v enem mesecu. Enačba, s katero so modelirali indukcijo:

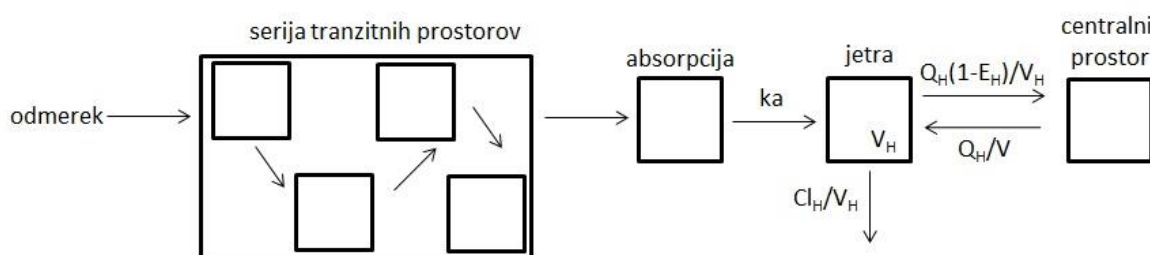
$$Cl = Cl_{bas} + (Cl_{ss} - Cl_{bas}) \times e^{-\frac{\ln(2) \times t}{t_{1/2ind}}} \quad \text{Enačba 1}$$

Cl_{bas} je začetni očistek, Cl_{ss} pa očistek v stacionarnem stanju, $t_{1/2ind}$ predstavlja čas, v katerem pride do 50 % indukcije. Časovna odvisnost očistka je prikazana na sliki 4 (23).



Slika 4: Eksponenten časovni potek indukcije presnove rifampicina (23).

Populacija v drugi raziskavi (**Chirehwa s sodelavci**) je zelo podobna prvi. Prav tako so imeli podatke od 61 Južnoafriških bolnikov s tuberkulozo in virusom HIV. Glede na smernice zdravljenja tuberkuloze so prejeli odmerke glede na telesno maso (8-12 mg/kg). Shema končnega modela je predstavljena na sliki 5. Absorpcija poteka skozi serijo tranzitnih prostorov, vključen pa je tudi model dobro premešanega prostora. Ocenjena vrednost očistka na začetku je bila 93,2 L/h, očistek v stacionarnem stanju je bil 176 L/h, volumen distribucije 50,1 L in konstanta hitrosti absorpcije 1,96 h⁻¹. IIV očistkov je bila 22,5 %, volumna distribucije pa 14,2 %. Študija je pokazala, da pride do 50 % indukcije v 4,5 dnevih, do 90 % indukcije pa v okoli dveh tednih.



Slika 5: Shema strukturnega modela indukcije presnove z jetnim modelom dobrega mešanja (34).

V končnem modelu je očistek RIF odvisen od E_H (jetrne ekstrakcije). E_H je odvisen od nevezane frakcije RIF (f_u), pretoka skozi jetra Q_H in intrinzičnega očistka Cl_{int} . Intrinzičen očistek opredeli sposobnost jeter za presnovo RIF, spreminja pa se (zaradi avtoindukcije) s trajanjem terapije. Sledi Michaelis-Mentenovi kinetiki, saj je $Cl_{int,max}$ (maksimalni intrinzični očistek) odvisen od Michaelis-Mentonove konstante K_m . Odnosi med parametri in izpeljavo enačbe za avtoindukcijo so podani v naslednjih enačbah:

$$Cl_H = Q_H \times E_H \quad \text{Enačba 2}$$

$$E_H = \frac{Cl_{int} \times f_u}{Cl_{int} \times f_u + Q_H} \quad \text{Enačba 3}$$

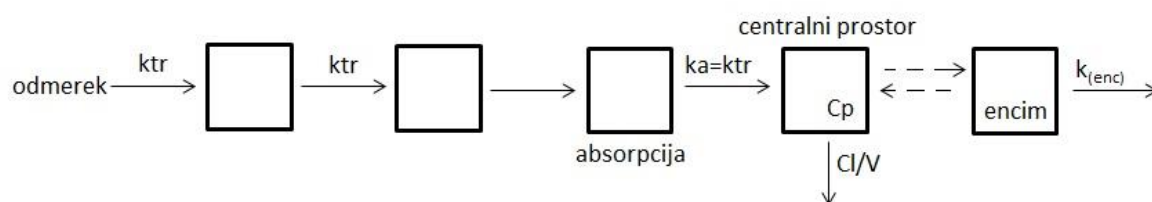
$$Cl_{int} = \frac{Cl_{int,max} \times K_m}{CH + K_m} \quad \text{Enačba 4}$$

$$Cl_{int,max} = Cl_{bas} + (Cl_{ss} - Cl_{bas}) \times \left(1 - e^{-\frac{\ln(2) \times t}{t_{1/2}^{ind}}}\right) \quad \text{Enačba 5}$$

Cl_{bas} je intrinzičen začetni očistek, Cl_{ss} intrinzičen očistek v stacionarnem stanju, C_H pa koncentracija RIF v jetrih (34).

1.3.4.1 Pregled encimskih modelov

Encimski modeli v primeru RIF spadajo med modele, ki opisujejo indukcijo presnove, vendar imajo vključen še dodaten prostor, ki ga predstavlja encim. Nastajanje encima je odvisno od plazemske koncentracije RIF. Encim izginja s hitrostno konstanto encima $k_{(enc)}$. Če je konstanta produkcije encima enaka konstanti eliminacije, je koncentracija encima konstantna. Plazemska koncentracija RIF poveča konstanto produkcije encima, zato se encim kopiči in posledično se presnovi več RIF, kar poveča njegov očistek. Shema encimskega modela je prikazana na sliki 6. Prekinjene črte predstavljajo vpliv zdravila na encim (35,36).



Slika 6: Shema encimskega modela (35).

Smythe s sodelavci je v svojo študijo vključil 174 bolnikov s tuberkulozo, ki so prihajali iz Južnoafriške republike, iz Senegala, Gvineje in Benina. Odmerki RIF so bili za paciente z maso, manjšo od 50 kg 450 mg, za tiste z maso nad 50 kg pa je bil apliciran odmerek 600 mg. Uporabljen je bil 1-prostorni tranzitni model z dodatnim prostorom za encim (shema na sliki 6). Ocenjene vrednosti očistka so bile 10,0 L/h, volumna distribucije pa 86,7 L. Ocenjevali so tudi $k_{(enc)}$ ($0,00369 \text{ h}^{-1}$), E_{max} , ki predstavlja maksimalno količino encima (1,04) in EC_{50} , ki je plazemska koncentracija RIF, pri kateri pride do 50 % E_{max} (0,0705 mg/L). Uspelo jim je oceniti IIV očistka (30,0 %) in volumna distribucije (19,2 %). Končni rezultati študije so pokazali, da pride do 50 % indukcije v osmih dneh, do polne indukcije pa v štiridesetih dneh. Indukcijo so modelirali kot povečanje produkcije encima in ne kot znižanje eliminacije. Spremembe v encimskem prostoru so zapisali z:

$$\frac{dA}{dt}(enc) = k(enc) \times (1 + EFF) - k(enc) \times A(enc)$$

Enačba 6

$$EFF = \frac{Emax \times Cp}{EC50 + Cp}$$

Enačba 7

EFF opisuje odnos med koncentracijo RIF in indukcijo encima zaradi povišane produkcije encima (35).

Wilkins s sodelavci pa so v študiji populacije skupno 265 Južnoafriških bolnikov s tuberkulozo (prejemali so RIF v odmerku 450-600 mg) ocenili očistek (6,4 L/h), volumen distribucije (50,4 L), konstanto hitrosti absorpcije (1,69 h⁻¹) in konstanto hitrosti eliminacije encima (0,0246 h⁻¹). Uspeli so oceniti tudi IIV vseh naštetih parametrov. Prav tako pa so ocenili tudi SL_{rif}, to je je naklon linearne funkcije, ki opisuje indukcijo (1,88). Indukcijo so zapisali z naslednjimi diferencialnimi enačbami:

$$\frac{dA}{dt}(1) = \frac{odmerek}{D} - ka \times A(1)$$

Enačba 8

$$\frac{dA}{dt}(2) = ka \times A(1) - \left(\frac{Cl}{Vc}\right) \times A(2) \times A(enc)$$

Enačba 9

$$\frac{dA}{dt}(enc) = k(enc) \times \left(1 + SLrif \times \left(\frac{A(2)}{Vc}\right)\right) - k(enc) \times A(enc)$$

Enačba 10

Vc je volumen distribucije, D zamik v absorpciji, A(1) količina RIF v absorpcijskem prostoru, A(2) pa v centralnem, A_(enc) je količina encima in k_(enc) hitrostna konstanta prvega reda degradacije encima (36).

2 NAMEN DELA

Rifampicin v kombinirani terapiji se že od osemdesetih let prejšnjega stoletja uporablja za zdravljenje tuberkuloze. V zadnjih desetletjih pa se je uveljavil v terapiji okužb ortopedskih vsadkov, a ta indikacija še ni uradno potrjena. V literaturi lahko najdemo številne raziskave, ki potrjujejo učinkovitost zdravljenja okužb ortopedskih vsadkov z rifampicinom, študije pa se med seboj zelo razlikujejo v uporabljenih režimih odmerjanja, farmakokinetičnega modela rifampicina za bolnike v razvitem svetu za to indikacijo pa še nimamo.

Magistrska naloga je del projekta z Ortopedsko bolnišnico Valdoltra, raziskava je bila odobrena s strani Komisije za medicinsko etiko Republike Slovenije (št. 48/06/11, izdana 5.1.2012). Na osnovi predhodno izmerjenih plazemskih koncentracij rifampicina pri 55 bolnikih bomo razvili populacijski farmakokinetičen model rifampicina za peroralni režim odmerjanja 450 mg dvakrat na dan. Za farmakokinetično analizo bomo uporabili metodo nelinearnega modela mešanih učinkov v okviru programa NONMEM. Opredelili bomo pomen avtoindukcije presnove pri kroničnem zdravljenju in interindiviidualno variabilnost v farmakokinetiki. S pomočjo končnega razvitega modela bomo sklepali ali lahko zdravljenje s takim odmerjanjem postane neučinkovito zaradi indukcije presnove. Končni model bomo tudi ustrezno validirali z metodo ponovljenega vzorčenja ("bootstrap") in z metodo VPC (metoda vizualnega vrednotenja populacijskih farmakokinetičnih modelov) ter tako pokazali ustreznost prileganja.

Cilj magistrske naloge je torej razviti populacijski farmakokinetični model rifampicina pri bolnikih, ki se zdravijo v Ortopedski bolnišnici Valdoltra in imajo stafilokokne okužbe ortopedskih vsadkov.

3 MATERIALI IN METODE

3.1 Populacija bolnikov in podatki

V študijo je bilo vključenih 55 bolnikov (devetindvajset moških in šestindvajset žensk), ki so se zdravili v Ortopedski bolnišnici Valdoltra. Bolnikom je bila zaradi okužbe endoproteze uvedena kombinirana antibiotična terapija z rifampicinom. Peroralni RIF so prejeli v odmerku 450 mg na dvanajst ur na prazen želodec. Podatke o bolnikih so nam posredovali iz omenjene bolnišnice, saj je magistrska naloga del raziskave »Določitev optimalnega režima odmerjanja peroralnega rifampicina pri zdravljenju okužb ortopedskih vsadkov«, ki je bila odobrena s strani Komisije za medicinsko etiko Republike Slovenije (št. 48/06/11, izdana 5.1.2012) (37).

Izbor bolnikov je potekal po kriterijih vključitve in izključitve. Vsi bolniki so bili seznanjeni z namenom raziskave, pridobljeno je bilo tudi pisno soglasje.

V raziskavo so bili vključeni:

- bolniki s potrjeno stafilokokno okužbo ortopedskega vsadka,
- bolniki s potrjeno občutljivostjo izoliranega povzročitelja na RIF,
- bolniki obeh spolov,
- polnoletni bolniki.

V raziskavo niso bili vključeni:

- bolniki z zmerno hudo in hudo okvaro jeter ali ledvic,
- mladoletni bolniki,
- nosečnice in doječe matere (37).

Bolnikom je bilo skupno izmerjenih 341 plazemskih koncentracij RIF. Časovna shema odvzemov vzorcev krvi je bila vnaprej določena. Razlikovala pa se je glede na mesto okužbe; poleg ostalih meritev je bila koncentracija plazemskih koncentracij RIF bolnikom z okužbo kolčnega vsadka izmerjena še v 12. tednu, bolnikom z okužbo kolenskega vsadka pa še v 24. tednu od pričetka terapije. Bolnikom so bili ob meritvi plazemske koncentracije RIF izmerjeni še naslednji parametri: bilirubin, AST, ALT, γ -GT, CRP in število levkocitov. V sodelovanju s Fakulteto za farmacijo so bili odvzeti vzorci krvi analizirani z

analizno metodo tekočinske kromatografije s tandemsko masno spektrometrijo (LC/MS-MS) (37).

