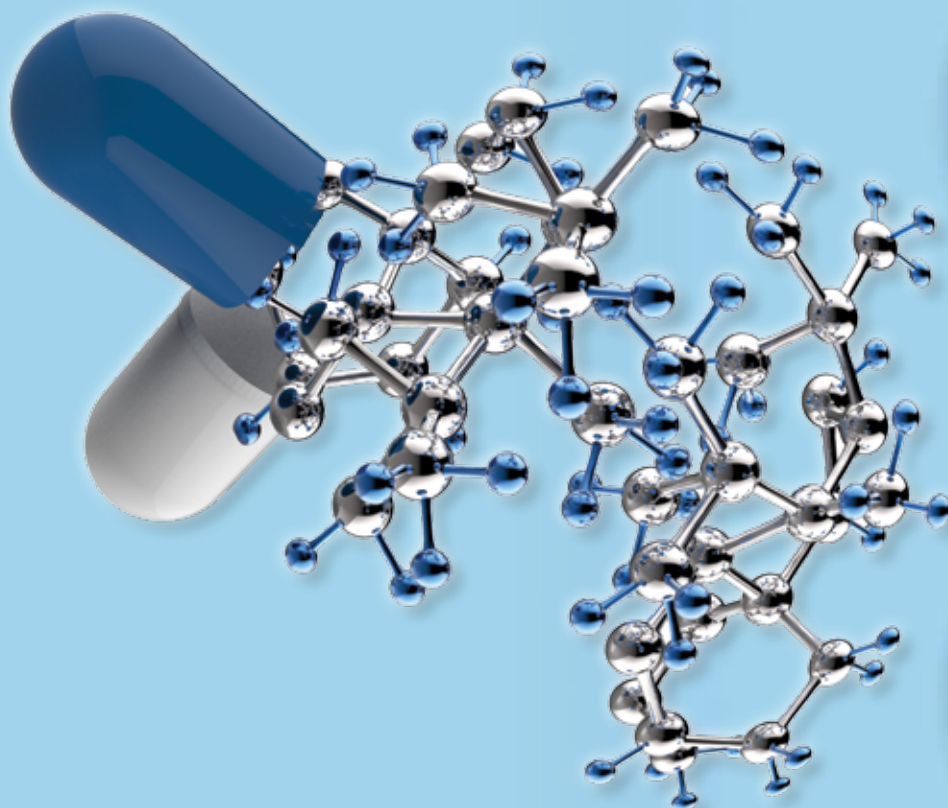


ISSN 1105-4999



ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΗ PHARMAKEFTIKI

ΤΡΙΜΗΝΙΑΙΑ ΕΚΔΟΣΗ ΜΕ ΘΕΜΑΤΑ ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ
A QUARTERLY EDITION ON PHARMACEUTICAL SCIENCES' TOPICS



ΤΟΜΟΣ
VOLUME 30 • ΤΕΥΧΟΣ
ISSUE II

ΑΠΡΙΛΙΟΣ - ΙΟΥΝΙΟΣ
APRIL - JUNE 2018

ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΗ

ΤΡΙΜΗΝΙΑΙΑ ΕΚΔΟΣΗ ΜΕ ΘΕΜΑΤΑ
ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ
ΤΟΜΟΣ 30, ΤΕΥΧΟΣ Ι,
ΙΑΝΟΥΑΡΙΟΣ - ΜΑΡΤΙΟΣ 2018

ΔΙΕΥΘΥΝΤΗΣ ΣΥΝΤΑΞΗΣ

A. Τσαντίλη

Ομοτ. Καθηγήτρια, Εθνικό και Καποδιστριακό
Πανεπιστήμιο Αθηνών (ΕΚΠΑ)
tsantili@pharm.uoa.gr

ΑΡΧΙΣΥΝΤΑΚΤΗΣ

Γ.Α. Καρίκας

Ομότιμος καθηγητής, Πανεπιστήμιο
Δυτικής Αττικής, karikasg@teiath.gr

ΣΥΝΤΑΚΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

Κ. Δεμέτζος

Καθηγητής, ΕΚΠΑ

Β. Δημόπουλος

Καθηγητής, Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, ΑΠΘ

N. Κόλμαν

Galenica SA

Χ. Κοντογιώργης

PhD, Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, ΑΠΘ

Π. Κουρουνάκης

Ομοτ. Καθηγητής,

Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, ΑΠΘ

Π. Μαχαίρας

Ομοτ. Καθηγητής, ΕΚΠΑ

Σ. Νικολαρόπουλος

Αναπλ. Καθηγητής, Πανεπιστήμιο Πατρών

Γ. Πάιρας

Αναπλ. Καθηγητής, Πανεπιστήμιο Πατρών

Ε. Παντερή

Καθηγήτρια, ΕΚΠΑ

Δ. Ρέκκας

Αναπλ. Καθηγητής, ΕΚΠΑ

E-mail για υποβολή εργασιών:

tsantili@pharm.uoa.gr, karikasg@teiath.gr

Για την ηλεκτρονική έκδοση της «Φαρμακευτικής»
και οδηγίες προς συγγραφείς
επισκεφτείτε την διεύθυνση: www.hsmc.gr

Τα άρθρα που δημοσιεύονται
στην «Φαρμακευτική» καταχωρούνται
στα Chemical Abstracts, EMBASE,
SCOPUS και EBSCO

PHARMAKEFTIKI

A QUARTERLY EDITION
ON PHARMACEUTICAL SCIENCES' TOPICS
VOLUME 30, ISSUE I,
JANUARY - MARCH 2018

EDITOR

A. Tsantili

Emeritus Professor, National and Kapodistrian
University of Athens (NKUA)
tsantili@pharm.uoa.gr

CO EDITOR

G.A. Karikas

Emeritus professor, University of West Attica,
Greece, karikasg@teiath.gr

EDITORIAL BOARD

C. Demetzos

Professor, NKUA

V.J. Demopoulos

Professor, University of Thessaloniki, AUTh

N. Kolman

Galenica SA

Ch. Kontogiorgis

PhD, University of Thessaloniki, AUTh

P. Kourounakis

Emeritus Professor,

University of Thessaloniki, AUTh

P. Macheras

Emeritus Professor, NKUA

S. Nikolaropoulos

Associate Professor, University of Patras

G. Pairas

Associate Professor, University of Patras

I. Panderi

Professor, NKUA

D. Rekkas

Associate Professor, NKUA

E-mail for manuscript submission:

tsantili@pharm.uoa.gr, karikasg@teiath.gr

For "Pharmakeftiki" electronic edition
and instructions to authors
please visit www.hsmc.gr

Articles published in "Pharmakeftiki"
are indexed in Chemical Abstracts,
EMBASE, SCOPUS and EBSCO

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ / CONTENTS

Μαθηματική Μοντελοποίηση στη Φαρμακοθεραπεία του Καρκίνου

Αλέξανδρος Φιλίππакis, Ευάγγελος Καραλής, Ελένη Καρατζά 45-63

Φαρμακευτική αγωγή και μητρικός θηλασμός: Συμβατότητα και Προβληματισμοί

Αριάδνη Τζαϊμπάλλα-Κουκουλά, Χαλήλ Τζαϊμπάλλα-Κουκουλάς, Παναγιώτα Βουρνά, Δήμητρα Γεννήματα και Ειρήνη Παντερή..... 64-75

«Quality-by-Design» approach to the development of a dosage form for the liposomal delivery system of cytochrome C.

Oleksii G. Katsai, Olena A. Ruban, Yuriy M. Krasnopolskyi..... 76-87

Εκδηλώσεις..... 88-89

Mathematical Models in Cancer Chemotherapy

Alexandros Filippakis, Evangelos Karalis, Eleni Karatza 64-75

Medication and breastfeeding: Compatibility and Concerns

Ariadni Geballa-Koukoulas, Khalil Geballa-Koukoulas, Panagiota Vourna, Dimitra Gennimata, Eirini Panteri..... 64-75

«Quality-by-Design» approach to the development of a dosage form for the liposomal delivery system of cytochrome C.

Oleksii M. Katsai, Olena G. Ruban, Yuriy A. Krasnopolskyi..... 76-87

Meetings..... 88-89

ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΗ

ΤΡΙΜΗΝΙΑΙΑ ΕΚΔΟΣΗ

ΤΗΣ ΕΛΛΗΝΙΚΗΣ ΕΤΑΙΡΕΙΑΣ ΦΑΡΜΑΚΟΧΗΜΕΙΑΣ
& ΤΗΣ ΕΛΛΗΝΙΚΗΣ ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΗΣ ΕΤΑΙΡΕΙΑΣ

PHARMAKEFTIKI

A QUARTERLY JOINT EDITION OF
THE HELLENIC SOCIETY OF
MEDICINAL CHEMISTRY &

THE HELLENIC PHARMACEUTICAL SOCIETY



ZITA MEDICAL MANAGEMENT, 1ο χλμ. Παιανίας - Μαρκοπούλου, 19002, Παιανία, Ελλάδα
Τηλ.: + 30 211 100 1780, E-mail: g.kouloumpis@zitamanagement.com

Αφήστε την Zita να απογειώσει την εικόνα & τις πωλήσεις σας



Η **Zita Digital Management** είναι το It τμήμα του **Ομίλου Zita**. Οι εξειδικευμένες υπηρεσίες της στοχεύουν στην πλήρη αξιοποίηση των Social Media και του Digital Marketing, σημαντικά εργαλεία για τη διαφήμιση και την προβολή επιχειρήσεων αλλά και μεμονωμένων επαγγελματιών. Η πολύχρονη, πάνω από 36 χρόνια, δραστηριότητα της Zita σε όλο το φάσμα της επικοινωνίας και του marketing, το έμπειρο και εξειδικευμένο προσωπικό, η πιστοποίηση με **ISO 9001** και **ISO 14001**, καθώς και η διεθνής παρουσία του ομίλου και στις 5 ηπείρους, καθιστούν την Zita Digital Management τον πλέον αξιόπιστο συνεργάτη, για κάθε οργανισμό και επαγγελματία που αποφασίζει να αξιοποιήσει το ηλεκτρονικό marketing για την προβολή και ανάπτυξη της επιχείρησής του.



- Διαφημιστικές Εκστρατείες
- Διαχείριση Social Media
- Διαφήμιση Social Media
- Google Adwords
- Content Marketing
- Εκπαίδευση Στελεχών
- Social Media
- SEO

- Google Ads
- Website Design & Development
- Λήψη και Επεξεργασία Βίντεο & Φωτογραφίας για Διαδικτυακή Χρήση
- On-site/page text optimization
- Εταιρική Ταυτότητα
- Graphic Design
- E-mail Marketing



Επικοινωνήστε μαζί μας για ένα ενημερωτικό ραντεβού, θα σας κοστίσει... τίποτα

www.zitadigitalmanagement.com

Αλέξανδρος Πρίφτης

1° χλμ. Παιανίας - Μαρκοπούλου, Τ.Θ. 155, 190 02, Παιανία, Αττική, Τηλ: +30 211 100 1786,

Φαξ: +30 210 6642116, E-mail: a.priftis@zita-management.com

Μαθηματική Μοντελοποίηση στη Φαρμακοθεραπεία του Καρκίνου

Αλέξανδρος Φιλιππάκης, Ευάγγελος Καραλής*, Ελένη Καρατζά

Εργαστήριο Βιοφαρμακευτικής-Φαρμακοκινητικής, Τμήμα Φαρμακευτικής, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών

ΛΕΞΕΙΣ - ΚΛΕΙΔΙΑ:
Μαθηματική
μοντελοποίηση,
Καρκίνος, Χημειο-
θεραπεία, Φαρμα-
κοκινητική, Φαρμα-
κοδυναμική, Μοντέλα
εξέλιξης νόσου

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Στόχος της φαρμακοθεραπείας του καρκίνου είναι η αποτελεσματική επαγωγή της απόπτωσης των καρκινικών κυττάρων, χωρίς να επηρεάζονται τα φυσιολογικά κύτταρα. Κατά συνέπεια θα πρέπει να γίνεται ορθολογική επιλογή της κατάλληλης δόσης των χημικοθεραπευτικών φαρμάκων ώστε να μεγιστοποιείται η αποτελεσματικότητα και να ελαχιστοποιούνται οι παρενέργειες. Προκειμένου να γίνει κάτι τέτοιο εφικτό θα πρέπει να αξιολογηθούν ταυτόχρονα τα χαρακτηριστικά του φαρμάκου, του ασθενή και του εκάστοτε καρκίνου. Μια τέτοια δυνατότητα έρχονται να προσφέρουν σύγχρονες τεχνικές μαθηματικής μοντελοποίησης, των οποίων η συνεισφορά στην ανάπτυξη και χρήση χημικοθεραπευτικών φαρμάκων έχει αναγνωριστεί ιδιαίτερα τις τελευταίες δύο δεκαετίες. Στην παρούσα εργασία συνοψίζονται οι βασικές αρχές της μαθηματικής μοντελοποίησης και η συνεισφορά τους στη θεραπεία του καρκίνου. Στα πλαίσια αυτά παρουσιάζεται η βασική θεωρία και ορισμένα παραδείγματα μοντέλων εξέλιξης της νόσου, φαρμακοκινητικών (ΦΚ) μοντέλων, φαρμακοδυναμικών (ΦΔ) μοντέλων και συνδυαστικών ΦΚ/ΦΔ μοντέλων. Εν συντομία αναφέρεται ότι τα μοντέλα εξέλιξης καρκινικής νόσου αφορούν τη μαθηματική περιγραφή του μεγέθους ενός όγκου ή/και του πολλαπλασιασμού των καρκινικών κυττάρων ως προς το χρόνο, παρέχοντας σημαντικές πληροφορίες για τον ρυθμό και τον τρόπο ανάπτυξης του υπό μελέτη καρκίνου αλλά και την εκτίμηση της αποτελεσματικότητας αντικαρκινικών φαρμάκων. Τα ΦΚ μοντέλα περιγράφουν την συγκέντρωση του φαρμάκου στο πλάσμα (ή/και τους ιστούς) ως προς το χρόνο μετά από τη χορήγηση μίας συγκεκριμένης δόσης. Τα ΦΔ μοντέλα συσχετίζουν τις δράσεις που αρκεί το φάρμακο με την συγκέντρωσή του στο πλάσμα (ή/και τους ιστούς). Ο συνδυασμός αυτών των δυο οδηγεί στην ανάπτυξη των ΦΚ/ΦΔ μοντέλων, που μπορούν να περιγράψουν τις δράσεις του φαρμάκου ως προς το χρόνο για ένα συγκεκριμένο δοσολογικό σχήμα, λαμβάνοντας υπόψη το σύνολο των φαρμακοκινητικών και φαρμακοδυναμικών διεργασιών που λαμβάνουν χώρα στο κάθε άτομο ξεχωριστά. Έτσι, η ΦΚ/ΦΔ μοντελοποίηση βρίσκει εφαρμογή τόσο κατά την ανάπτυξη χημικοθεραπευτικών φαρμάκων, όσο και κατά την χρήση τους στην κλινική πράξη αφού μπορεί και συσχετίζει δοσολογικό σχήμα, δημογραφικά στοιχεία, ατομικές φαρμακοκινητικές και φαρμακοδυναμικές παραμέτρους αλλά και στοιχεία που αφορούν την εξέλιξη της νόσου.

