

Univerza *v Ljubljani*
Fakulteta *za farmacijo*



FRANCI SOPOTNIK

DIPLOMSKA NALOGA
UNIVERZITETNI ŠTUDIJ FARMACIJE

Ljubljana, 2012

UNIVERZA V LJUBLJANI
FAKULTETA ZA FARMACIJO

FRANCI SOPOTNIK

**POPULACIJSKA FARMAKOKINETIČNO-FARMAKODINAMIČNA
ANALIZA ZA OCENJEVANJE PRIMERNOSTI ODMERJANJA
VANKOMICINA PRI KRITIČNO BOLNIH**

**POPULATION PHARMACOKINETIC-PHARMACODYNAMIC
EVALUATION OF VANCOMYCIN DOSING IN CRITICALLY ILL
PATIENTS**

Ljubljana, 2012

Diplomsko nalogo sem opravljal na Fakulteti za farmacijo Univerze v Ljubljani pod mentorstvom izr. prof. dr. Iztoka Grabnarja.

ZAHVALA

Iskreno se zahvaljujem mentorju izr. prof. dr. Iztoku Grabnarju za pomoč pri izdelavi diplomske naloge in vse koristne napotke.

Prav tako se iskreno zahvaljujem svojim staršem, ki so mi omogočili študij in me podpirali v času študija. Hvala tudi vsem prijateljem za podporo in spodbudo pri izdelavi diplomske naloge. Predvsem se zahvaljujem Janu Rakuša za pikre komentarje, zaradi katerih sem našel kakšne neljube napake in Urški Leben za trdo roko, da sem začel dejavno izdelovati diplomsko nalogo. Hvala tudi Simoni Zvonar za lektoriranje.

Posebej se zahvaljujem tudi Davidu Gilmourju in ostalim članom skupine Pink Floyd, katerih glasba me je navdihovala in me še vedno navdihuje.

IZJAVA

Izjavljam, da sem diplomsko nalogo izdelal samostojno, pod mentorstvom izr. prof. dr. Iztoka Grabnarja.

Franci Sopotnik

Ljubljana, december 2012

Predsednik diplomske komisije: prof. dr. Mirjana Gašperlin

Član diplomske komisije: asist. dr. Vid Mlakar

Vsebina

Povzetek.....	V
Abstract.....	VI
Abecedni seznam okrajšav.....	VII
1 Uvod.....	1
1.1 Vankomicin.....	1
1.1.1 Mehanizem delovanja.....	2
1.1.2 Terapevtske indikacije.....	3
1.1.3 Odmerjanje in način uporabe.....	4
1.1.4 Farmakokinetika in farmakodinamika vankomicina.....	4
1.1.5 Neželeni učinki in toksičnost.....	7
1.1.6 Rezistenca na vankomicin	8
1.2 Ledvična funkcija.....	9
1.2.1 Ledvice	9
1.2.2 Ocena ledvične funkcije	11
1.2.3 Metode ocenjevanja kreatininskega očistka	12
1.2.4 Ocena farmakokinetičnih parametrov in načrtovanje režima odmerjanja učinkovin z uporabo kreatininskega očistka	13
1.3 Populacijska farmakokinetika	14
1.3.1 Nelinearni model mešanih učinkov.....	16
1.4 Simulacija Monte Carlo.....	17
2 Namen dela.....	20
3 Materiali in metode.....	21
3.1 Bolniki	21
3.2 Programski paket za analizo podatkov	21
3.3 Razvoj populacijskega farmakokinetičnega modela	22
3.3.1 Osnovi model	22

3.3.2	Postopni razvoj modela s sočasnimi spremenljivkami	23
3.4	Metoda ponovljenega vzorčenja "bootstrap"	26
3.5	Časovno spremenljive sočasne spremenljivke	26
3.6	Simulacija Monte Carlo	26
4	Rezultati	29
4.1	Podatki o bolnikih	29
4.2	Razvoj populacijskega farmakokinetičnega modela	30
4.3	Validacija končnega modela	35
4.4	Vključitev časovno spremenljivih sočasnih spremenljivk	39
4.5	Simulacija Monte Carlo	42
5	Razprava	47
6	Sklep	51
7	Literatura	52

Povzetek

Vankomicin je glikopeptidni antibiotik, ki se uporablja za zdravljenje okužb, povzročenih s po Gramu pozitivnimi bakterijami. Iz prebavnega trakta se slabo absorbira, zato se za aplikacijo uporablja kratkotrajna infuzija. Izloča se predvsem skozi ledvice. Učinkovitost vankomicina ni časovno odvisna, vezana je predvsem na indeks učinkovitosti AUC_{24}/MIC , kateri mora presegati 400 za baktericidni učinek. Zaradi pogostega pojavljanja odpornih sevov bakterij, za zdravljenje katerih je indiciran vankomicin, je pravilno odmerjanje ključnega pomena za zaježitev tega pojava.

Pokazatelji ledvične funkcije so najpomembnejši faktor, ki ga uporabljamo za prilagajanje odmerjanja vankomicina. V uporabi je več metod, ki poleg serumske koncentracije kreatinina upoštevajo različne faktorje, kot so starost, spol, teža. Vitalne funkcije kritično bolnih se hitro spreminjajo, zato so se razvile tudi metode, ki za oceno ledvične funkcije upoštevajo hitro spreminjanje serumske koncentracije kreatinina s časom.

V raziskavi smo zajeli 56 bolnikov, ki so se zdravili v Univerzitetnem kliničnem centru Maribor in Splošni bolnišnici Jesenice. Z zbranimi podatki smo izvedli analizo in izoblikovali populacijski farmakokinetični model, ki opisuje farmakokinetiko vankomicina pri kritično bolnih. Porazdeljuje se skladno s farmakokinetiko enoprostorskega modela s srednjo vrednostjo očistka (relativna standardna napaka) 5,43 L/h (6,3 %) in volumna porazdelitve 84,0 L (10,3 %). Interindividualna variabilnost obeh parametrov je 32,9 % in 35,5 %. Na očistek vpliva ledvična funkcija. Ob spremembi kreatininskega očistka za 1 mL/min od vrednosti 110 mL/min se spremeni očistek vankomicina za 0,046 L/h (8,2 %).

Izvedli smo simulacijo Monte Carlo za preverjanje uspešnosti najpogostejših režimov odmerjanja in prilagajanja na oslABLJENO ledvično funkcijo. Delež bolnikov, ki dosega AUC_{24}/MIC indeks nad 400 je pri MIC 0,5 mg/L 87 %, pri 1 mg/L 17 %, pri 2 mg/L pa 0 %. Verjetnost, da s priporočenim režimom odmerjanja dosežemo AUC_{24}/MIC nad 400 ob okužbi *Enterococcus faecalis* ali *faecium* je 10 % oz. 33 %, ob okužbi s *Staphylococcus aureus*, *epidermidis* ali MRSA pa je 27 %, 9 % oz. 11 %.

Rezultati kažejo, da v primerjavi z nekaterimi drugimi študijami pri okužbi z odpornejšimi sevi ustrezen AUC_{24}/MIC dosega manjši delež bolnikov. To je lahko posledica neustreznega odmerjanja ali neustrezne ocene vpliva kreatininskega očistka na očistek vankomicina v PFK modelu.

Abstract

Vancomycin is a glycopeptide antibiotic, used for treatment of infections caused by Gram-positive bacteria. Because of its low absorption in intestines, short-term infusion is preferred route of administration. It is eliminated largely through kidneys. Vancomycin is not a time-dependant antibiotic, its clinical effectiveness is usually measured through AUC_{24}/MIC ratio over 400. Rise in emergence of resistant bacteria for treatment of which vancomycin is prescribed calls for correct and efficient dosing strategies.

Kidney function indicators are important factors in dosage adjustment of vancomycin. Several methods are in use, which take age, sex and weight into account along with serum creatinine concentration. In critically ill patients vital functions can plummet in a matter of hours. To account for rapid changes methods have been developed that incorporate serum creatinine concentration changing with time.

56 patients, treated in Univerzitetni klinični center Maribor and Splošna bolnišnica Jesenice, was included in the study. Population pharmacokinetic model was developed with patient data. Vancomycin follows one-compartment model pharmacokinetics with mean value of clearance (relative standard error) 5,43 L/h (6,3 %) and volume of distribution of 84,0 L (10,3 %). Interindividual variability for both parameters is 32,9 % and 35,5 %, respectively. Kidney function is taken into account. Vancomycin clearance changes 0,046 L/h (8,2 %) for every mL of change of creatinine clearance from value of 110 mL/min.

Monte Carlo simulation was performed for verification of clinical success of recommended dosing strategies and adjustment of dose according to kidney function tests. Probability of target attainment for AUC_{24}/MIC for MIC of 0,5 mg/L, 1 mg/L and 2 mg/L is 87 %, 17 % and 0 %, respectively. Cumulative fraction of response for AUC_{24}/MIC of 400 for *Enterococcus faecalis* and *faecium* is 10 % and 33 % respectively, and for *Staphylococcus aureus*, *epidermidis* and MRSA 27 %, 9 % and 11 %, respectively.

Results show that in comparison with other studies PTA for infections with resistant bacteria are lower. This can be result of inadequate dosing for patients with compromised kidney function or inaccurate description of influence of creatinine clearance on vancomycin clearance in population pharmacokinetic model.

Abecedni seznam okrajšav

AGE – starost v letih

AGEX – starost nad 65 let

CFR – cumulative fraction of response

CRC – kreatininski očistek, izračunan s formulo po Cockcroft-Gaultu

CRJ – kreatininski očistek, izračunan s formulo po Jelliffu

CV – koeficient korelacije

D-ala-D-ala – D-alanil-D-alaninski fragment

FDA – Ameriška agencija za prehrano in zdravila

FK – farmakokinetični, farmakokinetični

IBW – idealna telesna teža

MCS – simulacija Monte Carlo

MIC – minimalna inhibitorna koncentracija

MRSA – na meticilin odporna *Staphylococcus aureus*

OFV – vrednost objektivne funkcije

PFK – populacijska farmakokinetika

PTA – probability of target attainment

RSE – relativna standardna napaka

SX – spol

VISA – na vankomicin srednje odporna *Staphylococcus aureus*

VRE – na vankomicin odporni enterokoki

VRSA – na vankomicin odporna *Staphylococcus aureus*

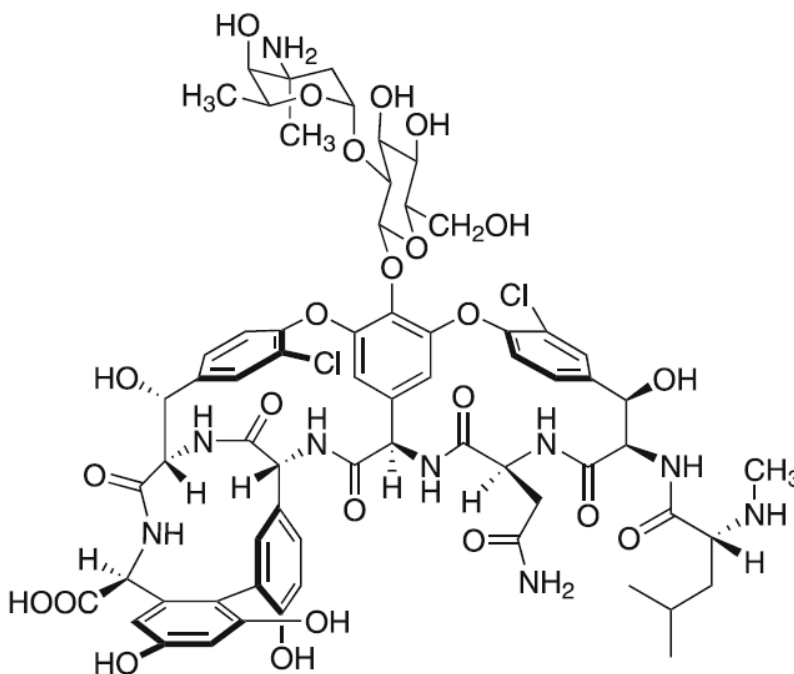
VSSA – na vankomicin neodporna *Staphylococcus aureus*

WT – telesna teža

1 Uvod

1.1 Vankomicin

Vankomicin je glikopeptidni antibiotik z molekulsko maso približno 1450 kDa. Njegova struktura je prikazana na sliki 1. Odkrit je bil pred več kot 50 leti. Pridobiva se iz kultur bakterije *Amycolaptosis orientalis*. Učinkovit je proti Gram pozitivnim bakterijam, predvsem pa se uporablja za zdravljenje okužb, povzročenih z bakterijo *Staphylococcus aureus*, odporno na meticilin (MRSA), saj je eden redkih antibiotikov, na katere je ta sev bakterij občutljiv. Okužba z MRSA se pogosto razvije do endokarditisa ali bakteriemije z zapleti (1).



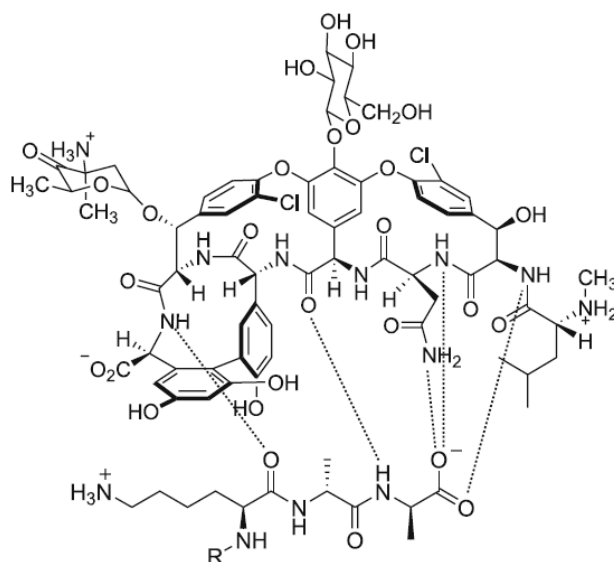
Slika 1: Strukturna formula vankomicina (2)

Pomanjkanje možnosti za zdravljenje okužb, ki so jih povzročali na peniciline odporni stafilokoki, je vodilo podjetje Eli Lilly & Co., da je v petdesetih letih prejšnjega stoletja sprožilo program, katerega cilj je bil odkrivanje antibiotikov, ki so bili aktivni proti tem patogenom. Leta 1952 je misijonar na Borneu poslal prijatelju v prej omenjenem podjetju vzorec blata. Iz vzorca izoliran organizem *Streptomyces orientalis* (kasneje preimenovan v *Amycolatopsis orientalis*) je proizvajal snov, vankomicin, ki je izkazoval delovanje proti večini po Gramu pozitivnih mikroorganizmov. V več kliničnih študijah so potrdili učinkovitost "misisipijskega blata", kakor so ga poimenovali zaradi rjave barve. Zaradi

visoke toksičnosti so se začeli uporabljati drugi antibiotiki, predvsem meticilin in cefalotin, ki so bili ocenjeni kot učinkovitejši in varnejši. V uporabi je ostal kot alternativa za zdravljenje bolnikov z alergijami na betalaktamske antibiotike in za zdravljenje okužb, katerih povzročitelji so bili mikroorganizmi, odporni na novejša učinkovina (2,3).

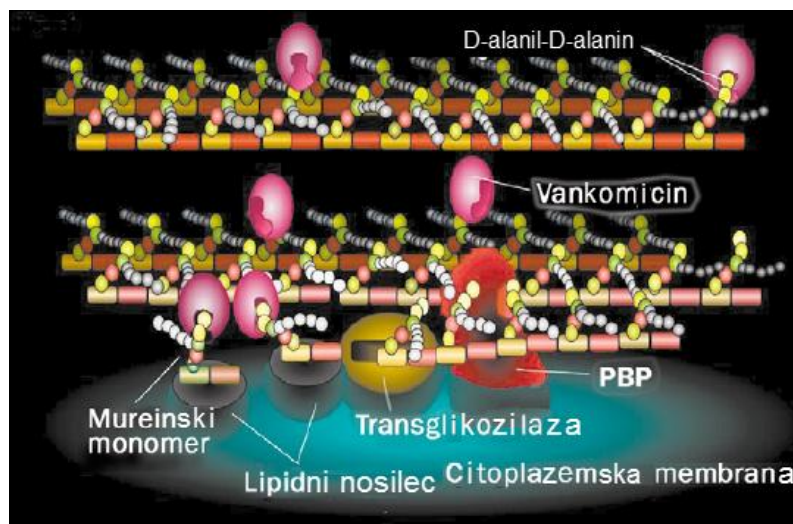
1.1.1 Mehanizem delovanja

V notranjosti bakterijskih celic je visok osmotski pritisk, zato bakterije za preživetje v okolju z nižjim osmotskim pritiskom potrebujejo celično steno, ki preprečuje, da celica počí in se razgradi. Vankomicin deluje zunaj celice, saj zaradi svoje visoke molekulske mase ne prehaja celične membrane. Veže se na D-ala-D-ala fragment, s katerim tvori 5 vodikovih vezi, kot kaže slika 2 (4).



Slika 2: Tvorba vodikovih vezi med vankomicinom in C-terminalnim koncem peptidoglikana (2)

Ta skupina je prisotna na terminalnem delu nastajajoče ali končane peptidoglikanske verige in na mureinskem monomeru na celični membrani, ki služi kot substrat za nastajajočo celično steno. Z vezavo na prvo tarčo prepreči vezavo peptidoglikana v celično steno, vezava na drugo tarčo pa onemogoči sintezo peptidoglikanov. Medtem ko je vezava na mureinski monomer bolj učinkovita, je hkrati termodinamsko manj verjetna, saj se mora molekula vankomicina v tem primeru prebiti skozi okoli 20 plasti peptidoglikanov, ki imajo mnogo prostih D-ala-D-ala skupin, kot je ponazorjeno na sliki 3 (2,4).



Slika 3: Shema celične stene z molekulami vankomicina, vezanimi na glikopeptidno verigo in mureinski monomer (4)

1.1.2 Terapevtske indikacije

Vankomicin ima ozek spekter delovanja. Nanj so običajno občutljive naslednje vrste:

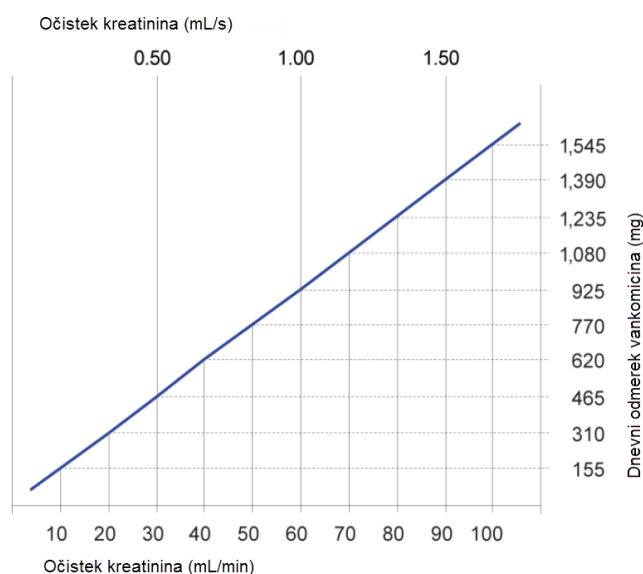
- *Staphylococcus spp*
- *Streptococcus pneumoniae*
- *Streptococcus spp*
- *Corynebacterium spp*
- *Enterococcus spp*

Indiciran je za zdravljenje življenjsko ogrožujočih okužb, povzročenih z na vankomicin občutljivimi po Gramu pozitivnimi mikroorganizmi, ki se ne odzivajo na zdravljenje z drugimi učinkovinami, kot so penicilini in cefalosporini. Uporablja se predvsem za zdravljenje endokarditisa, okužb kosti, pljučnice in okužb mehkih tkiv. Indiciran je tudi za perioperativno profilakso pri večjih kirurških posegih, npr. na srčno-žilnem sistemu, pri bolnikih, ki imajo povečano tveganje za razvoj bakterijskega endokarditisa, a ne smejo prejemati ustreznega beta-laktamskega antibiotika (5).

Pogosto se uporablja skupaj z aminoglikozidi, s katerimi deluje sinergistično proti številnim sevom *Staphylococcus aureus*, enterokokom in streptokokom skupine *Viridans*. Skupaj s cefalosporini ima sinergističen učinek proti nekaterim na oksacilin odpornim sevom *Staphylococcus epidermis*, kombinacija z rifampicinom pa deluje sinergistično proti *Staphylococcus epidermis*, in delno sinergistično proti *Staphylococcus aureus*. Kombinacije lahko imajo tudi antagonističen učinek, zato se priporoča testiranje sinergizma (5).

1.1.3 Odmerjanje in način uporabe

Vankomicin se aplicira intravensko. Pri intramuskularni aplikaciji se na mestu vboda lahko pojavi nekroza tkiva. Za zdravljenje se ponavadi uporablja kratkotrajna enourna intravenska infuzija oz. se infundira z največjo hitrostjo 10 mg/min, da se zmanjša možnost neželenih učinkov. Odmerek zdravila se prilagodi glede na telesno maso in starost bolnika ter glede na delovanje ledvic. Pri bolnikih z normalno ledvično funkcijo je odmerek 2000 mg na dan, medtem ko se za bolnike z oslabljeno ledvično funkcijo odmerek vankomicina ustrezno zmanjša, kot prikazuje slika 4 (5,6).



Slika 4: Nomogram za prilagajanje odmerka vankomicina v odvisnosti od ledvične funkcije (5)

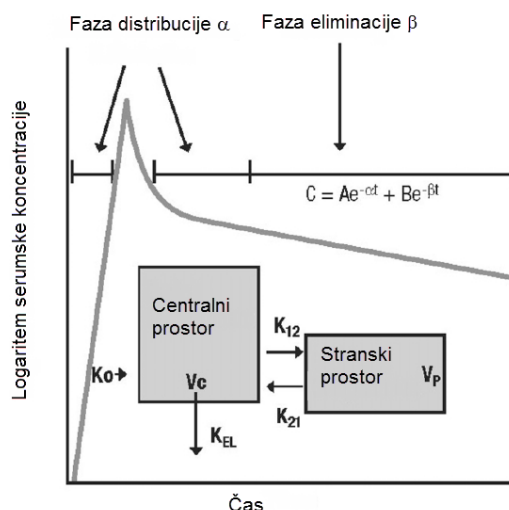
Zdravljenje bakterijskega endokarditisa ponavadi ne poteka več kot 4 tedne, medtem ko se enterokokni endokarditis zdravi 6 tednov. Profilaksa pri operacijah obsega en 1000 mg odmerek pred, glede na vrsto in obseg operacije pa lahko tudi do 12 ur po operaciji (5).