Surovi podatki, pridobljeni iz bolnišnice, niso bili takoj primerni za farmakokinetično analizo s programom NONMEM. Potrebno jih je bilo še urediti (na primer poenotiti merske enote iz µg/L v mg/L) in označiti tako, da jih lahko program NONMEM prebere. Tekom testiranja smo v ukazu označili prvi prostor (gastrointestinalni trakt) s številko 1 in centralni prostor s številko 2, v preglednici s podatki pa smo dodali stolpec CMT, ki nam pove, v katerem prostoru se ob meritvi nahaja učinkovina. Pri testiranju smo ugotovili, da štirje bolniki zelo izstopajo. Pri podatkih za bolnika s številko 34 smo imeli izmerjene koncentracije še pred začetkom zdravljenja in opredelitvijo odmerka, zato smo pet točk označili z znakom "#", kar je ukaz za NONMEM, da tega podatka ne upošteva. Bolniki s številkami 3, 17 in 24 pa so imeli izmerjeno eno nenavadno visoko koncentracijo RIF v plazmi. Te meritve so zelo izstopale na grafih, tudi proporcionalna napaka je bila zato višja, zato smo tudi te vrednosti izključili in označili s "#". Tako urejeni podatki so bili ključ za razvoj končnega modela. Preglednico v Excelu smo shranili v CSV (ang. *comma separated values*) obliki, ki jo lahko program NONMEM prebere.

Urejeni stolpci v preglednici so vidni v prilogi 1 in pomenijo naslednje:

- ID: številka bolnika
- DAT1: datum
- TIME: čas
- AMT: odmerek [mg]
- ADLL: število takih odmerkov
- II: interval med odmerki
- EVID: označuje dogodek
 - 1- bolnik vzel zdravilo
 - 2- mi želimo napovedati
 - 0- odvzet vzorec krvi
- MDV: ang. *missing dependent variable*, 1 pomeni, da ni meritve koncentracije, 0 pomeni meritev
- DV: ang. *dependent variable*, izmerjena koncentracija RIF v plazmi [mg/L]
- CMT: ang. *compartment*, 1 pomeni gastrointestinalni trakt, 2 centralni prostor
- TAD: ang. *time after dose*, čas po zadnjem apliciranem odmerku [h]

- WT: telesna masa [kg]
- SX: spol; 1 pomeni žensko, 0 pomeni moški
- AGE: starost [leta]
- BLR, AST, ALT, GAMA_GT, CRP, LKCI: biokemični markerji
- RAZMERJE: razmerje med AST in ALT.

3.2 Programska oprema za analizo podatkov

Tekom pisanja naloge smo se srečali s programskimi paketi, ki so nam pomagali pri ustvarjanju, analizi in diagnozi podatkov. Kot je že bilo omenjeno, smo podatke o bolnikih zbrali v preglednici, narejeni v **Excel**-u. Za analizo podatkov smo uporabili programski paket **NONMEM 7.3.0.**, ki je napisan v programskem jeziku Fortran. Sestavljen je iz treh delov, osnovnega programa NONMEM, zbirke FK modelov PREDPP in iz predprocesorja NM-TRAN, ki omogoča vpisovanje ukazov in zaznavanje napak bodisi v kodi oziroma v datoteki s podatki (38). Prednosti tega programa so, da je validiran, enostaven za uporabo, široko uporabljen in z raznimi poenostavitvami prijazen uporabniku (39). Program nam po koncu analize naniza več datotek z rezultati. Nekatere rezultate smo pretvorili v grafe s programom **RStudio**, lahko pa bi uporabili tudi Excel. Razvoja našega populacijskega farmakokinetičnega modela smo se lotili postopno.

3.3 Razvoj populacijskega farmakokinetičnega modela

Razvoj PopFK modela smo začeli z določitvijo osnovnega **strukturnega modela**. Lahko ga izberemo med ponujenimi (zbirka PREDPP) ali pa ga napišemo sami s pomočjo diferencialnih enačb (39). Najprej smo testirali 1-prostorni model z absorpcijo prvega reda, potem smo poskusili še z modeli indukcije presnove, ki so se nam zdeli primerni glede na pregled literature. Na koncu smo testirali tudi 2-prostorni model.

Statističen model oceni variabilnosti, poskuša določiti njihove vzroke in loči med interindividualno in rezidualno (intraindividualno) variabilnostjo. V naši raziskavi smo ocenjevali obe vrsti variabilnosti.

IIV je variabilnost med ljudmi (ang. *between subjects*), kajti vsi posamezniki se med seboj razlikujejo. Tudi če je naš preiskovanec tipični posameznik, izmerjeni rezultati (v našem primeru koncentracija RIF v plazmi) ne bodo enaki predvidenim, ker:

- je v meritvi vedno prisotna napaka,
- ljudje nismo zgrajeni iz modelov, ampak kompleksno.

IIV torej ni napaka, je samo biološko dejstvo, da je ena oseba različna od druge. Večina parametrov sledi logaritemsko normalni razporeditvi, ki ne morejo biti negativni, zato smo si za zapis IIV parametrov izbrali eksponentni model, kot prikazuje enačba 11.

$$P_i = PTV \times e^{\eta_i}$$

Enačba 11

P_i označuje FK parameter posameznika (npr. očistek, volumen distribucije), P_{TV} tipično vrednost parametra v populaciji (lahko označimo tudi z grško črko theta; θ), η_i pa razliko med tipično vrednostjo parametra in med vrednostjo parametra pri določenem bolniku. η je grška črka eta, njena srednja vrednost v populaciji je nič, varianca pa ω^2 (39).

Intraindividualna variabilnost oz. rezidualna napaka pa je variabilnost znotraj posameznika (ang. *within subject*). Opisuje razliko med napovedjo modela in meritvijo. V naši raziskavi smo za oceno te variabilnosti izbrali kombiniran model napake, tj. aditivno in proporcionalno, kot prikazuje enačba 12.

$$DV = iPRED + Wp \times iPRED + Wa$$

Enačba 12

DV označuje izmerjeno koncentracijo, iPRED napovedano koncentracijo za posameznika, Wa je aditivna komponenta in Wp je proporcionalna komponenta rezidualne napake. Wa in Wp lahko zapišemo tudi z grško črko ε (epsilon), njena srednja vrednost v populaciji je nič, varianca pa σ^2 (39).

Kriteriji za izbiro "najboljšega" modela:

1. Ocene parametrov so izbrane tako, da je verjetje največje in vrednost objektivne funkcije (OFV) najmanjša.
2. Če se OFV ob izbiri novega modela zmanjša za več kot 3,84, je to statistično pomembna razlika pri stopnji tveganja 5 %.
3. Zmanjšata se aditivna in proporcionalna napaka ter interindividualna variabilnost.

4. Ocene parametrov so smiselne in fiziološko verjetne.
5. Uspešna konvergenca (gradient na ocenah parametrov ni nič).
6. Ustrezni grafični prikazi prileganj.
7. Validacija modela (32,29).
8. Upoštevamo, da najmanjša vrednost OFV še ne pomeni "najboljšega" modela.

3.3.1 1-prostorni model brez indukcije presnove

Najprej smo se odločili testirati 1-prostorni model z absorpcijo prvega reda (brez indukcije presnove). Osnovni strukturni model smo izbrali iz izbirke PREDPP, in sicer subrutino ADVAN2/TRANS2. ADVAN2 predstavlja 1-prostorni linearni model s prvim redom absorpcije, TRANS2 pa FK parametre rifampicina; očistek (Cl), volumen distribucije (Vd) in konstanto absorpcije (k_a). Dodatnih parametrov nismo izbrali. Prostor 1 predstavlja gastrointestinalni trakt, prostor 2 pa centralni prostor. Za opis IIV smo aplicirali enačbe 13, 14 in 15.

$$Cl_i = \theta Cl \times e^{\eta_{Cl}} \quad \text{Enačba 13}$$

$$Vd_i = \theta V \times e^{\eta_V} \quad \text{Enačba 14}$$

$$k_{ai} = \theta k_a \times e^{\eta_{ka}} \quad \text{Enačba 15}$$

Rezultati, ki bodo predstavljeni v nadaljevanju, niso bili ustrezni, zato smo za ta model poskusili še zapis s subrutino ADVAN6, ki pomeni splošen nelinearen model. Uporabili smo diferencialne enačbe 16 in 17. Za izračune ocen FK parametrov in standardnih napak smo uporabili aproksimacijsko metodo FOCE INTER:

$$\frac{dA}{dt}(1) = -k_a \times A(1) \quad \text{Enačba 16}$$

$$\frac{dA}{dt}(2) = k_a \times A(1) - \frac{Cl}{V_2} \times A(2) \quad \text{Enačba 17}$$

A(1) pomeni količino učinkovine v gastrointestinalnem traktu, A(2) količino v centralnem prostoru, V₂ je volumen centralnega prostora in Cl očistek. Za opis IIV smo uporabili enačbe 13, 14 in 15

3.3.2 1-prostorni modeli z indukcijo presnove

Testirali smo tudi 1-prostorni model z indukcijo presnove, kjer smo ukaze napisali s pomočjo diferencialnih enačb in subrutine ADVAN6. Preizkusili smo dva različna zapisa indukcije (s konstanto indukcije in s T_{50}), encimski model in model, kjer je upoštevan časovni zamik absorpcije. Prostor 1 predstavlja gastrointestinalni trakt, prostor 2 pa centralni prostor. Za aproksimacijsko metodo smo določili FOCE INTER. IIV za vse parametre smo zapisali z obliko enačbe 11.

3.3.2.1 Eksponentni model s konstanto indukcije (k_i)

Predpostavimo, da se očistek se s časom spreminja zaradi avtoindukcije. Očistek Cl je enak seštevku začetnega očistka Cl_1 in inducirane očistka Cl_2 (enačba 18). Za eksponenten model smo uporabili zapis z enačbo 19, kjer je Cl_{2max} maksimalno povečanje očistka.

$$Cl = Cl_1 + Cl_2 \quad \text{Enačba 18}$$

$$Cl_2 = Cl_{2max} \times (1 - e^{-k_i \times t}) \quad \text{Enačba 19}$$

Diferencialne enačbe, s katerimi opišemo indukcijo presnove:

$$\frac{dA}{dt}(1) = -ka \times A(1) \quad \text{Enačba 20}$$

$$\frac{dA}{dt}(2) = ka \times A(1) - \left(\frac{Cl}{V_2}\right) \times A(2) \quad \text{Enačba 21}$$

Vstavimo enačbo 18 za Cl in dobimo:

$$\frac{dA}{dt}(2) = ka \times A(1) - \left(\frac{Cl_1 + Cl_2}{V_2}\right) \times A(2) \quad \text{Enačba 22}$$

Vstavimo enačbo 19 za Cl_2 in dobimo:

$$\frac{dA}{dt}(2) = ka \times A(1) - \left(\frac{Cl_1 + Cl_{2max} \times (1 - e^{-k_i \times t})}{V_2}\right) \times A(2) \quad \text{Enačba 23}$$

$A(1)$ pomeni količino učinkovine v gastrointestinalnem traktu, $A(2)$ količino v centralnem prostoru, k_i je t.i. konstanta indukcije, V_2 je volumen centralnega prostora, t je čas, Cl_1 začetni očistek in Cl_{2max} maksimalno povečanje očistka. Graf, ki ga dobimo iz zapisa, je eksponentna funkcija, zato smo ta model poimenovali eksponentni model.

Raziskovali smo tudi možnost **časovnega zamika** pri pojavu plazemskih koncentracij kot posledico zakasnjene absorpcije. Pojav je znan kot *lag-time*. V ukazu smo zakasnitveni čas opredelili kot $A_{LAG2}=0,25$, kar pomeni, da se absorpcija prične po 0,25 h oziroma po petnajstih minutah. Indukcijo v tem testiranem modelu smo zapisali z enačbama 20 in 23.

3.3.2.2 Sigmoidni model

Tudi tu predpostavimo, da se očistek s časom spreminja zaradi avtoindukcije. Očistek Cl je enak seštevku začetnega očistka Cl1 in inducirane očistka Cl2 (enačba 18). Za sigmoiden model smo uporabili zapis z enačbo 24, kjer je $Cl2_{max}$ maksimalno povečanje očistka:

$$Cl2 = \frac{Cl2_{max} \times t}{T50 + t} \quad \text{Enačba 24}$$

Poleg enačbe 20 smo indukcijo presnove zapisali tudi z enačbo 27:

$$\frac{dA}{dt}(2) = ka \times A(1) - \left(\frac{Cl}{V2}\right) \times A(2) \quad \text{Enačba 25}$$

$$\frac{dA}{dt}(2) = ka \times A(1) - \left(\frac{Cl1 + Cl2}{V2}\right) \times A(2) \quad \text{Enačba 26}$$

$$\frac{dA}{dt}(2) = ka \times A(1) - \left(\frac{Cl1 + \frac{Cl2_{max} \times t}{T50 + t}}{V2}\right) \times A(2) \quad \text{Enačba 27}$$

T_{50} v enačbi pomeni čas, v katerem pride do 50 % indukcije. Graf, ki ga dobimo po teh enačbah, je sigmoidne oblike, zato smo ta model poimenovali sigmoidni model.