**Υπεύθυνος
αλληλογραφίας:**
Ευάγγελος Καραλής
Email:
vkaralis@pharm.uoa.gr
Tel: +30 210 7274267

1. Εισαγωγή

Με τον όρο καρκίνο συνήθως αναφερόμαστε σε μια ομάδα ασθενειών με κοινό παρονομαστή τον υπέρμετρο κυτταρικό πολλαπλασιασμό, ο οποίος οφείλεται σε διαταραχή στις διαδικασίες που ελέγχουν την φυσιολογική κυτταρική διαίρεση. Οι λόγοι που κρύβονται πίσω από αυτές τις αλλαγές ποικίλλουν από κληρονομούμενες μεταλλάξεις, σε περιβαλλοντικούς παράγοντες, όπως η υπεριώδης ακτινοβολία, οι ακτίνες Χ, τα προϊόντα καπνού και οι ιοί¹. Πράγματι η επίδραση αυτών των παραγόντων οδηγεί στη μετατροπή φυσιολογικών κυττάρων σε καρκινικά με ανεξέλεγκτη ανάπτυξη. Συχνά, αν ο καρκίνος δεν αντιμετωπιστεί έγκαιρα, είναι δυνατόν τα καρκινικά κύτταρα να εξαπλωθούν πέρα από τα κανονικά όριά τους και σε περιβάλλοντες ιστούς, κι έτσι να εξελιχθούν σε διηθητικό καρκίνο. Έτσι τα κύτταρα απομακρύνονται από τον πρωτογενή όγκο και εισβάλλουν σε άλλα μέρη του σώματος μέσω των αιμοφόρων αγγείων και των λεμφαγγείων οδηγώντας σε μετάσταση, δηλαδή στη δημιουργία καρκινικού ιστού σε άλλα σημεία το σώματος. Κατ' επέκταση έχει προταθεί ο όρος *καλοήθης καρκίνος* όταν τα καρκινικά κύτταρα έχουν την τάση να παραμένουν στην αρχική τους τοποθεσία και *κακοήθης καρκίνος* όταν τα καρκινικά κύτταρα έχουν την τάση να εισβάλλουν σε άλλους ιστούς².

Τα τελευταία χρόνια έχουν προταθεί πολλές προσεγγίσεις για τη θεραπεία του καρκίνου ανάλογα με το είδος, τον ιστό που έχει προσβληθεί και το ρυθμό ανάπτυξης του όγκου, όπως χειρουργική αφαίρεση του όγκου, χρήση ακτινοβολίας για την θανάτωση των καρκινικών κυττάρων και φαρμακευτική αγωγή. Στόχος της φαρμακοθεραπείας του καρκίνου είναι συνήθως η επαγωγή της απόπτωσης των καρκινικών κυττάρων, η οποία επιτυγχάνεται μέσω καταστροφής του DNA τους ή/και εμποδίζοντας την κυτταρική διαίρεσή τους, διαμέσου παρεμπόδισης της φάσης «σύνθεσης» (S) του κυτταρικού κύκλου, της πρωτεϊνοσύνθεσης ή της αντιγραφής του κυττάρου σε πρώιμα στάδια της μίτωσης. Ένα σημαντικό πρόβλημα κατά τη φαρμακοθεραπεία του καρκίνου είναι ότι δεν επηρεά-

ζονται μόνο τα καρκινικά, αλλά και τα φυσιολογικά κύτταρα, κυρίως αυτά που διαιρούνται γρήγορα, όπως εκείνα του γαστρεντερικού σωλήνα, του μυελού των οστών και του θύλακα της τρίχας, γεγονός που οδηγεί σε ανεπιθύμητες ενέργειες όπως γαστρεντερική δυσφορία, μείωση αριθμού λευκών αιμοσφαιρίων και αλωπεκία^{3,4}. Ακόμη αξίζει να σημειωθεί ότι αυτά τα φάρμακα, εξαιτίας του μηχανισμού δράσης τους, που στοχεύει στα κύτταρα που πολλαπλασιάζονται γρήγορα (όπως τα καρκινικά), συχνά αποτυγχάνουν να εξουδετερώσουν τα βραδέως ή μη διαιρούμενα καρκινικά κύτταρα. Επίσης υπάρχουν περιπτώσεις όπου αυτές οι φαρμακοθεραπευτικές προσεγγίσεις αποτυγχάνουν ακόμη και σε διαιρούμενα καρκινικά κύτταρα που είναι λιγότερο ευαίσθητα σε αυτά τα φάρμακα, κυρίως όταν χορηγούνται σε μικρότερες δόσεις για να αποφευχθούν ανεπιθύμητες ενέργειες. Είναι λοιπόν εμφανής η ανάγκη για βελτιστοποίηση του δοσολογικού σχήματος κατά περίπτωση, ώστε να επιτυγχάνεται το καλύτερο δυνατό κλινικό αποτέλεσμα με γνώμονα την ασφάλεια και την αποτελεσματικότητα κατά την χρήση του εκάστοτε χημειοθεραπευτικού παράγοντα.

Προκειμένου να γίνει κάτι τέτοιο εφικτό, θα πρέπει με ορθολογικό τρόπο να αξιολογηθούν ταυτόχρονα τα χαρακτηριστικά του φαρμάκου, του ασθενή και του εκάστοτε καρκίνου. Μια τέτοια δυνατότητα έρχονται να προσφέρουν σύγχρονες τεχνικές μαθηματικής μοντελοποίησης, των οποίων η συνεισφορά στην ανάπτυξη και στη χρήση χημειοθεραπευτικών φαρμάκων έχει αναγνωρισθεί ιδιαίτερα τις τελευταίες δύο δεκαετίες.

Οι τεχνικές αυτές έχουν χρησιμοποιηθεί κατά την φαρμακοθεραπεία του καρκίνου για τη μαθηματική περιγραφή της εξέλιξης της νόσου, αλλά κυρίως για τη μαθηματική περιγραφή της σχέσης μεταξύ φαρμακοκινητικής (ΦΚ) και φαρμακοδυναμικής (ΦΔ) ενός χημειοθεραπευτικού φαρμάκου. Ο όρος φαρμακοκινητική χρησιμοποιείται για να περιγράψει τις διαδικασίες απορρόφησης, βιομετατροπής, κατανομής και απομάκρυνσης του φαρμάκου απ' τον οργανισμό. Οι διαδικασίες αυτές εκφράζονται μαθηματικά με τη χρήση μοντέλων που περιγράφουν τη συγκέντρωση του φαρμάκου σε συνάρτη-

ση με το χρόνο. Ο όρος φαρμακοδυναμική χρησιμοποιείται για να περιγράψει όλες τις διαδικασίες που είναι αποτέλεσμα της δράσης του φαρμάκου και περιγράφονται μαθηματικά με τη χρήση μοντέλων του παρατηρούμενου αποτελέσματος (π.χ. μείωση του αριθμού των καρκινικών κυττάρων, φυσιολογικές ή βιοχημικές παράμετροι) συναρτήσει της συγκέντρωσης του φαρμάκου. Συνήθως τα φαρμακοκινητικά μοντέλα συνδέονται με τα φαρμακοδυναμικά οδηγώντας σε μια μαθηματική σχέση που συνδέει το παρατηρούμενο αποτέλεσμα ως προς τη συγκέντρωση του φαρμάκου στο αίμα ή/και τους ιστούς, συναρτήσει του χρόνου. Έτσι με τη χρήση ΦΚ/ΦΔ μοντέλων μπορεί κανείς να έχει την πλήρη περιγραφή αυτής της σχέσης αλλά και να ποσοτικοποιήσει τυχόν αποκλίσεις του κάθε ανθρώπου από αυτή τη σχέση, εξηγώντας μάλιστα και που οφείλονται⁵⁻¹¹. Ειδικά στα χημειοθεραπευτικά φάρμακα συχνά παρατηρείται μία καθυστέρηση μεταξύ της επίτευξης των κατάλληλων συγκεντρώσεων στο αίμα και τους ιστούς και του επιθυμητού αποτελέσματος, καθιστώντας ακόμη πιο αναγκαία τη διερεύνηση και κατανόηση της σχέσης τους μέσω ΦΚ/ΦΔ μοντέλων με σκοπό των σχεδιασμό βελτιωμένων θεραπευτικών σχημάτων^{9,10}.

Ένα τυπικό σύνολο δεδομένων πληθυσμιακής ΦΚ/ΦΔ μοντελοποίησης περιλαμβάνει τόσο δεδομένα συγκέντρωσης του φαρμάκου ως προς το χρόνο, όσο και δεδομένα αποτελεσματικότητας (βάσει των ΦΔ δεικτών που επιλέχθηκαν) από τον υπό μελέτη πληθυσμό, π.χ. σε ασθενείς με καρκίνο για τον οποίο ενδείκνυται το υπό μελέτη φάρμακο. Συνήθως για την ανάπτυξη ΦΚ/ΦΔ μοντέλων χρησιμοποιείται η προσέγγιση των μοντέλων μικτών επιδράσεων (mixed-effects models), δηλαδή μοντέλα τα οποία μπορούν να ενσωματώνουν και να συναξιολογούν τόσο σταθερές επιδράσεις (δηλαδή επιδράσεις που δεν μεταβάλλονται ανάλογα με το δείγμα όπως είναι το δοσολογικό σχήμα σε μια συγκεκριμένη μελέτη), όσο και τυχαίες επιδράσεις (δηλαδή επιδράσεις που διαφέρουν από δείγμα σε δείγμα όπως διαφορετικά χαρακτηριστικά του κάθε ασθενούς, σφάλματα μέτρησης κ.τ.λ.). Κατά την εφαρμογή αυτής της προσέγγισης θεωρείται ότι για όλα τα άτομα το μοντέλο είναι ίδιο ως τη μα-

θηματική σχέση, αλλά η τιμή της κάθε παραμέτρου ποικίλει μεταξύ των ατόμων (διατομική μεταβλητότητα). Πολλές φορές για το ίδιο άτομο η τιμή των παραμέτρων μπορεί να μεταβάλλεται σημαντικά σε διαφορετικές χρονικές στιγμές (ενδοατομική μεταβλητότητα). Με τη χρήση σύγχρονων λογισμικών όπως NONMEM, Winnonlin, Phoenix και Monolix μπορεί να γίνει ανάπτυξη 'πληθυσμιακών' ΦΚ/ΦΔ μοντέλων βάσει των οποίων μπορεί να γίνει βελτιστοποίηση και εξατομίκευση του δοσολογικού σχήματος του φαρμάκου με στόχο τη μέγιστη αποτελεσματικότητα και τις ελάχιστες ανεπιθύμητες ενέργειες για κάθε ασθενή ξεχωριστά^{5,6,8,12,13}.

Λαμβάνοντας υπόψιν όλα τα παραπάνω γίνεται εύκολα αντιληπτή η σημασία της χρήσης τεχνικών μαθηματικής μοντελοποίησης στην ανάπτυξη και τη χρήση αντικαρκινικών φαρμάκων. Σκοπός της παρούσας εργασίας είναι να συνοψίσει της βασικές αρχές της μαθηματικής μοντελοποίησης και τη συνεισφορά της όπως αυτή έχει εφαρμοστεί στη θεραπεία του καρκίνου. Στις παρακάτω ενότητες παρουσιάζεται η ανάπτυξη και η χρήση μαθηματικών μοντέλων που περιγράφουν την εξέλιξη της νόσου, την φαρμακοκινητική αντικαρκινικών φαρμάκων, την φαρμακοδυναμική αντικαρκινικών φαρμάκων και μοντέλα που συσχετίζουν την φαρμακοκινητική με την φαρμακοδυναμική με στόχο την βελτιστοποίηση του κλινικού αποτελέσματος.

2. Μοντέλα Εξέλιξης Καρκινικής Νόσου

Τα μοντέλα εξέλιξης καρκινικής νόσου αφορούν τη μαθηματική περιγραφή του μεγέθους ενός όγκου ή/και του πολλαπλασιασμού των καρκινικών κυττάρων ως προς το χρόνο. Τα μοντέλα εξέλιξης καρκινικής νόσου έχουν εφαρμοστεί σε πειραματικά δεδομένα από μελέτες σε κύτταρα ζώων ή ανθρώπων, μελέτες σε ζώα καθώς και σε κλινικές μελέτες. Διάφορα μοντέλα, από απλές εξισώσεις έως πολύπλοκα συστήματα διαφορικών εξισώσεων έχουν προταθεί για να περιγράψουν την εξέλιξη του καρκίνου ως προς το χρόνο¹⁴.

Μία από τις πρώτες και πιο ευρέως χρησιμοποιούμενες εξισώσεις που χρησιμοποιήθηκαν για την περιγραφή της χρονικής εξέλιξης του καρκίνου

είναι το μοντέλο Gompertz, το οποίο εισήχθη στη μελέτη του καρκίνου τη δεκαετία του 1960. Το μοντέλο Gompertz δίνεται από την εξίσωση (1):

$$y(t) = y_0 \cdot e^{\frac{A}{a}(1-e^{-at})} \quad (1)$$

Αυτό το μοντέλο περιλαμβάνει τρεις παραμέτρους ουσιαστικά τρεις παραμέτρους: τη y_0 που αντανακλά το μέγεθος του όγκου τη χρονική στιγμή 0, την A που αντανακλά τον αρχικό ρυθμό αύξησης του όγκου και την a που αντανακλά τον ρυθμό επιβράδυνσης της διαδικασίας ο οποίος οφείλεται στον φυσικό θάνατο των καρκινικών κυττάρων¹⁴.