Klinični napotki navajajo, da je plazemsko koncentracijo vankomicina potrebno spremljati drugi dan zdravljenja, tik pred naslednjim odmerkom in eno uro po infuziji. Priporoča se, da se koncentracije spremlja dvakrat do trikrat na teden, pri bolnikih z okvarjenim delovanjem ledvic pa še večkrat. Najvišje koncentracije v krvi, ki so dosežene po eni uri, naj bi bile med 30 in 40 mg/L, najnižje, kar izmerimo tik pred naslednjim odmerkom, pa med 5 in 10 mg/L (5).

1.1.4 Farmakokinetika in farmakodinamika vankomicina

Vankomicin se iz prebavnega trakta slabo absorbira, eliminacija pa poteka pretežno skozi ledvice. V človeškem organizmu se skoraj ne presnavlja. Več kot 80-90 % se ga izloči

nespremenjenega v urin v 24 urah. Farmakokinetični profil vankomicina je zapleten; za karakterizacijo se uporabljajo eno-, dvo- ali triprostorski FK modeli. Faza porazdelitve α pri bolnikih z neokrnjeno ledvično funkcijo traja od 30 minut do ene ure, faza eliminacije β pa 6-12 ur. Primer porazdeljevanja skladno z dvoprostorskim modelom prikazuje slika 5. Porazdelitveni volumen (V_d) je 0,4-1 L/kg telesne mase. Vezava vankomicina na plazemske proteine naj bi bila 10-50 %, največkrat pa se smatra, da je 50-55 % (6,7).

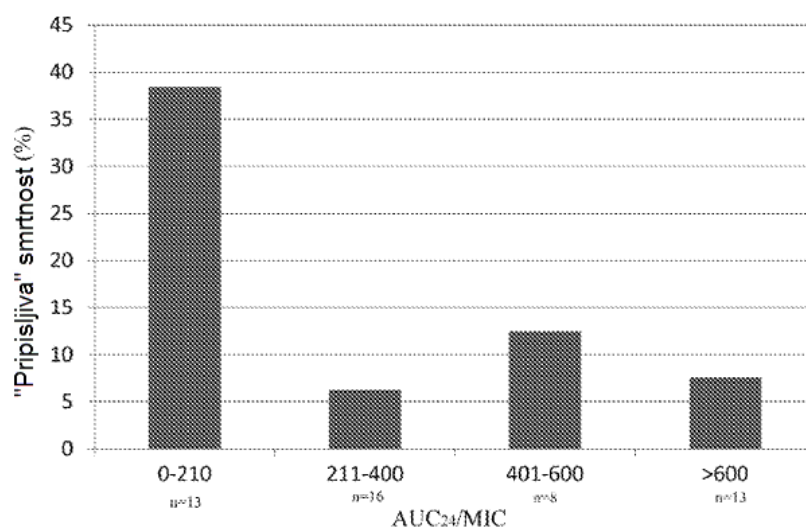


Slika 5: Shema dvoprostornega modela in plazemski profil (6)

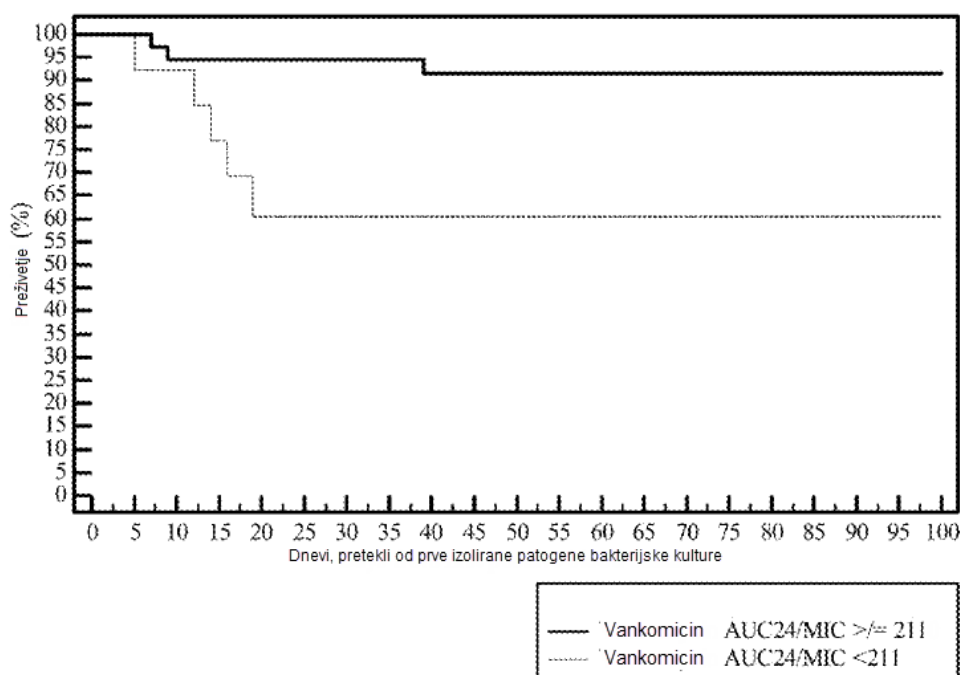
Porazdelitveni volumen vankomicina se lahko poveča pri izgubah skozi tretji prostor (opekline, ascites), intenzivnem zdravljenju s tekočinami ali pri edemih. Povečan očistek je lahko posledica hiperdinamične cirkulacije (sepsa, travma), uporabe diuretikov, opeklin, hipoalbuminemije (povečano izločanje zaradi nižje stopnje vezave na plazemske proteine) ali hematoloških vrst raka. Pri vseh omenjenih stanjih je možnost okužbe velika, zato je potrebno razumeti, kako ta stanja vplivajo na koncentracijo vankomicina v telesu (1).

Na baktericidno učinkovitost vankomicina vpliva več dejavnikov, kot so penetracija v okužena tkiva, število bakterij v tkivu, vezava na plazemske proteine in posledično manjša razpoložljivost v tkivih. Penetracija v pljučno tkivo je variabilna, raziskovalci poročajo o vrednostih, ki segajo od 5 do 41 % serumske koncentracije. Koncentracije v kožnem tkivu so pri osebah s sladkorno boleznijo nižje v primerjavi s tistimi, ki nimajo diabetesa. Penetracija vankomicina v cerebrospinalno tekočino se v prisotnosti okužbe poveča. Na aktivnost vpliva tudi število bakterij v tkivu. Če okužba izbruhne ob visoki koncentraciji bakterij v tkivu, mora biti razpoložljivost vankomicina v tkivu večja, da baktericidna učinkovitost ostane dovolj visoka, da se bakterije uniči (6,7).

Farmakodinamični parametri, predlagani za ocenjevanje učinkovitosti vankomicina, so čas, ko je plazemska koncentracija nad minimalno inhibitorno koncentracijo ($t_{>MIC}$), kvocient površine pod 24-urno plazemsko krivuljo z MIC (AUC_{24}/MIC) in razmerje maksimalnih plazemskih koncentracij z MIC (c_{max}/MIC). Analiza več študij je pokazala, da baktericidna učinkovitost vankomicina ni odvisna od c_{max}/MIC , niti od $t_{>MIC}$, za najbolj primeren indeks za ocenjevanje klinične učinkovitosti se je tako izkazal AUC_{24}/MIC , ki dosega vrednosti nad 400. Brown, et al so v raziskavi vpliva AUC/MIC na smrtnost pokazali, da je bila med bolniki, katerih plazemske koncentracije niso dosegale $AUC_{24}/MIC > 211$, "pripisljiva" smrtnost, to je smrtnost, ki je posledica razvoja primarne bolezni, za več kot 4-krat višja kot pri bolnikih, pri katerih je bil parameter AUC_{24}/MIC višji od 211, kar prikazujeta sliki 6 in 7 (7,8).



Slika 6: Smrtnost, ki je posledica razvoja primarne bolezni v odvisnosti od vrednosti AUC_{24}/MIC (8)



Slika 7: Kaplan-Meier diagram preživetja pri bolnikih z AUC24/MIC vrednostmi nad 211 (neprekinjena črta) in pod 211 (prekinjena črta) (8)

1.1.5 Neželeni učinki in toksičnost

Med neželenimi učinki vankomicina se poudarjata nefrotoksičnost in ototoksičnost, vendar se je v zadnjih letih izkazalo, da je bila pojavnost teh učinkov predvsem posledica nečistot v končni formulaciji, ki so bile ostanek proizvodnega procesa. Do sredine osemdesetih let, ko se je z izpopolnitvijo postopka pridobivanja učinkovine vsebnost teh snovi znižala, je bilo manj tudi poročanj o resnih neželenih učinkih (9,10,11).

Pojavnost ototoksičnosti pripisujejo predvsem sočasni aplikaciji drugih ototoksičnih zdravil ali pa že predhodno obstoječemu stanju. V večini primerov je reverzibilna. Večina strokovnjakov meni, da monoterapija z vankomicinom ne povzroča okvar sluha (7).

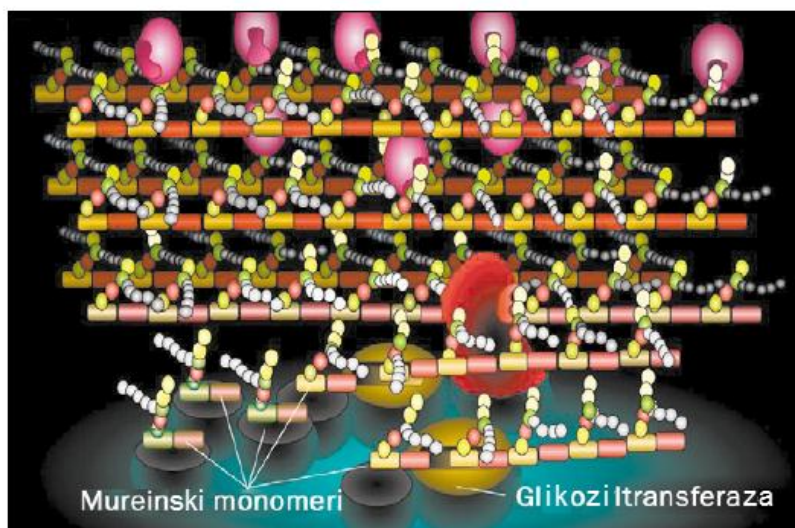
Nefrotoksičnost, ki ni posledica nečistot, se pripisuje sočasnemu odmerjanju vankomicina z drugimi zdravili, predvsem aminoglikozidi. V večini primerov je reverzibilna. V eni največjih raziskav, ki je zajela 1750 bolnikov, izvedla jo je skupina Pestotnik, et al., so ugotovili, da je pojavnost nefrotoksičnosti 1,4 %. Ugotovljeno je bilo, da sočasna aplikacija obeh tipov antibiotikov poveča nefrotoksičnost aminoglikozidov v povprečju tri- do štirikrat. Kombinacija teh antibiotikov pri otrocih ne povzroča negativnih učinkov na ledvice. V raziskavi skupine Kitzis, et al., ki je zajela 1737 ljudi, so opazili nefrotoksičnost, povzročeno z vankomicinom, pri manj kot enem odstotku ljudi (6,12,13).

Najpogostejši neželeni učinki, vročina, mrzlica in flebitis, niso povezani s previsokimi koncentracijami vankomicina v krvi. Drugi pogosti neželeni učinki so posledica prevelike hitrosti infundiranja in vključujejo hipotenzijo, rdečico, urtikarijo in pruritis, kombinacija teh pojavov se imenuje tudi "sindrom rdečega moža" in je podobna histaminski reakciji. Ob sočasni aplikaciji anestetikov se lahko ti neželeni učinki potencirajo (5,6).

1.1.6 Rezistenca na vankomicin

Bakterijska rezistenca na antibiotike in razvoj "superbakterij" postaja čedalje večji problem za zdravstvene ustanove po svetu. Leta 1996 je bila iz kužnine japonskega pacienta prvič izolirana kolonija bakterij MRSA, ki so izkazovale rezistenco na vankomicin. Kasnejše izolacije na vankomicin odpornih bakterij *Staphylococcus aureus* (VRSA), ki so se vrstile po vseh celinah so pokazale, da je problem bakterijske rezistence globalen. Razvoj rezistence se spremlja predvsem pri dveh že omenjenih bakterijah ter pri na vankomicin odpornih enterokokih (VRE), saj te povzročajo večino bolnišničnih okužb (4,14).

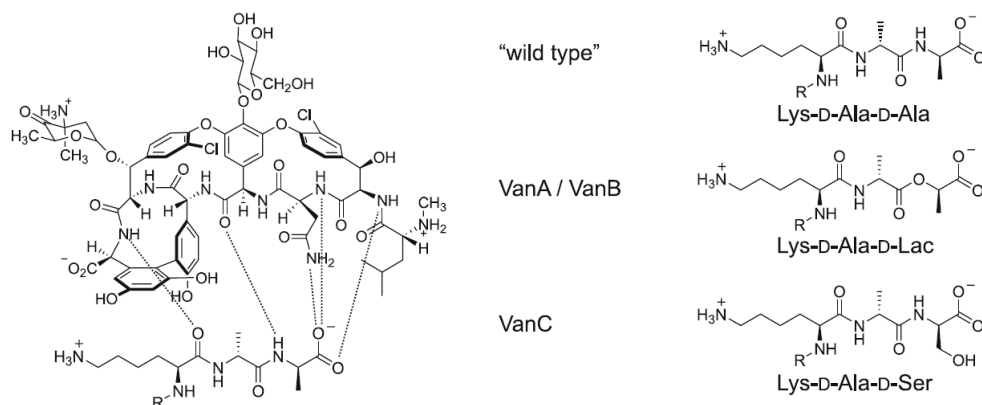
Mehanizem pojava rezistence je bil dodobra raziskan s pojavom prvega seva VRSA. Biokemična analiza celične stene in meritev debeline s transmisijsko elektronsko mikroskopijo je pokazala povečano število plasti peptidoglikanov v strukturi celične stene, kot prikazuje slika 8.



Slika 8: Zadebeljena celična stena bakterije (prikazani so trije sloji peptidoglikanov) (4)

Molekule vankomicina se tako ujamejo v peptidoglikansko mrežo, posledično pa je potrebna višja koncentracija, da vankomicin doseže celično membrano, kjer je primarno mesto delovanja. Bakterije dosežejo zadebelitev celične stene s proizvodnjo več molekul

peptidoglikana ali pa zmanjšanjem aktivnosti encima, ki razgrajuje celično steno. Drugi mehanizmi obsegajo povečanje D-ala-D-ala preostankov v celični steni in spremembo osnovnih gradnikov peptidoglikana, ki začnejo izražati D-ala-D-lac ali D-ala-D-ser preostanek, kot je prikazano na sliki 9 (2,4,15,16).



Slika 9: Variacija aminokislinskih skupin na terminalnem delu glikopeptida (2)

Poleg odpornosti celotne populacije bakterij, ki naseljuje določen organizem, poznamo pojav heterorezistence, ki se pojavi pri dlje časa trajajočem ali ponavljajočem se zdravljenju. Opredelimo ga kot prisotnost majhnega števila na vankomicin srednje odpornih ali odpornih bakterij v populaciji bakterij, občutljivih na vankomicin. S standardnimi metodami za določevanje minimalnih inhibitornih koncentracij (MIC) ne zaznamo povečane odpornosti heterogenih populacij bakterij, zato tudi ne moremo ustrezno prirediti odmernega intervala. Tako z zdravljenjem z normalnim odmerjanjem vankomicina odporne bakterije preživijo in povzročijo ponovno okužbo ali vztrajanje obstoječe okužbe. V uporabi so številne metode, ki omogočajo določitev MIC odpornih subpopulacij, vendar so mnoge med njimi nezanesljive. Metoda, ki najzanesljiveje identificira heterorezistenco bakterijske populacije, je populacijska analiza profila, ki pa je zamudna in zahteva specializirano znanje, zato je uporaba v bolnišničnem okolju težavna (1,17).

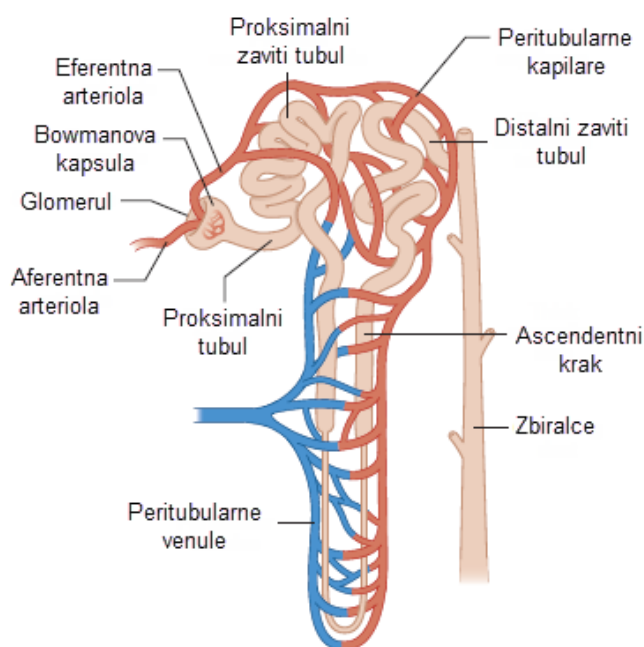
1.2 Ledvična funkcija

1.2.1 Ledvice

Ledvice so eden najbolj diferenciranih organov v telesu. V njih najdemo več kot 30 tipov celic, ki sestavljajo intersticij in nefrone, žile in kapilare, skozi katere se kri filtrira v glomerule, tubule, v katerih se dogaja izmenjava telesu potrebnih ionov itd (18).

Kompleksna sestava ledvic služi uravnavanju količine vode v telesu in s tem povezano ravnotežje ionov, vzdržuje kislinsko-bazično ravnotežje, uravnava arterijski tlak, izloča odpadne produkte metabolizma in ksenobiotike (zdravila, droge), sodeluje pa tudi pri glukoneogenezi in sekreciji, metabolizmu in izločanju hormonov (19).

Pretok skozi ledvice zavzame približno 22 % srčnega pretoka, to je okoli 1100 mL/min. Del te krvi prehranjuje ledvice in teče po interlobarnih arterijah, arkuatnih arterijah in radialnih arterijah, del pa po aferentnih arteriolah, ki potekajo skozi glomerule. Ob prehodu krvi skozi glomerul se veliko tekočine in raztopljenih snovi filtrira v glomerule, od tam pa v proksimalni tubul, kjer se začne produkcija urina. Urin se nato pri prehodu skozi Henlejevo zanko in distalni tubul koncentrira, poteka pa tudi reabsorpcija ionov. Zgradbo ledvic prikazuje slika 12 (19).



Slika 10: Zgradba ledvic (20)

Ob nekaterih bolezenskih stanjih se lahko funkcija ledvic močno poslabša. Jetrne bolezni in ledvično popuščanje zmanjšajo metabolizem in izločanje večine zdravil. Pri akutnem ledvičnem popuščanju se ledvična funkcija lahko povrne na stanje pred boleznijo, medtem ko bolniki s kroničnim popuščanjem doživijo ireverzibilno izgubo ledvične funkcije zaradi izgube nefronov. Pri srčnem popuščanju se pretok skozi ledvice zmanjša, posledično se zmanjša tudi glomerulna filtracija. Ljudje s prekomerno telesno težo imajo povečan volumen distribucije, saj se nekatera lipofilna zdravila lahko zadržujejo v adipoznih tkivih.

Nenazadnje pa tudi interakcije med zdravili lahko inducirajo ali inhibirajo metabolizem in spremenijo stopnjo vezave na plazemske proteine (21).

Večina v vodi topnih zdravil se, nespremenjenih v določeni meri, iz telesa izloča skozi ledvice. Tudi produkti metabolizma, konjugati s hidrofilnimi spojinami (glukuronska kislina, glutation, sulfati, glicin), se nato izločajo po isti poti. Na plazemske proteine nevezani del učinkovine se najprej izloča z glomerulno filtracijo, ki je pasiven proces. Nekatere snovi se z aktivno sekrecijo izločajo v proksimalni tubul. Tubulno sekrecijo uravnavajo prenašalci, ki služijo kot kanalčki za prehod molekule iz kapilare v tubul. V distalnem tubulu poteka tudi reabsorpcija, ki je pasiven proces. Molekula mora izkazovati določeno topnost v lipidih, da se lahko reabsorbira. Na to vpliva predvsem ionizacija molekule, ki pa je odvisna od pH urina in pK_a učinkovine (21).

1.2.2 Ocena ledvične funkcije

Ledvična funkcija se lahko oceni z različnimi parametri. Eden izmed teh je glomerulna filtracija. Izmeri se lahko z različnimi raziskavami. Inulin je snov, ki se izloča samo z glomerulno filtracijo in se ne reabsorbira v distalnem tubulu, zato se iz količine v urinu lahko natančno določi hitrost glomerulne filtracije. Vendar je v večini primerov dovolj že ocena ledvične funkcije, ki se izračuna iz koncentracije kreatinina v serumu in urinu (21).

Kreatinin je proizvod metabolizma mišičnega tkiva v telesu. Izloča se pretežno z glomerulno filtracijo, manjši del pa tudi po drugih poteh. Metoda, ki jo predlaga ameriška agencija FDA, je zbiranje urina določeno časovno obdobje in določitev serumskega kreatinina na sredini tega obdobja. Očistek kreatinina se izračuna po enačbi 1:

$$CrCl \left(\frac{mL}{min} \right) = \frac{U_{Cr} \times V_{urin}}{S_{Cr} \times T} \quad \text{Enačba 1}$$

U_{Cr} predstavlja koncentracijo kreatinina v urinu (v mg/dL), V_{urin} je količina zbranega urina (v mL), S_{Cr} serumska koncentracija kreatinina (v mg/dL), T pa čas zbiranja urina (v minutah). Proizvodnja urina je proces s cirkadianim ciklom, zato zbiranje poteka 24 ur. V nujnih situacijah se je izkazalo, da tudi 8- do 12-urni interval zbiranja urina daje dovolj natančne rezultate za ukrepanje. Ob stabilni ledvični funkciji tudi odvzem serumskega vzorca ni potreben točno na sredini intervala zbiranja urina (21).

Zaradi neupoštevanja časa zbiranja urina, serumskih vzorcev, odvzetih ob napačnih časih in nepopolno zbranega urina se je razvilo več metod, s katerimi lahko ocenimo očistek

kreatinina s samo serumskimi vrednostmi kreatinina in določenimi karakteristikami bolnika (21).