3.3.2.3 Encimski model

Encimski model indukcije presnove vsebuje še dodaten (tretji) prostor z encimom, shema je prikazana na sliki 6. Model napišemo z enačbo 20 in z naslednjimi enačbami:

$$Cp = \frac{A(2)}{V2} \quad \text{Enačba 28}$$

$$\frac{dA}{dt}(2) = ka \times A(1) - \left(\frac{Cl}{V2} \times A(2) \times A(3)\right) \quad \text{Enačba 29}$$

$$\frac{dA}{dt}(3) = k(enc) \times \left(1 + \frac{Emax \times Cp}{EC50 + Cp}\right) - k(enc) \times A_{(enc)} \quad \text{Enačba 30}$$

Ocenjeni parametri so poleg že znanih še $A_{(\text{enc})}$ (količina encima v encimskem prostoru), $k_{(\text{enc})}$ (konstanta encima), E_{max} (maksimalno povečanje količine encima zaradi RIF), EC_{50} (plazemska koncentracija RIF, pri kateri pride do 50 % E_{max}) in C_p (plazemska koncentracija RIF).

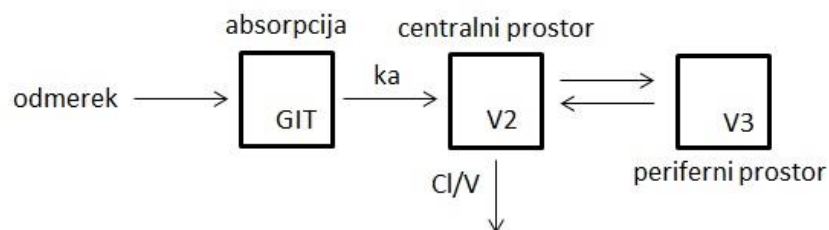
3.3.3 2-prostorni model

2-prostorni model je sestavljen iz gastrointestinalnega trakta, centralnega in perifernega prostora. Učinkovina prehaja iz centralnega v periferni prostor in nazaj. Shema je vidna na sliki 7. Enačbi, s katerima opišemo model (poleg enačbe 20):

$$\frac{dA}{dt}(2) = ka \times A(1) - \frac{cl}{V_2} \times A(2) \quad \text{Enačba 31}$$

$$\frac{dA}{dt}(3) = \frac{Q}{V_2} \times A(2) - \frac{Q}{V_3} \times A(3) \quad \text{Enačba 32}$$

$A(3)$ predstavlja količino učinkovine v perifernem prostoru, V_3 je volumen perifernega prostora, Q pa pretok krvi skozi organ.



Slika 7: Shema 2-prostornega modela.

3.4 Validacija

Končni PopFK model je potrebno validirati, saj s tem dokažemo, da je model robusten in da resnično ter natančno opiše FK RIF pri populaciji bolnikov. Validacijo smo izvedli z dvema metodama:

1. "Bootstap" oziroma metoda ponovljenega vzorčenja in
2. VPC oziroma metoda vizualnega vrednotenja PopFK modelov.

"Bootstrap" metoda se uporablja za selekcijo modelov, preizkušanje njihove stabilnosti ter zanesljivosti ocenjenih FK parametrov. Deluje tako, da iz populacije naključno izbere posameznike, ki jih nato vzorči in tako ustvari nove vzorce reda velikosti začetnega vzorca. Proces je ciklični in traja, dokler se ne ustvari tako število vzorcev, ki smo ga določili na začetku, po navadi je to od 200 do 1000 (40). Posameznik je lahko na primer večkrat vključen v nov preiskovan vzorec, lahko pa v njega sploh ni vključen (35). Na koncu analize dobimo podatke o robustnosti modela in nove parametre, srednje vrednosti in intervale zaupanja. Intervali zaupanja se razlikujejo od tistih v NONMEM-u, lahko vsebujejo tudi vrednost nič. V takem primeru jih je potrebno ponovno ovrednotiti oziroma po potrebi tudi odstraniti iz modela (40).

VPC oziroma pcVPC (ang. *prediction corrected VPC*) nam ponudi grafično informacijo o tem, kako zmore model simulirati koncentracije v primerjavi z izmerjenimi. Na grafu imamo koncentracijo v odvisnosti od neodvisne spremenljivke (čas). Simuliranih koncentracij je lahko tudi 1000. VPC diagnosticira stalne in naključne učinke v modelu tako, da primerja različne percentile izmerjenih koncentracij s simuliranimi. Pogosto pa je zaradi različnih vrednosti drugih neodvisnih spremenljivk (na primer odmerki, ki se razlikujejo med populacijo bolnikov) VPC neuporaben, takrat uporabimo pcVPC. PcVPC odstrani variabilnost tako, da normalizira izmerjene in simulirane koncentracije glede na tipično populacijsko napoved (41). V naši raziskavi smo uporabili oba načina.

3.5 Simulacija odmerjanja

Simulacija odmerjenja nam ponudi še dodatno informacijo o tem, kako naš končni model napoveduje koncentracijo RIF. Za uspešno simulacijo je potrebno definirati model, končne vrednosti parametrov in variabilnosti, režim odmerjanja, čas vzorčenja napovednih koncentracij, število bolnikov in čas zdravljenja. Simulacijo odmerjanja smo prikazali na grafu koncentracije RIF v odvisnosti od časa, narisali smo ga v Excelu. Na grafu vidimo, kako se koncentracija s časom spreminja in kaj to pomeni za našo raziskavo.

4 REZULTATI IN RAZPRAVA

4.1 Populacija bolnikov

V raziskavi je bilo po kriterijih vključitve in izključitve obravnavanih 55 bolnikov, od tega šestindvajset žensk in devetindvajset moških, ki so peroralno prejeli 450 mg RIF na dvanajst ur v kombinirani antibiotični terapiji. Z analizo metodo LC/MS-MS je bilo analiziranih 341 plazemskih vzorcev, ki smo jih uporabili za razvoj PopFK modela. Analizirali smo tudi demografske podatke bolnikov, katerih rezultati so predstavljeni v preglednici III.

Preglednica III: Demografski podatki o populaciji bolnikov.

Lastnosti		MOŠKI	ŽENSKE
število bolnikov	/	29	26
starost [leta]	interval	23-82	31-88
	povprečje	63,14	65,78
višina [cm]	interval	155-194	150-180
	povprečje	175,2	162,7
masa [kg]	interval	62-120	48-107
	povprečje	90,44	73,42

Zdravljenje je bilo uspešno pri triinštridesetih bolnikih, pri devetnajstih pa se je okužba ponovila in potrebna je bila ponovna operacija. Za tri bolnike nismo uspeli pridobiti podatka o uspehu zdravljenja (en bolnik od teh je umrl). Najpogostejša okužba je bila s *Staphylococcus epidermis*. Izolat je bil pri osemštridesetih bolnikih izoliran sedemnajstkrat. Po pogostosti ji sledi okužba s *Staphylococcus aureus* (šestnajst primerov), *Staphylococcus capitis* in *Staphylococcus hominis* (vsaka bakterija po osem primerov), *Staphylococcus hemolyticus* (štirje primeri) ter *Escherichia coli* (trije primeri). V telesih bolnikov pa je bilo izoliranih še šestnajst različnih bakterij, ki so se pojavile enkratno.

4.2 Razvoj populacijskega farmakokinetičnega modela

4.2.1 1-prostorni model brez indukcije presnove

Prvi model, ki smo ga testirali je bil osnovni FK model; 1-prostorni model z absorpcijo prvega reda, ADVAN2/TRANS2. Začetne vrednosti parametrov smo si izbrali iz literature, za začetek nismo ocenjevali IIV. Zagnali smo preko štirideset modelov z različnimi začetnimi parametri, vendar ocenjeni parametri niso bili ustrezni, ali pa je imel ocenjen parameter vrednost nič. Rezidualna napaka je bila neustrezna, IIV nam tudi v nadaljevanju ni uspelo oceniti.

Tekom testiranja tega modela smo tudi popravili podatke in izločili nekaj točk, kot je opisano v prejšnjem poglavju. Potem smo zagnali še osnovni model absorpcije, napisan z diferencialnimi enačbami in subrutino ADVAN6. Začetne vrednosti parametrov smo prav tako črpali iz literature. IIV nismo uspeli oceniti. Rezultati analize s programom NONMEM so zbrani v preglednici IV.

Preglednica IV: Vrednosti parametrov za osnovni model brez ocene IIV.

OFV= 910,6	Ocena parametra	RSE (%)
stalni učinki		
θk_a [1/h]	0,280	42,2
θCl [L/h]	12,5	95,6
θV_2 [L]	44,7	33,5
interindividualna variabilnost CV %	/	/
rezidualna napaka		
θW_a [mg/L]	2,39	12,9
θW_p [%]	51,1	29,0

Za izračun IIV smo oceno variance ω^2 , ki nam jo je podal program, pretvorili v koeficient variacije CV [%]. Lahko pa bi si izbrali tudi aproksimacijo ω^2 , ki nam jo poda NONMEM. Za izračun smo uporabili enačbo 33. Relativno standardno napako RSE [%] pa smo izračunali po enačbi 34, se θ pomeni standardno napako nekega parametra:

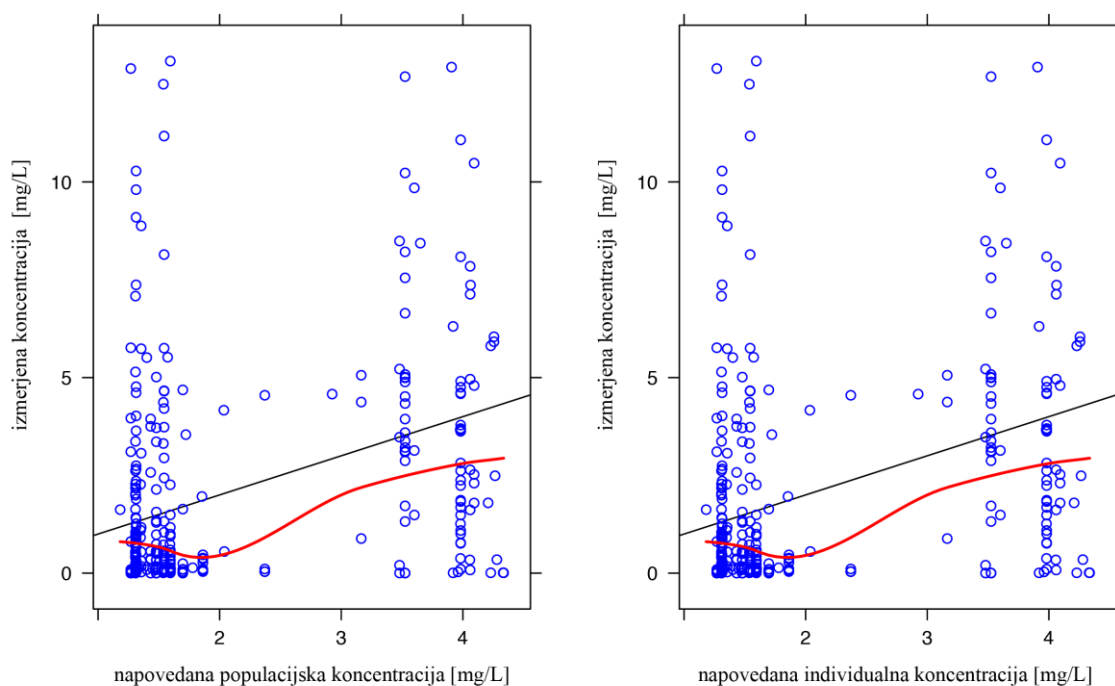
$$CV(\%) = \sqrt{(e^{\omega^2} - 1)} \times 100$$

Enačba 33

$$RSE (\%) = \frac{se\theta}{\theta} \times 100$$

Enačba 34

Za model smo preverili tudi rezultate grafičnih prileganj (ang. *Goodness of fit plots*), ki so prikazani na sliki 8. Grafa smo narisali s pomočjo RStudia. Pove nam odvisnost izmerjenih koncentracij od populacijskih (graf na levi) oziroma individualnih napovedi (graf na desni). V primeru tega modela IIV nismo ocenjevali, zato sta grafa identična. Cilj je, da se točke čim bolj prilegajo črni črti, realen trend pa prikazuje rdeča črta.



Slika 8: Prileganje modela z absorpcijo brez ocene IIV.

Ocenjeni parametri v preglednici IV so sicer fiziološko smiselni, vendar prikazi grafičnih prileganj kažejo na to, da model ni ustrezen. Dobljen OFV je referenčni OFV, ki smo ga v nadaljevanju uporabili za primerjavo modelov. IIV nismo uspeli oceniti, zato smo nadaljevali z razvojem modelov.

4.2.2 1-prostorni modeli indukcije presnove

V literaturi najdemo podatek, da je RIF močan induktor metaboličnih encimov in tudi svojega lastnega metabolizma, zato smo se odločili testirati tudi modele indukcije presnove. Nekaj raziskav na to temo že obstaja, vendar je bila naša raziskava prva, kjer smo razvijali PopFK model indukcije presnove za populacijo bolnikov z okužbami ortopedskih vsadkov. Testirali smo **tri različne modele**.