Μία άλλη έκφραση αυτής της εξίσωσης είναι ένα σύστημα διαφορικών εξισώσεων που επιτρέπει την καλύτερη κατανόηση των δύο ταυτόχρονων διεργασιών που συμβαίνουν δηλαδή την εκθετική αύξηση του όγκου με μη σταθερό ρυθμό (ρ), ο οποίος ρυθμός μειώνεται εκθετικά όσο ο όγκος αυξάνεται (εξίσωση 2):

$$\begin{cases} \frac{dy}{dt} = \rho \cdot y \\ \frac{d\rho}{dt} = -a\rho \end{cases} \quad (2)$$

Η εξίσωση 1 είναι στην ουσία μία λύση του συστήματος διαφορικών εξισώσεων (2), όταν $\rho(t=0)=A$. Το μοντέλο αυτό είναι σχετικά απλό, παρόλα αυτά έχει φυσιολογική σημασία καθώς περιγράφει τη φυσιολογική πορεία ζωής των καρκινικών κυττάρων η οποία εξαρτάται από τη διαθεσιμότητα οξυγόνου και θρεπτικών στοιχείων αλλά και το γεγονός ότι το μέγεθος του όγκου μπορεί να φτάσει μέχρι ένα μέγιστο (τιμή κορεσμού). Συνεπώς, το συγκεκριμένο σχετικά απλό μοντέλο επιτρέπει την διερεύνηση των επιδράσεων φαρμάκων στο μέγεθος του όγκου¹⁴.

Είναι σημαντικό να αναφερθεί ότι μέσω των τεχνικών μαθηματικής μοντελοποίησης έχει περιγραφεί με επιτυχία η εξέλιξη του μεγέθους του όγκου ως προς το χρόνο σε ασθενείς με καρκίνο του παχέος εντέρου, μη μικροκυτταρικό καρκίνο του πνεύμονα, καρκίνωμα νεφρικών κυττάρων, καρκίνο του θυρεοειδούς, μεταστατικό καρκίνο του μαστού, καρκίνο του προστάτη, γαστρεντερικό στρωματικό όγκο και γλοιώματα χαμηλού βαθμού. Επίσης,

αξίζει να σημειωθεί ότι η ανάπτυξη των μοντέλων αυτών βασίστηκε στο μοντέλο Gompertz, ενώ το λογισμικό που χρησιμοποιήθηκε συχνότερα ήταν το NONMEM¹⁴.

Συνοπτικά, γίνεται αντιληπτό ότι η μελέτη των μοντέλων εξέλιξης της νόσου ως προς το χρόνο παρέχει σημαντικές πληροφορίες για την κατανόηση του ρυθμού και του τρόπου ανάπτυξης του υπό μελέτη καρκίνου, αλλά και για τον έλεγχο θεραπευτικών προσεγγίσεων.

3. Φαρμακοκινητικά Μοντέλα

Μια περίπλοκη διαδικασία ξεκινά μόλις το φάρμακο εισέλθει στο σώμα. Αυτή η διαδικασία μπορεί να χωριστεί σε τέσσερις φάσεις: την απορρόφηση, την κατανομή, το μεταβολισμό και την απομάκρυνση, από τα αρχικά των οποίων στην αγγλική προκύπτει το ακρωνύμιο ADME (Absorption, Distribution, Metabolism, Elimination)^{5,7}:

- Η φάση της απορρόφησης (Absorption) αφορά στον τρόπο με τον οποίο το φάρμακο εισέρχεται στην κυκλοφορία του αίματος αμέσως μετά την χορήγησή του και αφορά όλες τις οδούς χορήγησης (π.χ. από το στόματος, ενδομυϊκά, υποδόρια), πέραν της ενδοφλέβιας χορήγησης όπου πρακτικά αυτή η φάση παρακάμπτεται.

- Η φάση της κατανομής (Distribution) περιγράφει τον τρόπο με τον οποίο το φάρμακο κατανέμεται στα υγρά και τους ιστούς του σώματος.

- Ο μεταβολισμός (Metabolism) αναφέρεται σε ένα σύνολο χημικών αντιδράσεων που πραγματοποιεί ο οργανισμός μετατρέποντας το φάρμακο σε μεταβολίτες οι οποίοι συνήθως απεκκρίνονται ευκολότερα απ' ό,τι το αρχικό (μητρικό) φάρμακο. Οι μεταβολίτες μπορεί να είναι είτε αδρανείς, είτε ενεργοί και μάλιστα κάποιες φορές με μεγαλύτερη ισχύ από το μητρικό μόριο.

- Η φάση της απομάκρυνσης (Elimination) περιγράφει τον τρόπο με τον οποίο τα φάρμακα και οι μεταβολίτες τους απομακρύνονται από το σώμα συνήθως μέσω της νεφρικής ή/και της ηπατικής κάθαρσης και αποβάλλονται στα ούρα, τα κόπρανα ή/και την χολή.

Σκοπός της φαρμακοκινητικής μοντελοποίησης

είναι η εξαγωγή μίας μαθηματικής σχέσης που να περιγράφει την συγκέντρωση του φαρμάκου στο πλάσμα (ή/και τους ιστούς) ως προς το χρόνο μετά από τη χορήγηση μίας συγκεκριμένης δόσης του φαρμάκου (εξίσωση 3):

$$C_p = f_{PK}(dose, time) \quad (3)$$

όπου, C_p είναι η συγκέντρωση του φαρμάκου στο πλάσμα και f_{PK} είναι μια συνάρτηση που με διάφορες μαθηματικές εκφράσεις και κατάλληλες παραμέτρους εκφράζει όλες τις ADME διαδικασίες.

Ένα τέτοιο μοντέλο για να αναπτυχθεί πρέπει να στηριχθεί σε δεδομένα φαρμακοκινητικών μελετών, δηλαδή κλινικές μελέτες σε ανθρώπους όπου λαμβάνεται δείγμα αίματος ξεκινώντας από τη χρονική στιγμή της χορήγησης (χρόνος 0) ανά τακτά χρονικά διαστήματα και στο οποίο μετράται η συγκέντρωση του φαρμάκου. Μια συνήθης προσέγγιση για την ανάλυση τέτοιων δεδομένων και την εξαγωγή φαρμακοκινητικού μοντέλου (που να περιγράφει τη μεταβολή της συγκέντρωσης ως προς το χρόνο), είναι η λεγόμενη *διαμερισματική μοντελοποίηση*, η οποία βασίζεται στην αρχή ότι το σώμα μπορεί να χωριστεί σε διάφορα διαμερίσματα στα οποία το φάρμακο συμπεριφέρεται κινητικά με τον ίδιο τρόπο. Πράγματι, από τη στιγμή που το φάρμακο θα φτάσει στην κυκλοφορία του αίματος, δεδομένου ότι η καρδιά αντλεί αίμα συνεχώς μπορεί να γίνει η παραδοχή ότι η συγκέντρωση του φαρμάκου είναι ίδια σε όλο τον όγκο αίματος του σώματος σε μια δεδομένη χρονική στιγμή. Το αίμα συνήθως αποτελεί το λεγόμενο κεντρικό διαμέρισμα και συνήθως οι μετρήσεις που χρησιμοποιούνται για την ανάπτυξη του μοντέλου προέρχονται από αυτό. Η παραδοχή αυτή δεν μπορεί πάντα να γίνει και για άλλους ιστούς ή/και υγρά του σώματος τα οποία ανάλογα με τις ιδιότητες κατανομής του κάθε φαρμάκου αντιμετωπίζονται είτε ως ένα ενιαίο διαμέρισμα με το κεντρικό (περίπτωση μονο-διαμερισματικού μοντέλου), είτε ως ένα ξεχωριστό διαμέρισμα (περίπτωση δι-διαμερισματικού μοντέλου), είτε ως πολλά ξεχωριστά διαμερίσματα (ν-διαμερισματικό μοντέλο)^{5,7}. Μία σχηματική απεικόνιση ενός δι-διαμερισματικού μοντέλου παρατίθεται στην **Σχήμα 1**:



Σχήμα 1. Σχηματική απεικόνιση ενός δι-διαμερισματικού μοντέλου, όπου: K_0^1 = σταθερά ρυθμού απορρόφησης του φαρμάκου, K_{10} = σταθερά ρυθμού απέκκρισης του φαρμάκου, K_{12} = σταθερά ρυθμού μεταφοράς του φαρμάκου από το κεντρικό διαμέρισμα στο περιφερικό διαμέρισμα, K_{21} = σταθερά ρυθμού επιστροφής του φαρμάκου από το περιφερικό στο κεντρικό διαμέρισμα.

Τα τελευταία χρόνια αναπτύσσονται όλο και περισσότερα φαρμακοκινητικά μοντέλα για πολλά αντικαρκινικά φάρμακα προσφέροντας σημαντική πληροφορία για τις ιδιότητές τους και τις διαδικασίες ADME μετά την χορήγησή τους σε ανθρώπους με διαφορετικά χαρακτηριστικά¹⁵⁻²¹. Παρακάτω, παρατίθενται τρία χαρακτηριστικά παραδείγματα φαρμακοκινητικών μοντέλων αντικαρκινικών φαρμάκων που αναπτύχθηκαν για τα φάρμακα trebananib, mephalan και gemcitabine.

Trebananib

Το 2012, ο Jian-Feng Lu και οι συνεργάτες του ανέπτυξαν ένα πληθυσμιακό φαρμακοκινητικό μοντέλο του παράγοντα trebananib (φάρμακο με αντιαγγειογενετική δράση που αναστέλλει τη δράση της αγγειοποιητίνης-1 και της αγγειοποιητίνης-2 με τον υποδοχέα Tie-2), χρησιμοποιώντας δεδομένα συγκέντρωσης στο πλάσμα ως προς το χρόνο από 141 ασθενείς με καρκίνο (32 με προχωρημένους συμπαγείς όγκους και 109 με προχωρημένο καρκίνο ωοθηκών) στους οποίους χορηγήθηκε ενδοφλέβια το φάρμακο²². Οι συγκεντρώσεις του φαρμάκου αναλύθηκαν με τη χρήση του λογισμικού NONMEM. Οι ερευνητές κατέληξαν ότι το μοντέλο που χαρακτηρίζει καλύτερα την κινητική του trebananib είναι ένα γραμμικό δι-διαμερισματικό μοντέλο. Η

επίδραση διαφόρων συµµεταβλητών (δηµογραφικά χαρακτηριστικά και βιοχηµικές εργαστηριακές µετρήσεις) διερευνήθηκε και αποδείχθηκε ότι τα επίπεδα κάθαρσης της κρεατίνης του ασθενούς συνδέονται σηµαντικά µε την κάθαρση του φαρµάκου επηρεάζοντας το χρόνο παραµονής του στον οργανισµό. Επιπλέον, το βάρος και το φύλο βρέθηκε ότι επηρεάζουν σηµαντικά την τιµή του όγκου κατανοµής.

Το µοντέλο αυτό χρησιµοποιήθηκε για την διερεύνηση της σχέσης µεταξύ της «έκθεσης» του οργανισµού στο φάρµακο και την κλινική απόκριση σε 160 ασθενείς µε υποτροπιάζοντα καρκίνο των ωοθηκών που έπαιρναν paclitaxel και trebananib ή placebo. Χάρη στο µοντέλο που αναπτύχθηκε, αποδείχθηκε ότι ταυτόχρονη χορήγηση paclitaxel δεν επηρεάζει την κινητική του trebananib. Ακόµη το προαναφερθέν φαρµακοκινητικό µοντέλο ήταν η αρχή ώστε µε Monte Carlo προσοµοιώσεις να γίνει διερεύνηση της πιθανότητας επιβίωσης των ασθενών, της εξέλιξης της νόσου και της εµφάνισης ανεπιθύµητων ενεργειών συναρτήσει της έκθεσης τους στο trebananib, αποτελώντας τη βάση για την επιλογή της κατάλληλης δόσης.

Melphalan

Το melphalan είναι ένας παράγοντας αλκυλίωσης ο οποίος χρησιµοποιείται σε παιδιά µε συµπαγείς όγκους ή κακοήθεις αιματολογικούς καρκίνους και σε ενήλικες µε πολλαπλό µυέλωµα. Το 2007, ο Nath και οι συνεργάτες του ανέπτυξαν ένα πληθυσµιακό φαρµακοκινητικό µοντέλο για το melphalan σε παιδιά µε κακοήθεις παθήσεις²³. Στα πλαίσια αυτά συλλέχτηκαν συγκεντρώσεις melphalan από 59 παιδιά µεταξύ 0.3 και 18 ετών, ενώ τα δεδοµένα επεξεργάστηκαν µέσω του λογισµικού NONMEM. Οι ερευνητές κατέληξαν σε ένα δι-διαµερισµατικό µοντέλο. Σηµαντικές συµµεταβλητές για την κάθαρση φάνηκε να είναι το βάρος του παιδιού, ο ρυθµός σπειραµατικής διήθησης (GFR) και η συγχορήγηση carboplatin.

Δεδοµένου ότι για την επίτευξη του βέλτιστου αποτελέσµατος θα πρέπει η $AUC_{\text{Melphalan}}$ να είναι ίση µε 9 µg h/mL, βάση του πληθυσµιακού µοντέλου

που αναπτύχθηκε, οι ερευνητές κατέληξαν ότι η κατάλληλη δόση του melphalan, που θα πρέπει να χορηγείται σε κάθε παιδί, µπορεί να υπολογιστεί µέσω της σχέσης (4):

$$[\text{melphalan}][\text{mg}] = AUC_{\text{Target}}[\text{mg} \cdot \frac{\text{h}}{\text{L}}] \cdot (0.34 \cdot WT - 3.17 \cdot CPT + 0.0377 \cdot GFR) \quad (4)$$

όπου WT είναι το βάρος του ασθενούς (σε χιλιόγραµµα), CPT είναι η ταυτόχρονη θεραπεία µε carboplatin (0 = όχι, 1 = ναι) και GFR (ml/min/1.73 m²).