1.2.3 Metode ocenjevanja kreatininskega očistka

Metoda ocenjevanja kreatininskega očistka Cockcroft-Gault

Je ena najširše uporabljenih metod za ocenjevanje kreatininskega očistka, opisuje pa jo enačba 2. V izračunu upošteva serumsko koncentracijo kreatinina, spol, starost in težo bolnika (21).

$$Cl_{cr} = \frac{(140 - AGE) \times WT}{72 \times S_{cr}} \quad \text{Enačba 2}$$

Cl_{cr} predstavlja oceno kreatininskega očistka v mL/min, AGE starost bolnika v letih, WT telesno težo v kilogramih ter S_{cr} serumsko koncentracijo kreatinina v mg/dL. Enačbo pomnožimo s faktorjem 0,85, da dobimo obliko za izračun pri ženskah. Upošteva manjšo mišično maso, kar se odrazi kot manjša proizvodnja kreatinina na dan. Za reprezentativen izračun pa obstajajo določene omejitve. Uporablja se za bolnike, starejše od 18 let, s telesno težo, ki presega idealno telesno težo (IBW) za največ 30 odstotkov in s stabilnimi serumskimi koncentracijami kreatinina. IBW izračunamo z enačbo 3 za moške in enačbo 4 za ženske. Enačbi upoštevata telesno višino bolnika (HT) (21).

$$IBW = 0,9 \times HT - 88 \quad \text{Enačba 3}$$

$$IBW = 0,9 \times HT - 92 \quad \text{Enačba 4}$$

Pri nekaterih bolezenskih stanjih je proizvodnja kreatinina manjša, bodisi zaradi atrofije mišic ali pa nezmožnosti razgibavanja in vzdrževanja mišične mase. Primer so s HIV-om okuženi bolniki, kahektični bolniki in bolniki s slabo prehrano. Serumsko koncentracija kreatinina se lahko v teh primerih zniža pod 1,0 mg/L. Priporoča se, da se za izračun očistka v teh primerih uporabi arbitrarna vrednost serumskega kreatinina 1 mg/L, s čimer se rezultat približa dejanski vrednosti. V primeru, da potrebujemo natančno vrednost glomerulne filtracije, moramo kreatininski očistek izmeriti (21).

Metoda ocenjevanja kreatininskega očistka Salazar-Corcoran

Za bolnike, katerih telesna teža presega idealno za več kot 30 odstotkov, je bilo predlagano, da se v Cockcroft-Gaultovi enačbi uporabi idealna telesna teža namesto dejanske. Metoda, ki sta jo razvila Salazar in Corcoran, se je v teh primerih izkazala za primernejšo. Izračun očistka je predstavljen v enačbah 5 in 6 (21).

$$Cl_{cr} = \frac{(137 - AGE) \times [(0,285 \times WT) + (12,1 \times HT^2)]}{51 \times S_{cr}} \quad \text{Enačba 5}$$

$$Cl_{cr} = \frac{(146 - AGE) \times [(0,287 \times WT) + (9,47 \times HT^2)]}{60 \times S_{cr}} \quad \text{Enačba 6}$$

V enačbi 5, ki se uporablja za izračun za moške, in 6 za ženske, Cl_{cr} predstavlja kreatininski očistek v mL/min, AGE starost v letih, WT dejansko telesno težo v kilogramih, HT telesno višino v metrih in S_{cr} serumski kreatinin v mg/dL (21).

Metoda ocenjevanja kreatininskega očistka Jelliffe

Ocenjevanje kreatininskega očistka pri kritično bolnih ljudeh z akutno ledvično odpovedjo je z metodama Cockcroft-Gault in Salazar-Corcoran nezanesljivo. Obe metodi sta bili razviti za ocenjevanje glomerulne filtracije s stabilno serumsko koncentracijo kreatinina, zato za ocenjevanje nestabilne ledvične funkcije nista primerni. Kreatinin ima razpolovno dobo približno 6 ur. Da se vzpostavi novo stacionarno stanje traja približno 30 ur, kar pomeni, da imajo hitre spremembe plazemske koncentracije kreatinina manjši pomen pri izračunu kreatininskega očistka. Za takšne primere je bila razvita metoda Jelliffe, ki jo opisuje enačba 7. Ta metoda poleg bolnikove teže, starosti in spola upošteva še spreminjanje serumske koncentracije kreatinina s časom (22).

$$CrCL = \frac{(29,305 - 0,203 \times AGE) \times WT \times (1,037 - 0,0338 \times S_{cravg}) - 4 \times WT \times \frac{S_{cr2} - S_{cr1}}{\Delta t}}{14,4 \times S_{cravg}} \quad \text{Enačba 7}$$

V zgornji enačbi prvi produkt predstavlja proizvodnjo kreatinina v enem dnevu, drugi produkt pa izločanje kreatinina skozi ledvice. Faktor 14,4 predstavlja en dan. AGE je starost bolnika v letih, WT je teža v kilogramih, S_{cravg} je povprečje serumske koncentracije kreatinina v dveh dneh, S_{cr1} je koncentracija kreatinina prvi dan, S_{cr2} pa drugi dan. Enačbo pomnožimo s faktorjem 0,85, da dobimo kreatininske očistek za moške in z 0,765 za ženske (23).

1.2.4 Ocena farmakokinetičnih parametrov in načrtovanje režima odmerjanja učinkovin z uporabo kreatininskega očistka

Za zdravila, ki se izločajo skozi ledvice, se v praksi običajno uporablja ocena kreatininskega očistka za določitev začetnega odmerjanja zdravila. Takšni odločitvi botruje dejstvo, da je ledvični očistek zdravila manjši pri bolnikih z zmanjšano glomerulno filtracijo, kreatininski očistek pa se uporablja kot pokazatelj glomerulne filtracije.

Prepostavka, ki jo uporabimo pri tej odločitvi, je, da se z zmanjšanjem glomerulne filtracije zmanjšata tudi tubulna sekrecija in reabsorpcija. Čeprav temu ni vedno tako, imamo s tem pristopom oporno točko, s katero se odločimo za začetni režim odmerjanja zdravila. Med zdravljenjem lahko s spremljanjem plazemske koncentracije režim odmerjanja prilagodimo dejanskemu stanju bolnika (21).

Za prilagajanje režima odmerjanja pri bolniku s slabšo ledvično funkcijo je več možnosti, odvisno od poti aplikacije, odmerkov, ki so na voljo, ter farmakodinamskih značilnosti zdravila. Če je zdravilo na voljo samo v obliki tablet, se odmerek težko natančno uravnava, zato je običajno spremenjen odmerni interval. Pri parenteralnih zdravilih je verjetneje, da se ohrani odmerni interval, a se bolniku da manjši odmerek. Pri nekaterih zdravilih z ozkimi terapevtskimi okni in splošno sprejetimi plazemskimi koncentracijami, kakršen je tudi vankomicin, se lahko spremeni odmerek in odmerni interval ter se tako poskuša doseči ciljana plazemska koncentracija oz. indeks učinkovitosti (21).

1.3 Populacijska farmakokinetika

Populacijska farmakokinetika je področje klinične farmakologije, ki se ukvarja z ocenjevanjem farmakokinetičnih parametrov ter ocenjevanjem interindividualne (IIV) in rezidualne variabilnosti absorpcije, distribucije, metabolizma in izločanja zdravil (24).

Populacijski FK pristop je uporaben pri obravnavi bolnikov v bolnišnični negi za ocenjevanje individualnih FK parametrov (očistek in volumen porazdelitve zdravil). S spremljanjem plazemskih koncentracij lahko zdravnik s pomočjo populacijskega farmakokinetičnega (PFK) modela zelo natančno prilagodi odmerjanje vsakemu bolniku. Tudi v primeru, da tega podatka nima, lahko glede na bolnikovo fizično stanje, bolnišnično zgodovino in laboratorijske teste fizioloških funkcij relativno natančno predvidi ustrezen režim odmerjanja. Prav tako so PFK modeli uporabni pri razvoju novih učinkovin, saj se lahko ugotovijo pomembne FK in FD lastnosti, razvijejo priporočeni režimi odmerjanja in razumejo vplivi različnih režimov na uspešnost zdravljenja (24).

V primerjavi s tradicionalno farmakokinetiko ima populacijska mnogo prednosti. Običajen pristop tradicionalne farmakokinetike so klinične študije z zdravimi prostovoljci, katerim se odvzame večje število vzorcev plazme v kratkih časovnih intervalih. Populacijska farmakokinetika se problema loteva na večjih, heterogenih populacijah bolnikov. Uporabi se lahko podatke frekventnih vzorčenj kot tudi sporadične podatke, zato takšen pristop

omogoči FK študije na populacijah, pri katerih bi pogosto vzorčenje naletelo na etične ali medicinske zadržke, kot so novorojenčki, starostniki, bolniki z AIDS-om ali rakom ter bolniki na intenzivni negi (24).

Sama zasnova populacijske FK študije omogoča tudi nižje stroške v primerjavi s tradicionalnimi študijami, saj so bolniki že hospitalizirani in uživajo zdravilo v okviru terapije. Prav tako ni potrebno izvajati dolgotrajnega procesa izbora zdravih prostovoljcev, ki ustrezajo zasnovi študije. Celoten strošek prve faze kliničnega preizkušanja novega zdravila je primerljiv strošku druge in tretje faze (24,25).

V okviru PFK študij se lahko analizirajo podatki, zbrani v različnih študijah v različnih ustanovah, z različnimi zasnovi študije (pogosto ali redko vzorčenje, analiza seruma ali plazme, eksperimentalna ali opazovalna študija). Združevanje različnih skupin podatkov poveča možnost prepoznati večprostorske ali nelinearne modele, opredeliti vpliv karakteristik populacije na FK parametre in izboljšati prileganje modela. Način analize podatkov je odvisen od načina pridobivanja le-teh. Eksperimentalni podatki iz študij se analizirajo za vsakega posameznika posebej. Pridobljene informacije o individualnih FK parametrih se uporabijo za ocenjevanje populacijskih FK parametrov. Podatki, ki so zbrani z opazovanjem redne terapije ali kot dodatek eksperimentalnim podatkom v študijah, za analizo niso enostavni. So precej heterogeni, nenadzorovani in neomejeni z zahtevami raziskav, kar se kaže v manjši količini podatkov, zbrani od ene osebe, času vzorčenja v odvisnosti od režima jemanja, različnih kombinacijah zdravil, ki jih jemljejo osebe (24).

Ena najpomembnejših prednosti PFK študij je možnost ocenjevanja razlik v individualnih FK parametrih, čemur se tradicionalne študije z izborom prostovoljcev izognejo oz. skušajo ta vpliv zmanjšati. Z uporabo PFK pristopa se lahko identificira tudi vir, na primer kreatininski očistek ali starost lahko vplivata na očistek zdravila, telesna teža in spol pa na porazdelitveni volumen. Določen del IIV tudi po identifikaciji vira oz. stalnih učinkov ostane nepojasnen; to so naključni učinki. Mednje spadajo fiziološke razlike med posamezniki, časovna variabilnost, intraindividualna variabilnost ter rezidualna variabilnost (24).

Slabost populacijskega pristopa se kaže v tem, da je te podatke težko interpretirati pravilno oz. iz analize izluščiti pravilne zaključke, kar zahteva farmakokinetika z ustrezno izobrazbo in izkušnjami (24).

1.3.1 Nelinearni model mešanih učinkov

Populacijska farmakokinetika se poslužuje večjega števila modelov, ki imajo različen pristop do analize podatkov; eden izmed teh je nelinearni model mešanih učinkov. Je prva metoda za ocenjevanje IIV, ki ne zanemara podatkov, ki jih je težavno vključiti v analizo, kot so skopi podatki ali različni odmerni intervali. Parametri populacije, ki jih s to metodo izračunamo, so sestavljeni iz prvih dveh momentov porazdelitve parametrov: stalnih učinkov oz. srednjih vrednosti porazdelitve ter naključnih učinkov oz. matrike varianca-kovarianca porazdelitve (24).

Podatki, ki jih analiziramo v okviru PFK analize, zajemajo plazemske vrednosti zdravil, režim odmerjanja ter karakteristik bolnika, kot so spol, višina, teža in ledvična funkcija. Število podatkov o plazemski koncentraciji zdravila je pri uporabi te metode običajno majhno, od 1 do 6, kar onemogoči ocenjevanje individualnih FK parametrov. Takšen model ne bi bil reprezentativen za določenega posameznika. Metoda modeliranja nelinearnih mešanih učinkov zato analizira podatke vseh bolnikov naenkrat, primerno pa ovrednoti morebitno neuravnoteženost podatkov. Vrednost parametrov se ocenjuje z metodo največjega verjetja in je zaradi takšnega pristopa težavno. Metoda največjega verjetja izrazi verjetnost, da z izračunom ocene parametrov dobimo dejanske izmerjene vrednosti. Razvite so bile številne metode za približevanje napovedi meritvam, kot so FO, NLME, MIXNLIN, SAS, NPML, SNP. Mednje spada tudi FOCE metoda, ki je ena izmed najbolj uporabljenih (26,27).

FK model je sestavljen iz treh delov:

- strukturnega,
- statističnega,
- kovariatnega.

Strukturni model nam predstavi splošni trend podatkov, npr. kako se spreminja očistek in volumen distribucije učinkovine, če predpostavimo enoprostorski ali večprostorski model. Statistični del modela oceni razlike med meritvami in napovedmi z uporabo IIV ter rezidualne variabilnosti. Kovariatni del modela izraža razmerja med sočasnimi spremenljivkami in parametri modela, upoštevajoč vrednosti stalnih učinkov (28).

Model je definiran z deskriptorji oz. farmakokinetičnimi parametri (npr. očistek učinkovine, volumen porazdelitve učinkovine), ki se lahko med posamezniki razlikujejo.

Zapis FK parametra prikaže enačba 8. Oznaka CL_i označuje vrednost očistka za posameznega bolnika, θ_{CL} srednjo vrednost očistka v populaciji bolnikov, η_i pa razliko med srednjo vrednostjo in vrednostjo očistka pri točno določenem bolniku. Za vrednosti η_i se smatra, da so normalno porazdeljene v populaciji bolnikov s srednjo vrednostjo 0 in varianco ω^2 (28,29).

$$CL_i = \theta_{CL} + \eta_i \quad \text{Enačba 8}$$

Znane lastnosti posameznikov, ki vplivajo na farmakokinetične parametre v populaciji, so sočasne spremenljivke. V enačbi 9 lahko vrednost očistka izrazimo kot funkcijo sočasne spremenljivke, ki nam izraža stanje ledvične funkcije, kot je kreatininski očistek (CLCR), kar se izrazi, kot nam prikaže enačba 10. θ_{CLCR} je vrednost linearne odvisnosti očistka od CLCR.

$$CL_i = \theta_{CL} + \theta_{CLCR} \times CLCR + \eta_i \quad \text{Enačba 9}$$

Tudi ob predpostavki, da so srednje vrednosti vseh parametrov stalnih učinkov znane, in bi takšen model uporabili za napoved plazemske koncentracije zdravila v določeni točki v času j , bi se napovedi $C_{pred,ij}$ razlikovale od meritev $C_{obs,ij}$, kot nam prikaže enačba 10.

$$C_{obs,ij} = C_{pred,ij} + \varepsilon_{ij} \quad \text{Enačba 10}$$

Vrednosti ε_{ij} so prav tako kot η_i normalno porazdeljene s srednjo vrednostjo 0 in varianco σ^2 . Ti dve vrednosti predstavljata vir naključnih učinkov, to so razlike med bolniki, ki jih vnaprej ne moremo napovedati. η_i je IIV, ki predstavlja razlike med posamezniki, ε_{ij} pa predstavlja rezidualno napako ali "šum". Pojavi se lahko kot posledica napake analizne metode, napačnega odmerka, napačnega časa vzorčenja, napake pri opisu razmerja sočasna spremenljivka-FK parameter v modelu, ipd (28,29).

1.4 Simulacija Monte Carlo

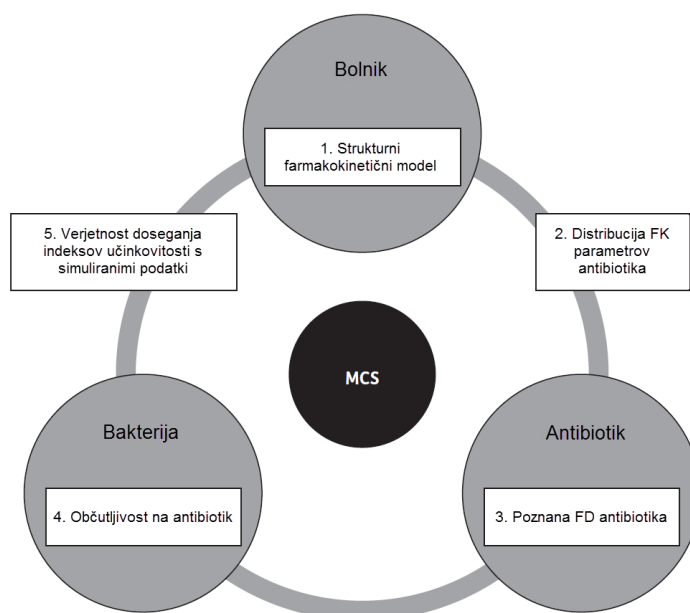
Metode Monte Carlo so oblika računalniških algoritmov za izvajanje računalniških simulacij matematičnih ali dejanskih procesov. Omogočajo raziskovanje značilnosti teh procesov, ob predpostavki, da jih lahko uokvirimo v znano statistično porazdelitev. Izvedba simulacije poteka tako, da računalnik izvede večje število poizkusov, tudi do 10000, ki so lahko trivialni, kot je met kovanca ali izbor loto kroglic iz bobna, vse do kreiranja populacije ljudi pod določenimi pogoji, ki jih določimo (normalna porazdelitev teže in starosti, dihotomna porazdelitev spolov, logaritemsko normalna porazdelitev očistka in volumna porazdelitve določenega zdravila) (30,31).

Za uspešno uporabo metod Monte Carlo v populacijski farmakokinetiki potrebujemo:

- robustni FK model tarčne populacije,
- kovariatni model z zapisom vpliva sočasnih spremenljivk na parametre,
- FD diskriptor ali tarčo, s katerim določimo uspešnost zdravljenja,
- in za ocenjevanje učinkovitosti zdravljenja z antibiotikom, podatke o občutljivosti bakterij na antibiotik vankomicin.

Zaradi težavne izvedbe FK študij na populaciji kritično bolnih bolnikov je pristop s simulacijo Monte Carlo (MCS) dobrodošel, saj se z izvedbo navideznih kliničnih študij na razširjeni populaciji bolnikov že zbrane podatke lahko izkoristi v večji meri. Z razširjeno populacijo bolnikov lahko raziskovalci preizkušajo različne režime odmerjanja in različne FD parametre za določanje uspešnosti zdravljenja brez stroškov, ki spremljajo klinične študije, in najpomembneje, brez cene človeških življenj (31).

S pomočjo strukturnega FK modela MCS z vzorčenjem iz definirane porazdelitve parametrov ustvari populacijo bolnikov, katerim pripiše ustrezne FK parametre, npr. očistek in volumen porazdelitve. S tema podatkom in ustreznim režimom odmerjanja se za vsakega bolnika izračuna časovni koncentracijski profil oz. ustrezen indeks učinkovitosti za določen antibiotik. Ob poznavanju FD antibiotika in občutljivosti bakterije na ta antibiotik se nato izračuna verjetnost doseganja zadostno visokih indeksov učinkovitosti za ugoden kliničen izid. Izvedbo MCS prikazuje slika 11 (31).



Slika 11: Shema izvedbe simulacije Monte Carlo

Podatke o občutljivosti bakterij na antibiotike zbira Evropski komite za testiranje učinkovitosti antimikrobnih učinkovin (EUCAST), pod katerega spadajo Evropski center za preprečevanje in nadzor bolezni (ECDC), Evropska skupnost za klinično mikrobiologijo in infekcijske bolezni (ESCMID) in državni odbori za ocenjevanje odpornosti mikroorganizmov. Podatki o občutljivosti so zbrani iz različnih obdobj in geografskih območij, zato se ne uporabljajo za epidemiološke študije (32).

2 Namen dela

Ledvice imajo pomembno vlogo pri izločanju mnogih zdravilnih učinkovin iz telesa, bodisi nespremenjenih ali metaboliziranih. Ob poslabšani ledvični funkciji se zdravila lahko akumulirajo v telesu, kar lahko vodi do resnih neželenih učinkov ali celo smrti. Spremljanje ledvične funkcije med zdravljenjem je zato izjemnega pomena za ustrezno odmerjanje zdravil.

Učinkovine, pri katerih namenjamo posebno pozornost pravilnemu odmerjanju, so antibiotiki. Z ustreznim odmerjanjem izboljšamo bolnikove možnosti za preživetje in zmanjšamo možnost pojava neželenih učinkov, ki so lahko precej nevarni. Nenazadnje pa tudi v določeni meri preprečimo pojav bakterijske rezistence na antibiotike, ki je v zdravstvu čedalje bolj pereč problem.

Eden izmed antibiotikov, pri katerem smo še posebej pozorni na pojav rezistence, je vankomicin. Zaradi svoje vloge v boju proti Gram pozitivnim bakterijam je njegovo predpisovanje in odmerjanje strogo nadzorovano.

V analizo bomo vključili 56 ljudi, ki so se zdravili v Splošni bolnišnici Jesenice in Univerzitetnem kliničnem centru (UKC) Maribor. Vsi so bili na intenzivni negi, mnogi so imeli okrnjeno ledvično funkcijo, nekateri so imeli prekomerno telesno težo. Zdravili so se več kot dva dni, nekateri tudi cel mesec.

Razvili bomo PFK model za vankomicin, s katerim opišemo vpliv različnih lastnosti bolnikov na FK parametre, s katerimi opišemo obnašanje zdravila v telesu. Za FK analizo bomo uporabili program NONMEM z metodo nelinearnega modela mešanih učinkov. Ledvično funkcijo bomo ocenili z dvema metodama, metodo po Cockcroft-Gaultu in metodo po Jelliffu. S simulacijo Monte Carlo in EUCAST podatki o minimalnih inhibitornih koncentracijah posameznih patogenov bomo izračunali AUC_{24}/MIC vrednosti. Glede na te vrednosti bomo ocenili, pri katerih režimih odmerjanja te vrednosti dosegajo določene meje, ki se omenjajo v strokovnih publikacijah. Izračunali bomo tudi delež bolnikov, katerih režim odmerjanja je ustrezen glede na MIC povzročitelja.