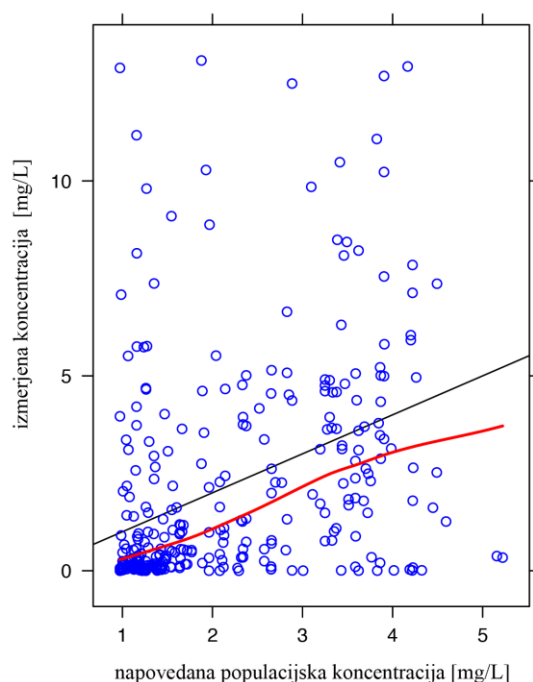
4.2.2.1 Eksponentni model s konstanto indukcije (k_i)

Osnovni model smo zapisali z enačbama 20 in 23. Ocenjevali smo sedem parametrov oziroma θ (θ); konstanto absorpcije (k_a), začetni očistek (Cl_1), maksimalno povečanje očistka ($Cl_{2_{max}}$), t.i. konstanto indukcije (k_i) in volumen centralnega prostora (V_2). IIV na začetku še nismo ocenjevali. Ocene parametrov so v preglednici V.

Preglednica V: Vrednosti parametrov za eksponentni model brez ocene IIV.

OFV= 897,5	Ocena parametra	RSE (%)
stalni učinki		
θk_a [1/h]	0,835	44,6
θCl_1 [L/h]	6,72	31,3
$\theta Cl_{2_{max}}$ [L/h]	7,73	46,3
θk_i [1/h]	0,000969	69,0
θV_2 [L]	83,4	24,5
interindividualna variabilnost CV %	/	/
rezidualna napaka		
θW_a [mg/L]	2,24	15,1
θW_p [%]	58,3	29,0

Parametri so smiselni, vendar ne toliko v fiziološkem pomenu. Razlika med Cl_1 in $Cl_{2_{max}}$ je majhna, maksimalen očistek je okoli 15 L/h, medtem ko literaturne vrednosti nakazujejo vrednost okoli 20 L/h. Konstanta indukcije je zelo nizka, kar pomeni, da se polna indukcija vzpostavi zelo pozno, po približno treh mesecih. Je pa OFV manjši v primerjavi s prejšnjim modelom in tudi napovedane koncentracije bolj sovpadajo z izmerjenimi (slika 9).



Slika 9: Prileganje eksponentnega modela brez ocene IIV.

Ekponentnemu modelu smo v nadaljevanju dodali še ukaz o **zakasnitvenem času**, in sicer, da se absorpcija prične z zakasnitvijo petnajstih minut. Vrednosti dobljenih parametrov so bile enake kot pri prejšnjem modelu, prav tako OFV. Pri pregledu grafov smo ugotovili, da sta dobljena grafa identična grafoma na sliki 9. Ugotovili smo, da ob uporabi zakasnitvenega časa ni izboljšanja, zato je vseeno ali upoštevamo zakasnitveni čas ali ne. Razlog za identičnost rezultatov je verjetno v tem, da nimamo dovolj podatkov v absorpcijski fazi. Glede na to, da je model z vključenim zakasnitvenim časom bolj kompleksen, smo se odločili, da ga v nadaljevanju ne upoštevamo.

Z rezultati nismo bili zadovoljni, zato smo nadaljevali s testiranjem modelov.

4.2.2.2 Sigmoidni model

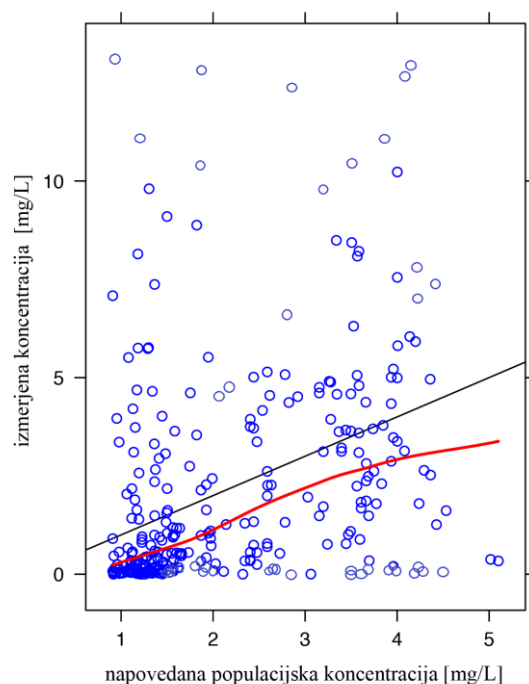
Model smo zapisali z enačbama 20 in 27. Ocenjevali smo sedem parametrov oziroma θ (θ); konstanto absorpcije (k_a), začetni očistek (Cl1), maksimalno povečanje očistka (Cl2), čas, v katerem pride do 50 % indukcije (T_{50}) in volumen centralnega prostora (V_2). IIV na začetku še nismo ocenjevali. Ocene parametrov so v preglednici VI.

Preglednica VI: Vrednosti parametrov za sigmoidni model brez ocene IIV.

OFV= 898,9	Ocena parametra	RSE (%)
stalni učinki		
θk_a [1/h]	0,828	46,7
θCl_1 [L/h]	6,16	51,0
$\theta Cl_{2_{max}}$ [L/h]	8,85	45,1
θT_{50} [h]	61,0	173,8
θV_2 [L]	82,4	22,3
interindividualna variabilnost CV %	/	/
rezidualna napaka		
θW_a [mg/L]	2,26	15,0
θW_p [%]	56,7	29,1

Maksimalen očistek je 15 L/h in je še vedno nižji, kot ga navajajo v literaturi. Čas, v katerem pride do 50 % indukcije je 61 ur oziroma 2,5 dni, literatura pa nakazuje, da je za ta pojav potreben slab teden dni. Tudi relativna standardna napaka za T_{50} je zelo visoka. Ostali parametri so smiselni. Pogledali smo tudi diagrame ujemanja koncentracij, ki so prikazani na sliki 10. Rdeča trendna črta se skoraj ujema s črno črto. Na grafu vidimo veliko izmerjenih koncentracij, ki zelo odstopajo in so daleč od zelene črne črte. Model napoveduje nižje koncentracije od izmerjenih. Desni graf je enak levemu, ker nismo ocenjevali IIV.

Grafa iz slike 10 sta zelo podobna grafoma na sliki 9. Ob pogledu na ocenjene vrednosti parametrov vidimo, da so si parametri med seboj zelo podobni. To nakazuje na to, da sta si oba zapisa indukcije presnove skoraj enakovredna, vendar je na prvi pogled sigmoidni model bolj fiziološko smiseln glede na čas, potreben za doseg 50 % indukcije. Preden smo se odločili za končni model, smo želeli testirati še encimski in 2-prostorni model.



Slika 10: Prileganje sigmoidnega modela brez ocene IIV.

4.2.2.3 Encimski model

Encimski model še vedno spada med modele indukcije presnove, le da ima dodan prostor z encimom. Povišana plazemska koncentracija RIF poveča nastajanje encima, s tem pa se RIF hitreje presnavlja in tako se poviša očistek. Model je zapisan z enačbami 20 in 28-30. Ocenjevali smo osem parametrov oziroma θ ; konstanto absorpcije (k_a), očistek (Cl), konstanto encima ($k_{(enc)}$), maksimalen efekt povečanja količina encima (E_{max}), plazemsko koncentracijo RIF, pri kateri pride do 50 % E_{max} (EC_{50}) in volumen centralnega prostora (V_2). Ocenjene vrednosti parametrov so prikazane v preglednici VII. Ob pregledu rezultatov smo ugotovili, da je na parametru EC_{50} gradient nič, kar pomeni, da ocena tega parametra ni zanesljiva. Tudi OFV in grafi so bili enaki kot pri prejšnjem eksponentnem modelu. Model nam ni izračunal relativne standardne napake. Zaradi vseh teh razlogov smo zaključili, da model ni ustrezen, zato smo nadaljevali s testiranjem.

Preglednica VII: Vrednosti parametrov za encimski model brez ocene IIV.

OFV= 897,5	Ocena parametra	RSE (%)
stalni učinki		
θk_a [1/h]	0,824	/
θCl [L/h]	6,85	/
$\theta k_{(enc)}$ [1/h]	0,000960	/
θE_{max}	1,12	/
θEC_{50} [mg/L]	0,0000663	/
$\theta V2$ [L]	83,2	/
interindividualna variabilnost CV %	/	/
rezidualna napaka		
θWa [mg/L]	2,24	/
θWp [%]	57,6	/

V nadaljnjem razvoju encimskega modela smo začetno vrednost EC_{50} fiksirali na 1, kar pomeni, da je vrednost tega parametra za celotno populacijo enaka in znaša 1 in pomeni, da 50 % povečanje količine encima nastopi pri koncentraciji RIF 1 mg/L. Prav tako smo uredili podatke v Excel-u tako, da smo v stolpec CMT (prostori) dodali še vrstico CMT=3. Prostor 3 smo opredelili ob začetku jemanja s koncentracijo encima, ki je enaka 1. Ostali podatki so ostali isti. Model nam je tokrat izračunal podobne ocene parametrov, OFV je bil 898,1. Odločili smo se, da modela ni smiselno uporabiti, kajti gre za zelo kompleksen model, kjer ocenjujemo osem parametrov, od teh pa je en parameter fiksiran, kar pomeni, da ocenjujemo le sedem parametrov. V tem primeru smo se zato odločili, da raje uporabimo bolj preprost model.

4.2.3 2-prostorni model

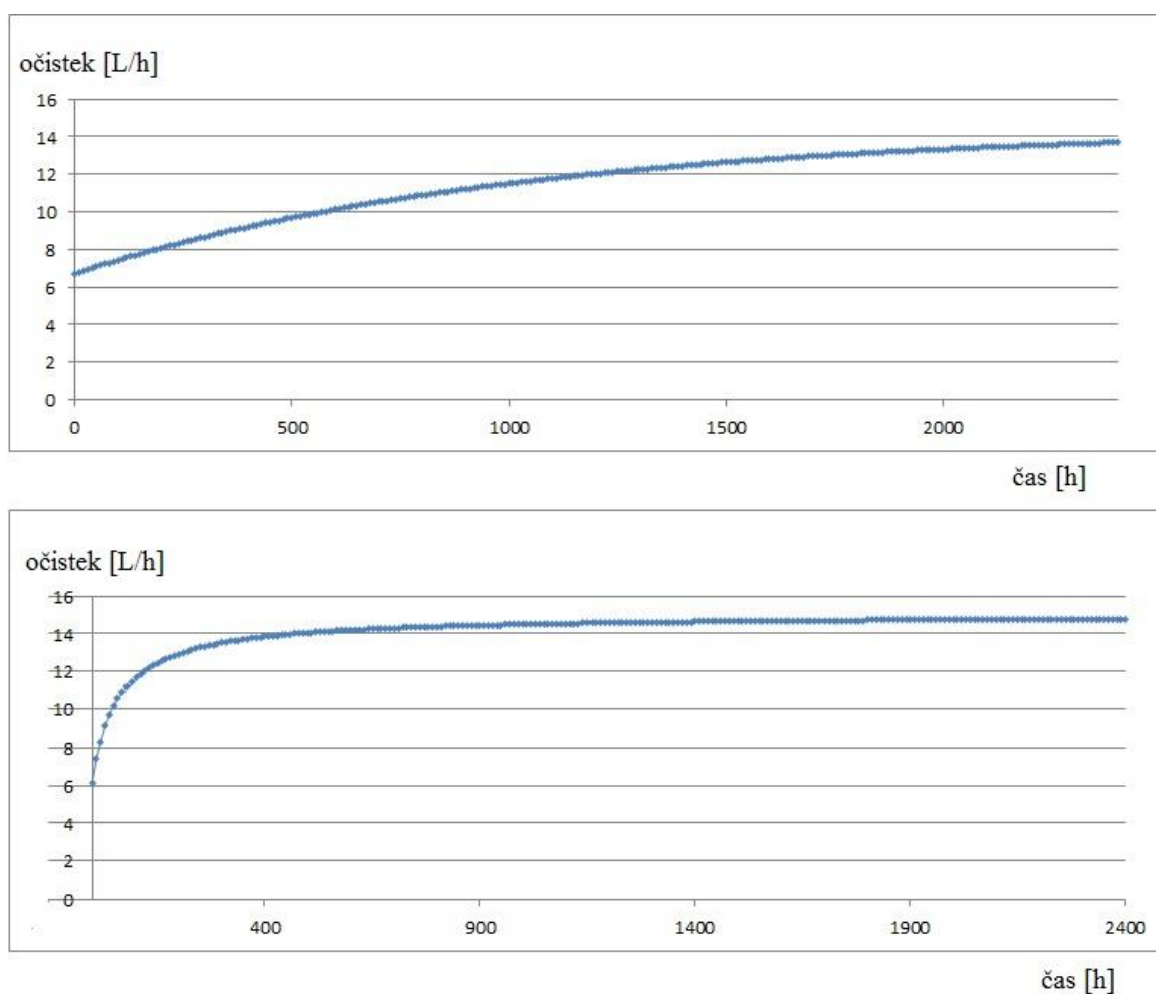
2-prostorni model smo zapisali z enačbami 20, 31 in 32. Model je definiran z dvema prostoroma, centralnim in perifernim, med katerima prehaja zdravilna učinkovina. Ocenjevali smo sedem parametrov; konstanto hitrosti absorpcije k_a , očistek Cl , volumen centralnega prostora $V2$, distribucijski očistek Q in volumen perifernega prostora $V3$. Ocenjene vrednosti parametrov so prikazane v preglednici VIII. Parametri so sicer smiselni, vendar je OFV višji kot pri prejšnjih testiranih modelih. IIV nismo ocenjevali, model tudi ni ocenil RSE, verjetno je bil le-ta prevelik.