Σηµειώνεται ακόµη ότι το µοντέλο που αναπτύχθηκε χρησιµοποιήθηκε προκειµένου να είναι εφικτός ο ακριβής υπολογισµός της AUC µετά τη χορήγηση του φαρµάκου στο κάθε παιδί µε µόνο τρία σηµεία δειγµατοληψίας. Έτσι µπορεί να αποφευχθεί η συχνή αιµοληψία στα παιδιά αλλά ταυτόχρονα δίδεται η δυνατότητα καλύτερου ελέγχου των επιπέδων του φαρµάκου για τη βελτιστοποίηση της δόσης.

Gemcitabine

Το gemcitabine είναι ένα δεόξυ-νουκλεοσιδικό ανάλογο που µιµείται τη δράση της δεόξυ-κυτιδίνης. Μετά τη χορήγησή του υφίσταται φωσφορυλίωση ενδοκυττάρια και µετατρέπεται στο ενεργό τριφωσφορικό του σύµπλοκο, ενώ απενεργοποιείται προς τον ανενεργό µεταβολίτη 2',2'-difluorodeoxyuridine (dFdU), µέσω δράσης του ενζύµου cytidine deaminase (CDA).

Το 2010, ο Sugiyama και οι συνεργάτες του περιέγραψαν τη φαρµακοκινητική του gemcitabine βασισµένοι σε δεδοµένα από 250 Ιάπωνες ασθενείς µε καρκίνο που έλαβαν 800 ή 1,000 mg/m² gemcitabine µε ενδοφλέβια έγχυση διάρκειας 30 λεπτών²⁴. Οι συγκεντρώσεις πλάσµατος του gemcitabine και του µεταβολίτη dFdU επεξεργάστηκαν µε το λογισµικό NONMEM. Το γραµµικό δι-διαµερισµατικό µοντέλο φάνηκε να περιγράφει καλά τόσο τη φαρµακοκινητική του gemcitabine, όσο και του ανενεργού µεταβολίτη dFdU. Ο γονότυπος του ενζύµου cytidine deaminase (CDA) στον κάθε άνθρωπο φάνηκε να επηρεάζει σηµαντικά την κάθαρση του φαρµάκου.

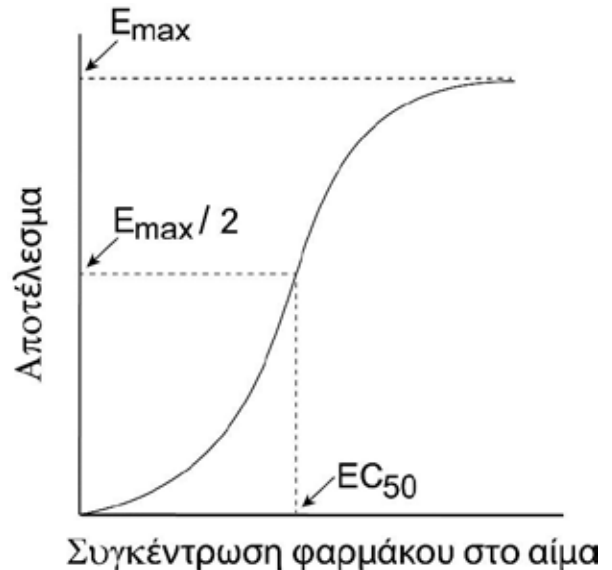
Συγκεκριμένα υπολογίστηκε μείωση κατά 64% της κάθαρσης του gemcitabine σε φορείς του ομόζυγου γονότυπου CDA*3, μείωση κατά 17% της κάθαρσης του gemcitabine σε φορείς του ετερόζυγου γονότυπου*3 και αύξηση 7% για την κάθαρση gemcitabine ανά μεταλλαγμένο αλληλόμορφο του CDA-31delC. Επίσης, η συγχορήγηση S-1 αντικαρκινικού παράγοντα βρέθηκε ως σημαντική συμμεταβλητή της κάθαρσης του gemcitabine. Η ηλικία και μειωμένη κάθαρση της κρεατινίνης φάνηκε να αποτελούν σημαντικές συμμεταβλητές για την κάθαρση του μεταβολίτη dFdU.

Χάρη σ' αυτήν την ανάλυση οι επιστήμονες μπόρεσαν να εξηγήσουν τις απειλητικές για τη ζωή ανεπιθύμητες ενέργειες που παρατηρήθηκαν σε κάποιους ανθρώπους που λάμβαναν κανονικά τη χορηγούμενη δόση. Πράγματι οι άνθρωποι αυτοί φάνηκε να είναι φορείς του γονότυπου CDA*3 έχοντας έτσι μειωμένη κάθαρση του φαρμάκου. Έτσι με τον τύπο για τον υπολογισμό της κάθαρσης που αναπτύχθηκε μπορεί να γίνει καλύτερη επιλογή της δόσης του φαρμάκου και σε αυτούς τους ασθενείς.

4. Φαρμακοδυναμικά Μοντέλα

Η φαρμακοδυναμική εξετάζει τη σχέση μεταξύ της συγκέντρωσης του φαρμάκου και του αποτελέσματος συναξιολογώντας τόσο τη θεραπευτική δράση όσο και τις ανεπιθύμητες ενέργειες.

Συνήθως η θεραπευτική δράση του φαρμάκου εκδηλώνεται μέσω της σύνδεσης αυτού με έναν κυτταρικό υποδοχέα, πράγμα το οποίο πυροδοτεί μια αλυσίδα αντιδράσεων εντός ή/και εκτός του κυττάρου που οδηγεί τελικά στο επιθυμητό θεραπευτικό αποτέλεσμα⁵. Για τα περισσότερα φάρμακα, η συγκέντρωσή τους στη περιοχή του σώματος που βρίσκεται ο υποδοχέας καθορίζει και την ένταση του αποτελέσματος. Ωστόσο, και άλλοι παράγοντες μπορούν να επηρεάσουν τη δράση του φαρμάκου, όπως η πυκνότητα των υποδοχέων στην κυτταρική επιφάνεια, ο μηχανισμός με τον οποίο ένα σήμα μεταδίδεται στο κύτταρο από δευτερεύοντες αγγελιοφόρους, καθώς και ρυθμιστικοί παράγοντες που ελέγχουν την γονιδιακή μετάφραση και την παραγωγή πρωτεϊνών. Αυτή η πολυεπίπεδη ρύθμιση έχει ως αποτέλεσμα τη



Σχήμα 2. Σχηματική απεικόνιση της σχέσης συγκέντρωσης-αποτελέσματος (ως ποσοστό του μέγιστου).

διακύμανση της ευαισθησίας στο αποτέλεσμα του φαρμάκου από το ένα άτομο στο άλλο⁵.

Σε αυτό το σημείο να τονίσουμε ότι η ποσοτικοποίηση του αποτελέσματος δεν είναι εύκολη υπόθεση. Η εύρεση κατάλληλων δεικτών που να μπορούν να ποσοτικοποιηθούν με ακρίβεια, χωρίς να επιβαρύνουν τον ασθενή είναι ένα σημαντικό και δύσκολο μέρος των φαρμακοδυναμικών και κλινικών μελετών^{6,25}. Όσον αφορά την μελέτη της δράσης των αντικαρκινικών φαρμάκων για την ποσοτικοποίηση του αποτελέσματος συνήθως χρησιμοποιούνται δείκτες όπως το μέγεθος του όγκου, η διάρκεια ζωής του ασθενή, ο ρυθμός πολλαπλασιασμού των καρκινικών κυττάρων κ.α.^{7,22,25}.

Όταν ένα φάρμακο μπει στον οργανισμό διαχέεται στο αίμα και τους ιστούς μέχρι να φτάσει τον υποδοχέα για τον οποίο προορίζεται και να ξεκινήσει να επάγει την δράση του, ενώ ταυτόχρονα όλες οι φαρμακοκινητικές διαδικασίες (ADME) συνεχίζονται μέχρι την πλήρη απομάκρυνση του απ' τον οργανισμό. Κατά συνέπεια σε κάποια χρονική στιγμή το φάρμακο φτάνει σε μία μέγιστη συγκέντρωση στο αίμα (C_{max}) και στην ίδια ή σε κάποια άλλη

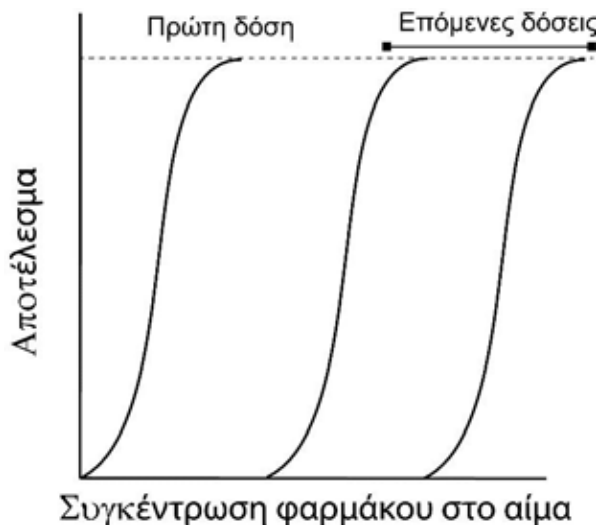
χρονική στιγμή (ανάλογα με τις ιδιότητες του φαρμάκου) φτάνει σε ένα μέγιστο αποτέλεσμα (E_{max}). Η E_{max} είναι μια πολύ σημαντική παράμετρος στην αξιολόγηση της αποτελεσματικότητας ενός φαρμάκου. Εξίσου σημαντική παράμετρος είναι και η συγκέντρωση στην οποία επιτυγχάνεται το 50% του μέγιστου αποτελέσματος που αναφέρεται ως αποτελεσματική συγκέντρωση 50% ή EC_{50} (Σχήμα 2). Επίσης, μια ακόμη παράμετρος ενδεικτική της αποτελεσματικότητας ενός φαρμάκου είναι και η διάρκεια του αποτελέσματος^{5,25}.

Για ορισμένα φάρμακα, η αποτελεσματικότητα μπορεί να μειωθεί με τη συνεχή χρήση, πράγμα το οποίο αναφέρεται ως ανοχή (Σχήμα 3). Η ανοχή μπορεί να προκληθεί από φαρμακοκινητικούς παράγοντες, όπως αυξημένο μεταβολισμό φαρμάκου, που μειώνουν τις συγκεντρώσεις που επιτυγχάνονται μετά από μία συγκεκριμένη δόση. Μπορεί επίσης να υπάρχει φαρμακοδυναμική ανοχή, η οποία συμβαίνει όταν η ίδια συγκέντρωση στον υποδοχέα έχει ως αποτέλεσμα μειωμένη δράση και επίσης παρατηρείται μετά από επαναλαμβανόμενη έκθεση⁸.

Πολλά μοντέλα - εξισώσεις έχουν προταθεί για την μαθηματική μοντελοποίηση της φαρμακοδυναμικής διαφόρων φαρμάκων ως προς τη συγκέντρωση του φαρμάκου στην περιοχή δράσης. Βασισμένο στη θεωρία των υποδοχέων, το μοντέλο Michaelis-Menten έχει χρησιμοποιηθεί για να περιγράψει τη σχέση μεταξύ συγκέντρωσης - αποτελέσματος. Η απόκριση (δράση του φαρμάκου) θεωρείται ότι είναι ανάλογη με τον αριθμό των υποδοχέων που έχουν συνδεθεί με το φάρμακο έτσι ώστε το μέγιστο αποτέλεσμα επιτυγχάνεται εάν καταληφθούν όλοι οι διαθέσιμοι υποδοχείς. Με βάση αυτήν την παρατήρηση προκύπτει η εξίσωση (5):

$$E = \frac{E_{max} \cdot C}{C + K_d} \quad (5)$$

όπου E_{max} αντιστοιχεί στο μέγιστο αποτέλεσμα, C η συγκέντρωση του φαρμάκου στον ιστό δράσης και K_d είναι η σταθερά κορεσμού η οποία ισούνται με τη συγκέντρωση του φαρμάκου όπου επιτυγχάνεται $E_{max}/2$. Η σχέση αυτή αποτελεί τη βάση ενός από τα πιο συνηθισμένα μοντέλα, που χρησιμοποιούνται για την περιγραφή της σχέσης μεταξύ αποτελέσμα-



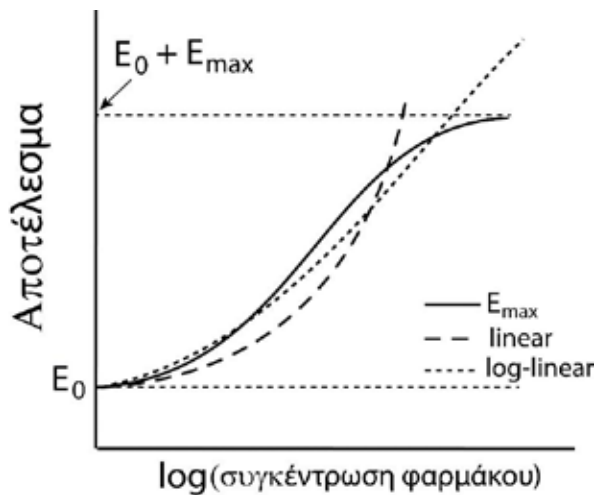
Σχήμα 3. Σχηματική απεικόνιση της σχέσης συγκέντρωσης - αποτελέσματος (ως ποσοστό του μέγιστου) στην περίπτωση που έχει αναπτυχθεί ανοχή μετά από επαναλαμβανόμενες δόσεις καθώς για την επίτευξη του ίδιου αποτελέσματος απαιτούνται υψηλότερες συγκεντρώσεις του φαρμάκου.

τος και συγκέντρωσης του φαρμάκου. Αυτό το μοντέλο γενικά αναφέρεται ως σιγμοειδές E_{max} και δίνεται από την εξίσωση (6):

$$E = E_0 \pm \frac{E_{max} \cdot C^n}{C^n + EC_{50}^n} \quad (6)$$

όπου C είναι η συγκέντρωση του φαρμάκου και E_0 τα επίπεδα της μετρούμενης απόκρισης όταν δεν υπάρχει φάρμακο. Η επιπλέον παράμετρος n ονομάζεται συντελεστής του Hill και συμπεριλαμβάνεται για να παράσχει ένα πιο ευέλικτο μοντέλο. Όταν το μοντέλο χρησιμοποιείται με $n = 1$, τότε ονομάζεται απλά ως μοντέλο $E_{max}^{5,26}$.