Cilj diplomske naloge je razviti populacijski farmakokinetični model za vankomicin s podatki vzorca kritično bolnih bolnikov in z aplikacijo tega modela oceniti, v kakšni meri je zdravljenje uspešno glede na ustrezne FK/FD pokazatelje.

3 Materiali in metode

3.1 Bolniki

Izvedli smo retrospektivno analizo zdravljenja bolnikov v dveh bolnišnicah, v Splošni bolnišnici Jesenice ter v Univerzitetnem kliničnem centru Maribor. Vseh 56 bolnikov se je zdravilo z vankomicinom. Podatke smo povzeli po diplomah Barbare Koder in Maje Cvikl (33,34).

Analizirali smo podatke o zdravljenju 40 bolnikov moškega spola in 16 bolnikov ženskega spola. Ocenili smo tudi ledvično funkcijo z izračunom kreatininskega očistka z dvema metodama, metodo po Cockcroft-Gaultu in Jelliffu. Izračunali smo še delež bolnikov, ki so starejši od 65 let. To je bil eden izmed parametrov, ki smo ga uporabili v farmakokinetični analizi. Izdelali smo preglednico s podatki, kakršno lahko interpretira program NONMEM, ki smo ga uporabljali za FK analizo (priloga 1).

Režim odmerjanja vankomicina se je pri bolnikih razlikoval. Večina jih je dobivala vankomicin v obliki kratkotrajne infuzije, trajajoče eno uro. Pet bolnikov je dobilo nekaj odmerkov v obliki 24-urne infuzije. Interval odmerjanja je pri večini znašal 12 ur, v redkih primerih 24 ali 48 ur. Minimalna koncentracija vankomicina se je običajno izmerila eno uro pred naslednjim odmerkom, ob nekaterih odvzemih krvi pa se tega ni upoštevalo.

Nekateri bolniki so bili na sočasni terapiji še z drugimi antibiotiki, predvsem aminoglikozidi, beta-laktamskimi antibiotiki, cefalosporini ter fluorokinoloni.

3.2 Programski paket za analizo podatkov

Za analizo podatkov smo uporabili programski paket NONMEM. Napisan je v programskem jeziku Fortran 90/95. Je eden najširše uporabljenih in najbolj zanesljivih programov za FK analize (35,36).

Sestavljen je iz treh delov:

- Osnovni program NONMEM se uporablja za napovedovanje podatkov kot tudi za analizo prileganja.
- PREDPP je zbirka FK modelov, ki nam omogoča enostavnejše delo, saj lahko samo izberemo primeren farmakokinetičen model brez opisovanja modela z diferencialnimi enačbami.

- NM-TRAN je predprocesor, ki nam omogoča preprostejše vpisovanje ukazov in zaznavo napak v ukazu ali datoteki s podatki (primer datoteke s podatki vsebuje priloga 1) (36).

Program za ocenjevanje vpliva sočasnih spremenljivk na PK/PD parametre uporablja metodo največjega verjetja (maximum likelihood). Verjetnost ujemanja izračunanih vrednosti z meritvami je izražena kot funkcija vseh definiranih parametrov v modelu, ocene parametrov pa so izbrane tako, da je verjetnost največja. Ta pristop predpostavlja, da se najboljše ocene parametrov izrazijo v napovedih, ki se najboljše ujemajo z meritvami. Rezultate nato izrazi kot vrednost objektivne funkcije (OFV), ki se izraža kot dvakratnik negativnega logaritma verjetja ($-2\log L$) (26).

3.3 Razvoj populacijskega farmakokinetičnega modela

3.3.1 Osnovi model

V procesu razvoja PFK modela v programu NONMEM je prvi korak določitev osnovnega strukturnega modela, ki ga ponavadi izberemo med ponujenimi prostorskimi modeli. Odločili smo se za enoprostorski model, ki je opisan s parametroma ledvični očistek in volumen porazdelitve. Čeprav je farmakokinetika vankomicina zapletena, se je izkazalo, da ob pomanjkljivih podatkih najboljše rezultate ponudi enoprostorski model. Takšen model predstavlja ADVAN1/TRANS2 model iz zbirke PREDPP. Kot aproksimacijsko metodo smo izbrali metodo FOCE INTER. Za opis IIV očistka in volumna smo izbrali eksponentni model napake, za oceno rezidualne intraindividualne variabilnosti pa smo izbrali kombiniran model napake, aditivni in proporcionalni (37).

Pogoji za izbiro modela so bili: OFV se ob uvedbi novih sočasnih spremenljivk zmanjša za več kot 3,84, zmanjša se IIV, relativne standardne napake ocene parametrov se zmanjšajo, in 95-odstotni intervali zaupanja ocene parametrov, sočasnih spremenljivk in IIV ne vključujejo vrednosti nič. Pri ocenjevanju ustreznosti modelov smo se poleg omenjenih kriterijev oprli tudi na grafično analizo podatkov. Primerjali smo ujemanje napovedanih vrednosti z izmerjenimi vrednostmi ter porazdelitev rezidualov. Upoštevali smo tudi krčenje IIV (shrinkage). Lahko zajema vrednosti od 0 do 1. Vrednost 0 označuje primer, ko je PFK model pravilno zapisan in so podatki za posameznike dovolj obširni, da ocene parametrov posnemajo dejanske vrednosti teh parametrov. V nasprotnem primeru, ko je vrednost 1, ko podatkov za posameznika ni, in se ocene parametrov približajo tipičnim

vrednostim populacije. V osnovnem modelu smo preverili tudi medsebojni vpliv parametrov, ledvičnega očistka in volumna porazdelitve.

Za izračun intervala zaupanja smo uporabili enačbo 11:

$$95\% \text{ IZ} = \theta \pm 1,96 \times SE \quad \text{Enačba 11}$$

V zgornji enačbi IZ pomeni interval zaupanja, θ je ocena parametra v populaciji, SE pa pomeni standardno napako.

3.3.2 Postopni razvoj modela s sočasnimi spremenljivkami

V osnovni model smo dodajali sočasne spremenljivke; to so dejavniki, ki opisujejo IIV farmakokinetičnih parametrov strukturnega modela.

Sočasne spremenljivke so lahko kategorične ali zvezne, vključevanje le-teh v model pa se razlikuje.

Kategorične sočasne spremenljivke lahko zajemajo samo dve vrednosti, npr. spol, sočasno zdravljenje z drugimi zdravili ipd. Obravnavamo jih tako, da vsaki možnosti določimo vrednost, na primer bolniku moškega spola pripišemo vrednost 0, bolnici ženskega spola pa 1. Nato v modelu izrazimo vpliv te sočasne spremenljivke na parameter. V enačbah 12 in 13 TVCL predstavlja tipično vrednost parametra, v tem primeru ledvičnega očistka, v populaciji, θ_{CL} je vrednost parametra pri bolniku moškega spola, θ_{spol} pa ocena vpliva sočasne spremenljivke na parameter. Prva enačba podaja linearno zvezo med parametrom in sočasno spremenljivko, druga enačba pa proporcionalno zvezo. V modelu se to izrazi kot povečanje ali zmanjšanje ledvičnega očistka, če je bolnik ženskega spola, odvisno od vrednosti θ_{spol} .

$$TVCL = \theta_{CL} + \theta_{spol} \times spol \quad \text{Enačba 12}$$

$$TVCL = \theta_{CL} \times \theta_{spol}^{spol} \quad \text{Enačba 13}$$

Zvezne sočasne spremenljivke lahko zavzamejo več vrednosti. Enostaven primer je vpliv kreatininskega očistka na ledvični očistek učinkovine. Predpostavimo, da je odnos med sočasno spremenljivko in parametrom linearen. Enačbo lahko nato zapišemo kot:

$$TVCL = \theta_{CL} + \theta_{CL_{Cr}} \times (CL_{Cr} - \text{mediana } CL_{Cr}) \quad \text{Enačba 14}$$

θ_{CL} predstavlja vrednost ledvičnega očistka pri bolniku, katerega kreatininski očistek se ne razlikuje od mediane, $\theta_{CL_{Cr}}$ pa predstavlja faktor, za katerega se spremeni vrednost parametra ob odstopanju kreatininskega očistka od mediane.

V nekaterih primerih, recimo, če imajo vrednosti sočasne spremenljivke velik razpon, nam linearni odnos med parametrom in sočasno spremenljivko razmerja ne opiše ustrezno. V takem primeru se lahko poslužimo nelinearnih opisov modela. Enačba 15 predstavlja potenčni model.

$$TVCL = \theta_{CL} \times \frac{CL_{cr}^{\theta_{CLcr}}}{\text{mediana } CL_{cr}} \quad \text{Enačba 15}$$

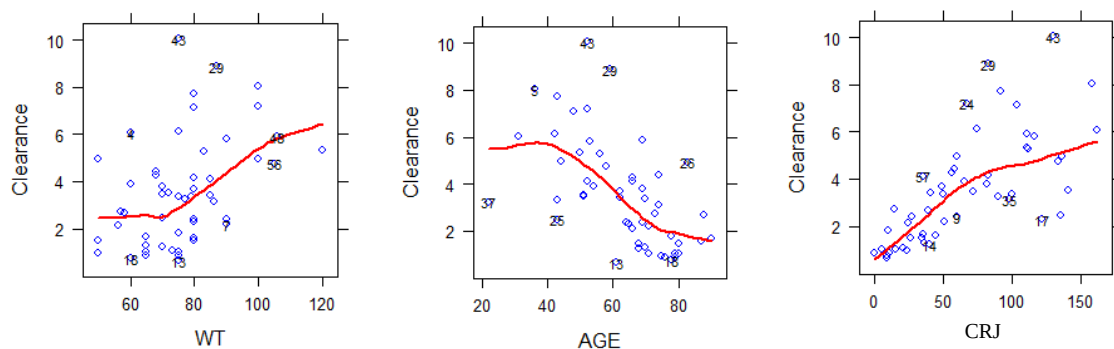
Tabela 1 podaja sočasne spremenljivke, ki smo jih vključevali v model in njihovo povezavo s parametri.

Tabela 1: Zapis vpliva sočasnih spremenljivk na parametre

Sočasna spremenljivka	Zapis vpliva
Spol (SX)	$TVCL = \theta_{CL} + \theta_{SX} \times SX$ $TVV = \theta_V + \theta_{SX} \times SX$
Starost nad 65 (AGEX=1, če je oseba starejša od 65)	$TVCL = \theta_{CL} + \theta_{AGEX} \times AGEX$ $TVV = \theta_V + \theta_{AGEX} \times AGEX$
Telesna teža (WT)	$TVCL = \theta_{CL} + \theta_{WT} \times (WT - 80)$ $TVV = \theta_V + \theta_{WT} \times (WT - 80)$
Starost (AGE)	$TVCL = \theta_{CL} + \theta_{AGE} \times (AGE - 55)$ $TVV = \theta_V + \theta_{AGE} \times (AGE - 55)$
Kreatininski očistek, izračunan po metodi Cockcroft-Gault (CRC)	$TVCL = \theta_{CL} + \theta_{CRC} \times (CRC - 110)$ $TVV = \theta_V + \theta_{CRC} \times (CRC - 110)$
Kreatininski očistek, izračunan po metodi Jelliffe (CRJ)	$TVCL = \theta_{CL} + \theta_{CRJ} \times (CRJ - 110)$ $TVV = \theta_V + \theta_{CRJ} \times (CRJ - 110)$

Izračun kreatininskega očistka po metodi Jelliffe nam poda vrednost kreatininskega očistka na sredini intervala med dvema meritvama serumskega kreatinina, zato smo rezultate interpolirali za čase, pri katerih so potekale meritve serumskega kreatinina.

Sočasno spremenljivko AGEX smo določili s testiranjem vpliva na očistek in volumen porazdelitve. V osnovnem modelu smo preverili vpliv AGEX, če je oseba starejša od 55 let, 65 let ali 75 let. OFV se je pri vključitvi starosti nad 55 let oz. nad 75 let le neznatno zmanjšala, zato smo se odločili v model vključiti vpliv starosti nad 65 let. Mediano zveznih sočasnih spremenljivk smo ocenili iz diagnostičnih diagramov spreminjanja parametrov v odvisnosti od sočasnih spremenljivk WT in AGE, mediano CRJ pa smo določili iz referenčnih vrednosti za kreatininski očistek. Spreminjanje očistka v odvisnosti od teh spremenljivk je prikazano na sliki 12.



Slika 12: Spreminjanje očistka v odvisnosti od teže (levo), starosti (sredina), kreatininskega očistka (desno)

Vsako izmed zgoraj naštetih sočasnih spremenljivk smo dodajali osnovnemu modelu posamično. Primerjali smo znižanje OFV modela z dodano sočasno spremenljivko v primerjavi z osnovnim modelom. V prvem koraku smo v model vključili spremenljivko, ki je najbolj znižala vrednost objektivne funkcije. V vsakem naslednjem koraku smo nato vključevali nove sočasne spremenljivke in primerjali z novim osnovnim modelom, ki je že vseboval sočasno spremenljivko, ki smo jo dodali v prejšnjem koraku. Ta postopek smo nadaljevali toliko časa, dokler vključitev nobene od sočasnih spremenljivk v model ni več znižala OFV za 3,84. Z vsako sočasno spremenljivko smo opisali vpliv na ledvični očistek in volumen porazdelitve.

S tem postopkom smo dobili polni model, iz katerega smo potem postopno, vsako posebej, odstranjevali sočasne spremenljivke in opazovali, kako to vpliva na vrednost objektivne funkcije. Vsako odstranjeno sočasno spremenljivko, ki je povzročila zvišanje OFV za več kot 6,63, kar ustreza stopnji tveganja $p < 0,01$, smo vrnili nazaj v model. Če je bilo ob izločitvi zvišanje neznačilno, smo sočasno spremenljivko izločili iz modela. Pri redukciji modela smo upoštevali strožjo mejo tveganja zaradi multiplih primerjav. V modelu so tako ostale samo sočasne spremenljivke, ki so imele znaten vpliv na parametre.

Pri vključevanju in izločanju sočasnih spremenljivk smo ocenili tudi ujemanje napovedanih vrednosti z izmerjenimi vrednostmi z diagrami, ki nam jih je izrisal program. Ocenili smo tudi zmanjšanje IIV ter standardne napake parametrov, sočasnih spremenljivk in rezidualov. Premislili smo tudi biološko smiselno povezavo med parametrom in sočasno spremenljivko.

Po izvedbi vseh zgoraj naštetih korakov smo dobili končni model, ki je vseboval samo sočasne spremenljivke, ki značilno vplivajo na FK parametre učinkovine.

3.4 Metoda ponovljenega vzorčenja "bootstrap"

Točnost in natančnost določitve vrednosti parametrov in sočasnih spremenljivk v končnem modelu smo določili z metodo ponovljenega vzorčenja "bootstrap". Izvede se tako, da iz našega vzorca, za katerega predpostavljamo, da je reprezentativen za populacijo, naključno vzorčimo enako število posameznikov, kot jih zajema. Tako generiramo večje število novih vzorcev, na katerih s programom NONMEM ponovno izvedemo določitve parametrov in sočasnih spremenljivk. Nato za vse na novo določene parametre in sočasne spremenljivke ter ocene napak izračunamo srednje vrednosti, intervale zaupanja in ostale statistične pokazatelje, ki nas zanimajo. Intervali zaupanja, določeni z metodo "bootstrap", se razlikujejo od vrednosti, ki jih dobimo z analizo modela NONMEM. V primeru, da po izvedbi metode vsebujejo tudi vrednost nič, ponovno ocenimo njihovo ustreznost in jih še naknadno izločimo iz modela (30).

3.5 Časovno spremenljive sočasne spremenljivke

Časovno spremenljive sočasne spremenljivke so tiste, ki se tekom študije oz. zdravljenja lahko hitro in signifikantno spreminjajo. Čeprav imajo običajno vpliv na dolgoročne študije, lahko igrajo vlogo tudi v kratkoročnih študijah. Pomembne so predvsem pri bolnikih na intenzivni negi in bolnikih s presajenimi organi, pri katerih se lahko ledvična funkcija hitro spreminja, ter novorojenčkah, pri katerih se poleg ledvične funkcije hitro spreminjata tudi teža ali starost (38).

Eden glavnih ciljev PFK modeliranja je identifikacija povezav med FK parametri in sočasnimi spremenljivkami. Raziskovalci, ki se ukvarjajo z modeliranjem, običajno ne razlikujejo med časovno nespremenljivimi in časovno spremenljivimi sočasnimi spremenljivkami. V zapisu modela to pomeni, da ima sprememba določene sočasne spremenljivke enak vpliv med bolniki – interindividualna variabilnost – kot znotraj vsakega bolnika – intraindividualna variabilnost (38).

3.6 Simulacija Monte Carlo

MCS smo izvedli s programom NONMEM. Uporabili smo PFK model, razvit v okviru te naloge. V zasnovi simulacije smo predpisali srednje vrednosti in variance parametrov očistka in volumna vankomicina iz FK modela, srednjo vrednost in koeficient variabilnosti kreatininskega očistka pa smo povzeli iz specialistične naloge Jureta Bračuna. Za vse

parametre smo predpostavili, da se porazdeljujejo logaritemsko normalno s srednjimi vrednostmi in koeficienti variabilnosti (CV), kot prikazuje tabela 2 (39).

Tabela 2: Vrednosti in porazdelitve parametrov

	Srednja vrednost	CV (%)
Očistek vankomicina	5,43 L/h	32,9
Volumen porazdelitve vankomicina	84,0 L	35,5
Kreatininski očistek	74,1 mL/min	79,4
Kovarianca (CL-V)		0,70*

*koeficient korelacije

Z osnovno tabelo (del tabele je v prilogi 3) in ukaznim nizom (priloga 4) smo ustvarili 10000 oseb, katerim smo glede na kreatininski očistek določili režim odmerjanja vankomicina skladno z nomogramom (slika 4). Očistek kreatinina (mL/min) smo zaokrožili na desetice in prilagodili odmerke vankomicina, kot je podano v tabeli 3.

Tabela 3: Dnevni odmerek vankomicina v odvisnosti od kreatininskega očistka

Kreatininski očistek (mL/min)	Dnevni odmerek vankomicina (mg)
10	155
20	310
30	465
40	620
50	770
60	925
70	1080
80	1235
90	1390
100	1545
110	1700
120	1855
130	2010
140	2165

Vrednost AUC_{24} smo izračunali z enačbo 16, pri čemer D_V označuje odmerek vankomicina, τ je odmerni interval, Cl_V pa očistek vankomicina, s 24 pa množimo, da dobimo vrednost AUC za 24 ur (40).

$$AUC_{24} = \frac{D_V}{\tau \times Cl_V} \times 24$$

Enačba 16

Z urejevalnikom Microsoft Office Excel smo ustvarili preglednico vrednosti AUC_{24}/MIC za vsak osebek vzorca in vsako vrednost MIC. Porazdelitve MIC smo pridobili na spletni strani EUCAST. Za vsak vpis v preglednici smo preverili, če dosega referenčne vrednosti, in izrazili delež bolnikov, ki te vrednosti dosega. Ta pokazatelj se imenuje PTA (probability of target attainment).

Analizirali smo porazdelitve MIC petih patogenov, ki so bili najpogostejši povzročitelji okužb v vzorcu bolnikov, ki smo ga analizirali:

- *Enterococcus faecalis*
- *Enterococcus faecium*
- *Staphylococcus aureus*
- MRSA
- *Staphylococcus epidermidis*

Izračunali smo tudi CFR (cumulative fraction of response), ki nam poda verjetnost, da dosežemo ustrezen FD indeks z definiranim odmerjanjem zdravila in specifično populacijo mikroorganizmov. Ključne vrednosti AUC_{24}/MIC smo povzeli po raziskavi skupine Brown, et al., ki navajajo 400 kot vrednost za uspešno zdravljenje ter 211 kot vrednost, pri kateri je smrtnosti štirikrat nižja kot pod to vrednostjo (8,41).

4 Rezultati

4.1 Podatki o bolnikih

Obravnavali smo 40 bolnikov moškega spola in 16 bolnic ženskega spola. Analiziranih je bilo 307 plazemskih vzorcev za učinkovino in 657 urinskih vzorcev za kreatinin. Od 56 bolnikov, katerih podatke smo analizirali, smo imeli dostop do izida zdravljenja pri 24 bolnikih. Analizirali smo demografske podatke bolnikov. Rezultate prikazuje tabela 4.

Tabela 4: Demografski podatki bolnikov, vključenih v raziskavo

	Moški	Ženske
Starost	22–87 let (povp. 59 let)	48–90 let (povp. 70 let)
Telesna teža	50–120 kg (povp. 80 kg)	50–83 kg (povp. 67 kg)
Višina	160–197 cm (povp. 176 cm)	150–167 cm (povp. 161 cm)
Idealna telesna teža	57–91 kg (povp. 71 kg)	43–58 kg (povp. 53 kg)
Prilagojena telesna teža	64–103 kg (povp. 77 kg)	46–67 kg (povp. 59 kg)

Pri 12 bolnikih je prišlo do izboljšanja, pri štirih se je po zaključku opazovanja terapija nadaljevala, 8 bolnikov je umrlo. Podatkov za druge bolnike nismo pridobili.

Najpogostejša okužba je bila z bakterijo *Staphylococcus epidermidis*, nekaj manj pa je bilo zabeleženih primerov okužbe z *Enterococcus faecalis* in *faecium*, ter *Staphylococcus aureus* ter MRSA. Tabela 5 prikazuje število pozitivnih kultur različnih bakterij, izoliranih iz teles bolnikov.

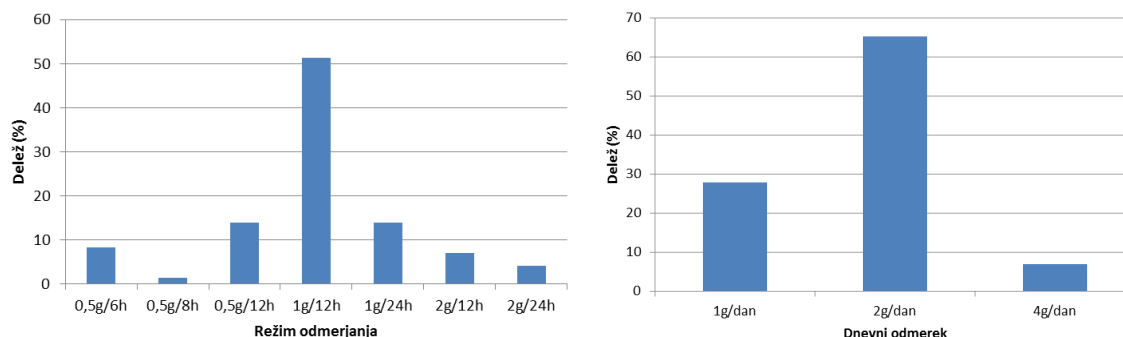
Tabela 5: Število primerov okužbe z bakterijami

Bakterija	Št. primerov
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	12
<i>Enterococcus faecalis</i>	6
<i>Enterococcus faecium</i>	5
<i>Staphylococcus aureus</i>	4
MRSA	2

Podatki obsegajo kulture, izolirane iz 24 pacientov.