Preglednica VIII: Vrednosti parametrov za 2-prostorni model brez ocene IIV.

OFV= 910,6	Ocena parametra	RSE (%)
stalni učinki		
θk_a [1/h]	0,279	/
θCl [L/h]	12,5	/
$\theta V2$ [L]	44,7	/
θQ [L/h]	3,06	/
$\theta V3$ [L]	29,9	/
interindividualna variabilnost CV %	/	/
rezidualna napaka		
θWa [mg/L]	2,39	/
θWp [%]	51,1	/

4.3 Končni populacijski farmakokinetični model

Od vseh testiranih modelov sta se za najprimernejša izkazala eksponentni in sigmoidni model indukcije presnove. Odločili smo se, da v Excelu narišemo dva grafa očistka v odvisnosti od časa za oba modela. Grafa sta prikazana na sliki 11. Zgornji graf predstavlja vrednosti inducirane očistka (Cl_2), izračunanega po enačbi 19 (s k_i), spodnji graf pa vrednosti inducirane očistka (Cl_2) po enačbi 24 (s T_{50}). Ocenjen parameter začetnega očistka Cl_1 smo potem sešteli z izračunanim induciranim očistkom Cl_2 po enačbi 18 in dobili vrednost očistka Cl , ki je na grafu.



Slika 11: Primerjava dveh grafov očistka v odvisnosti od časa za eksponentni in sigmoidni model.

Vidimo, da pri zgornjem grafu pride do polne indukcije po okoli stotih dnevih oziroma po treh mesecih, pri spodnjem grafu pa doseže maksimalno indukcijo po približno treh tednih.

Iz literature vemo, da pride do maksimalne indukcije v približno enem mesecu, zato smo ugotovili, da je spodnji graf oziroma sigmoidni model bolj fiziološko smiseln. Odločili smo se, da v nadaljevanju testiramo ta model in poskušamo vključiti in oceniti še IIV.

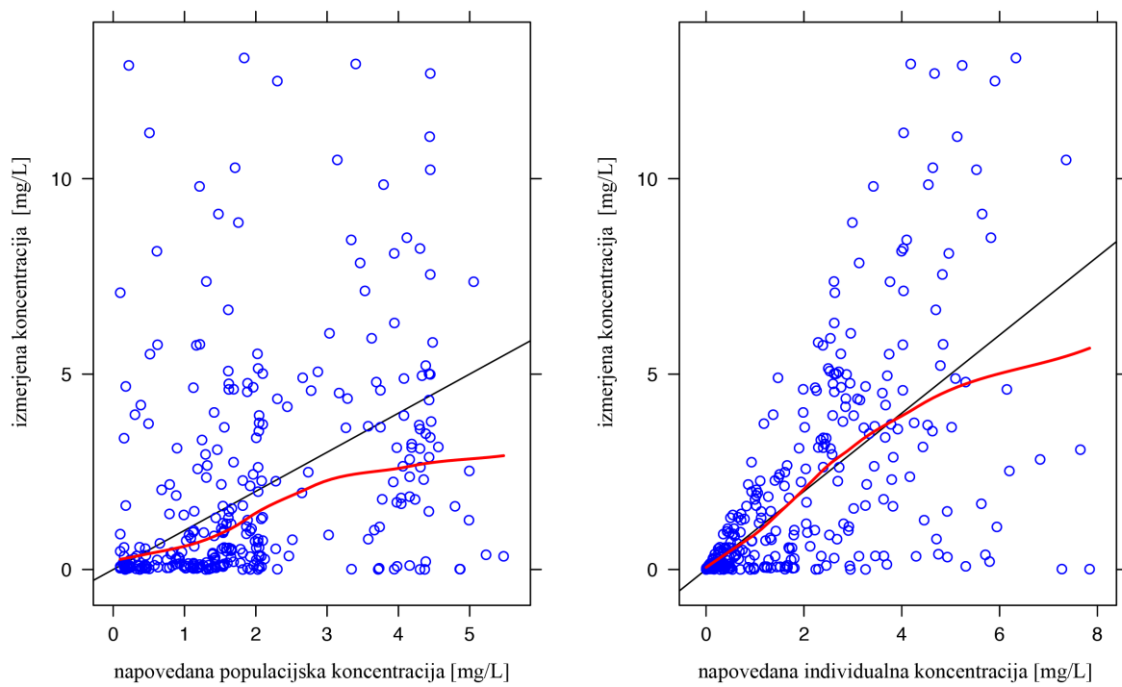
Ocenjevanja smo se lotili postopno. Sprva smo ocenjevali IIV očištkov. Začetna vrednost IIV na $Cl1$ in $Cl2_{max}$ je bila 30 %. Ostali parametri so bili še vedno fiksirani na vrednost nič in jih nismo ocenjevali. Vrednosti ocenjenih θ so v preglednici IX.

Preglednica IX: Vrednosti parametrov za končni model z oceno IIV $Cl1$ in $Cl2_{max}$.

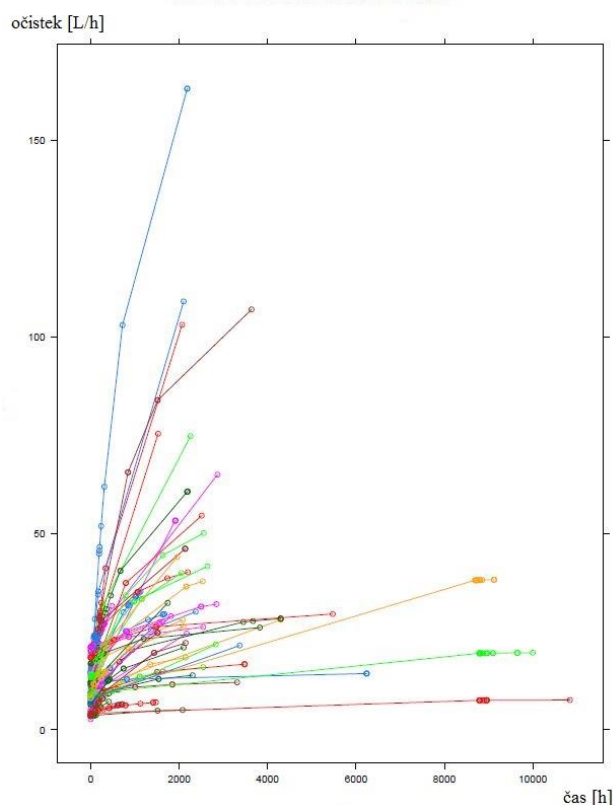
OFV= 502,9	Ocena parametra	RSE (%)
stalni učinki		
θk_a [1/h]	0,560	56,6
$\theta Cl1$ [L/h]	8,46	19,6
$\theta Cl2_{max}$ [L/h]	23,1	129,4
θT_{50} [h]	997,0	243,7
$\theta V2$ [L]	58,5	23,2
interindividualna variabilnost CV %		
$\omega Cl1$ [%]	75,7	48,6
$\omega Cl2_{max}$ [%]	189,0	107,8
rezidualna napaka		
θWa [mg/L]	0,0212	2,24
θWp [%]	84,2	6,95

Ocenjena vrednost časa, v katerem pride do 50 % indukcije je 997 ur oziroma 41 dni, kar precej odstopa od literaturnih vrednosti. Tudi RSE je zelo visoka. IIV na začetnem očiščku $Cl1$ je 75,7 %, na maksimalnem povečanju očiščka pa kar 189,0 %, kar je zelo visoka vrednost in pomeni, da maksimalno povečanje očiščka zelo variira v populaciji bolnikov. OFV se je iz 898,9 znižal na 502,9. Preverili smo še ujemanje koncentracij na grafih na sliki 12. Levi graf se tokrat razlikuje od desnega zaradi ocene IIV. Pri obeh grafih se vidi trend izmerjenih koncentracij ob črni črti. Opazimo, da so točke za malenkost tesneje razporejene kot pri grafih na sliki 10, kar pomeni, da se je izboljšalo ujemanje populacijskih napovedi z izmerjenimi.

Narisali smo tudi graf odvisnosti očistka od časa za našo populacijo bolnikov. Graf je viden na sliki 13. Vsak bolnik od 55-ih je označen s svojo barvo, točke pa so izračunani očistki. Vidimo, kako očistek narašča s časom in kako zelo variira v populaciji. Štirje bolniki na grafu zelo izstopajo, saj imajo maksimalni očistek okoli 100 L/h, večina pa jih ima očistek manjši kot 50 L/h.



Slika 12: Prileganje končnega modela z oceno IIV na Cl_1 in $Cl_{2_{max}}$.



Slika 13: Očistek v odvisnosti od časa za vsakega bolnika v razvoju končnega modela.

V nadaljnjem razvoju smo poskušali oceniti IIV vseh parametrov. Vsem parametrom smo določili 30 % variabilnost in zagnali model. Rezultati niso bili ustrezni, saj program ni uspel oceniti IIV konstante absorpcije, verjetno zaradi pomanjkanja podatkov. Odločili smo se, da v nadaljevanju poskusimo oceniti vse IIV, razen variabilnosti konstante hitrosti absorpcije.

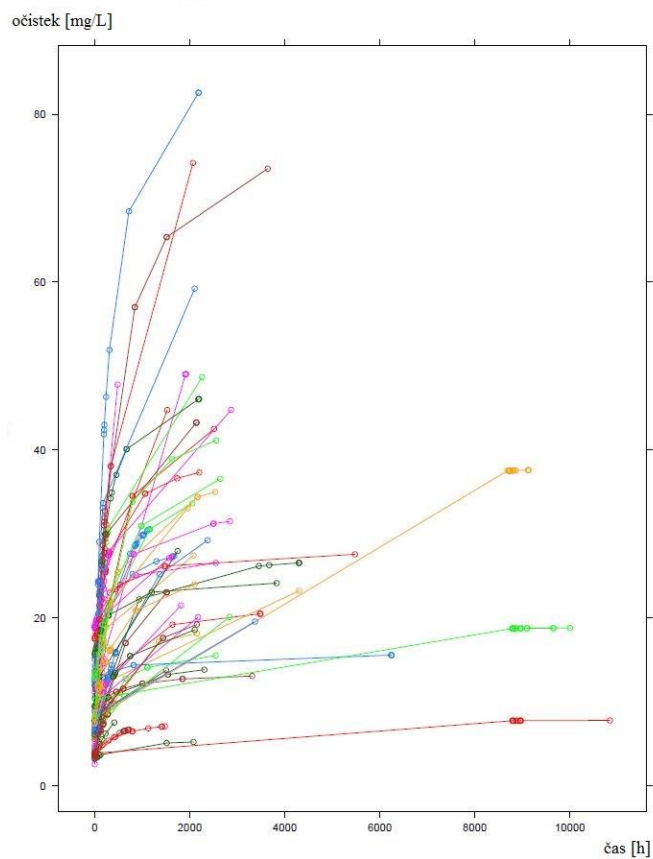
Rezultati so zbrani v preglednici X. Parametri so smiselni in podobni vrednostim iz literature. Konstanta absorpcije je $0,660 \text{ h}^{-1}$. Čas, v katerem pride do 50 % indukcije je 398 ur oziroma 16 dni, kar ustreza literaturnim vrednostim. Začetna vrednost očistka je $7,56 \text{ L/h}$, maksimalno povečanje očistka pa $18,2 \text{ L/h}$. Maksimalni očistek je $25,76 \text{ L/h}$. Volumen centralnega prostora je $66,1 \text{ L}$. Tudi OFV se je znižal iz 502,9 na 499,8, kar sicer statistično ni pomembno, ker razlika ni večja od 3,84. Najbolj izstopa RSE za T_{50} , ki je 94,5 %. IIV maksimalnega povečanja očistka zelo variira v populaciji, kar lahko vidimo tudi na sliki 14.

Za končni model smo preverili še ujemanje napovedanih koncentracij z izmerjenimi. Grafa sta vidna na sliki 15. Rdeča trendna črta se bolj drži črne črte kot v grafu na sliki 12, točke so bolj tesno razvrščene okoli nje. Desni graf tudi kaže na boljše ujemanje individualnih koncentracij z izmerjenimi. Razlog za to je, da smo uspeli oceniti IIV več parametrov kot na sliki 12, kjer je ocenjen samo očistek.