Για να μπορέσουμε να υπολογίσουμε τις παραμέτρους στο σιγμοειδές μοντέλο E_{max} είναι απαραίτητο να έχουμε εκτιμήσεις του αποτελέσματος από το E_0 έως ένα σημείο όπου φαίνεται ότι έχει επιτευχθεί το μέγιστο $E_0 + E_{max}$. Εάν αυτό δεν είναι εφικτό, είναι προτιμότερο να χρησιμοποιηθεί ένα πιο απλό μοντέλο όπως το γραμμικό μοντέλο (*linear model*) (εξίσωση 7):



Σχήμα 4. Σχηματική απεικόνιση της σχέσης συγκέντρωσης (άξονας X) – αποτελέσματος (άξονας Y) όπως αυτή περιγράφεται από το γραμμικό μοντέλο (linear model), το log-γραμμικό μοντέλο (log-linear model) και το σιγμοειδές μοντέλο Emax (Emax model).

$$E = E_0 \pm S \cdot C \quad (7)$$

όπου το S περιγράφει το αποτέλεσμα που οφείλεται από μία μονάδα της συγκέντρωσης του φαρμάκου C ή το log-γραμμικό μοντέλο (log-linear model) (8):

$$E = E_0 \pm S \log C \quad (8)$$

Στο **Σχήμα 4** απεικονίζονται ταυτόχρονα τα τρία αυτά μοντέλα, δηλαδή το σιγμοειδές μοντέλο Emax, το γραμμικό μοντέλο και το log-γραμμικό μοντέλο, δίνοντας και γραφικά τη σχέση συγκέντρωσης του φαρμάκου – αποτελέσματος όπως αυτή περιγράφεται από το κάθε ένα (**Σχήμα 4**).

Υπάρχουν αρκετές φορές όπου η επίτευξη του μέγιστου αποτελέσματος καθυστερεί σημαντικά σε σχέση με την επίτευξη της μέγιστης συγκέντρωσης, έτσι δεν μπορούμε να μοντελοποιήσουμε απευθείας την φαρμακοδυναμική απόκριση ως συνάρτηση των συστηματικών συγκεντρώσεων. Το πρόβλημα αυτό μπορεί να αντιμετωπισθεί με την προσθήκη υποθετικών διαμερισμάτων δράσης

(effect compartments) που μεσολαβούν μεταξύ συγκέντρωσης και αποτελέσματος. Αυτά τα υποθετικά διαμερίσματα θεωρείται ότι έχουν αμελητέο όγκο και επομένως δεν υπάρχει μεταφορά μάζας. Ένα τέτοιο μοντέλο για το διαμέρισμα δράσης δίνεται από την εξίσωση 9:

$$dC_e/dt = k_{e1}C_1 - k_{e0}C_e \quad (9)$$

όπου C_e η συγκέντρωση στο υποθετικό διαμέρισμα απόκρισης-αποτελέσματος, C_1 η συγκέντρωση στο αίμα και K_{e0} , k_{e1} είναι οι σταθερές μεταφοράς του φαρμάκου από το ένα διαμέρισμα στο άλλο. Με αυτόν τον τρόπο θεωρείται ότι για την επίτευξη το αποτέλεσμα το φάρμακο πρέπει να εισέλθει στο διαμέρισμα απόκρισης από την κυκλοφορία του αίματος. Η μεταφορά αυτή μπορεί να γίνεται με γραμμικό τρόπο, λογαριθμικό, Michaelis-Menten ή με οποιαδήποτε άλλη κινητική^{5,8}.

Ένας μεγάλος αριθμός φαρμακοδυναμικών μοντέλων έχει αναπτυχθεί για πολλά αντικαρκινικά φάρμακα προσφέροντας σημαντική πληροφορία για τη σχέση που διέπει την αποτελεσματικότητα και την ασφάλεια τους με τα επίπεδα τους στο αίμα. Παρακάτω, παρατίθενται τρία χαρακτηριστικά παραδείγματα φαρμακοδυναμικών μοντέλων αντικαρκινικών φαρμάκων που αναπτύχθηκαν για το tetraiodothyreoacetic acid, συνδυασμό gemcitabine - trabectedin, καθώς και paclitaxel - methotrexate.

Tetraiodothyreoacetic acid (tetrac)

Το tetraiodothyreoacetic acid (tetrac) είναι ένα απαμινωμένο ανάλογο θυρεοειδικής ορμόνης που δεσμεύεται στον υποδοχέα Integrin ανβ3, αναστέλλοντας έτσι τη δέσμευση των αγωνιστών L-thyroxine (T4) και 3,5,3'- triiodo-L-thyronine (T3). Σημειώνεται ότι το tetrac δρα στον υποδοχέα integrin ανβ3 ανεξαρτήτως παρουσίας T4 και T3. Αποτέλεσμα της δράσης του είναι η αναστολή του πολλαπλασιασμού καρκινικών κυττάρων και της αγγειογένεσης.

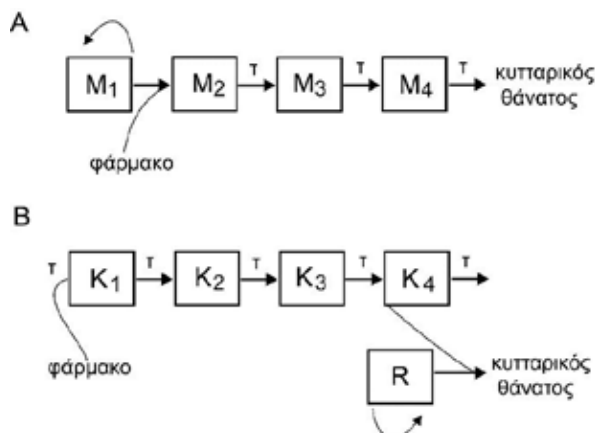
Το 2011, ο Hung-Yun Lin και οι συνεργάτες του πραγματοποίησαν μία σειρά in vitro μελετών σε διάφορες καρκινικές σειρές ανθρώπινων καρκι-

κών κυττάρων (μαστού, παχέος εντέρου, θυρεοειδούς και γλοιοβλαστώματος) με σκοπό την ανάπτυξη ενός φαρμακοδυναμικού μοντέλου που να χαρακτηρίζει τη δράση του tetrac σε ανθρώπινα καρκινικά κύτταρα²⁷. Οι ερευνητές αξιολόγησαν τον ρυθμό απόπτωσης των καρκινικών κυττάρων και τον αριθμό τους μετά από επώαση με tetrac σε διάφορες συγκεντρώσεις για διαφορετικά χρονικά διαστήματα. Τα δεδομένα μοντελοποιήθηκαν με τη χρήση του λογισμικού NONMEM, ενώ οι εξισώσεις που προέκυψαν στηρίζονταν στο απλό E_{max} μοντέλο με κάποιες παραλλαγές. Οι ερευνητές κατάφεραν να μοντελοποιήσουν τον αριθμό των καρκινικών κυττάρων που ετοιμάζονται να πολλαπλασιαστούν (φάση 1) και τον αριθμό των καρκινικών κυττάρων που είναι έτοιμα για πολλαπλασιασμό (φάση 2) συναρτήσει της συγκέντρωσης του tetrac.

Το μοντέλο που αναπτύχθηκε, στη συνέχεια χρησιμοποιήθηκε για την μελέτη της αποτελεσματικότητας του tetrac, του tetrac εγκλωβισμένου σε νανοσωματίδια, αλλά και των συνδυασμών tetrac - reservatrol καθώς και tetrac - cetuximab. Τα δεδομένα που προέκυψαν μέσω προσομοιώσεων, έδωσαν σημαντική πληροφορία για την μελέτη της φαρμακοδυναμικής του tetrac και την εξεύρεση της κατάλληλης δόσης του όταν αυτό χορηγείται ως μονοθεραπεία ή σε συνδυασμό με τα άλλα αντικαρκινικά.

Gemcitabine - Trabectedin

Οι Miao και συνεργάτες (2016) εφάρμοσαν τις τεχνικές μαθηματικής μοντελοποίησης για τη μελέτη της φαρμακολογικής αλληλεπίδρασης του συνδυασμού gemcitabine (δεόξυ-νουκλεοσιδικό ανάλογο που χρησιμοποιείται συχνά για τη θεραπεία καρκίνου του παγκρέατος) και trabectedin (παράγοντας που δεσμεύεται στο DNA οδηγώντας σε διαταραχή του κυτταρικού κύκλου)²⁸. Συλλέχθηκαν δεδομένα από την επώαση δύο κυτταρικών σειρών ανθρώπινου παγκρεατικού καρκίνου με τα δύο αυτά φάρμακα ταυτόχρονα. Δείκτες της αποτελεσματικότητας θεωρήθηκαν η κυτταροτοξικότητα των παραγόντων και η αναστολή του πολλαπλασιασμού των κυττάρων. Προκειμένου να μοντελοποιηθεί η καθυστέρηση μεταξύ της έκθεσης του φαρμάκου και



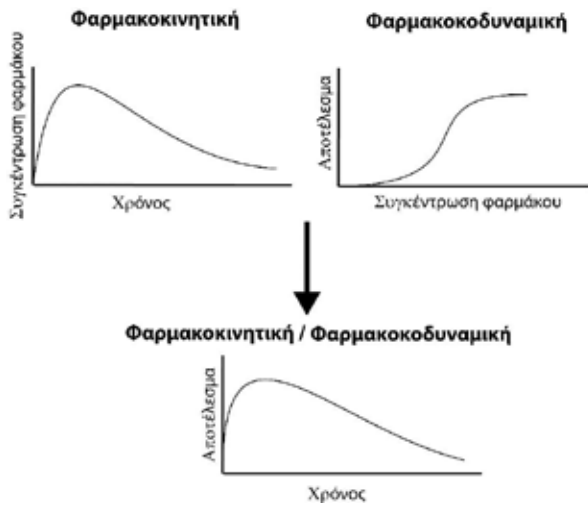
Σχήμα 5. Σχηματική απεικόνιση A) του μοντέλου cell distribution (CDM), B) του μοντέλου signal distribution (SDM).

των μη γραμμικών κυτταροτοξικών δράσεων ήταν απαραίτητη η εφαρμογή μοντέλου με υποθετικά διμερίσματα δράσης (effect compartments).

Το μοντέλο που αναπτύχθηκε ήταν ικανό να ποσοτικοποιήσει την συνεργιστική δράση των δυο φαρμάκων που εξετάστηκαν και να αποδείξει ότι ο συνδυασμός τους έχει αυξημένη αποτελεσματικότητα στην θεραπεία του καρκίνου το παγκρέατος. Είναι σημαντικό να σημειωθεί ότι αυτό το εύρημα προέκυψε μέσω in vitro πειραμάτων και μαθηματική μοντελοποίηση, δηλαδή χωρίς την διεξαγωγή κλινικών μελετών και την έκθεση ανθρώπων σε κυτταροτοξικούς παράγοντες.

Paclitaxel - Methotrexate

Η επιλογή του καταλληλότερου μοντέλου για την περιγραφή ενός φαινομένου είναι μια διαδικασία που απαιτεί εκτενή διερεύνηση. Οι Yang και συνεργάτες (2009) σύγκριναν δύο διαφορετικά μοντέλα που είχαν αναπτυχθεί σε δυο προηγούμενες μελέτες ως προς την ικανότητά τους να περιγράψουν την καθυστέρηση που παρατηρείται μεταξύ της μέγιστης συγκέντρωσης του φαρμάκου και της μέγιστης αποτελεσματικότητας και το ενδεχόμενο να μπορεί το ένα να χρησιμοποιείται έναντι το άλλου⁹. Τα μοντέλα που αξιολογήθηκαν παρουσιάζονται



Σχήμα 6. Σχηματική απεικόνιση των σχέσεων που μοντελοποιούνται μέσω των ΦΚ μοντέλων (συγκέντρωση - χρόνος), ΦΔ μοντέλων (αποτέλεσμα- συγκέντρωση) και του συνδυασμού τους που οδηγεί στα ΦΚ/ΦΔ μοντέλα τα οποία μπορούν να αποδώσουν τη σχέση αποτελέσματος-χρόνου για ένα δεδομένο δοσολογικό σχήμα.

στην **Σχήμα 5:**

Το μοντέλο cell distribution (CDM) βασίζεται σε υποθετικά διαμερίσματα τα οποία συνδέουν την συγκέντρωση με την ανάπτυξη του καρκίνου (μετρούμενο αποτέλεσμα). Το μοντέλο αυτό είχε αναπτυχθεί βασισμένο σε δεδομένα από την ανάπτυξη του A2780 ανθρώπινου καρκίνου των ωοθηκών σε ποντίκια χωρίς θύμο αδένες που χορηγείται 30mg/kg paclitaxel κάθε 4 μέρες για 3 εβδομάδες²⁹. Το μοντέλο signal distribution (SDM) θεωρεί ότι το φάρμακο δρα στον υποδοχέα και ξεκινάει τη μετάδοση ενός σήματος που περνάει από διάφορα διαμερίσματα μέχρι να γίνει αντιληπτή η δράση του φαρμάκου. Το μοντέλο αυτό είχε αναπτυχθεί βασισμένο σε δεδομένα από μια φαρμακοδυναμική *in vitro* μελέτη όπου κύτταρα σαρκώματος 180 είχαν επωαστεί για 24 ώρες σε διαφορετικές συγκεντρώσεις methotrexate και είχαν τεθεί υπό παρακολούθηση για 20 ημέρες³⁰.