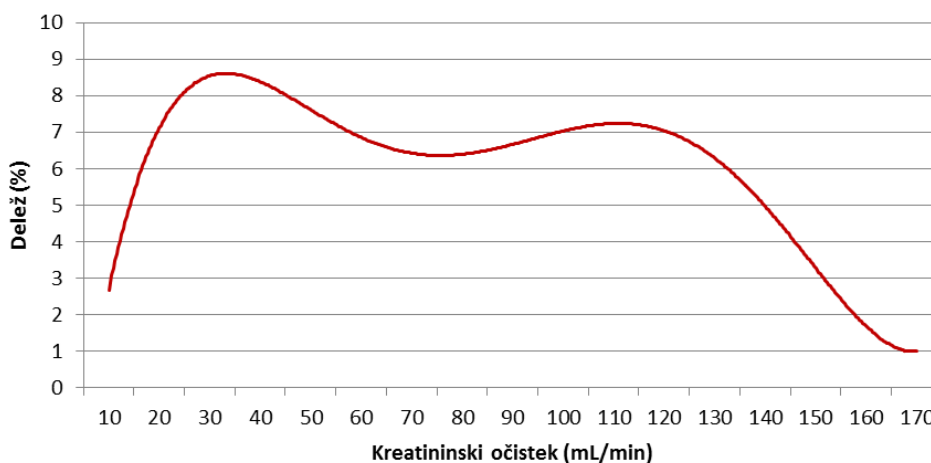
Najpogostejši režimi odmerjanja so prikazani na sliki 13. Najpogosteje se je vankomicin apliciral v odmerku 1 g na 12 ur, medtem ko so se vsi drugi režimi uporabljali v največ

10 % primerov. Skladno z najpogostejšim režimom odmerjanja je bil tudi dnevni odmerek v večini primerov 2 g.



Slika 13: Pogostost režimov odmerjanja (levo) in dnevnih odmerkov (desno)

Slika 14 prikazuje porazdelitev vseh izračunanih vrednosti kreatininskega očistka. V večini primerov je pod 110 mL/min, za katero se smatra, da je normalna vrednost pri zdravem človeku.



Slika 14: Porazdelitev vrednosti kreatininskega očistka

4.2 Razvoj populacijskega farmakokinetičnega modela

Za osnovni farmakokinetični model smo si izbrali enoprostorski model ADVAN1/TRANS2 iz zbirke modelov PREDPP, kjer ADVAN1 pomeni enoprostorski model, TRANS2 pa parametra očistek vankomicina (θ_{CL}) in volumen porazdelitve vankomicina (θ_V), ki ga definirata. Osnovni enačbi modela sta zapisani z enačbama 17 in 18, kjer je η slučajna razlika ocene parametra pri posamezniku od tipične vrednosti parametra v populaciji.

$$CL = \theta_{CL} \times e^{\eta_{CL}}$$

Enačba 17

$$V = \theta_V \times e^{\eta_V}$$

Enačba 18

Za aproksimacijsko metodo smo izbrali metodo FOCE INTER. IIV parametrov smo opisali z eksponentnim modelom napake (ω_{CL} – IIV (CV %) očiščka, ω_V – IIV (CV %) volumna porazdelitve). Za opis rezidualne intraindividualne napake smo preverili, kateri tip napake, aditivni (θ_{WA}) ali proporcionalni (θ_{WP}), je primernejši za opis modela. Odločili smo se za kombinacijo obeh, ker je najbolj ustrezala vsem kriterijem, ki smo si jih postavili za ocenjevanje ustreznosti modela.

Ocenili smo tudi krčenje IIV volumna porazdelitve. Zaradi visoke vrednosti krčenja in širokega intervala zaupanja, ki vsebuje tudi vrednost nič, smo preizkusili, ali lahko z uvedbo korelacije med parametroma CL in V to popravimo. Ocena koeficienta korelacije med očiščkom in volumnom porazdelitve je bila 0,59, interval zaupanja korelacije pa vsebuje ničlo. Na podlagi teh rezultatov smo se odločili, da v osnovnem modelu korelacije ne upoštevamo. Ker nismo uspeli izboljšati krčenja IIV volumna porazdelitve, je v modelu nismo ocenjevali. Rezultati analize NONMEM so zbrani v tabeli 6.

Tabela 6: Vrednosti parametrov osnovnega modela s korelacijo IIV

OFV=1213,7	Ocena	RSE (%)	95-% interval zaupanja	Krčenje (%)
Stalni učinki				
θ_{CL} (L/h)	3,05	11,0	2,39–3,70	/
θ_V (L)	88,6	10,9	69,6–107,6	/
Interindividualna variabilnost				
ω_{CL} (%)	89,7	16,6	70,1–109,1	4,8
ω_V (%)	31,7	53,9	0–47,5	33,8
*Korelacija CL-V	0,59	57,3	-0,008–0,290	/
Rezidualna napaka				
θ_{WA} ($\mu\text{mol/L}$)	0,69	29,9	0,29–1,09	-11,5
θ_{WP} (%)	26,7	10,3	21,3–32,1	

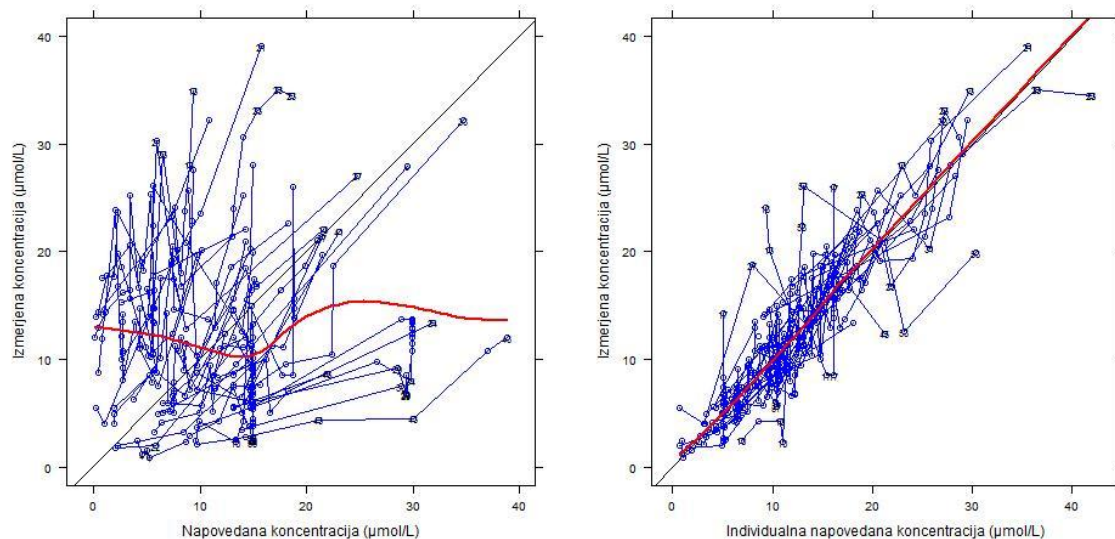
* podana je ocena koeficienta korelacije in RSE ter interval zaupanja kovariance

Ocene parametrov osnovnega modela za vključevanje sočasnih spremenljivk so prikazane v tabeli 7.

Tabela 7: Vrednosti parametrov osnovnega modela

OFV=1184,4	Ocena	RSE (%)	95-% interval zaupanja	Krčenje (%)
Stalni učinki				
θ_{CL} (L/h)	2,93	10,5	2,32–3,54	/
θ_V (L)	62,6	13,1	46,6–78,6	/
Interindividualna variabilnost				
ω_{CL} (%)	79,5	14,9	64,4–94,0	4,2
Rezidualna napaka				
θ_{Wa} ($\mu\text{mol/L}$)	1,43	46,1	0,14–2,72	-6,1
θ_{Wp} (%)	25,7	14,2	18,57–32,83	

Analizirali smo tudi diagrame, ki prikazujejo meritve v odvisnosti od populacijskih napovedi in individualnih napovedi. Slika 15 prikazuje odvisnost izmerjenih od populacijskih napovedanih koncentracij (levo) in odvisnost izmerjenih od individualnih napovedanih koncentracij (desno). Črna črta predstavlja premico $y=x$, in v obeh primerih želimo, da se točke prilegajo tej premici ali pa se vsaj enakomerno sipajo okoli te premice. Trend podatkov prikazuje rdeča črta.



Slika 15: Populacijske napovedi in meritve (levo) in individualne napovedi in meritve (desno) osnovnega modela

V definiran osnovni model smo nato s pomočjo programa NONMEM dodajali sočasne spremenljivke. Obravnavali smo vpliv spola (SX) in starosti nad 65 (AGEX, če je oseba starejša od 65 let, je vrednost AGEX 1) kot kategorični spremenljivki ter telesno težo

(WT), starost (AGE) in očistek kreatinina, izračunan z metodo po Cockroft-Gaultu (CRC) ter z metodo po Jelliffu (CRJ).

Kot prvo sočasno spremenljivko smo vključili vpliv kreatininskega očistka, izračunanega po metodi Jelliffe, na ledvični očistek (CRJCL). V primerjavi z vplivom kreatininskega očistka, izračunanega po metodi Cockroft-Gault, je uporabljena metoda značilno bolje opisala razmerje med spreminjanjem kreatininskega očistka in ledvičnim očiščkom. Pričakovano se je ledvični očistek povečal, čim je kreatininski očistek narastel preko mediane.

Ob uvajanju nadaljnjih sočasnih spremenljivk v model smo opazili, da se je interval zaupanja za aditivno in proporcionalno napako razširil toliko, da je vseboval tudi vrednost 0. V nadaljnjem razvoju modela smo zato definirali samo aditivno napako, proporcionalno pa smo izključili, s čimer smo zmanjšali relativno standardno napako ocene aditivne napake na sprejemljivo vrednost. Ocene parametrov povzema tabela 8.

Tabela 8: Vrednosti parametrov modela z vključeno prvo sočasno spremenljivko CRJCL brez ocenjevanja proporcionalne napake

OFV=1048,6	Ocena	RSE (%)	95-% interval zaupanja	Krčenje (%)
Stalni učinki				
θ_{CL} (L/h)	5,33	6,5	4,65–6,01	/
θ_V (L)	69,3	8,8	57,4–81,2	/
θ_{CRJCL}	0,045	8,9	0,037–0,053	/
Interindividualna variabilnost				
ω_{CL} (%)	29,3	20,9	22,3–35,1	11,5
Rezidualna napaka				
θ_{Wa} (μ mol/L)	3,01	8,5	2,51–3,51	-14,2

Z uvedbo prve sočasne spremenljivke smo pojasnili veliko IIV v ledvičnem očiščku vankomicina, saj se je ocena le-te zmanjšala iz 79,5 % na 29,3 %.

V strukturni model smo nato dodali še 3 sočasne spremenljivke, ki so izkazovale statistično značilno znižanje OFV: vpliv starosti nad 65 let na volumen porazdelitve (AGEXV), vpliv telesne teže na volumen porazdelitve (WTV) ter vpliv očistka kreatinina po Jelliffu na volumen porazdelitve (CRJV). Z vključitvijo vseh statistično signifikantnih sočasnih spremenljivk smo dobili polni model. Ledvični očistek in volumen porazdelitve vankomicina sta bila izražena na način, kot prikazujeta enačbi 19 in 20.

$$TVCL = \theta_{CL} + 0,047 \times (CRJ - 110)$$

Enačba 19

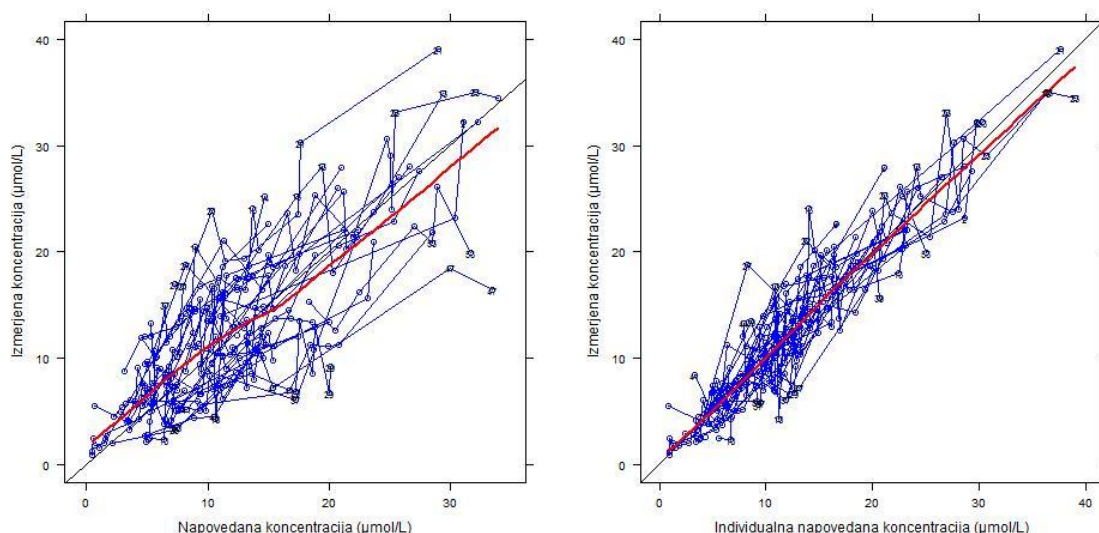
$$TVV = \theta_V + 35,4 \times AGEX + 0,672 \times (WT - 80) + 0,295 \times (CRJ - 110)$$

Enačba 20

V polnem modelu je izražen vpliv štirih sočasnih spremenljivk. Na ledvični očistek vpliva očistek kreatinina, izračunan z metodo po Jelliffu; ledvični očistek se spremeni za 0,047 L/h, za vsak mL razlike kreatininskega očistka od vrednosti 110 mL/min. Na volumen porazdelitve vankomicina vplivajo tri sočasne spremenljivke:

- če je oseba stara nad 65 let, se volumen porazdelitve poveča za 35,4 L,
- za vsak kg deviacije od mediane 80 kg se volumen porazdelitve spremeni za 0,672 L,
- za vsak mL razlike kreatininskega očistka od vrednosti 110 mL/min se spremeni tudi volumen porazdelitve za 0,295 L.

Vrednost objektivne funkcije se je z vnosom štirih sočasnih spremenljivk v model znižala iz 11184,4 na 1019,7, izboljšalo se je ujemanje populacijskih napovedi z meritvami. Slika 16 kaže rahel trend precenjevanja napovedanih vrednosti.



Slika 16: Populacijske napovedi in meritve (levo) in individualne napovedi in meritve (desno) polnega modela

Pri vseh sočasnih spremenljivkah, ki vplivajo na volumen porazdelitve, smo dobili tudi zelo široke intervalne ocene, predvsem pri vplivu telesne teže, ki vsebuje tudi vrednost nič. Ker nismo ocenjevali IIV volumna porazdelitve, smo lahko ovrednotili pomembnost teh sočasnih spremenljivk samo z znižanjem OFV in diagramom sovpadanja napovedanih vrednosti z dejanskimi. Ocene parametrov polnega modela podaja tabela 9.

Tabela 9: Vrednosti parametrov polnega modela

OFV=1019,7	Ocena	RSE (%)	95-% interval zaupanja	Krčenje (%)
Stalni učinki				
θ_{CL} (L/h)	5,44	7,2	4,68–6,20	/
θ_V (L)	78,0	16,8	52,3–103,7	/
θ_{CRJCL}	0,047	9,7	0,038–0,056	/
θ_{AGEXV}	35,4	27,1	16,6–54,2	/
θ_{WTV}	0,672	67,6	-0,218–1,562	/
θ_{CRJV}	0,295	47,1	0,023–0,567	/
Interindividualna variabilnost				
ω_{CL} (%)	29,3	21,8	22,0–35,3	11,8
Rezidualna napaka				
θ_{Wa} ($\mu\text{mol/L}$)	2,87	6,2	2,52–3,22	-16,6

Vpliv vsake sočasne spremenljivke smo preverili še z redukcijo modela. Z odvzemom vpliva telesne teže na volumen porazdelitve vankomicina se OFV modela ni signifikantno povečala, obenem pa je interval zaupanja za to sočasno spremenljivko v polnem modelu vseboval vrednost nič, zato smo jo odstranili iz modela. Odvzem ostalih sočasnih spremenljivk iz modela je povzročilo signifikantno povečanje OFV, zato smo jih v modelu obdržali.

Zaradi širokih intervalov zaupanja za sočasni spremenljivki AGEXV in CRJV in visokega krčenja rezidualne napake smo poizkusili v model ponovno uvesti proporcionalno napako, kar se je izkazalo za smiselno. Ocenjevanje parametrov je postalo natančnejše, prav tako se je zmanjšalo tudi krčenje IIV očistka in rezidualne napake. Razširil se je le interval zaupanja aditivne napake, ki pa je ostal v sprejemljivih mejah.

4.3 Validacija končnega modela

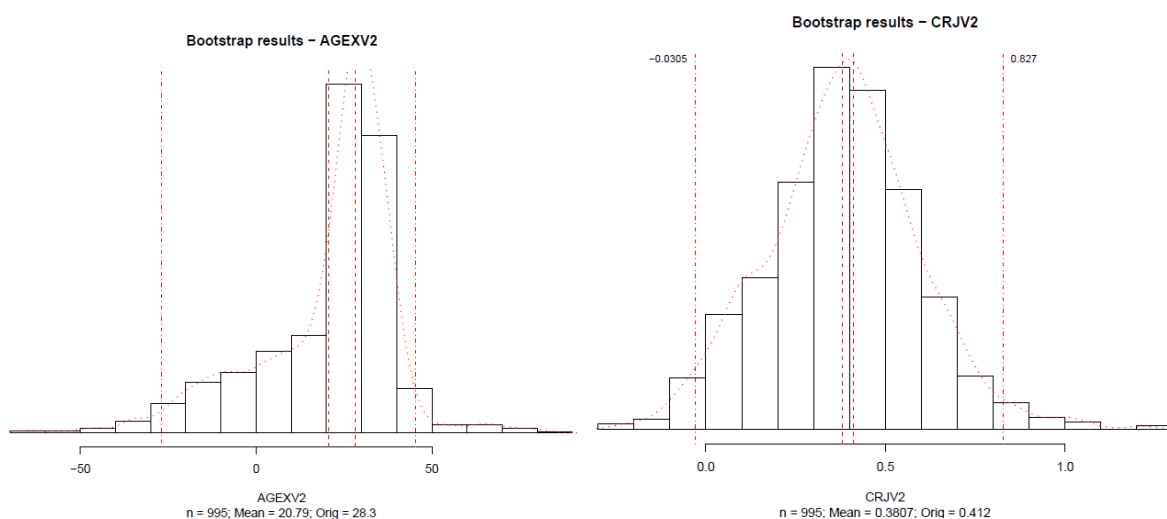
Izdelan farmakokinetični model smo testirali z metodo "bootstrap". Analiza rezultatov, ki jo prikazuje tabela 10, je za sočasni spremenljivki AGEXV ter CRJV pokazala, da je relativna standardna napaka večja, kot smo jo ocenili z analizo modela, intervalna ocena obeh vsebuje vrednost nič.

Tabela 10: Vrednosti parametrov NONMEM in analize "bootstrap" reduciranega modela

Analiza NONMEM				Analiza "bootstrap"		
	Ocena	RSE (%)	Krčenje (%)	Povp. ocena	Bias	95% IZ*
Stalni učinki						
θ_{CL} (L/h)	5,32	7,3	/	5,37	0,05	4,55–6,17
θ_V (L)	81,3	17,2	/	87,4	6,1	61,3–129
θ_{CRJCL}	0,045	10,1	/	0,045	0,0	0,034–0,054
θ_{AGEXV}	28,3	23,4	/	20,8	-7,5	-27,0–45,7
θ_{CRJV}	0,412	34,7	/	0,381	-0,031	-0,031–0,836
Interindividualna variabilnost						
ω_{CL} (%)	29,8	22,5	9,8	30,5	0,7	23,3–40,2
Rezidualna napaka						
θ_{Wa} ($\mu\text{mol/L}$)	1,67	43,5	-13,7	1,59	0,08	0,53–2,83
θ_{Wp} (%)	18,3	26,1		17,1	-1,2	7,4–24,6

* 95-% neparametrični interval zaupanja iz porazdelitve ocen analize "bootstrap"

Porazdelitev vrednosti θ_{AGEXV} in θ_{AGEXV} nam pokaže (slika 17), da parametra zajemata tako pozitivne kot negativne vrednosti, zato ju ne moremo ocenjevati. Iz modela smo odstranili ti dve sočasni spremenljivki.



Slika 17: Porazdelitev vrednosti θ_{AGEXV} (levo) in θ_{CRJV} (desno) glede na analizo "bootstrap"

Ker je v modelu ostala samo sočasna spremenljivka CRJCL, smo se odločili, da zopet uvedemo tudi ocenjevanje IIV volumna porazdelitve ter kovariance očistka in volumna porazdelitve, kar je povzročilo znižanje OFV na 994,1. Ocene parametrov in sočasnih spremenljivk se niso bistveno spremenile, le krčenje rezidualne napake se s prejšnjih -10,7 % poveča na -15,2%. Na končnem modelu smo izvedli tudi analizo "bootstrap".