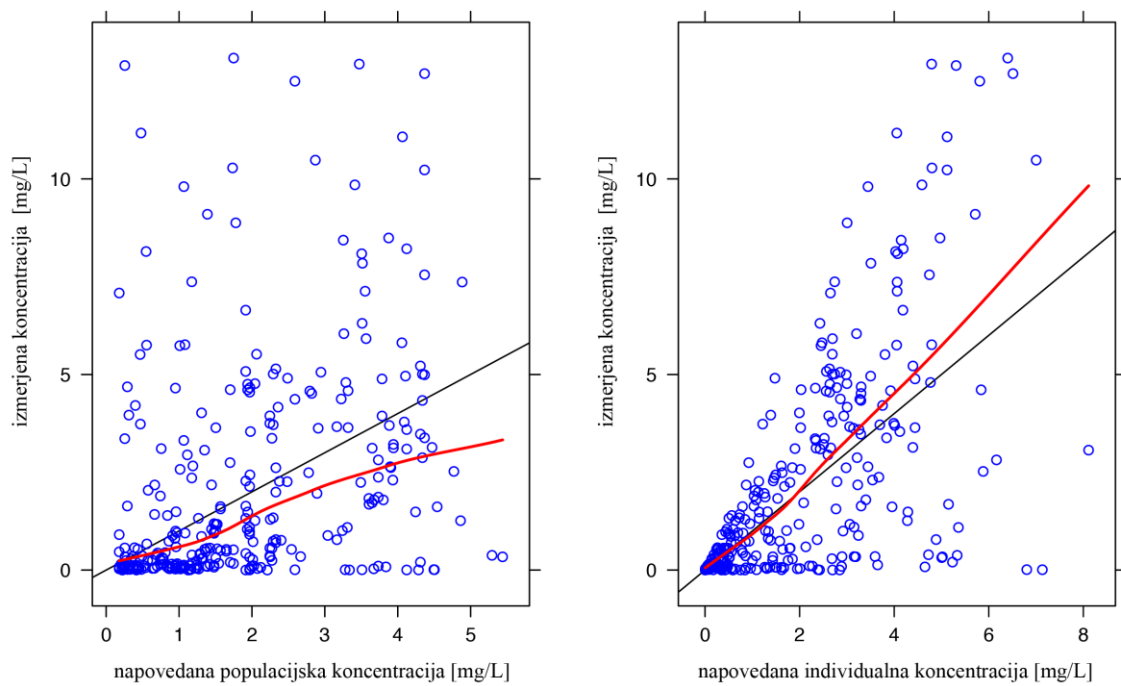
Za primerjavo grafa na sliki 14 z grafom na sliki 13 vidimo, da se je vrednost maksimalnega očistka pri štirih posameznikih zmanjšala. Večina bolnikov ima maksimalen očistek pod 40 L/h. Glede na graf lahko rečemo, da pride v povprečju do polne indukcije v okoli tisoč urah oziroma v štiridesetih dneh.

Preglednica X: Vrednosti parametrov za končni model z oceno IIV vseh parametrov, razen k_a .

OFV= 499,8	Ocena parametra	RSE (%)
stalni učinki		
θk_a [1/h]	0,660	37,0
θCl_1 [L/h]	7,56	17,7
$\theta Cl_{2_{max}}$ [L/h]	18,2	41,9
θT_{50} [h]	398,0	94,5
θV_2 [L]	66,1	16,6
interindividualna variabilnost CV %		
ωCl_1 [%]	77,9	45,4
$\omega Cl_{2_{max}}$ [%]	136,3	60,4
ωT_{50} [%]	82,2	82,2
ωV_2 [%]	28,8	97,2
rezidualna napaka		
θW_a [mg/L]	0,0206	18,30
θW_p [%]	82,4	7,22



Slika 14: Očistek v odvisnosti od časa za vsakega bolnika v končnem modelu.



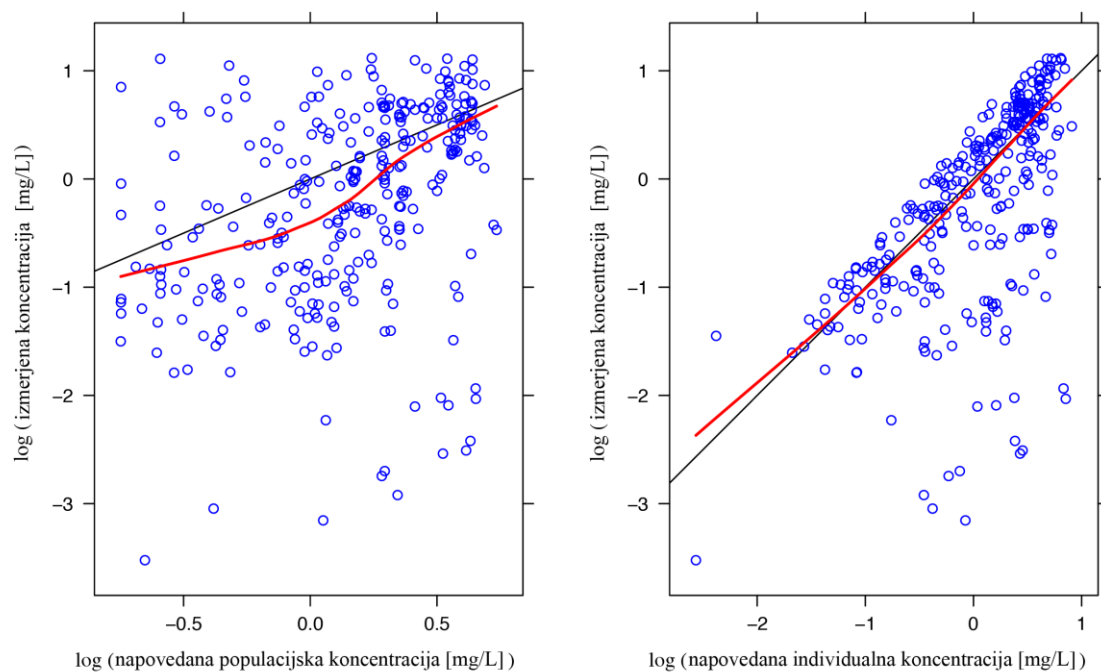
Slika 15: Prileganje končnega modela z oceno IIV vseh parametrov, razen k_a .

Tako smo zaključili z modeliranjem in dobili naš končni PopFK model za RIF. Primerjava modelov v razvoju je prikazana spodaj- v preglednici XI so zbrane ocenjene vrednosti parametrov končnega modela v primerjavi s prejšnjima modeloma v fazi razvoja. Vidimo, kako se je zmanjšal OFV, manjše so tudi relativne standardne napake in aditivne napake. Samo proporcionalna napaka se je zvišala iz 57 % na 82 %, razlog za to je ocenjevanje variabilnosti, ki dvigne napako. Iz preglednice vidimo, da je zadnji model (sigmoidni) najboljši model od testiranih, zato se odločimo zanj.

Preglednica XI: Primerjava parametrov za končni model.

	Brez ocene IIV		Ocena IIV Cl1 in Cl2 _{max}		Ocena IIV Cl1, Cl2 _{max} , T ₅₀ in V2	
	OFV= 898,9		OFV= 502,9		OFV= 499,8	
	Ocena parametra	RSE (%)	Ocena parametra	RSE (%)	Ocena parametra	RSE (%)
stalni učinki						
θk_a [1/h]	0,828	46,7	0,560	56,6	0,660	37,0
$\theta Cl1$ [L/h]	6,16	51,0	8,46	19,6	7,56	17,7
$\theta Cl2_{max}$ [L/h]	8,85	45,1	23,1	129,4	18,2	41,9
θT_{50} [h]	61,0	173,8	997,0	243,7	398,0	94,5
$\theta V2$ [L]	82,4	22,3	58,5	23,2	66,1	16,6
interindividualna variabilnost CV%						
$\omega Cl1$ [%]	/	/	75,7	48,6	77,9	45,4
$\omega Cl2_{max}$ [%]	/	/	189,0	107,8	136,3	60,4
ωT_{50} [%]	/	/	/	/	82,2	82,2
$\omega V2$ [%]	/	/	/	/	28,8	97,2
rezidualna napaka						
θWa [mg/L]	2,26	15,0	0,0212	2,24	0,0206	18,30
θWp [%]	56,7	29,1	84,2	6,95	82,4	7,22

Diagrame prileganj končnega modela smo prikazali še z logaritemsko skalo, saj se očistek porazdeljuje po logaritemsko normalni razporeditvi. Grafa sta vidna na sliki 16. Na desnem grafu rdeča trendna črta skoraj sovпада s črno. Iz teh grafov je razporeditev točk okoli premice še bolj razvidna in nakazuje na to, da smo zgradili model, ki dobro opisuje naše podatke.



Slika 16: Prileganje končnega modela z logaritemsko skalo.

Končni model torej predstavljata **enačbi 20 in 27**, ocenjene vrednosti parametrov so zapisane v **preglednici X**, naraščanje očistka v odvisnosti od časa prikazuje **slika 14**, grafa prileganj sta prikazana na **sliki 16**, zapis modela pa v **prilogi 2**.

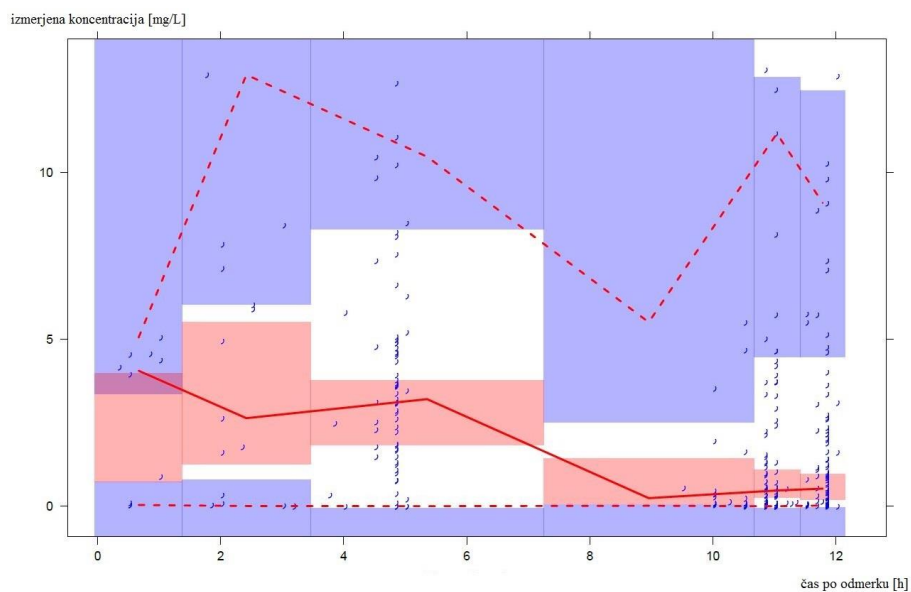
4.4 Validacija končnega modela

Končni FK model smo validirali s pomočjo metode "bootstrap" in VPC ter pcVPC analize. Analiza rezultatov "bootstrap" je prikazana v preglednici XII. V preglednici lahko primerjamo rezultate iz analize NONMEM končnega modela in analize "bootstrap". Iz preglednice lahko razberemo, da so vse končne ocene parametrov znotraj mej intervala zaupanja (2,5-97,5 percentil). Prav tako noben izmed intervalov zaupanja ne vsebuje ničle. To dokazuje, da je model dobro zastavljen, robusten in uporaben za našo populacijo.

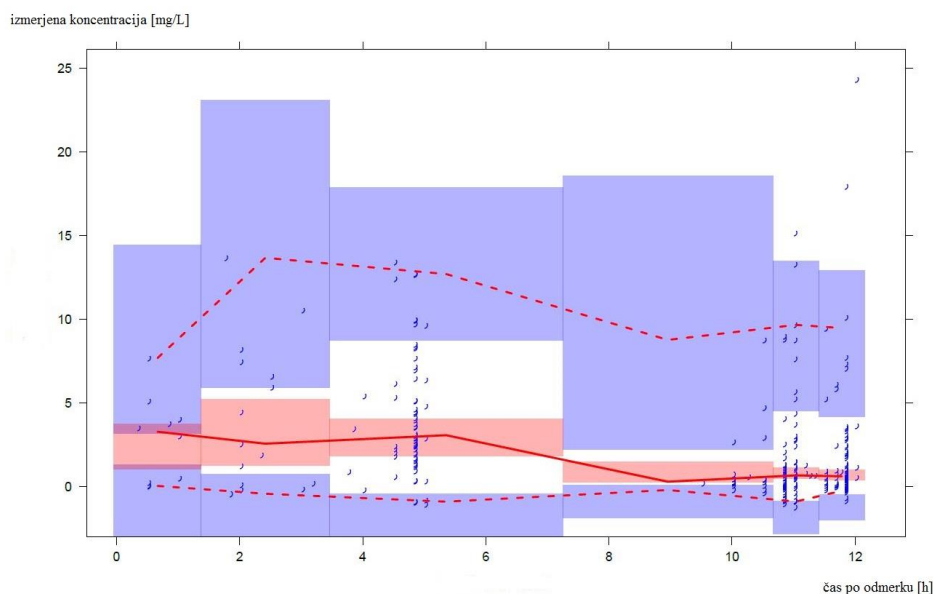
Preglednica XII: Vrednosti parametrov za končni model v primerjavi z analizo "bootstrap".

	Končni model		"Bootstrap"		
	Ocena	RSE (%)	Povprečna ocena	Bias	Interval zaupanja
stalni učinki					
θ_{k_a} [1/h]	0,660	37,0	0,805	0,145	0,434-1,36
θ_{Cl1} [L/h]	7,56	17,7	6,94	-0,620	4,87-9,40
$\theta_{Cl2_{max}}$ [L/h]	18,2	41,9	21,4	3,20	10,2-49,0
$\theta_{T_{50}}$ [h]	398,0	94,5	539,4	141,4	74,1-2205
θ_{V2} [L]	66,1	16,6	64,8	-1,30	47,2-85,2
interindividualna variabilnost CV %					
ω_{Cl1} [%]	77,9	45,4	78,1	0,200	53,2-105,6
$\omega_{Cl2_{max}}$ [%]	136,3	60,4	129,0	-7,30	22,1-334,4
$\omega_{T_{50}}$ [%]	82,2	82,2	109,5	27,3	15,8-591,8
ω_{V2} [%]	28,8	97,2	28,0	-0,800	2,23-50,4
rezidualna napaka					
θ_{Wa} [mg/L]	0,0206	18,30	0,0223	0,00170	0,00761-0,0611
θ_{Wp} [%]	82,4	7,22	80,8	-1,60	70,4-91,8

Izvedli smo še validacijo VPC in pcVPC za končni model. Rezultati so vidni na sliki 17 (VPC analiza) in sliki 18 (pcVPC).