Τα δύο αυτά μοντέλα εκφράστηκαν μαθηματικά με κατάλληλες διαφορικές εξισώσεις. Οι ερευνητές αναγέννησαν προσομοιωμένα δεδομένα χρησιμοποι-

ώντας το ένα μοντέλο και μετά το αξιολόγησαν με το άλλο και αντίστροφα, διερευνώντας έτσι την ικανότητα του καθενός να περιγράψει μία παρόμοιας λογικής διαφορετικά όμως δεδομένα και άρα αν μπορούν να εναλλάσσονται μεταξύ τους. Επίσης, χρησιμοποίησαν και τα δύο μοντέλα για την περιγραφή δεδομένων συγκέντρωσης - αντικαρκινικής δράσης που προέκυψαν από την ενδοφλέβια χορήγηση λιποσωμάτων με paclitaxel (L-pac) σε ποντίκια με καρκίνο του παχέος εντέρου (Colon-26 tumor model). Μέσα από την παραπάνω διαδικασία αποδείχθηκε ότι και τα δύο μοντέλα είναι χρήσιμα στην μαθηματική μοντελοποίηση της καθυστέρησης μεταξύ των μέγιστων συγκεντρώσεων και του μέγιστου αποτελέσματος, ωστόσο φάνηκε ότι το μοντέλο SDM είναι πιο ευέλικτο καθώς δίνει αξιόπιστα αποτελέσματα ακόμη και όταν υπάρχουν λίγα δεδομένα.

5. Μοντελοποίηση για τη βελτιστοποίηση του κλινικού αποτελέσματος

Γέφυρα μεταξύ της φαρμακοκινητικής και της φαρμακοδυναμικής, όπως αυτές παρουσιάστηκαν στις δύο προηγούμενες ενότητες, αποτελεί η ΦΚ/ΦΔ μοντελοποίηση η οποία συνίσταται στην ανάπτυξη μιας μαθηματικής σχέσης που συνδέει άμεσα τη μεταβολή της συγκέντρωσης ως προς το χρόνο με το αποτέλεσμα της δράσης του φαρμάκου, όπως αυτό ποσοτικοποιείται στην εκάστοτε περίπτωση⁶. Επομένως τα ΦΚ/ΦΔ μοντέλα επιτρέπουν την περιγραφή της πλήρους χρονικής πορείας των επιθυμητών (αποτελεσματικότητα) ή ανεπιθυμητών (ασφάλεια) ενεργειών, σε συνάρτηση με ένα δοσολογικό σχήμα. Πρέπει να σημειωθεί ότι η εύρεση κατάλληλων φαρμακοδυναμικών δεικτών που να μπορούν να ποσοτικοποιηθούν με ακρίβεια και να συσχετίζουν τη συγκέντρωση του υπό μελέτη φαρμάκου με το κλινικό αποτέλεσμα άμεσα είτε έμμεσα, αποτελεί κυρίαρχη προτεραιότητα κατά τον σχεδιασμό κλινικών μελετών που στόχο έχουν να διαλευκάνουν τη σχέση συγκέντρωσης - αποτελέσματος^{6,25}.

Τα ΦΚ/ΦΔ μοντέλα μπορούν να αποδώσουν μαθηματικά τη σχέση αποτελέσματος ως προς το χρόνο, συνυπολογίζοντας ταυτόχρονα όλους τους

παράγοντες που επηρεάζουν την φαρμακοκινητική και τη φαρμακοδυναμική κατά την αλληλεπίδραση του φαρμάκου με τον οργανισμό (**Σχήμα 6**)⁶.

Η ΦΚ/ΦΔ μοντελοποίηση έχει εφαρμοστεί σε μεγάλο βαθμό τα τελευταία χρόνια στην φαρμακοθεραπεία του καρκίνου με σκοπό την αξιολόγηση της αποτελεσματικότητας και της ασφάλειας, την διερεύνηση πιθανών αλληλεπιδράσεων με άλλα φάρμακα, την εξεύρεση του βέλτιστου δοσολογικού σχήματος και την πρόβλεψη του κλινικού αποτελέσματος πριν τη χορήγηση του φαρμάκου σε ασθενείς³¹⁻⁵⁸. Παρακάτω παρουσιάζονται κάποια χαρακτηριστικά παραδείγματα εφαρμογής της ΦΚ/ΦΔ μοντελοποίησης με ιδιαίτερο επιστημονικό και κλινικό ενδιαφέρον.

Docetaxel - Epirubicin

Το 2016, η Emilie Hénin και οι συνεργάτες της στα πλαίσια κλινικών δοκιμών φάσης 1 και 2 εφάρμοσαν τεχνικές ΦΚ/ΦΔ μοντελοποίησης στοχεύοντας στην εύρεση της μέγιστης ανεκτής δόσης του συνδυασμού χημειοθεραπευτικών docetaxel (DTX) με epirubicin (EPI), σε ασθενείς με μεταστατικό καρκίνο του μαστού^{59,60}. Παράλληλα στόχος ήταν να αξιολογηθεί και να ποσοτικοποιηθεί η αποτελεσματικότητα του βέλτιστου σχήματος που προέκυψε από τη ΦΚ/ΦΔ μοντελοποίηση, κάτι το οποίο επιτεύχθηκε διαμέσου της παρακολούθησης της επιβίωσης των ασθενών.

Στην μελέτη συμμετείχαν 16 ασθενείς στους οποίους χορηγήθηκαν διαφορετικές δόσεις DTX και EPI (από 85mg έως 110mg). Το ΦΚ/ΦΔ μοντέλο περιέλαβε την εκτίμηση τόσο της «αποτελεσματικότητας» όσο και της «ασφάλειας» (δηλ της μέγιστης ανεκτής δόσης). Για την τελευταία περίπτωση χρησιμοποιήθηκαν μία σειρά από τοξικές εκδηλώσεις (ανεπιθύμητες ενέργειες) των φαρμάκων όπως η ουδετεροπενία, η αναιμία, η βλενογοννίτιδα και η νευροπάθεια. Αντίστοιχα, η αποτελεσματικότητα αξιολογήθηκε μέσω της επίδρασης του χημειοθεραπευτικού σχήματος στο μέγεθος του καρκινικού όγκου. Το ΦΔ μοντέλο αποτελεσματικότητας ήταν βασισμένο στο μοντέλο Gompertz και σε συνδυασμό με τις ΦΚ ιδιότητες των φαρμάκων προτάθηκε ένα νέο δοσολογικό σχήμα που οδήγησε σε μεγαλύτερο

συνολικό χρόνο επιβίωσης (54.6 μήνες) καθώς και χρόνο επιβίωσης χωρίς ταυτόχρονη εξέλιξη της νόσου (10.4 μήνες). Το μοντέλο αποτελεσματικότητας περιγράφηκε από την εξίσωση (10):

$$\frac{dn(t)}{dt} = \lambda \cdot n(t) \cdot \ln[\theta/n(t)] - k \cdot [c_2(t) - C_{MIN}] \cdot n(t) \cdot H[c_2(t) - C_{MIN}] \quad n(0) = n_o \quad (10)$$

όπου ο όρος $n(t)$ δηλώνει τον αριθμό των καρκινικών κυττάρων σε χρόνο t , ενώ $n(0)$ αντιστοιχεί στο αρχικό μέγεθος του όγκου για $t = 0$. Στον πρώτο όρο, οι παράμετροι λ , με μονάδες (χρόνος)⁻¹, και θ είναι οι παράμετροι της εξίσωσης ανάπτυξης Gompertz. Ο δεύτερος όρος είναι ο όρος απώλειας κυττάρων ανάλογα με την αποτελεσματική συγκέντρωση φαρμάκου δηλαδή ίση με τη διαφορά $c_2(t) - C_{MIN}$, όπου C_{MIN} είναι ένα κατώφλι συγκέντρωσης του χημειοθεραπευτικού κάτω από το οποίο κανένα από τα κύτταρα δεν θανατώνεται.

Methotrexate

Μία άλλη περίπτωση επιτυχούς ανάπτυξης και εφαρμογής ΦΚ/ΦΔ μοντέλου αποτελεί εκείνο που δημοσίευσε το 2012 ο Hauke Rühls και οι συνεργάτες του οι οποίοι είχαν σκοπό να αξιολογήσουν τη νευροτοξικότητα που προκαλείται από τη θεραπεία με μεθοτρεξάτη (MTX)⁶¹. Πράγματι η μεθοτρεξάτη αυξάνει σημαντικά την έκκρισης ομοκυστεΐνης (HCY) της οποίας τα υψηλά επίπεδα οδηγούν σε νευροτοξικότητας

Για την ανάπτυξη του μοντέλου χρησιμοποιήθηκαν οι συγκεντρώσεις MTX και HCY από 494 παιδιά με οξεία λεμφοβλαστική λευχαιμία. Το τελικό ΦΚ μοντέλο στο οποίο κατέληξαν οι ερευνητές (Εξίσωση 11) ήταν ένα δι-διαμερισματικό μοντέλο, ενώ για το τελικό ΦΔ μοντέλου οι συγκεντρώσεις MTX και HCY συσχετίστηκαν μέσω ενός απλού E_{max} μοντέλου. Συνδυάζοντας τα δυο παραπάνω προέκυψε η εξίσωση 11:

$$\frac{dC_{HCY}}{dt} = k_{in} - k_{out} \left(1 - \frac{E_{max} \cdot C_{MTX}}{EC_{50} + C_{MTX}} \right) \cdot C_{HCY} \quad (11)$$

Έτσι οι ερευνητές κατάφεραν με επιτυχία να περιγράψουν την συγκέντρωση HCY ως προς το χρόνο μετά τη χορήγηση συγκεκριμένης δόσης MTX. Αυτό είχε ως αποτέλεσμα την δυνατότητα πρόβλεψης της επαγωγής νευροτοξικότητας για κάθε χορηγούμενη δόση στο κάθε παιδί και έτσι την βελτιστοποίηση του δοσολογικού σχήματος με γνώμονα την ελαχιστοποίηση αυτής της ανεπιθύμητης ενέργειας.

Sunitinib

Το 2014, ο Masashi Nagata και οι συνεργάτες του πραγματοποίησαν μία μελέτη σε 6 ασθενείς με καρκίνωμα νεφρικών κυττάρων και οι οποίοι λάμβαναν θεραπεία με sunitinib⁶². Σκοπός της μελέτης ήταν η ανάπτυξη ενός ΦΚ/ΦΔ μοντέλου με σκοπό να αξιολογηθεί το θεραπευτικό εύρος και η κατάλληλη δόση του φαρμάκου ώστε να επιτυγχάνεται η μέγιστη αποτελεσματικότητα με ταυτόχρονη ελαχιστοποίηση της θρομβοπενίας.

Οι συγκεντρώσεις στο πλάσμα του sunitinib εκφράστηκαν επιτυχώς μαθηματικά με τη χρήση ενός μονο-διαμερισματικού ΦΚ μοντέλου. Το ΦΔ μοντέλο της τοξικής επίδραση του φαρμάκου στα επίπεδα των αιμοπεταλίων εκφράστηκε με τη βοήθεια μίας γραμμικής σχέσης μεταξύ της (φυσιολογικής) αύξησης της πρόδρομης μορφής των αιμοπεταλίων και της αναστολής της αύξησης (εξαιτίας του sunitinib). Το τελικό ΦΚ/ΦΔ μοντέλο υποθέτει επίσης την ύπαρξη τριών διαμερισμάτων δράσης (διαμερίσματα transit) και δίνεται από τις εξισώσεις 12-16:

$$\frac{dProg}{dt} = k_{prol} \cdot Prog(1 - Slope \cdot C_{total}) \cdot \left(\frac{C_{circ}}{C_{circ0}}\right)^{\gamma} - k_{tr} \cdot Prog \quad (12)$$

$$\frac{dTransit1}{dt} = k_{tr} \cdot Prog - k_{tr} \cdot Transit1 \quad (13)$$

$$\frac{dTransit2}{dt} = k_{tr} \cdot Transit1 - k_{tr} \cdot Transit2 \quad (14)$$

$$\frac{dTransit3}{dt} = k_{tr} \cdot Transit2 - k_{tr} \cdot Transit3 \quad (15)$$

$$\frac{dCirc}{dt} = k_{tr} \cdot Transit3 - k_{Circ} \cdot Circ \quad (16)$$

όπου *Prog* είναι η συγκέντρωση πρόδρομων αιμοπεταλίων, *Circ₀* είναι η αρχική μέτρηση αιμοπεταλίων στο πλάσμα, *Circ* αντιστοιχεί στα επίπεδα

αιμοπεταλίων στο πλάσμα, *C_{total}* είναι η συνολική συγκέντρωση του sunitinib και του ενεργού μεταβολίτη, *k_{prol}* είναι η πρωτοταξική σταθερά του ρυθμού αύξησης των πρόδρομων αιμοπεταλίων, *k_{tr}* η πρωτοταξική σταθερά μετάβασης, *k_{circ}* η πρωτοταξική σταθερά αποδόμησης και *γ* ένας παράγοντας ανατροφοδότησης. Με την βοήθεια αυτών των εξισώσεων υπολογίστηκαν οι παραπάνω ΦΔ παράμετροι και προτάθηκε ένα κατάλληλο δοσολογικό σχήμα για την ασφαλέστερη χρήση του sunitinib.

6. Συμπεράσματα

Όπως περιγράφηκε στις παραπάνω ενότητες, οι τεχνικές μαθηματικής μοντελοποίησης μπορούν να προσφέρουν σημαντικά οφέλη στην φαρμακοθεραπεία του καρκίνου τόσο κατά την ανάπτυξη αντικαρκινικών φαρμάκων, όσο και κατά την χρήση τους σε ασθενείς με διαφορετικά χαρακτηριστικά και διαφορετικά είδη καρκίνου. Μέσα από την παραπάνω επισκόπηση παρουσιάστηκε η σημασία των μοντέλων εξέλιξης νόσου, των φαρμακοκινητικών μοντέλων, των φαρμακοδυναμικών μοντέλων και των ΦΚ/ΦΔ μοντέλων με γνώμονα την μεγιστοποίηση της ασφάλειας και της αποτελεσματικότητας της αντικαρκινικής θεραπείας.