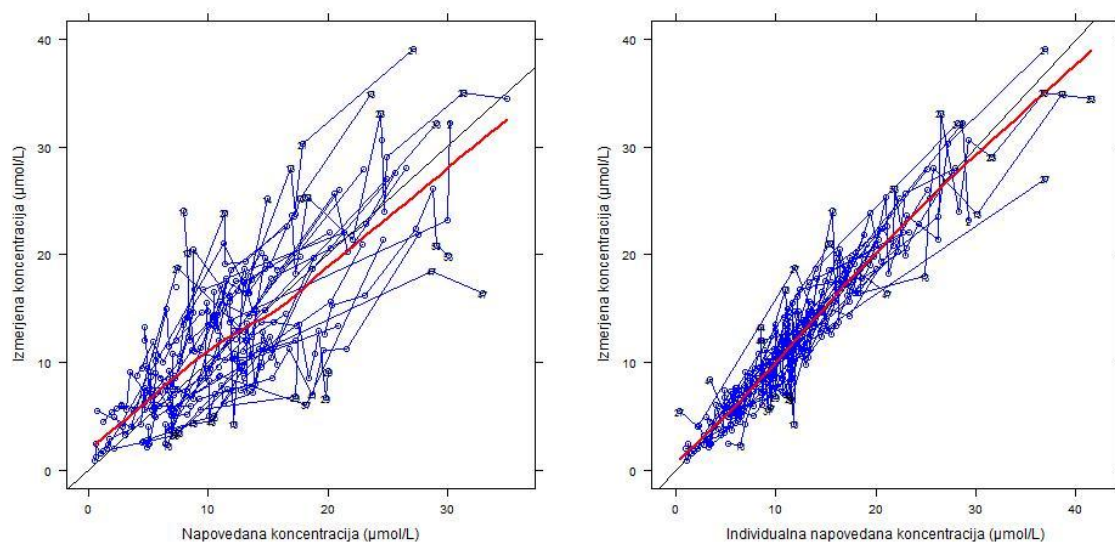
Iz tabele 11 lahko razberemo, da končni model dobro ocenjuje oba parametra in vpliv sočasne spremenljivke. IIV ledvičnega očistka dobro predstavlja porazdelitev v populaciji, medtem ko je IIV volumna porazdelitve manj reprezentativna, vendar še vedno v okviru sprejemljivih vrednosti. Model dobro ocenjuje tudi obe komponenti rezidualne napake.

Tabela 11: Vrednosti parametrov analize NONMEM in vrednosti parametrov analize "bootstrap" končnega modela

	Analiza NONMEM			Analiza "bootstrap"		
	Ocena	RSE (%)	Krčenje (%)	Povp. ocena	Bias	95% IZ*
Stalni učinki						
θ_{CL} (L/h)	5,43	6,3	/	5,44	0,01	4,76–6,11
θ_V (L)	84,0	10,3	/	85,1	1,1	69,5–104
θ_{CRJCL}	0,046	8,2	/	0,045	-0,001	0,034–0,054
Interindividualna variabilnost						
ω_{CL} (%)	32,9	19,8	9,9	32,9	0,0	25,3–41,2
ω_V (%)	35,5	43,4	28,6	34,1	-1,4	12,0–51,1
Korelacija CL-V	0,70	47,2	/	0,75	0,05	0,01–1,00
Rezidualna napaka						
θ_{Wa} ($\mu\text{mol/L}$)	1,58	28,4	-15,2	1,51	-0,07	0,55–2,56
θ_{Wp} (%)	17,0	17,0		16,8	-0,2	9,0–23,5

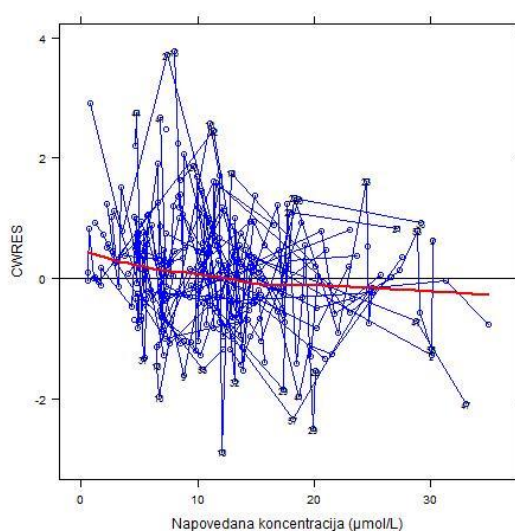
* pri analizi NONMEM je podana ocena koeficienta korelacije in RSE kovariance, pri analizi "bootstrap" pa ocena koeficienta korelacije in interval zaupanja koeficienta korelacije

Na sliki 18 na diagramih napovedanih in izmerjenih vrednosti opazimo preceenje rezidualne napake. Čeprav se na splošno trend odmika od premice enakosti $x=y$, okoli nje opazimo tesnejšo razporeditev točk.

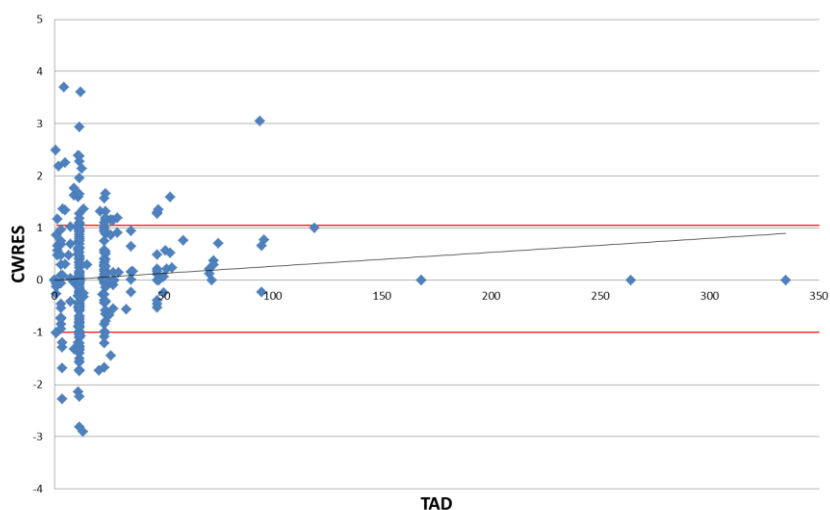


Slika 18: Populacijske napovedi in meritve (levo) in individualne napovedi in meritve (desno) končnega modela

Na diagramu uteženih rezidualov v odvisnosti od napovedane koncentracije, kar prikazuje slika 19, pa opazimo, da se rezultati enakomerno sipajo okoli abscisne osi. Opazen je tudi negativni trend, vendar ni toliko izražen, da bi značilno vplival na izračun napovedi. Izračunali smo tudi nov podatek, čas po odmerku (ang. *time after dose* TAD), s katerim smo primerjali rezidualne, kar kaže slika 20. Reziduali se enakomerno sipajo okoli abscise, če je čas po odmerku kratek. Zaključimo lahko, da končni model natančno napoveduje plazemske koncentracije vankomicina med zdravljenjem, po zadnjem odmerku se pa zanesljivost napovedanih vrednosti zmanjša. Rdeči črti predstavljata 95 % neparametrični interval zaupanja.



Slika 19: Pogojni uteženi reziduali v odvisnosti od napovedane koncentracije



Slika 20: Porazdelitev pogojnih uteženih rezidualov v odvisnosti od TAD

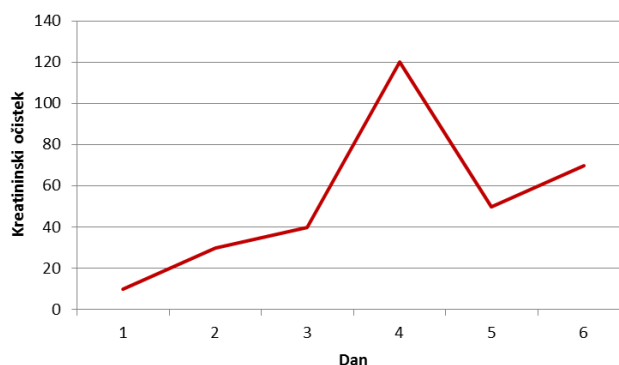
4.4 Vključitev časovno spremenljivih sočasnih spremenljivk

Kreatininski očistek ima velik vpliv na ledvični očistek vankomicina, zato smo preverili, ali ima ločitev intraindividualne od interindividualne variabilnosti vpliv na učinkovitost modela. Kreatininski očistek je bil med zdravljenjem pri večini oseb izmerjen vsaj dvakrat tedensko in se je precej spreminjal. Z drugačnim zapisom modela smo ločili vpliv enake spremembe očistka, če se je primerila pri posamezniku ali med dvema osebama. Pri vključevanju časovno odvisnih sočasnih spremenljivk v model smo se oprli na štiri različne načine modeliranja.

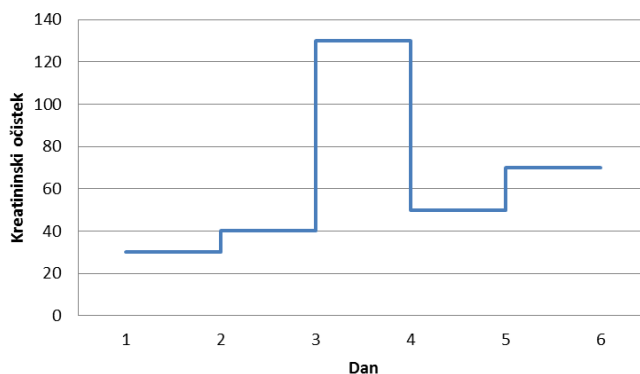
V prvem modelu smo uvedli ocenjevanje IIV sočasne spremenljivke CRJCL (ω_{CRJCL}). Preverili smo, ali ima kreatininski očistek enak vpliv med osebami. Predpostavili smo, da ima vrednost θ_{CRJCL} logaritemsko normalno porazdelitev v populaciji.

Model smo preizkusili v NONMEM-u in ugotovili, da ω_{CRJCL} konvergira proti vrednosti nič, kar pomeni, da nima pomembne vloge pri vplivu kreatininskega očistka na ledvični očistek. OFV se ni znižala, NONMEM pa ω_{CRJCL} ni implementiral v model, zato vrednosti parametrov nismo mogli oceniti.

V drugem tipu modela smo strukturo modela izrazili z diferencialnimi enačbami, da smo lahko linearno interpolirali spreminjanje očistka kreatinina. V delovanju programa se to odrazi tako, da izračuna naklon med dvema meritvama in integrira vsako posamezno vrednost, ki jo uporabi za ocenjevanje parametrov. Tako se vrednosti kreatininskega očistka med dvema meritvama interpolirajo (slika 21), v modelu iz PREDPP knjižnice pa program med dvema točkama računa z vrednostjo druge točke (slika 22). Vrednost objektivne funkcije se je značilno povežala, iz 994,1 na 999,4. Ocene parametrov so prikazane v tabeli 12.



Slika 21: Interpolacija kreatininskega očistka v modelu z diferencialnimi enačbami



Slika 22: Uporaba vrednosti kreatininskega očistka v modelu iz PREDPP knjižnice

Tabela 12: Vrednosti parametrov modela z interpolacijo očistka

OFV=999,4	Ocena	RSE (%)	Interval zaupanja	Krčenje (%)
Stalni učinki				
θ_{CL} (L/h)	5,43	6,2	4,77–6,09	/
θ_V (L)	85,6	10,8	67,5–103,7	/
θ_{CRJCL}	0,008	2,8	0,008–0,009	/
Interindividualna variabilnost				
ω_{CL} (%)	33,4	20,0	25,8–39,9	9,4
ω_V (%)	35,2	42,9	13,7–49,0	26,9
*Korelacija CL-V	0,73	46,8	0,01–0,16	/
Rezidualna napaka				
θ_{WA} ($\mu\text{mol/L}$)	1,45	35,5	0,44–2,46	15,1
θ_{WP} (%)	18,4	19,1	11,52–25,28	

* podana je ocena koeficienta korelacije in RSE ter interval zaupanja kovariance

V tretjem tipu modela smo časovno odvisnost sočasne spremenljivke CRJCL izrazili s spremembo v zapisu vpliva te spremenljivke na ledvični očistek. Zapis smo spremenili iz oblike, ki jo kaže enačba 21, v obliko, prikazano v enačbi 22. BCOV v tej enačbi pomeni osnovno vrednost sočasne spremenljivke, DCOV pa spremembo sočasne spremenljivke od osnovne vrednosti pri tej osebi za vsako časovno točko. CRJ je v tem primeru začetna vrednost kreatininskega očistka pri vsakem bolniku, DCRJ pa odstopanje od začetne vrednosti. Takšna oblika zapisa omogoča programu, da različno oceni pomembnost vpliva začetne vrednosti očistka kreatinina od spreminjanja med zdravljenjem.

$$CL = (\theta_{CL} + \theta_{CRJCL} \times (CRJ - 110)) \times e^{\eta_{CL}} \quad \text{Enačba 21}$$

$$CL = (\theta_{CL} + \theta_{BCOV} \times (CRJ - 110) + \theta_{DCOV} \times DCRJ) \times e^{\eta_{CL}} \quad \text{Enačba 22}$$

Pri testiranju te oblike modela smo ugotovili, da se vrednost objektivne funkcije zmanjša, vendar ne značilno. Prav tako se je izkazalo, da sta vrednosti vplivov BCOV in DCOV zelo podobni, 0,048 in 0,0424, kar pomeni, da ni velike razlike med inter- in intraindividualno variabilnostjo. Ocene parametrov prikazuje tabela 13.

Tabela 13: Vrednosti parametrov modela s časovno spremenljivimi sočasnimi spremenljivkami BCOV in DCOV

OFV=991,7	Ocena	RSE (%)	Interval zaupanja	Krčenje (%)
Stalni učinki				
θ_{CL} (L/h)	5,56	5,9	4,92–6,20	/
θ_V (L)	83,1	9,7	67,3–98,9	/
θ_{BCOV}	0,048	7,2	0,041–0,055	/
θ_{DCOV}	0,042	13,1	0,032–0,053	/
Interindividualna variabilnost				
ω_{CL} (%)	32,8	19,5	25,5–38,9	9,8
ω_V (%)	35,5	43,4	13,4–49,6	28,6
*Korelacija CL-V	0,70	45,1	0,01–0,15	/
Rezidualna napaka				
θ_{WA} ($\mu\text{mol/L}$)	1,53	29,3	0,65–2,41	15,3
θ_{WP} (%)	17,3	15,8	11,95–22,65	

* podana je ocena koeficienta korelacije in RSE ter interval zaupanja kovariance

Zapis četrtega modela je bil zelo podoben tretjemu, ocenjevali smo še IIV parametra θ_{DCOV} . V modelu se je zato spremenil zapis vpliva kreatininskega očistka na ledvični očistek, kot ponazarja enačba 23.

$$CL = (\theta_{CL} + \theta_{BCOV} \times (CRJ - 110) + \theta_{DCOV} \times e^{\eta_{DCOV}} \times DCRJ) \times e^{\eta_{CL}} \quad \text{Enačba 23}$$

Rezultat testiranja modela je znižanje OFV na 989,2, kar je statistično značilno znižanje, vendar je relativna standardna napake IIV θ_{DCOV} skoraj 100 %. Posledično to pomeni, da interval zaupanja vsebuje vrednost nič. Obenem je visoka tudi vrednost krčenja variance za parameter DCOV, kar pomeni, da je možnost ocenjevanja tega parametra zelo nizka. Ocene parametrov so prikazane v tabeli 14.

Tabela 14: Vrednosti parametrov modela s časovno spremenljivimi sočasnimi spremenljivkami BCOV in DCOV z oceno IIV DCOV

OFV=989,2	Ocena	RSE (%)	Interval zaupanja	Krčenje (%)
Stalni učinki				
θ_{CL} (L/h)	5,66	5,9	4,92–6,20	/
θ_V (L)	80,7	9,7	67,3–98,9	/
θ_{BCOV}	0,049	7,2	0,041–0,055	/
θ_{DCOV}	0,039	13,1	0,032–0,053	/
Interindividualna variabilnost				
ω_{CL} (%)	33,1	19,2	25,9–39,2	10,7
ω_V (%)	34,6	45,5	11,1–48,8	29,8
*Korelacija CL-V	0,69	46,9	0,01–0,14	/
ω_{DCOV} (%)	33,4	97,2	0–60,0	61,1
Rezidualna napaka				
θ_{WA} ($\mu\text{mol/L}$)	1,47	27,0	0,69–2,25	16,5
θ_{WP} (%)	16,8	13,8	12,25–21,35	

* podana je ocena koeficienta korelacije in RSE ter interval zaupanja kovariance

Nobena metoda vključevanja časovno spremenljivih sočasnih spremenljivk se ni izkazala za primerno, zato smo razvoj modela zaključili. Končni model predstavljata enačbi 24 in 25, zapis modela v jeziku Perl-speaks-NONMEM pa je prikazan v prilogi 2. Vrednosti parametrov modela so zajete v tabeli 8.

$$TVCL = (\theta_{CL} + 0,047 \times (CRJ - 110)) \times e^{\eta_{CL}} \quad \text{Enačba 24}$$

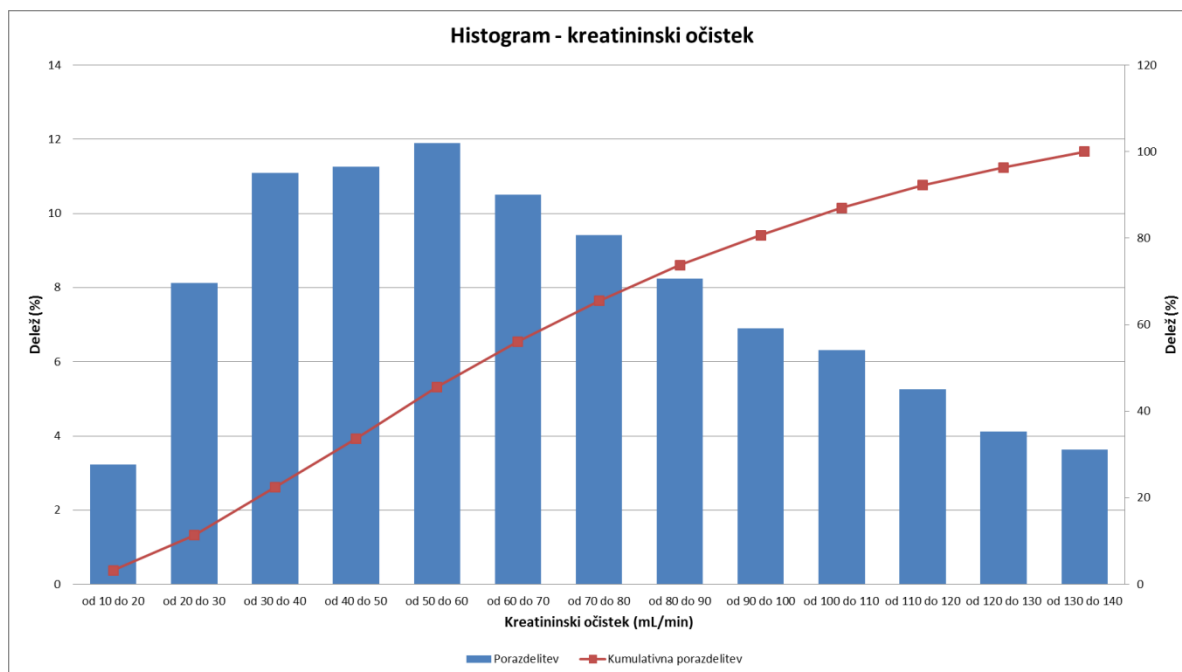
$$TVV = \theta_V \times e^{\eta_V} \quad \text{Enačba 25}$$

4.5 Simulacija Monte Carlo

Z izvedbo simulacije smo dobili vzorec 10000 bolnikov, za katere smo predpisali, kako naj se parametri porazdeljujejo. Iz slik 23 in 24 je razvidno, da se oba parametra porazdelujeta logaritemsko normalno. Razpon kreatininskega očistka smo zamejili od 10 mL/min do 140 mL/min, ker nas je zanimalo odmerjanje pri poslabšani ledvični funkciji. Srednja vrednost je zato nižja od predpisane. V tabeli 15 so prikazane ključne vrednosti ustvarjenega vzorca.

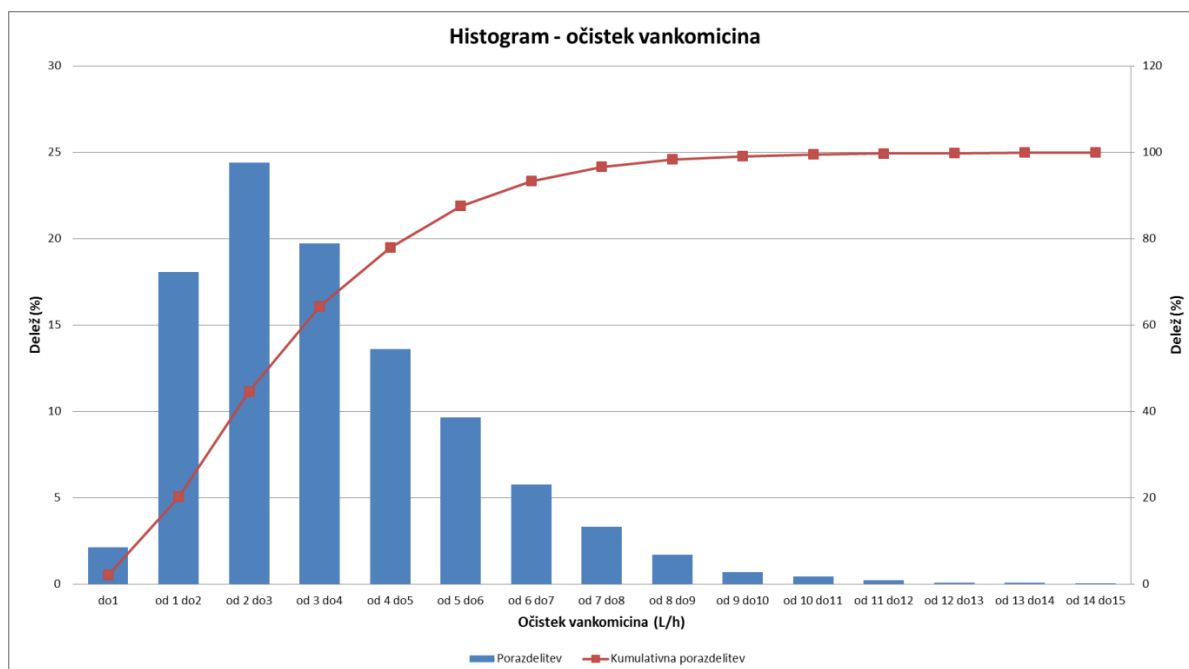
Tabela 15: Vrednosti parametrov vzorca, ustvarjenega z MCS, n=10000

	Kreatininski očistek (mL/min)	Očistek vankomicina (L/h)
Srednja vrednost	68,2	3,7
Mediana	63,9	3,2
Standardna deviacija	31,9	2,0
Razpon	10,03–139,99	0,5–14,8



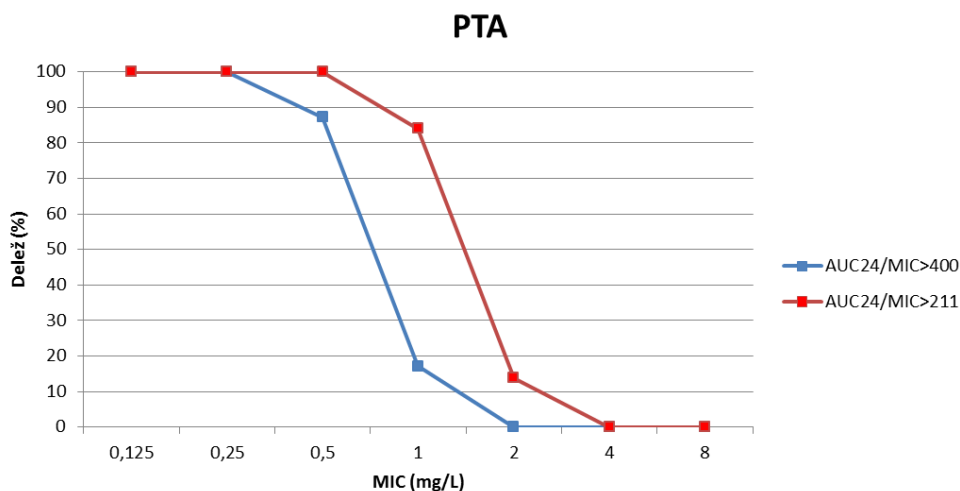
Slika 23: Porazdelitev (modri stolpci) in kumulativna porazdelitev (rdeča krivulja) kreatininskega očistka v vzorcu

Ledvični očistek vankomicina ima srednjo vrednost 3,7 L/h, kar je posledica nizkega kreatininskega očistka. Stanje ledvične funkcije smo osnovali na podatkih o bolnikih na intenzivni negi. Tudi ta parameter je logaritemsko normalno razporejen, kot smo predpisali (slika 24).