Slika 17: VPC analiza za končni model.



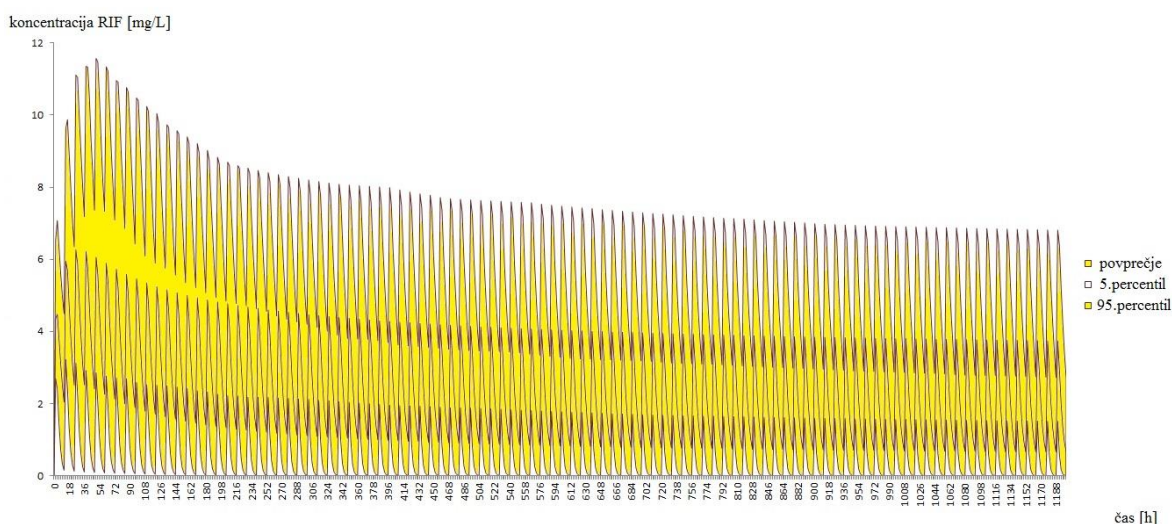
Slika 18: pcVPC analiza za končni model.

Na grafu imamo predstavljene izmerjene koncentracije v odvisnosti od časa po odmerku (0-12, ker se RIF jemlje na 12 ur). Neprekinjena rdeča črta pomeni mediano izmerjenih koncentracij, semitransparentno rdeče območje je 95 % interval zaupanja za mediane simuliranih koncentracij, prekinjena rdeča črta je 2,5 (spodnja) in 97,5 (zgornja črta) percentil za izmerjene koncentracije, semitransparentno modro območje pa je 95 % interval zaupanja za 2,5 in 97,5 percentil (44). Grafa nam ponudita informacijo o tem, kako naš končni model zmore simulirati koncentracije v primerjavi z izmerjenimi. Vidimo, da

prekinjena rdeča črta sovpada z modrim območjem, rdeča črta pa z rdečim območjem. To pomeni, da izmerjene koncentracije sovpadajo s simuliranimi in da je model dobro definiran, tudi variabilnost se ujema. Z uporabo našega modela lahko torej simuliramo podobne koncentracije tistim, ki so bile izmerjene. Če bi črta padla izven semitransparentnega območja, bi to pomenilo, da model napoveduje prenizke oziroma previsoke koncentracije.

4.5 Simulacija odmerjanja

Na koncu smo želeli preveriti še ustreznost odmerka RIF glede na dokazano (avto)indukcijo presnove. Simulirali smo jemanje RIF v odmerku 450 mg na dvanajst ur, koncentracije pa so bile vzorčene pri naslednjih časih po zadnjem odmerku (TAD): 0, 2, 4, 6, 8, 10. Simulirano zdravljenje je trajalo petdeset dni oziroma 1200 ur, vključenih je bilo tisoč bolnikov. V simulaciji je bil uporabljen končni model z ocenjenimi vrednostmi parametrov in napak. Za vsak čas smo izračunali povprečje in 5. ter 95. percentil koncentracij posameznikov. Rezultati simulacije so vidni na sliki 19. Na grafu vidimo povprečno koncentracijo v odvisnosti od časa in 5. (spodnja linija) ter 95. (zgornja linija) percentil individualnih napovedi koncentracij RIF. Grafa smo izrisali v Excel-u glede na končni model in individualne parametre, upoštevane so bile tudi variabilnosti.



Slika 19: Graf povprečnih individualnih napovedi koncentracij RIF v odvisnosti od časa.

Na grafih je indukcija je lepo vidna, koncentracije s časom padajo. Najvišja koncentracija RIF se pojavi po približno dveh dneh zdravljenja, od takrat naprej pa koncentracija pada kljub enakemu režimu odmerjanja. Po končanem zdravljenju (50. dan) je koncentracija za približno 4 mg/L manjša kot drugi dan zdravljenja. Taki rezultati kažejo na to, da bi bilo potrebno odmerke tekom zdravljenja povečati. Take ugotovitve so zelo zanimive, kajti režim zdravljenja z RIF je konstanten in sicer 450 mg na dvanajst ur, čas zdravljenja pa tri mesece (90 dni) do šest mesecev (180 dni). Mi pa smo že z simulacijo petdesetih dni terapije ugotovili smiselnost dviga odmerka glede na čas zdravljenja.

5 SKLEP

V magistrski nalogi smo razvili populacijski farmakokinetični model rifampicina za populacijo bolnikov z okužbami ortopedskih vsadkov. Osnovni model je predstavljal 1-prostorni model indukcije presnove, vključujoč tudi rezidualno variabilnost (kombinacija aditivne in proporcionalne napake), v končni model pa smo vključili tudi interindividualno variabilnost.

Ocene končnih parametrov so: konstanta hitrosti absorpcije $0,660 \text{ h}^{-1}$, začetni očistek $7,56 \text{ L/h}$, maksimalno povečanje očistka $18,2 \text{ L/h}$, čas, v katerem pride do 50 % indukcije $398,0 \text{ h}$ in volumen centralnega prostora $66,1 \text{ L}$. IIV začetnega očistka je $77,9 \%$, maksimalno povečanje očistka $136,3 \%$, čas, v katerem pride do 50 % indukcije $82,2 \%$, volumen centralnega prostora $28,8 \%$, konstanti hitrosti absorpcije pa IIV nismo uspeli oceniti zaradi premajhne količine podatkov. Aditivna napaka znaša $0,0206 \text{ mg/L}$, proporcionalna pa $82,4 \%$.

S prikazi grafičnih prileganj, validacijo "bootstrap" in VPC smo pokazali, da je model robusten in da dobro opisuje farmakokinetiko rifampicina za našo populacijo bolnikov, zato je primeren za nadaljnjo analizo.

S simulacijo odmerjanja rifampicina 450 mg na dvanajst ur za tisoč navideznih bolnikov smo dokazali, da koncentracije s časom padajo in da bi bilo smiselno premisliti o dvigu odmerka glede na čas zdravljenja.

V nadaljnjih raziskavah bi lahko preverili še vpliv sočasnih spremenljivk, z genotipizacijo bi lahko preverili ali so genotipi odgovorni za veliko interindividualno variabilnost očistka. Na koncu pa bi model testirali še na večji populaciji bolnikov.

6 LITERATURA

1. Zimmerli W, Trampuž A, Ochsner PE. Prosthetic-Joint Infections. *N Engl J Med* 2004; 351: 1645-54.
2. Militarov A, Gubina M, Smrke D. Okužbe umetnih sklepov. *Med Razgl* 2006; 45: 253-61.
3. Dolinar D, Koritnik B, Meglič-Volkar J, Lotrič-Furlan S. Preprečevanje in principi zdravljenja proteznih okužb v ortopediji. *Zdrav Vestn* 2007; 76: 117-24.
4. Tande AJ, Patel R. Prosthetic Joint Infection. *Clin Microbiol Rev* 2014; 27: 302-45.
5. Drancourt M, Stein A, Argenson JN, Roiron R, Groulier P, Raoult D. Oral treatment of *Staphylococcus* spp. infected orthopaedic implants with fusidic acid or ofloxacin in combination with rifampicin. *J Antimicrob Chemother* 1997; 39: 235-40.
6. Wehrli W. Rifampin: Mechanisms of Action and Resistance. *Rev of Infect Dis* 1983; 5: 407-11.
7. Sanofi-Aventis d.o.o. Povzetek glavnih značilnosti zdravila. Rifinah. [online]. [ogled 4.11.2016]. Dostopno na: [http://www.cbz.si/cbz/bazazdr2.nsf/o/DAC35AE7813465FFC12579C2003F4B15/\\$File/s-016704.pdf](http://www.cbz.si/cbz/bazazdr2.nsf/o/DAC35AE7813465FFC12579C2003F4B15/$File/s-016704.pdf)
8. Sanofi-Aventis d.o.o. Summary of product characteristics (SmPC). Rifadin. [online]. [ogled 4.11.2016]. Dostopno na: <https://www.drugs.com/pro/rifadin.html>
9. McHugh TD. Tuberculosis: Diagnosis and Treatment (Advances in Molecular and Cellular Microbiology). London: CABI, 2013, 221-24.
10. Campbell EA, Korzheva N, Mustaev A, Murakami K, Nair S, Goldfarb A, Darst SA. Structural Mechanism for Rifampicin Inhibition of Bacterial RNA Polymerase. *Cell* 2001; 104: 901-12.
11. Tomažič J, Strle F et al. Infekcijske bolezni. Združ za infekt, Slov zdrav druš Ljubl 2014/2015; 1: 63-64.
12. Zimmerli W, Widmer AF, Blatter M, Frei R, Ochsner PE. Role of Rifampin for Treatment of Orthopedic Implant-Related Staphylococcal Infections. *JAMA* 1998 (Vol 279); 19: 1537-41.
13. Drancourt M, Stein A, Argenson JN, Zannier A, Curvale G, Raoult D. Oral Rifampin plus Ofloxacin for Treatment of *Staphylococcus*-Infected Orthopedic Implants. *Antimicrob Agent and Chemother* 1993 (Vol 37); 6: 1214-18.

14. Forrest GN, Tamura K. Rifampin Combination Therapy for Nonmycobacterial Infections. Clin Microbiol Rev 2010 (Vol 23); 1: 14-34.
15. Aboltins CA, Page MA, Buising KL, Jenney WJ, Daffy JR, Choong PFM, Stanley PA. Treatment of staphylococcal prosthetic joint infections with debridement, prosthetic retention and oral rifampicin and fusidic acid. Clin Microbiol Infect 2007; 13: 586-91.
16. Senneville et al. Outcome and Predictions of Treatment Failure in Total Hip/Knee Prosthetic Joint Infections Due to *Staphylococcus aureus*. CID 2011; 53: 334-40.
17. Samuel JR, Gould K. Prosthetic joint infections: single versus combination therapy. J Antimicrob Chemother 2010; 65: 18-23.
18. Perlroth J, Kuo M, Tan J, Bayer AS, Miller LG. Adjunctive Use of Rifampin for the Treatment of *Staphylococcus aureus* Infections. Arch Intern Med 2008 (Vol 168); 8: 805-19.
19. Acocella G. Pharmacokinetics and Metabolism of Rifampin in Humans. Rev of Infect Dis 1983; 5 (Vol. 5, Supp. 3): S428-32.
20. Smythe W et al. Semimechanistic Pharmacokinetic-Enzyme Turnover Model for Rifampin Autoinduction in Adult Tuberculosis Patients. Antimicrob Agent and Chemother 2012; 4 (Vol. 56): 2091-98.
21. Niemi M, Backman JT, Fromm MF, Neuvonen PJ, Kivistö KT. Pharmacokinetic Interactions with Rifampicin. Clin Pharmacokinet 2003; 42: 819-50.
22. Benedetti MS, Dostert P. Induction and Autoinduction Properties of Rifamycin Derivates: A Review of Animal and Human Studies. Environ Health Perspect 1994; Vol. 102, Supp. 9: 101-5.
23. Denti P et al. A population pharmacokinetic model for rifampicin auto-induction. Presented at the 3rd Int. Workshop on Clinical Pharmacology of TB Drugs 2010.
24. Weiner M et al. Effects of Tuberculosis, Race, and Human Gene SLCO1B1 Polymorphisms on Rifampin Concentrations. Antimicrob Agent and Chemother 2010; 54 (Vol. 10): 4192-200.
25. Tostmann A, Boeree MJ, Aarnoutse RE, de Lange WCM, van der Ven AJAM, Dekhuijzen R. Antituberculosis drug-induced hepatotoxicity: Concise up-to-date review. J of Gastroenterol and Hepatol 2008; 23: 192-202.
26. Byrne JA, Strautnieks SS, Vergani GM, Higgins CF, Linton KJ, Thompson RJ. The Human Bile Salt Export Pump: Characterization of Substrate Specificity and Identification of Inhibitors. Gastroenterol 2002; 123: 1649-58.