Τα μοντέλα εξέλιξης νόσου συμβάλλουν στην κατανόηση του τρόπου με τον οποίο εξελίσσεται η ασθένεια επιτρέποντας την πρόβλεψη της κλινικής κατάστασης του ασθενούς στο εγγύς μέλλον αλλά και την αξιολόγηση της αποτελεσματικότητας χημειοθεραπευτικών παραγόντων. Με την ανάπτυξη φαρμακοκινητικών μοντέλων γίνεται εφικτή η περιγραφή της σχέσης της συγκέντρωσης του φαρμάκου ως προς το χρόνο και η κατανόηση των παραγόντων που μπορούν να την επηρεάσουν. Η χρήση των μοντέλων αυτών δίνει την δυνατότητα πρόβλεψης της φαρμακοκινητικής συμπεριφοράς ενός φαρμάκου ανάλογα με τα χαρακτηριστικά του ανθρώπου στο οποίο θα χορηγηθεί, συμβάλλοντας έτσι σημαντικά στην επιλογή του κατάλληλου δοσολογικού σχήματος. Η ανάπτυξη και εφαρμογή φαρμακοδυναμικών μοντέλων μπορεί να διαλευκάνει τον τρόπο με τον οποίο το φάρμακο ασκεί την δράση του ως προς τη συγκέντρωση του φαρμά-

κου στο αίμα ή/και τους ιστούς, επιτρέποντας την κατανόηση των παραμέτρων που επηρεάζουν την αποτελεσματικότητα του φαρμάκου σε επίπεδο μηχανισμού δράσης. Συμπερασματικά, η ΦΚ μοντελοποίηση καταλήγει σε μια μαθηματική σχέση της συγκέντρωσης ως προς το χρόνο ενώ η ΦΔ μοντελοποίηση καταλήγει σε μια σχέση της δράσης του φαρμάκου ως προς τη συγκέντρωση και κατ' επέκταση ως προς το χρόνο, χρησιμοποιώντας η κάθε μια τα αντίστοιχα δεδομένα.

Ο συνδυασμός τους οδηγεί στη ΦΚ/ΦΔ μοντελοποίηση η οποία δίνει την δυνατότητα εξαγωγής μια μαθηματικής σχέσης που οδηγεί στο αποτέλεσμα της δράσης του φαρμάκου ως προς το χρόνο για μια συγκεκριμένη δόση λαμβάνοντας υπόψιν όλες τις φαρμακοκινητικές και φαρμακοδυναμικές διεργασίες που λαμβάνουν χώρα στο κάθε άτομο ξεχωριστά. Έτσι, η ΦΚ/ΦΔ μοντελοποίηση βρίσκει εφαρμογή τόσο κατά την ανάπτυξη χημειοθεραπευτικών φαρμάκων, όσο και κατά την χρήση τους στην κλινική πράξη. Για παράδειγμα, στα προκλινικά στάδια ανάπτυξης όπου πραγματοποιούνται *in vitro* ή/και *in vivo* (πειραματόζωα) μελέτες, η χρήση ΦΚ/ΦΔ μοντελοποίησης επιτρέπει την εξαγωγή συμπερασμάτων που αφορούν στον άνθρωπο. Κατά τη διεξαγωγή κλινών μελετών φάσης I, II και III οι τεχνικές ΦΚ/ΦΔ μοντελοποίησης προσφέρουν τη δυνατότητα μεγιστοποίησης της πληροφορίας με τον ελάχιστο αριθμό εθελοντών. Ακόμη, κατά την χρήση ενός αντικαρκινικού φαρμάκου στην κλινική πράξη αποτελεί ένα σημαντικό εργαλείο για την επιλογή της δόσης και την διασφάλι-

ση της αποτελεσματικότητας και της ασφάλειας του. Τέλος, επιτρέπει τη διερεύνηση της επίδρασης διαφόρων παραγόντων όπως τα δημογραφικά χαρακτηριστικά του ασθενούς, την ταυτόχρονη λήψη άλλου φαρμάκου και το δοσολογικό σχήμα στο κλινικό αποτέλεσμα.

Είναι λοιπόν εύκολα αντιληπτό ότι τα ΦΚ/ΦΔ μοντέλα είναι ένα πολύτιμο εργαλείο στην φαρμακοθεραπεία με χημειοθεραπευτικούς παράγοντες οι οποίοι έχουν μικρό θεραπευτικό εύρος και σημαντικές ανεπιθύμητες ενέργειες. Πράγματι όπως φάνηκε και από τα παραδείγματα μοντέλων που παρουσιάστηκαν παραπάνω η χρήση τους είναι πρακτικά ο βέλτιστος τρόπος για την εξατομίκευση της δόσης καθώς λαμβάνονται υπόψιν δημογραφικά στοιχεία, ατομικές φαρμακοκινητικές και φαρμακοδυναμικές παράμετροι αλλά και στοιχεία που αφορούν την εξέλιξη της νόσου. Η εξατομικευμένη θεραπεία οδηγεί στα βέλτιστα αποτελέσματα ελαχιστοποιώντας τις ανεπιθύμητες ενέργειες και μεγιστοποιώντας την αποτελεσματικότητα του φαρμάκου^{63,64,65}.

Στην παρούσα εργασία παρουσιάστηκαν οι βασικές αρχές της μαθηματικής μοντελοποίησης και οι εφαρμογές τους στην αντικαρκινική θεραπεία. Όπως καταδεικνύεται παραπάνω η μαθηματική μοντελοποίηση μπορεί να βοηθήσει σημαντικά στην θεραπεία του καρκίνου. Πράγματι, όλο και περισσότεροι ερευνητές ασχολούνται με αυτήν την περιοχή τα τελευταία χρόνια φέρνοντας στο φως πολύτιμες πληροφορίες για την αποτελεσματικότερη αντιμετώπιση απειλητικών για τη ζωή ασθενειών όπως ο καρκίνος. □

Mathematical Models in Cancer Chemotherapy

Alexandros Filippakis, Evangelos Karalis, Eleni Karatza

Laboratory of Biopharmaceutics-Pharmacokinetics, Faculty of Pharmacy, National and Kapodostrian University of Athens

KEYWORDS:

Mathematical modeling;
Cancer; Chemotherapy;
Pharmacokinetics;
Pharmacodynamics;
Disease progression
models

*Corresponding Author:

Evangelos Karalis

Email: vkaralis@pharm.uoa.gr

Tel: +30 210 7274267

SUMMARY

The aim of anticancer chemotherapy is to induce cancer cell apoptosis, without significantly affecting normal cells. Thus, there is a need for optimization of the dosage regimen, in order to maximize efficacy and minimize adverse effects of anticancer agents. In order to make this possible, specific characteristic of the drug, the patient, and the disease should be assessed in a rational way. Mathematical modeling techniques allow for this possibility. As a result, their contribution to the development and use of chemotherapeutic drugs has been recognized during the last two decades.

REFERENCES

1. Sohrabi N., Valizadeh A., Farkhani S.M., Akbarzadeh A. Basics of DNA biosensors and cancer diagnosis. *Artif. Cells Nanomed. Biotechnol.* 44, 654-63, 2016,.
2. Kalyanaraman B., Cheng G., Hardy M., Ouari O., Lopez M., Joseph J., Zielonka J., Dwinell M.B. A review of the basics of mitochondrial bioenergetics, metabolism, and related signaling pathways in cancer cells: Therapeutic targeting of tumor mitochondria with lipophilic cationic compounds. *Redox. Biol.* 14,316-327, 2018.
3. Welch D.R., Antalis T.M., Burnstein K., Vona-Davis L., Jensen R.A., Nakshatri H., Riegel A.T., Spitz D.R., Watson D.K., Weiner G.J. Essential Components of Cancer Education. *Cancer Res.* 75, 5202-5, 2015.
4. Zhao J. Cancer stem cells and chemoresistance: The smartest survives the raid. *Pharmacol. Ther.* 160,145-58, 2016;.
5. Mortensen S. B., Jónsdóttir A. H., Klim S., Madson H. (2008). Introduction to PK/PD modelling - with focus on PK and stochastic differential equations. Lyngby: Technical University of Denmark, DTU Informatics, Building 321. (DTU Compute. Technical Report; No. 2008-16).
6. Derendorf H., Meibohm B. Modeling of pharmacokinetic/pharmacodynamic (PK/PD) relationships: concepts and perspectives. *Pharm. Res.* 16,176-85, 1999.
7. Dhillon S., Gill K. (2006). Basic pharmacokinetics. In: S.Dhillon, A.Kostrzewski, ed., *Clinical Pharmacokinetics*, 1st ed. London: Pharmaceutical Press, pp.1-44.
8. Gomathi P., Gopu D. Pharmacokinetic/pharmacodynamic (pk/pd) modeling: an investigational tool for drug development. *Int. J. Pharm. Pharm. Sci.* 4, 30-37, 2012.
9. Yang J., Mager D.E., Straubinger R.M. Comparison of two pharmacodynamic transduction models for the analysis of tumor therapeutic responses in model systems. *AAPS J.* 12,1-10, 2010.
10. Garralda E., Dienstmann R., Tabernero J. Phar-

- macokinetic/Pharmacodynamic Modeling for Drug Development in Oncology. *Am. Soc. Clin. Oncol. Educ.* 37, 210-215, 2017.
11. Buil-Bruna N., López-Picazo J.M., Martín-Algarra S., Trocóniz I.F. Bringing Model-Based Prediction to Oncology Clinical Practice: A Review of Pharmacometrics Principles and Applications. *Oncologist.* 21, 220-32, 2016.
 12. Ledzewicz U., Schattler H. The influence of pk/pd on the structure of optimal controls in cancer chemotherapy models. *Math. Biosci. Eng.* 2, 561-78, 2005.
 13. Jones H., Rowland-Yeo K. Basic concepts in physiologically based pharmacokinetic modeling in drug discovery and development. *CPT Pharmacometrics Syst. Pharmacol.* 2:e63, 2013.
 14. Ribba B., Holford N.H., Magni P., Trocóniz I., Gueorguieva I., Girard P., Sarr C., Elishmereni M., Kloft C., Friberg L.E. A review of mixed-effects models of tumor growth and effects of anticancer drug treatment used in population analysis. *CPT Pharmacometrics Syst. Pharmacol.* 3:e113, 2014.
 15. Johansson Å. M., Hill N., Perisoglou M., Whelan J., Karlsson M., Standing J.F. A Population Pharmacokinetic/Pharmacodynamic Model of Methotrexate and Mucositis Scores in Osteosarcoma. *Therap. Drug Monitor.* 33, 711-718, 2011.
 16. Panoilia E., Schindler E., Samantas E., Aravantinos G., Kalofonos H.P., Christodoulou C., Patriinos G.P., Friberg L.E., Sivolapenko G. A pharmacokinetic binding model for bevacizumab and VEGF165 in colorectal cancer patients. *Cancer Chemother. Pharmacol.* 75, 791-803, 2015.
 17. Houk B.E., Bello C.L., Kang D., Amantea M. A population pharmacokinetic meta-analysis of sunitinib malate (SU11248) and its primary metabolite (SU12662) in healthy volunteers and oncology patients. *Clin. Cancer Res.* 15, 2497-506, 2009.
 18. Joerger M., Burgers J.A., Baas P., Doodeman V.D., Smits P.H., Jansen R.S., Vainchtein L.D., Rosing H., Huitema A.D., Beijnen J.H., Schellens J.H. Gene polymorphisms, pharmacokinetics, and hematological toxicity in advanced non-small-cell lung cancer patients receiving cisplatin/gemcitabine. *Cancer Chemother. Pharmacol.* 69, 25-33, 2011.
 19. Petain A., Kattygnarath D., Azard J., Chatelut E., Delbaldo C., Geoerger B., Barrois M., Séronie-Vivien S., LeCesne A., Vassal G. Population pharmacokinetics and pharmacogenetics of imatinib in children and adults. *Clin. Cancer Res.* 14, 7102-9, 2008.
 20. Tani H., Shitara Y., Horie T. Population pharmacokinetic analysis of letrozole in Japanese postmenopausal women. *Eur. J. Clin. Pharmacol.* 67, 1017-25, 2011.
 21. Hawwa A.F., Collier P.S., Millership J.S., McCarthy A., Dempsey S., Cairns C., McElroy J.C. Population pharmacokinetic and pharmacogenetics analysis of 6-mercaptopurine in paediatric patients with acute lymphoblastic leukaemia. *Br. J. Clin. Pharmacol.* 66, 826-37, 2008.
 22. Lu J., Rasmussen E., Karlan B., Vergote I., Navale L., Kuchimanchi M., Melara R., Stepan D., Weinreich D., Sun J. Exposure-response relationship of AMG 386 in combination with weekly paclitaxel in recurrent ovarian cancer and its implication for dose selection. *Cancer Chemother Pharmacol.* 69, 1135-1144, 2012.
 23. Nath C., Shaw P., Montgomery K., Earl J. Population pharmacokinetics of melphalan in paediatric blood or marrow transplant recipients. *Br. J. Clin. Pharmacol.* 64, 151-164, 2007.
 24. Sugiyama E., Kaniwa N., Kim S.R., Hasegawa R., Saito Y., Ueno H., Okusaka T., Ikeda M., Morizane C., Kondo S., Yamamoto N., Tamura T., Furuse J., Ishii H., Yoshida T., Saijo N., Sawada J. Population pharmacokinetics of gemcitabine and its metabolite in Japanese cancer patients: impact of genetic polymorphisms. *Clin. Pharmacokinet.* 49, 549-58, 2010.
 25. De Cock R.F., Piana C., Krekels E.H., Danhof M., Allegaert K., Knibbe C.A. The role of population PK-PD modelling in paediatric clinical research. *Eur. J. Clin. Pharmacol.* 67, Suppl 1:5-16, 2011.
 26. Felmler M.A., Morris M.E., Mager D.E. Mechanism-based pharmacodynamic modeling. *Methods Mol. Biol.* 929, 583-600, 2012.
 27. Lin H.Y., Landersdorfer C.B., London D., Meng R., Lim C.U., Lin C., Lin S., Tang H.Y., Brown D., Van Scoy B., Kulawy R., Queimado L., Drusano G.L.,