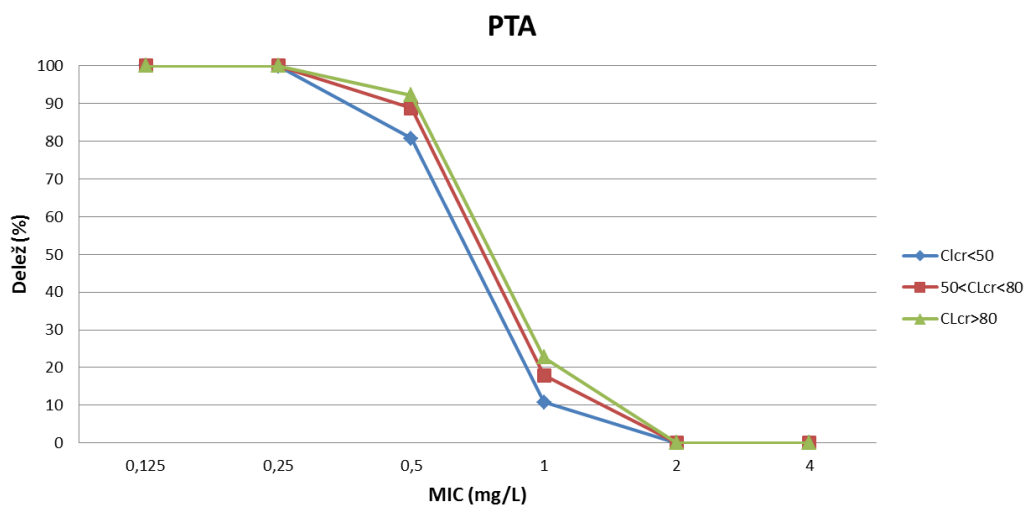
Slika 24: Porazdelitev (modri stolpci) in kumulativna porazdelitev (rdeča krivulja) ledvičnega očistka vankomicina v vzorcu

Iz preglednice vrednosti AUC_{24}/MIC smo ugotovili, da ob odmerku 2 g vankomicina na dan oz. prilagojeno na stanje ledvične funkcije, PTA za AUC_{24}/MIC nad 211 dosega 100 % in 87 % nad 400, če je MIC patogena 0,5 mg/L. Pri višjih MIC vrednostih se delež bolnikov, ki dosega ustrezne vrednosti AUC_{24}/MIC nad 400, drastično zniža, do 17 % in 0 %, nad 211 pa do 84 % in 14 % pri vrednostih MIC 1 in 2 mg/L (slika 25).



Slika 25: Delež bolnikov, ki dosega primerno vrednost AUC_{24}/MIC glede na MIC patogena

Bolnike smo razdelili na tri skupine glede na kreatinski očistek. Prva skupina bolnikov je štela 3371 oseb in je vsebovala bolnike s kreatininskim očistkom pod 50 mL/min. V drugi skupini je bilo 3181 bolnikov s kreatininskim očistkom 50-80 mL/min, v tretji pa 3448 bolnikov s kreatininskim očistkom nad 80 mL/min. Za vsako skupino smo izračunali PTA za AUC_{24}/MIC nad 400, kar je prikazano na sliki 26.

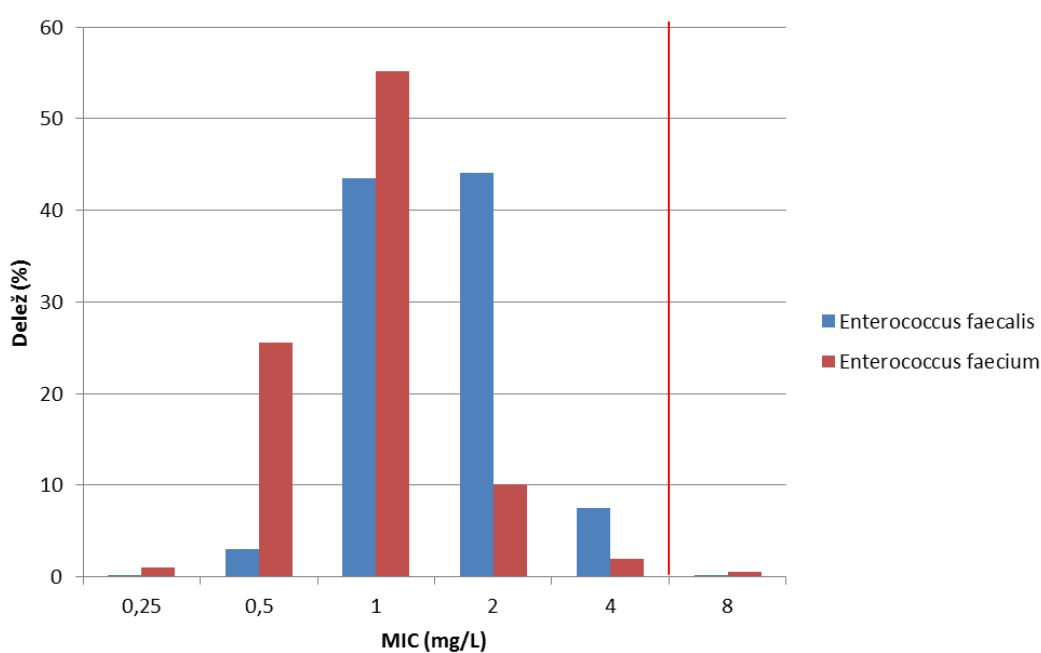


Slika 26: Deleži bolnikov glede na ledvično funkcijo, ki dosega vrednosti AUC_{24}/MIC nad 400 glede na MIC patogena

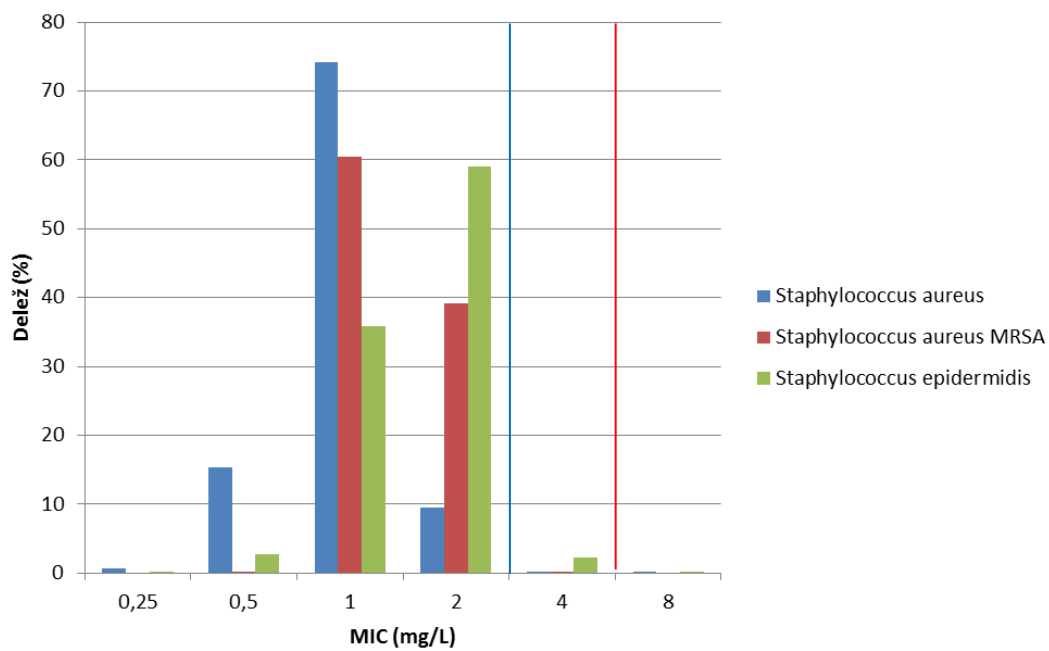
Tabela 16 nam podaja vrednosti CFR. Porazdelitev MIC nam prikazujeta sliki 27 in 28. Ob okužbi z *E. faecalis*, MRSA ali *S. epidermidis* CFR dosega vrednosti okoli 10 %, medtem ko je pri okužbah z *E. faecium* in *S. aureus* okoli 30 %.

Tabela 16: Delež bolnikov, ki dosega primerno vrednost AUC_{24}/MIC ob okužbi s specifičnim patogenom

Sev bakterij	$AUC_{24}/MIC > 211$	$AUC_{24}/MIC > 400$
<i>Enterococcus faecalis</i>	46 %	10 %
<i>Enterococcus faecium</i>	74 %	33 %
<i>Staphylococcus aureus</i>	80 %	27 %
MRSA	56 %	11 %
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	41 %	9 %



Slika 27: Porazdelitev MIC za *Enterococcus faecalis* in *faecium*. Rdeča črta označuje vrednost MIC odpornih bakterij (32)



Slika 28: Porazdelitev MIC za *Staphylococcus aureus*, MRSA in *epidermidis*. Rdeča črta označuje vrednost MIC odpornih sevov *Staphylococcus epidermidis*, modra pa *Staphylococcus aureus* in MRSA (32)

5 Razprava

Raziskali smo vpliv ledvične funkcije, starosti, spola in telesne teže na farmakokinetično-farmakodinamske lastnosti vankomicina. Zbrali smo podatke 56 bolnikov, ki so se zdravili na oddelkih intenzivne nege v Splošni bolnišnici Jesenice in UKC Maribor, iz diplom Barbare Koder in Maje Cvikel. Prav ti bolniki se ponavadi zdravijo z rezervnimi antibiotiki, med katere spada tudi vankomicin, največkrat zaradi bolnišničnih superinfekcij.

Podatke smo analizirali z metodo nelinearnih modelov mešanih učinkov s programom NONMEM. Za osnovni strukturni model smo si izbrali enoprostorski model, definiran z očistkom in volumnom porazdelitve vankomicina, ki je bil v okviru dostopnih podatkov najbolj smiseln. Večina vzorcev plazemskih koncentracij je bila odvzeta eno uro pred novim odmerkom. Tako smo imeli za analizo na voljo predvsem minimalne vrednosti vankomicina v krvi, kar je smiselno za nadzorovanje odmerjanja, za razvoj večprostorskega farmakokinetičnega modela pa ne zadostuje. Vir variabilnosti smo ločili na dva dela: interindividualno variabilnost očistka in volumna porazdelitve vankomicina smo opisali z eksponentnim modelom, rezidualno variabilnost pa s kombiniranim tipom napake, aditivnim in proporcionalnim. Eksponentni model za IIV je ob širokem razponu podatkov najprimernejši, prav tako kombinirani tip napake. Tako se pri nizkih vrednostih napovedi kot tudi pri visokih dobro izraža odstopanje napovedi od meritev. Med razvijanjem modela smo ugotovili, da je ocenjevanje IIV za volumen porazdelitve precej nezanesljivo. Manjko podatkov za maksimalne plazemske vrednosti vankomicina je najbrž vzrok za to, saj jih potrebujemo že za izračun osnovne vrednosti volumna porazdelitve.

Vpliv zveznih sočasnih spremenljivk smo v modelu zapisovali z linearnim odnosom do osnovnih parametrov. Vključili smo samo vpliv kreatininskega očistka na očistek vankomicina, druge sočasne spremenljivke, čeprav je OFV kazala na signifikantnost teh, pa smo izključili predvsem zaradi majhne natančnosti ocen teh vplivov. Kreatininski očistek smo izračunali z dvema metodama, Cockcroft-Gault in Jelliffe. Čeprav je prva po literarnih podatkih standard za ocenjevanje ledvične funkcije, je naš vzorec bolje opisala druga metoda. Ledvična funkcija je zelo odvisna od splošnega stanja organizma. V primeru hujših okužb je zaradi hitrega spreminjanja vitalnih funkcij lahko tudi nestabilna. Ker metoda Jelliffe upošteva pogosto spreminjanje koncentracije kreatinina v krvi, ni presenetljivo, da je na našem vzorcu naših bolnikov ustrežnejša. IIV očistka vankomicina

se je z vključitvijo vpliva kreatininskega očistka znižala iz 79,5 % na 29,3 %, torej ta lastnost dobro opiše razlike v ledvični funkciji med bolniki.

Zanimivo je, da pred vključitvijo AGEX v model druge sočasne spremenljivke niso izkazovale vpliva na volumen porazdelitve, z vključitvijo pa je njihov vpliv postal statistično signifikanten. Najverjetneje je to posledica dejstva, da je imela večina bolnikov, starejših od 65 let, v povprečju nižjo telesno težo in slabšo ledvično funkcijo. Z vključitvijo vpliva AGEX na volumen porazdelitve je model za boljše prileganje napovedi z meritvami moral kompenzirati z vplivi teže in kreatininskega očistka na volumen porazdelitve. Pri vključevanju sočasnih spremenljivk v model je torej pomembna kritična presoja, kako se te spreminjajo tudi druga z drugo. Ob neupoštevanju tega podatka nam lahko model sicer izkazuje boljšo verjetnost prileganja, dejansko pa nam ob uporabi za izračun poda pristranske vrednosti.

V nekaterih primerih nam ločena obravnava inter- in intraindividualne variabilnosti lahko razkrije povezave, ki jih z običajnim pristopom ne odkrijemo. Vsi pristopi, s katerimi smo poskusili vključiti časovno spremenljivost kreatininski očistek, so bili neuspešni. Analiza vpliva z linearno interpolacijo bi načeloma morala izkazovati boljše prileganje, a se to ni potrdilo. Morebiti je to posledica ročne priprave podatkov, s katerim smo že pred razvojem modela za vsako časovno točko v datoteki s podatki linearno interpolirali vse manjkajoče vrednosti.

Ločitev vpliva začetne vrednosti kreatininskega očistka od spreminjanja tekom zdravljenja se prav tako ni izkazalo za smotno. Ocení faktorjev, ki ocenjujeta moč teh povezav, sta bili blizu ($\theta_{BCOV}=0,048$, $\theta_{DCOV}=0,042$), 95% interval zaupanja pa se je prekrival. Z ocenjevanjem IIV parametra θ_{DCOV} se je razlika povečala ($\theta_{BCOV}=0,049$, $\theta_{DCOV}=0,039$), intervalni oceni pa sta se še vedno prekrivali. Krčenje ω_{DCOV} je potrdilo, da je ne moremo ocenjevati.

V končnem FK modelu smo določili srednjo vrednost očistka vankomicina 5,43 L/h z RSE 6,3 % in volumen porazdelitve 84,0 L z RSE 10,3 %, ocena vpliva očistka kreatinina na očistek vankomicina pa je 0,046 L/h, z RSE 8,2 %, za vsak mL razlike od vrednosti 110 mL/min. Vrednost volumna porazdelitve je ob upoštevanju povprečne teže bolnikov 1,05 L/kg, kar je višje od navedbe v literaturi (0,4-1,0 L/kg). Penetracija vankomicina v tkiva se ob okužbah poveča, kar je lahko razlog, da je izračunana vrednost višja (7). Ocenjevanje matrike varianca-kovarianca nam pokaže, da smo vpliv razlik med

posamezniki precej zmanjšali ($\omega_{CI}=32,9\%$, $RSE=19,8\%$; $\omega_V=35,5\%$, $RSE=43,4\%$) in da je spreminjanje teh razlik povezano ($r=0,70$). Diagnostični diagrami CWRES kažejo, da se reziduali enakomerno sipajo okoli abscise, diagrami napovedi in meritev pa dobro ujemanje. Model dobro napoveduje koncentracije v času rednega odmerjanja zdravila, ni pa zanesljiv pri prekinitvah zdravljenja za dalj časa.

Za analizo uspeha zdravljenja smo izbrali 5 sevov bakterij, ki so bile v največji meri prisotne v vzorcu bolnikov. S simulacijo Monte Carlo smo izvedli pregled uspešnosti zdravljenja s priporočenim režimom odmerjanja. PTA vrednosti pri MIC 0,5 mg/L so bile 100 % oz. 87 % za $AUC_{24}/MIC > 211$ oz. 400. Za odpornejše bakterije vrednosti strmo padajo, pri MIC 1 mg/L so 84 % in 17 %, pri MIC 2 mg/L pa 14 % in 0 %. Vrednosti PTA za AUC_{24}/MIC nad 400 smo izračunali tudi za skupine bolnikov z različnim kreatininskim očistkom. Bolniki s kreatininskim očistkom pod 50 mL/min so pri MIC 0,5 mg/L dosegli PTA 81 %, tisti s kreatininskim očistkom 50-80 mL/min 89 % in bolniki nad 80 mL/min 92 %. Pri MIC 1 mg/L se PTA vrednosti znižajo, za bolnike s slabšo ledvično funkcijo 11 %, srednjo 18 % in dobro 23 %.

Izračunali smo tudi faktor CFR, to je verjetnost, da je AUC_{24}/MIC večji od 211 oz. 400, glede na porazdelitev MIC v populaciji bakterij. Podatke smo pridobili iz spletne strani organizacije EUCAST (32). CFR pri $AUC_{24}/MIC > 400$ za seva bakterij, ki sta se najpogosteje pojavljala v vzorcu bolnikov je nizek, 10 % za *Enterococcus faecalis* ter 9 % za *Staphylococcus epidermidis*, za *Staphylococcus aureus* MRSA pa 11 %. Za *Enterococcus faecium* ter *Staphylococcus aureus* dosega vrednosti 33 % ter 27 %. CFR pri $AUC_{24}/MIC > 211$ so višji, za *Enterococcus faecalis* 36 %, *Staphylococcus epidermidis* 41 %, *Staphylococcus aureus* MRSA 56 %, *Enterococcus faecium* 74 % in *Staphylococcus aureus* 80 %. Rezultati kažejo na neustreznost priporočenega režima odmerjanja pri okužbi s trdovratnejšimi sevi, oz. neustrezno zmanjševanje dnevnega odmerka v odvisnosti od ledvične funkcije. Povprečje kreatininskega očistka je v simulirani populaciji nižje od povprečja vzorca, na katerem smo razvijali model. Če primerjamo izsledke z raziskavo Jureta Bračuna, ugotovimo, da so naše PTA vrednosti nižje (39). V tej raziskavi je kreatininski očistek imel manjši razpon, najnižja vrednost je bila 40 mL/min. Vrednosti PTA glede na ledvično funkcijo prikazujejo, da je doseganje ustreznega FD indeksa pri dobri ledvični funkciji bolj verjetno. Ta rezultat lahko kaže na neprimeren režim odmerjanja, če je ledvična funkcija zelo okrnjena ali pa na neustreznost razvitega modela.

Podatkov za kreatininski očistek v takih primerih ni veliko, zato lahko samo predvidevamo, kako reprezentativni so izračuni za širšo populacijo bolnikov. Na splošno se ledvična funkcija pri okužbah poslabša, zato bi kazalo raziskavo razširiti, da pridobimo več podatkov o večjem številu bolnikov.

Za razvoj reprezentativnega populacijskega farmakokinetičnega modela je pomembna predvsem pravilna implementacija povezav med parametri in sočasnimi spremenljivkami. Prav tako je pomembno dobro razumevanje diagnostičnih orodij, ki so na voljo za ocenjevanje medsebojnega vpliva treh strukturnih elementov nelinearnih modelov mešanih učinkov: strukturnega, kovariatnega in statističnega. Te diagnostične diagrame, populacijske in individualne napovedi ter rezidualne v odvisnosti od meritev, moramo kritično ocenjevati skupaj z numeričnimi pokazatelji, kot so vrednost objektivne funkcije, ocene IIV, standardne napake ocenjenih vrednosti ter krčenja IIV. Seveda pa mora povezava sočasne spremenljivke s parametrom imeti tudi fiziološki smisel.

Razvit model dobro napoveduje plazemske koncentracije vankomicina v času zdravljenja. Prenizko število podatkov nam je onemogočilo identifikacijo več potencialnih povezav med lastnostmi bolnikov in farmakokinetiko vankomicina. Za razvoj boljših modelov bi se lahko uvedlo harmonizirane napotke za spremljanje koncentracija kreatinina in vankomicina v krvi. Potrebno bi bilo tudi skrbno beleženje časa odvzema. Vzpostavil bi se lahko informacijski sistem, ki bi povezoval vse zdravstvene ustanove v Sloveniji, s centralno bazo podatkov. Ta bi vsebovala vse lastnosti bolnikov, ki se lahko uporabijo za optimizacijo odmerjanja vankomicina in drugih zdravil, seveda, če imamo razvit primeren PFK model.

Ob čedalje večji razširjenosti odpornejših sevov bakterij bi bilo primerno opraviti obsežnejše raziskave na tem področju.

6 Sklep

Razvili smo populacijski farmakokinetični model, ki dobro opisuje farmakokinetiko in farmakodinamiko vankomicina predvsem pri bolnikih s težjimi okužbami in poslabšano ledvično funkcijo.