27. Saukkonen JJ et al. An Official ATS Statement: Hepatotoxicity of Antituberculosis Therapy. *Am J of Respir and Crit Care Med* 2006; 174: 935-52.
28. Taniguchi H et al. Rifampicin resistance and mutation of the *rpoB* gene in *Mycobacterium tuberculosis*. *FEMS Microbiol Lett* 1996; 144: 103-8
29. Ette EI, Williams PJ. Population Pharmacokinetics I: Background, Concepts, and Models. *The Ann of Pharmacother* 2004; 38: 1702-6.
30. Vučićević K, Miljković B, Kovačević SV, Todorović Z, Prostran M, Grabnar I. Population Pharmacokinetic Analysis of Therapeutic Drug Monitoring Data in Optimizing Pharmacotherapy of Antiepileptic Drugs. [online]. *Nov Treat of Epilepsy* 2011; 95-110. [ogled 14.11.2016]. Dostopno na: <http://www.intechopen.com/books/novel-treatment-ofepilepsy/population-pharmacokinetic-analysis-of-therapeutic-drug-monitoring-data-in-optimizingpharmacotherap>
31. Ette EI, Williams PJ. Population Pharmacokinetics II: Estimation Methods. *The Ann of Pharmacother* 2004; 38: 1907-15.
32. Mould DR, Upton RN. Basic Concepts in Population Modeling, Simulation, and Model-Based Drug Development—Part 2: Introduction to Pharmacokinetic Modeling Methods. *Pharmacomet & Syst Pharmacol* 2013; 2 (38).
33. Wilkins JJ, Savic RM, Karlsson MO, Langdon G, McIlleron H, Pillai G, Smith PJ, Simonsson USH. Population Pharmacokinetics of Rifampin in Pulmonary Tuberculosis Patients, Including a Semimechanistic Model To Describe Variable Absorption. *Antimicrob Agent and Chemother* 2008; 6 (Vol. 52), 2138-48.
34. Chirehwa MT, Rustomjee R, Mthiyane T, Onyebujoh P, Smith P, McIlleron H, Denti P. Model-Based Evaluation of Higher Doses of Rifampin Using a Semimechanistic Model Incorporating Autoinduction and Saturation of Hepatic Extraction. *Antimicrob Agent and Chemother* 2016; 1 (Vol. 60): 487-94.
35. Smythe W, Khandelwal A et al. A Semimechanistic Pharmacokinetic-Enzyme Turnover Model for Rifampin Autoinduction in Adult Tuberculosis Patients. *Antimicrob Agent and Chemother* 2012; 4 (Vol. 56): 2091-98.
36. Wilkins JJ, Langdon G, McIlleron H, Pillai G, Smith P, Simonsson USH. A population pharmacokinetic-enzyme model for rifampicin autoinduction and bimodal absorption in pulmonary tuberculosis patients (poster).

37. Faganeli N. Določitev optimalnega režima odmerjanja peroralnega rifampicina pri zdravljenju okužb ortopedskih vsadkov, verzija 2, Valdoltra 2011. (4)
38. [online]. [ogled 5.1.2017]. Dostopno na: <http://www.iconplc.com/innovation/nonmem/>
39. Fisher D, Shafer S. NONMEM workshop – Pharmacokinetic and Pharmacodynamic Analysis with NONMEM: Basic Concepts 2007.
40. Ette EI, Williams PJ. Population Pharmacokinetics III: Design, Analysis and Application of Population Pharmacokinetic Studies. The Ann of Pharmacother 2004; 38: 2136-44.
41. Bergstrand M, Hooker AC, Wallin JE, Karlsson MO. Prediction-Corrected Visual Predictive Checks for Diagnosing Nonlinear Mixed-Effects Models. The AAPS J 2011; Vol. 13, 143-51.

Priloga 1: Primer tabele s podatki za razvoj PopFK modela

A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O	P	Q	R	S	T	U	V	W	
#ID	DAT1	TIME	AMT	ADDL	II	EVID	MDV	DV	CMT	TAD	WT	HT	SX	AGE	BLR_D	BLR_C	AST	ALT	GAMA_GT	CRP	LCCI	RAZMERJE	
62	7	28.9.2012	900	0	0	0	0	0	8.1435	2	11	70	168	1	72	1.901	22.942	0.292	0.335	0.588	73.433	5.083	0.87
63	7	29.9.2012	930	0	0	0	0	0	5.5106	2	11.5	70	168	1	72	1.876	25.377	0.271	0.326	0.603	91.167	4.704	0.83
64	7	1.10.2012	700	0	0	0	2	1.		2	9	70	168	1	72	1.83	29.9	0.23	0.31	0.63	124.1	4	0.74
65	7	1.10.2012	2200	0	0	0	2	1.		2	12	70	168	1	72	3.624	21.088	0.224	0.304	0.618	110.85	4.75	0.74
66	7	2.10.2012	700	0	0	0	2	1.		2	9	70	168	1	72	4.7	15.8	0.22	0.3	0.61	102.9	5.2	0.73
67	8	16.10.2012	1000	450	182	12	1	1.		1	0	104	164	1	54	-99	-99	-99	-99	-99	-99	-99	
68	8	16.10.2012	1430	0	0	0	0	0	3.1353	2	4.5	104	164	1	54	-99	-99	-99	-99	-99	-99	-99	
69	8	16.10.2012	2100	0	0	0	0	0	0.5619	2	11	104	164	1	54	-99	-99	-99	-99	-99	-99	-99	
70	8	17.10.2012	940	0	0	0	0	0	2.2681	2	11.67	104	164	1	54	-99	-99	-99	-99	-99	-99	-99	
71	8	19.10.2012	730	0	0	0	2	1.		2	9.5	104	164	1	54	4	13.4	0.83	0.44	4.61	24	5.7	1.89
72	8	20.10.2012	940	0	0	0	0	0	0.171	2	11.67	104	164	1	54	3.626	12.699	0.813	0.442	4.716	25.059	5.451	1.84
73	8	24.10.2012	940	0	0	0	0	0	0.0283	2	11.67	104	164	1	54	2.255	10.128	0.75	0.447	5.104	28.945	4.537	1.68
74	8	24.10.2012	1430	0	0	0	0	0	1.7938	2	4.5	104	164	1	54	2.186	9.998	0.747	0.448	5.124	29.14	4.49	1.67
75	8	24.10.2012	2030	0	0	0	0	0	0.0433	2	10.5	104	164	1	54	2.1	9.838	0.743	0.448	5.148	29.383	4.433	1.66
76	8	26.10.2012	730	0	0	0	2	1.		2	9.5	104	164	1	54	1.6	8.9	0.72	0.45	5.29	30.8	4.1	1.6
77	8	29.10.2012	730	0	0	0	2	1.		2	9.5	104	164	1	54	1.7	9.2	0.77	0.41	5.41	15.4	3.6	1.88
78	8	15.11.2012	1000	0	0	0	0	0	0.0355	2	11.5	104	164	1	54	1.569	8.784	0.674	0.377	4.444	16.32	3.6	1.79
79	8	15.1.2013	1000	0	0	0	2	1.		2	11.5	104	164	1	54	1.1	7.3	0.33	0.26	1	19.6	3.6	1.27
80	8	15.1.2013	1000	0	0	0	0	0	0.0003	2	12	104	164	1	54	1.1	7.3	0.33	0.26	1	19.6	3.6	1.27
81	9	2.11.2012	1000	450	159	12	1	1.		1	0	75	168	0	61	-99	-99	-99	-99	-99	-99	-99	
82	9	5.11.2012	940	0	0	0	0	0	8.8767	2	11.67	75	168	0	61	-99	-99	-99	-99	-99	-99	-99	
83	9	5.11.2012	1430	0	0	0	0	0	2.522	2	4.5	75	168	0	61	-99	-99	-99	-99	-99	-99	-99	
84	9	5.11.2012	2030	0	0	0	0	0	0.0934	2	10.5	75	168	0	61	-99	-99	-99	-99	-99	-99	-99	
85	9	7.11.2012	730	0	0	0	2	1.		2	9.5	75	168	0	61	2.2	11.2	0.93	0.68	1.88	18	7.1	1.37
86	9	9.11.2012	1000	0	0	0	0	0	0.0572	2	11.5	75	168	0	61	1.3	8.8	0.73	0.49	1.56	18.1	6.7	1.49
87	9	9.11.2012	1000	0	0	0	2	1.		2	12	75	168	0	61	1.3	8.8	0.73	0.49	1.56	18.1	6.7	1.49
88	9	9.11.2012	1430	0	0	0	0	0	2.3014	2	4.5	75	168	0	61	1.3	8.794	0.729	0.49	1.557	18.069	6.704	1.49
89	9	9.11.2012	2100	0	0	0	0	0	0.0476	2	11	75	168	0	61	1.299	8.784	0.727	0.489	1.553	18.025	6.709	1.49
90	9	20.1.2013	2200	0	0	0	2	1.		2	12	75	168	0	61	1.201	6.314	0.253	0.301	0.516	6.268	8.092	0.84
91	9	21.1.2013	800	0	0	0	0	0	0.0402	2	10	75	168	0	61	1.2	6.3	0.25	0.3	0.51	6.2	8.1	0.83
92	9	21.1.2013	800	0	0	0	2	1.		2	10	75	168	0	61	1.2	6.3	0.25	0.3	0.51	6.2	8.1	0.83
93	10	21.11.2012	730	0	0	0	2	1.		2	9.5	82	183	0	60	0.6	7	0.18	0.16	0.22	-99	6.7	1.13
94	10	22.11.2012	1000	450	190	12	1	1.		1	0	82	183	0	60	1.152	7.276	0.174	0.171	0.308	-99	6.093	1.02
95	10	22.11.2012	1430	0	0	0	0	0	1.4866	2	4.5	82	183	0	60	1.246	7.323	0.174	0.173	0.323	-99	5.99	1.01
96	10	22.11.2012	2030	0	0	0	0	0	5.518	2	10.5	82	183	0	60	1.371	7.385	0.172	0.175	0.343	-99	5.852	0.98
97	10	23.11.2012	730	0	0	0	2	1.		2	9.5	82	183	0	60	1.6	7.5	0.17	0.18	0.38	72.5	5.6	0.94

Priloga 2: Končni PopFK model za rifampicin

```

$PROBLEM    Rifampicin
$INPUT      ID DAT1=DROP TIME AMT ADDL II EVID MDV DV CMT TAD WT HT SX
            AGE BLR_D BLR_C AST ALT GAMA_GT CRP LKCI RAZMERJE
$DATA       Data_moje3.csv IGNORE=#
$SUBROUTINE ADVAN6 TOL5
$MODEL      COMP=(GIT DEFDOSE) ; 1
            COMP=(CENTRAL DEFOBS) ; 2
$PK
    TVKA=THETA(1)
    KA=TVKA*EXP(ETA(1))
    TVCL1=THETA(2)
    CL1=TVCL1*EXP(ETA(2))
    TVCL2=THETA(3)
    CL2=TVCL2*EXP(ETA(3))
    TVT50=THETA(4)
    T50=TVT50*EXP(ETA(4))
    TVV2=THETA(5)
    V2=TVV2*EXP(ETA(5))
    S2=V2 ; Konc [mg/L]

; Time after dose (TAD)

$DES
    DADT(1)= -KA*A(1)
    DADT(2)= KA*A(1) - ((CL1+(CL2*T)/(T50+T))/V2)*A(2)

$ERROR
    WA=THETA(6)
    WP=THETA(7)
    IPRED = F
    W      = SQRT(WA**2+(WP*IPRED)**2)
    IRES   = IPRED-DV
    IWRES  = IRES/W
    Y      = IPRED+EPS(1)*W

$THETA (0,0.603260261880757) ; KA
(0,8.41832109330003) ; CL1
(0,24.3889772084509) ; CL2
(0,1038.53693902052) ; T50
(0,55.0399947218362) ; V2
(0,0.00219324315559243) ; wa
(0,0.780852706359271) ; Wp
$OMEGA 0 FIX ; IIV_KA
$OMEGA 0.0913576179707411 ; IIV_CL1
$OMEGA 0.0844631480781211 ; IIV_CL2
$OMEGA 0.0861855850167455 ; IIV_T50
$OMEGA 0.0923271849857693 ; IIV_V2
$SIGMA 1 FIX ; EPS(1) ADDITIVE
$ESTIMATION SIGDIGITS=3 MAXEVALS=9999 METHOD=1 INTERACTION POSTHOC
            PRINT=5 NOABORT
$COVARIANCE PRINT=E
$TABLE      ID TIME TAD EVID MDV IPRED IWRES PRED CWRES CPREDI CRESI
            CWRESI ONEHEADER NOPRINT FILE=sdtab51_12
$TABLE      ID TIME TAD EVID MDV CL1 CL2 V2 KA T50 ETA(1) ETA(2)
            ETA(3) ETA(4) ETA(5) ONEHEADER NOPRINT FILE=patab51_12
$TABLE      ID TIME TAD EVID MDV WT HT AGE BLR_D BLR_C AST ALT GAMA_GT
            CRP LKCI RAZMERJE ONEHEADER NOPRINT FILE=cotab51_12
$TABLE      ID TIME TAD EVID MDV SX ONEHEADER NOPRINT FILE=catab51_12

```