Končni model je bil enoprostorski, s parametroma očistek in volumen porazdelitve vankomicina, z vplivom kreatininskega očistka na očistek vankomicina. Interindividualna variabilnost je bila opisana z eksponentnim modelom, rezidualna variabilnost pa s kombinacijo aditivne in proporcionalne napake.

Končni parametri modela so: očistek je $5,43 \text{ L/h} + 0,046 \text{ L/h} * (\text{Cl}_{\text{cr}} - 110)$, volumen porazdelitve je 84,0 L. IIV za očistek je 32,9 %, za volumen porazdelitve 35,5 %, s koeficientom korelacije CL-V 0,70.

Vključitev časovne spremenljivosti kreatininskega očistka se ni izkazala za značilno.

Metoda ocenjevanja ledvične funkcije Jelliffe se je izkazala za primernejšo kot Cockcroft-Gault metoda. Upošteva nestabilno ledvično funkcijo, kar je pogost pojav pri kritično bolnih.

Model je potencialno uporaben v klinične namene za optimizacijo režima odmerjanja vankomicina.

Indeks PTA pri odpornih sevih bakterij, z MIC nad 2 mg/L, padejo na 0 %, CFR pri okužbah z najpogostejšimi patogeni *Enterococcus faecalis* in *Staphylococcus epidermidis* pa je 10 %. Zdravljenje okužb, povzročenih z odpornimi sevi bakterij je zahtevno, zato je smotno redno nadzorovati ledvično funkcijo in serumsko koncentracijo vankomicina, ki je od nje odvisna.

7 Literatura

1. Nadrah, Kristina. Novosti pri terapevtskem spremljanju koncentracij vankomicina. Zdrav Vestn 2011. 80:571–7.
2. Wolter F, Schoof S, Süssmuth R. Synopsis of Structural, Biosynthetic, and Chemical Aspects of Glycopeptide Antibiotics. In: Wittmann V, editor. Springer Berlin / Heidelberg; 2007. page 143–85. Available from: http://dx.doi.org/10.1007/128_041
3. Levine DP. Vancomycin: A History. Clinical Infectious Diseases. 2006 Jan 1;42(Supplement 1):S5–S12.
4. Hiramatsu K. Vancomycin-resistant Staphylococcus aureus: a new model of antibiotic resistance. The Lancet Infectious Diseases. 2001 Oct;1(3):147–55.
5. Lek farmacevtska družba, d.d. Povzetek glavnih značilnosti zdravila. Vankomicin Billev. [Internet]. [cited 2012 Sep 23]. Available from: si.draaagle.si
6. Rybak MJ. The Pharmacokinetic and Pharmacodynamic Properties of Vancomycin. Clinical Infectious Diseases. 2006 Jan 1;42(Supplement 1):S35–S39.
7. Rybak M, Lomaestro B, Rotschafer JC, Moellering R, Craig W, Billeter M, et al. Therapeutic monitoring of vancomycin in adult patients: A consensus review of the American Society of Health-System Pharmacists, the Infectious Diseases Society of America, and the Society of Infectious Diseases Pharmacists. American Journal of Health-System Pharmacy. 2009 Jan 1;66(1):82–98.
8. Brown J, Brown K, Forrest A. Vancomycin AUC₂₄/MIC ratio in patients with complicated bacteremia and infective endocarditis due to methicillin-resistant Staphylococcus aureus and its association with attributable mortality during hospitalization. Antimicrobial Agents And Chemotherapy. 2012 Feb;56(2):634–8.
9. Rybak MJ, Albrecht LM, Boike SC, Chandrasekar PH. Nephrotoxicity of vancomycin, alone and with an aminoglycoside. Journal of Antimicrobial Chemotherapy. 1990 Apr 1;25(4):679–87.
10. Bailie G, Neal D. Vancomycin ototoxicity and nephrotoxicity. A review. Med Toxicol Adverse Drug Exp. 1988;3(5):376–86.
11. GERACI J, HEILMAN F, NICHOLS D, ROSS G, WELLMAN W. Some laboratory and clinical experiences with a new antibiotic, vancomycin. Proc Staff Meet Mayo Clin. 1956 Oct;31(21):564–82.
12. Kitzis MD, Goldstein FW. Monitoring of vancomycin serum levels for the treatment of staphylococcal infections. Clinical Microbiology and Infection. 2006;12(1):92–5.
13. Pestotnik SL. Adverse effects of intravenous vancomycin in hospitalized patients: attributable costs and excess length of stay [abstract 376]. Alexandria, VA: Infectious Diseases Society of America; 1997.

14. Hsueh P-R, Chen W-H, Teng L-J, Luh K-T. Nosocomial infections due to methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and vancomycin-resistant enterococci at a university hospital in Taiwan from 1991 to 2003: resistance trends, antibiotic usage and in vitro activities of newer antimicrobial agents. *International journal of antimicrobial agents*. 2005 Jul 1;26(1):43–9.
15. Hanaki H, Kuwahara-Arai K, Boyle-Vavra S, Daum RS, Labischinski H, Hiramatsu K. Activated cell-wall synthesis is associated with vancomycin resistance in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clinical strains Mu3 and Mu50. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 1998 Aug 1;42(2):199–209.
16. Hanaki H, Labischinski H, Inaba Y, Kondo N, Murakami H, Hiramatsu K. Increase in glutamine-non-amidated muropeptides in the peptidoglycan of vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus* strain Mu50. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 1998 Sep 1;42(3):315–20.
17. Wootton M, Howe RA, Hillman R, Walsh TR, Bennett PM, MacGowan AP. A modified population analysis profile (PAP) method to detect hetero-resistance to vancomycin in *Staphylococcus aureus* in a UK hospital. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 2001 Apr 1;47(4):399–403.
18. George AL Jr, Neilson EG. *Cellular and Molecular Biology of the Kidney*. *Harrison's Principles Of Internal Medicine*. 17th ed. McGraw-Hill Companies Inc.; page 1741–2.
19. Guyton AC, Hall JE. *Glomerular Filtration, Renal Blood Flow, and Their Control*. *Textbook of Medical Physiology*. 11th ed. Elsevier Saunders; page 307–15.
20. Fauci S. A, Braunwalk E, Kasper L D. *Harrison's Principles of Internal Medicine*. 17th ed. McGraw-Hill Companies Inc.; 2008.
21. Bauer LA. Drug dosing in special populations: renal and hepatic disease, dialysis, heart failure, obesity and drug interactions. *Applied Clinical Pharmacokinetics*. 2nd ed. McGraw-Hill Companies Inc.; page 52–9.
22. Jelliffe R. Estimation of Creatinine Clearance in Patients with Unstable Renal Function, without a Urine Specimen. *American Journal of Nephrology*. 2002;22(4):320–4.
23. Bouchard J, Macedo E, Soroko S, Chertow GM, Himmelfarb J, Ikizler TA, et al. Comparison of methods for estimating glomerular filtration rate in critically ill patients with acute kidney injury. *Nephrology Dialysis Transplantation*. 2010 Jan 1;25(1):102–7.
24. Ette EI, Williams PJ. *Population Pharmacokinetics I: Background, Concepts, and Models*. *The Annals of Pharmacotherapy*. 2004 Oct 1;38(10):1702–6.
25. Vučićević K, Miljković B, Vezmar Kovačević S, Todorović Z, Prostran M, Grabnar I. Population Pharmacokinetic Analysis of Therapeutic Drug Monitoring Data in Optimizing Pharmacotherapy of Antiepileptic Drugs. *Novel Treatment of Epilepsy*, Humberto Foyaca-Sibat (Ed.) [Internet]. 2011; Available from: InTech, Available from: <http://www.intechopen.com/books/novel-treatment-of-epilepsy/population->

- pharmacokinetic-analysis-of-therapeutic-drug-monitoring-data-in-optimizing-pharmacotherap
26. Ette EI, Williams PJ. Population Pharmacokinetics II: Estimation Methods. *The Annals of Pharmacotherapy*. 2004 Nov 1;38(11):1907–15.
 27. Wang Y. Derivation of various NONMEM estimation methods. *J Pharmacokinet Pharmacodyn*. 2007 Oct 1;34(5):575–93.
 28. Wählby U. Methodological Studies on Covariate Model Building in Population Pharmacokinetic-Pharmacodynamic Analysis [Internet]. [Uppsala]: Acta Universitatis Upsaliensis; 2002. Available from: <http://urn.kb.se/resolve?urn=urn:nbn:se:uu:diva-3050>
 29. Fisher D, Shafer S. NONMEM workshop - Pharmacokinetic and Pharmacodynamic Analysis with NONMEM: Basic Concepts [Internet]. Het Pand, Ghent, Belgium; 2007 [cited 2012 Feb 10]. Available from: <http://www.rpdpublications.eu/SIVAUK/PreviousMeetings/Cambridge/Shافر%20NONMEM.pdf>
 30. Bolton S, Bon C. *Pharmaceutical Statistics: Practical and Clinical Applications*. Fifth Edition. New York: Informa Healthcare USA, Inc.;
 31. Roberts JA, Kirkpatrick CMJ, Lipman J. Monte Carlo simulations: maximizing antibiotic pharmacokinetic data to optimize clinical practice for critically ill patients. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 2011 Feb 1;66(2):227–31.
 32. EUCAST [Internet]. [cited 2012 Nov 21]. Available from: http://www.eucast.org/mic_distributions/
 33. Koder B. Analiza učinkovitosti in varnosti zdravljenja z vankomicinom. [Ljubljana]: Univerza v Ljubljani, Fakulteta za farmacijo; 2007.
 34. Cvikel M. Optimizacija režima odmerjanja vankomicina s pomočjo računalniškega farmakokinetičnega programa v Univerzitetnem kliničnem centru Maribor. [Ljubljana]: Univerza v Ljubljani, Fakulteta za farmacijo; 2012.
 35. Revilla N, Martín-Suárez A, Pérez MP, González FM, Fernández de Gatta MDM. Vancomycin dosing assessment in intensive care unit patients based on a population pharmacokinetic/pharmacodynamic simulation. *British Journal Of Clinical Pharmacology*. 2010 Aug;70(2):201–12.
 36. Icon plc. NONMEM [Internet]. Available from: <http://www.iconplc.com/technology/products/nonmem/>
 37. WU G, FURLANUT M. Prediction of Serum Vancomycin Concentrations using One-, Two- and Three-compartment Models with Implemented Population Pharmacokinetic Parameters and with the Bayesian Method. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 1998;50(8):851–6.

38. Wählby U, Thomson AH, Milligan PA, Karlsson MO. Models for time-varying covariates in population pharmacokinetic-pharmacodynamic analysis. *British Journal of Clinical Pharmacology*. 2004;58(4):367–77.
39. Bračun J. Empiric antibiotic therapy practice guidelines for ventilator-associated pneumonia and hospital-acquired pneumonia prepared based on pharmacodynamics profiling and Monte Carlo simulation: use of EUCAST and BSAC resistance surveillance project data for MIC distribution of common pathogens. [Belfast]: Queen's University Belfast; 2012.
40. Pavlišič M, Mrhar A. Kako zagotoviti najprimernejše odmerjanja protimikrobnih zdravil. *Zdrav Vestn*. 2001 Aug 22;2001(70):547–52.
41. Mouton JW, Dudley MN, Cars O, Derendorf H, Drusano GL. Standardization of pharmacokinetic/pharmacodynamic (PK/PD) terminology for anti-infective drugs: an update. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 2005 May;55(5):601–7.

Priloga 1: Primer tabele s podatki za razvoj PFK modela

ID	DAT1	TIME	DV	EVID	MDV	AMT	RATE	SX	AGE	WT	CR1	DCR1	CR2	DCR2	AGEX
3	8.11.2005	08:00	.	1	1	2	2	0	69	70	82	0	77.9	0	1
3	9.11.2005	08:00	.	1	1	2	2	0	69	70	84	2	79	1.1	1
3	10.11.2005	07:00	5	0	0	0	0	0	69	70	87	5	81.3	3.4	1
3	10.11.2005	08:00	.	1	1	2	2	0	69	70	87	5	81.3	3.4	1
3	11.11.2005	08:00	.	1	1	2	2	0	69	70	89	7	83.8	5.9	1
3	12.11.2005	07:00	5.2	0	0	0	0	0	69	70	92	10	86.4	8.5	1
3	12.11.2005	08:00	.	1	1	2	2	0	69	70	92	10	86.4	8.5	1
3	13.11.2005	08:00	.	1	1	2	2	0	69	70	95	13	89.1	11.2	1
3	14.1.2005	08:00	.	1	1	2	2	0	69	70	98	16	91.5	13.6	1
3	15.1.2005	07:00	7.3	0	0	0	0	0	69	70	100	18	94.4	16.5	1
3	15.1.2005	08:00	.	1	1	2	2	0	69	70	100	18	94.4	16.5	1
3	16.1.2005	08:00	.	1	1	1	1	0	69	70	105	23	99	21.1	1
3	17.1.2005	08:00	.	1	1	1	1	0	69	70	111	29	103.8	25.9	1
3	18.1.2005	07:00	4.2	0	0	0	0	0	69	70	115	33	104.3	26.4	1
3	18.1.2005	08:00	.	1	1	1	1	0	69	70	115	33	104.3	26.4	1
3	19.1.2005	08:00	.	1	1	1	1	0	69	70	111	29	100.8	22.9	1
3	20.1.2005	08:00	.	1	1	1	1	0	69	70	107	25	97.3	19.4	1
3	21.1.2005	08:00	.	1	1	1	1	0	69	70	103	21	94	16.1	1
3	22.1.2005	07:00	3.3	0	0	0	0	0	69	70	100	18	92.7	14.8	1
3	22.1.2005	08:00	.	1	1	1	1	0	69	70	100	18	92.7	14.8	1
3	23.1.2005	08:00	.	1	1	2	2	0	69	70	100	18	91.2	13.3	1
3	24.1.2005	08:00	.	1	1	2	2	0	69	70	96	14	87.1	9.2	1
3	25.1.2005	08:00	.	1	1	2	2	0	69	70	92	10	84.5	6.6	1
3	26.1.2005	08:00	.	1	1	2	2	0	69	70	91	9	80	2.1	1
3	26.1.2005	09:00	28	0	0	0	0	0	69	70	91	9	80	2.1	1
3	27.1.2005	07:00	7.3	0	0	0	0	0	69	70	83	1	74	-3.9	1
3	28.1.2005	08:00	.	1	1	2	2	0	69	70	79	-3	70.4	-7.5	1
3	29.1.2005	08:00	.	1	1	2	2	0	69	70	75	-7	67.4	-10.5	1
3	30.1.2005	06:00	9.4	0	0	0	0	0	69	70	72	-10	63.2	-14.7	1
3	30.1.2005	08:00	.	1	1	2	2	0	69	70	72	-10	63.2	-14.7	1
3	7.12.2005	08:00	.	0	1	0	0	0	69	70	65	-17	60.1	-17.8	1

Priloga 2: Končni populacijski farmakokinetični model za vankomicin

```

$PROBLEM      Vankomicin multiple dose i.v infusion

;UNITS: Time=hour, Concentration=umol/l
;Dose=g, Clearance=L/hr, Volume = L
;RATE specifies the infusion rate (g/h)

$INPUT        ID DAT1=DROP TIME DV EVID MDV AMT RATE SX AGE WT SCR VEN CRP CR1 DCR1 CR2 DCR2 AGEX

$DATA         Vanko.csv IGNORE=#

$SUBROUTINE ADVAN1 TRANS2                ;A one compartment model from PREDPP library

$PK
IF (NEWIND.NE.2) THEN
  TDOS = 0
ENDIF

IF (AMT.GT.0) THEN
  TDOS = TIME
ENDIF

TAD = TIME-TDOS

TVCL = THETA(1)+THETA(5)*(CR2-110)
CL = TVCL*EXP(ETA(1))                    ;Clearance in L/hr
TVV = THETA(2)
V = TVV*EXP(ETA(2))                      ;Volume of distribution in L
S1 =V*1.486/1000                        ;Scaling factor to match concentration in umol/l

$ERROR
  IPRED = F
  W      = SQRT(THETA(3)**2+(THETA(4)*IPRED)**2)
  IRES   = IPRED-DV
  IWRES  = IRES/W
  Y       = IPRED+EPS(1)*W

$THETA
5.430000      ; CL
84.00000      ; V
(0,1.580000)  ; wa
(0,0.170000)  ; wp
0.046200      ; CRJCL2

$OMEGA BLOCK(2)
0.103000      ; EtaCL
0.077400      ; CL-V korelacija
0.119000      ; EtaV

$SIGMA
1.000000      FIX ; Epsilon

$ESTIMATION SIGDIGITS=3 MAXEVALS=9999 METHOD=1 INTERACTION POSTHOC PRINT=5 NOABORT

$COVARIANCE PRINT=E

$TABLE        ID TIME TAD EVID MDV IPRED IWRES PRED                ONEHEADER NOPRINT FILE=sdtab1
$TABLE        ID TIME TAD EVID MDV CL V ETA(1) ETA(2)              ONEHEADER NOPRINT FILE=patab1
$TABLE        ID TIME TAD EVID MDV AGE WT SCR CRP CR1 DCR1 CR2 DCR2 ONEHEADER NOPRINT FILE=cotab1
$TABLE        ID TIME TAD EVID MDV VEN SX AGEX                     ONEHEADER NOPRINT FILE=catab1

```

Priloga 3: Primer tabele s podatki za izvedbo simulacije Monte Carlo

#ID	TIME	EVID	AMT	RATE	ADDL	II	MDV	DV
1	0	1	0.5	1	39	6	1	.
1	240	0	0	0	0	0	0	1
2	0	1	0.5	1	39	6	1	.
2	240	0	0	0	0	0	0	1
3	0	1	0.5	1	39	6	1	.
3	240	0	0	0	0	0	0	1
4	0	1	0.5	1	39	6	1	.
4	240	0	0	0	0	0	0	1
5	0	1	0.5	1	39	6	1	.
5	240	0	0	0	0	0	0	1
6	0	1	0.5	1	39	6	1	.
6	240	0	0	0	0	0	0	1
7	0	1	0.5	1	39	6	1	.
7	240	0	0	0	0	0	0	1
8	0	1	0.5	1	39	6	1	.
8	240	0	0	0	0	0	0	1
9	0	1	0.5	1	39	6	1	.
9	240	0	0	0	0	0	0	1
10	0	1	0.5	1	39	6	1	.
10	240	0	0	0	0	0	0	1
11	0	1	0.5	1	39	6	1	.
11	240	0	0	0	0	0	0	1
12	0	1	0.5	1	39	6	1	.
12	240	0	0	0	0	0	0	1
13	0	1	0.5	1	39	6	1	.
13	240	0	0	0	0	0	0	1
14	0	1	0.5	1	39	6	1	.
14	240	0	0	0	0	0	0	1
15	0	1	0.5	1	39	6	1	.
15	240	0	0	0	0	0	0	1
16	0	1	0.5	1	39	6	1	.
16	240	0	0	0	0	0	0	1
17	0	1	0.5	1	39	6	1	.
17	240	0	0	0	0	0	0	1
18	0	1	0.5	1	39	6	1	.
18	240	0	0	0	0	0	0	1
19	0	1	0.5	1	39	6	1	.
19	240	0	0	0	0	0	0	1
20	0	1	0.5	1	39	6	1	.
20	240	0	0	0	0	0	0	1

Priloga 4: Končni model za izvedbo simulacije Monte Carlo

\$PROBLEM Vankomicin PK-PD simulacija

```
;; 1. Based on:
;;   Final model (y\Bottstap\Final.mod)
;;   fu=0.5; Pazi CL je za celokupen vankomicin (prosti + vezani)
;; 2. Description:
;;   Time = h; Dose = g; V = L; CL = L/h, C = mg/L
;; 3. Label:
;;   3 ECH - 10 comps
;; 4. Structural model:
;;   1-compartment model
;; 5. Covariate model:
;;   CRJCL on CL
;; 6. Inter-individual variability:
;;   /
;; 7. Inter-occasion variability:
;;   NA
;; 8. Residual variability:
;;   wa and wp:      W = SQRT(THETA(3)**2+(THETA(4)*IPRED)**2)
;; 9. Estimation:
;;   FOCE INTER

$INPUT ID TIME EVID AMT RATE ADDL II MDV DV
;RATE specifies the infusion rate (g/h)

$DATA Sim1.csv IGNORE=#

$SUBROUTINE ADVAN1 TRANS2      ;A one compartment model from PREDPP library

$PK

IF(ICALL.EQ.4.AND.NEWIND.NE.2)THEN

Z1 = 10
Z2 = 10

; Creatinine clearance
CLCR = 0
DO WHILE (CLCR.LT.10.OR.CLCR.GT.140)
  CALL SIMETA(ETA)
  CLCR = THETA(6)*EXP(ETA(3))
ENDDO

; Clearance
DO WHILE (Z1.GT.6.63)
  CALL SIMETA(ETA)
  CL = (THETA(1)+THETA(5)*(CLCR-110)) * EXP(ETA(1)) ;clearance in L/hr
  Z1 = ETA(1)**2 / 0.103000      ; v imenovalcu je omega(1)
ENDDO

; Volume of distribution
DO WHILE (Z2.GT.6.63)
  CALL SIMETA(ETA)
  V = THETA(2) * EXP(ETA(2))
  Z2 = ETA(2)**2 / 0.119000      ; v imenovalcu je omega(2)
ENDDO

ENDIF

S1 =V/1000 ; Scaling factor to match concentration in mg /l

REP = IREP ; Number of simulation
```

\$ERROR

```
IPRED = F
W      = SQRT(THETA(3)**2+(THETA(4)*IPRED)**2)
IRES   = IPRED-DV
IWRES  = IRES/W
Y       = IPRED+EPS(1)*W
```

\$THETA

```
5.430000      ; CL
84.00000      ; V
(0,1.580000)  ; wa
(0,0.170000)  ; wp
0.046200      ; SLOPE
74.1          ; CLCR
```

\$OMEGA BLOCK(2)

```
0.103000      ; EtaCL
0.077400      ; CLVcov
0.119000      ; EtaV
```

\$OMEGA BLOCK(1)

```
0.489         ; EtaCLCR
```

\$SIGMA

```
1.000000 FIX  ; Epsilon
```

\$SIM (12345 NORMAL NEW)

```
ONLYSIM
```

```
SUBPROBLEMS=10
```

```
$TABLE ID REP TIME EVID MDV IPRED IWRES PRED
$TABLE ID REP TIME EVID MDV CL V CLCR
```

```
ONEHEADER NOPRINT FILE = sdtab1
ONEHEADER NOPRINT FILE = patab1
```