- Louie A., Davis F.B., Mousa S.A., Davis P.J. Pharmacodynamic modeling of anti-cancer activity of tetraiodothyroacetic acid in a perfused cell culture system. *PLoS Comput. Biol.* 7, e1001073, 2011.
28. Miao X., Koch G., Straubinger R.M., Jusko W.J. Pharmacodynamic modeling of combined chemotherapeutic effects predicts synergistic activity of gemcitabine and trabectedin in pancreatic cancer cells. *Cancer Chemother. Pharmacol.* 77,181-93, 2016.
 29. Simeoni M., Magni P., Cammia C., De Nicolao G., Croci V., Pesenti E., Germani M., Poggesi I., Rocchetti M. Predictive pharmacokinetic-pharmacodynamic modeling of tumor growth kinetics in xenograft models after administration of anticancer agents. *Cancer Res.* 64, 1094-101, 2004.
 30. Lobo E.D., Balthasar J.P. Pharmacodynamic modeling of chemotherapeutic effects: application of a transit compartment model to characterize methotrexate effects in vitro. *AAPS PharmSci.* 4:E42, 2002 .
 31. Xi-wei J.I., Shuang-min J.I., Run-tao L.I., Ke-hua W.U., Xiao Z.H.U., Wei L.U., Tian-yan Z.H.O.U. Pharmacokinetic-pharmacodynamic modeling of the antitumor effect of TM208 and EGFR-TKI resistance in human breast cancer xenograft mice. *Acta Pharmacologica Sinica.* 37, 825-833, 2016 .
 32. Salphati L., Wong H., Belvin M., Bradford D., Edgar K.A., Prior W.W., Sampath D., Wallin J.J. Pharmacokinetic-pharmacodynamic modeling of tumor growth inhibition and biomarker modulation by the novel phosphatidylinositol 3-kinase inhibitor GDC-0941. *Drug Metab. Dispos.* 38,1436-42, 2010.
 33. Jager E., van der Velden V.H., te Marvelde J.G., Walter R.B., Agur Z., Vainstein V. Targeted drug delivery by gemtuzumab ozogamicin: mechanism-based mathematical model for treatment strategy improvement and therapy individualization. *PLoS One.* 6(9):e24265, 2011.
 34. Kaefer A., Yang J., Noertersheuser P., Mensing S., Humerickhouse R., Awni W., Xiong H. Mechanism-based pharmacokinetic/pharmacodynamic meta-analysis of navitoclax (ABT-263) induced thrombocytopenia. *Cancer Chemother. Pharmacol.* 74,593-602, 2014.
 35. Wang X., Kay A., Anak O., Angevin E., Escudier B., Zhou W., Feng Y., Dugan M., Schran H. Population Pharmacokinetic/Pharmacodynamic Modeling to Assist Dosing Schedule Selection for Dovitinib. *J. Clin. Pharmacol.* 53,14-20, 2013.
 36. Haddish-Berhane N., Shah D.K., Ma D., Leal M., Gerber H.P., Sapra P., Barton H.A., Betts A.M. On translation of antibody drug conjugates efficacy from mouse experimental tumors to the clinic: a PK/PD approach. *J. Pharmacokin. Pharmacodyn.* 40,557-71, 2013.
 37. Puchalski T., Prabhakar U., Jiao Q., Berns B., Davis H.M. Pharmacokinetic and pharmacodynamic modeling of an anti-interleukin-6 chimeric monoclonal antibody (siltuximab) in patients with metastatic renal cell carcinoma. *Clin. Cancer Res.* 16,1652-61, 2010.
 38. Tanaka C., O'Reilly T., Kovarik J.M., Shand N., Hazell K., Judson I., Raymond E., Zumstein-Mecker S., Stephan C., Boulay A., Hattenberger M., Thomas G., Lane H.A. Identifying optimal biologic doses of everolimus (RAD001) in patients with cancer based on the modeling of preclinical and clinical pharmacokinetic and pharmacodynamic data. *J. Clin. Oncol.* 26,1596-602, 2008.
 39. Chen N., Li Y., Ye Y., Palmisano M., Chopra R., Zhou S. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of nab-paclitaxel in patients with solid tumors: disposition kinetics and pharmacology distinct from solvent-based paclitaxel. *J. Clin. Pharmacol.* 54,1097-107, 2014.
 40. Li J., Jameson M.B., Baguley B.C., Pili R., Baker S.D. Population pharmacokinetic-pharmacodynamic model of the vascular-disrupting agent 5,6-dimethylxanthene-4-acetic acid in cancer patients. *Clin. Cancer Res.* 14, 2102-10, 2008.
 41. Wang S., Guo P., Wang X., Zhou Q., Gallo J.M. Pre-clinical pharmacokinetic/pharmacodynamic models of gefitinib and the design of equivalent dosing regimens in EGFR wild-type and mutant tumor models. *Mol. Cancer Ther.* 7,407-17, 2008.
 42. Wu H., Ramanathan R.K., Zamboni B.A., Stry-

- chor S., Ramalingam S., Edwards R.P., Friedland D.M., Stoller R.G., Belani C.P., Maruca L.J., Bang Y.J., Zamboni W.C. Mechanism-based model characterizing bidirectional interaction between PEGylated liposomal CKD-602 (S-CKD602) and monocytes in cancer patients. *Int. J. Nanomedicine*. 7, 5555-64, 2012.
43. Fetterly G.J., Owen J.S., Stuyckens K., Passarelli J.A., Zannikos P., Soto-Matos A., Izquierdo M.A., Perez-Ruixo J.J. Semimechanistic pharmacokinetic/pharmacodynamic model for hepatoprotective effect of dexamethasone on transient transaminitis after trabectedin (ET-743) treatment. *Cancer Chemother. Pharmacol.* 62,135-47, 2008.
44. Zandvliet A.S., Siegel-Lakhai W.S., Beijnen J.H., Copalu W., Etienne-Grimaldi M.C., Milano G., Schellens J.H., Huitema A.D. PK/PD model of indisulam and capecitabine: interaction causes excessive myelosuppression. *Clin Pharmacol. Ther.* 83,829-39, 2008.
45. Kathman S.J., Williams D.H., Hodge J.P., Dar M. A Bayesian population PK-PD model for ispinesib/docetaxel combination-induced myelosuppression. *Cancer Chemother. Pharmacol.* 63,469-76, 2009.
46. Hansson E.K., Amantea M.A., Westwood P., Miligan P.A., Houk B.E., French J., Karlsson M.O., Friberg L.E. PKPD Modeling of VEGF, sVEGFR-2, sVEGFR-3, and sKIT as Predictors of Tumor Dynamics and Overall Survival Following Sunitinib Treatment in GIST. *CPT Pharmacometrics Syst. Pharmacol.* 2:e84, 2013.
47. Zhang Y., Doshi S., Zhu M. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of rilotumumab: a decade of experience in preclinical and clinical cancer research. *Br. J. Clin. Pharmacol.* 80, 957-64, 2015.
48. Hicks K.O., Siim B.G., Jaiswal J.K., Pruijn F.B., Fraser A.M., Patel R., Hogg A., Liyanage H.D., Dorrie M.J., Brown J.M., Denny W.A., Hay M.P., Wilson W.R. Pharmacokinetic/pharmacodynamic modeling identifies SN30000 and SN29751 as tirapazamine analogues with improved tissue penetration and hypoxic cell killing in tumors. *Clin Cancer Res.* 16, 4946-57, 2010.
49. Foehrenbacher A., Secomb T.W., Wilson W.R., Hicks K.O. Design of optimized hypoxia-activated prodrugs using pharmacokinetic/pharmacodynamic modeling. *Front. Oncol.* 3:314, 2013.
50. Tate S.C., Cai S., Ajamie R.T., Burke T., Beckmann R.P., Chan E.M., De Dios A., Wishart G.N., Gelbert L.M., Cronier D.M. Semi-mechanistic pharmacokinetic/pharmacodynamic modeling of the antitumor activity of LY2835219, a new cyclin-dependent kinase 4/6 inhibitor, in mice bearing human tumor xenografts. *Clin. Cancer Res.* 20, 3763-74, 2014.
51. Fetterly G.J., Aras U., Meholick P.D., Takimoto C., Seetharam S., McIntosh T., de Bono J.S., Sandhu S.K., Tolcher A., Davis H.M., Zhou H., Puchalski T.A. Utilizing pharmacokinetics/pharmacodynamics modeling to simultaneously examine free CCL2, total CCL2 and carlumab (CNTO 888) concentration time data. *J. Clin. Pharmacol.* 53,1020-7, 2013.
52. Mould D.R., Sweeney K., Duffull S.B., Neylon E., Hamlin P., Horwitz S., Sirotnak F., Fleisher M., Saunders M.E., O'Connor O.A. A population pharmacokinetic and pharmacodynamic evaluation of pralatrexate in patients with relapsed or refractory non-Hodgkin's or Hodgkin's lymphoma. *Clin. Pharmacol Ther.* 86,190-6, 2009.
53. Choo E.F., Belvin M., Chan J., Hoeflich K., Orr C., Robarge K., Yang X., Zak M., Boggs J. Preclinical disposition and pharmacokinetics-pharmacodynamic modeling of biomarker response and tumour growth inhibition in xenograft mouse models of G-573, a MEK inhibitor. *Xenobiotica*. 40, 751-62, 2010.
54. Bender B.C., Schaedeli-Stark F., Koch R., Joshi A., Chu Y.W., Rugo H., Krop I.E., Girish S., Friberg L.E., Gupta M. A population pharmacokinetic/pharmacodynamic model of thrombocytopenia characterizing the effect of trastuzumab emtansine (T-DM1) on platelet counts in patients with HER2-positive metastatic breast cancer. *Cancer Chemother. Pharmacol.* 70, 591-601, 2012.
55. Caruso A., Alvarez-Sánchez R., Hillebrecht A., Poirier A., Schuler F., Lavé T., Funk C., Belli S. PK/PD assessment in CNS drug discovery: Prediction of CSF concentration in rodents for P-glycopro-

- tein substrates and application to in vivo potency estimation. *Biochem. Pharmacol.* 85,1684-99, 2013.
56. Wallin J.E., Friberg L.E., Karlsson M.O. Model-based neutrophil-guided dose adaptation in chemotherapy: evaluation of predicted outcome with different types and amounts of information. *Basic Clin. Pharmacol. Toxicol.* 106, 234-42, 2010.
 57. Choo E.F., Belvin M., Chan J., Hoeflich K., Orr C., Robarge K., Yang X., Zak M., Boggs J. Preclinical disposition and pharmacokinetics-pharmacodynamic modeling of biomarker response and tumour growth inhibition in xenograft mouse models of G-573, a MEK inhibitor. *Xenobiotica*. 40,751-62, 2010.
 58. Shah D.K., Haddish-Berhane N., Betts A. Bench to bedside translation of antibody drug conjugates using a multiscale mechanistic PK/PD model: a case study with brentuximab-vedotin. *J. Pharmacokin. Pharmacodyn.* 39, 643-59, 2012 .
 59. Hénin E., Meille C., Barbolosi D., You B., Guitton J., Iliadis A., Freyer G. Revisiting dosing regimen using PK/PD modeling: the MODEL1 phase I/II trial of docetaxel plus epirubicin in metastatic breast cancer patients. *Breast Cancer Res. Treat.* 156,331-41, 2016.
 60. Iliadis A., Barbolosi D. Optimizing drug regimens in cancer chemotherapy by an efficacy-toxicity mathematical model. *Comput. Biomed. Res.* 33, 211-26, 2000.
 61. Rühls H., Becker A., Drescher A., Panetta J.C., Pui C.H., Relling M.V., Jaehde U. Population PK/PD model of homocysteine concentrations after high-dose methotrexate treatment in patients with acute lymphoblastic leukemia. *PLoS One*. 7(9):e46015, 2012.
 62. Nagata M., Ishiwata Y., Takahashi Y., Takahashi H., Saito K., Fujii Y., Kihara K., Yasuhara M. Pharmacokinetic-pharmacodynamic analysis of sunitinib-induced thrombocytopenia in Japanese patients with renal cell carcinoma. *Biol. Pharm. Bull.* 38,402-10, 2015.
 63. Ballesta A., Zhou Q., Zhang X., Lv H., Gallo J.M. Multiscale design of cell-type-specific pharmacokinetic/pharmacodynamic models for personalized medicine: application to temozolomide in brain tumors. *CPT Pharmacometrics Syst. Pharmacol.* 3:e112, 2014.
 64. Gallo J.M., Birtwistle M.R. Network pharmacodynamic models for customized cancer therapy. *Wiley Interdiscip. Rev. Syst. Biol. Med.* 7, 243-51, 2015.
 65. Mould R. J., Lesko J. L. (2014). Personalized Medicine: Integrating Individual Exposure and Response Information at the Bedside. *AAPS Adv Pharm Sci Series*. 14,65-82.

Φαρμακευτική αγωγή και μητρικός θηλασμός: Συμβατότητα και Προβληματισμοί

Αριάδνη Τζαμπάλλα-Κουκουλά¹, Χαλήλ Τζαμπάλλα-Κουκουλάς², Παναγιώτα Βουρνά³,
Δήμητρα Γεννήματα⁴ και Ειρήνη Παντερή^{1*}

¹Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Τμήμα Φαρμακευτικής, Εργαστήριο φαρμακευτικής Ανάλυσης,
Πανεπιστημιούπολη Ζωγράφου, 15771 Αθήνα, Ελλάδα.

²Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Τμήμα Βιολογίας, Τομέας Ζωολογίας-Θαλάσσιας Βιολογίας,
Πανεπιστημιούπολη Ζωγράφου, 15771 Αθήνα, Ελλάδα.

³Περιφερειακό Γενικό Νοσοκομείο - Μαιευτικό «Έλενα Βενιζέλου», Ειδική Μονάδα Προαγωγής Μητρικού Θηλασμού/Τραπεζα
Γάλακτος, Πλατεία Έλενας Βενιζέλου 2, 11521, Αμπελόκηποι, Ελλάδα

⁴Γενικό Νοσοκομείο «Κοργιάλένιο - Μπενάκειο Ε. Ε.Σ.», Ερυθρού Σταυρού 1, 11526 Αθήνα, Ελλάδα.

ΛΕΞΕΙΣ - ΚΛΕΙΔΙΑ:

Μητρικό γάλα,
μητρικός θηλασμός,
φαρμακευτική αγωγή

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Το ποσοστό των θηλαζουσών γυναικών έχει αυξηθεί τα τελευταία χρόνια, ιδιαίτερα στις ανεπτυγμένες χώρες, λόγω της καλύτερης ενημέρωσης που υπάρχει γύρω από τις ευεργετικές επιδράσεις του θηλασμού τόσο για τη μητέρα, όσο και για το παιδί. Ο θηλασμός, πέραν από το συναισθηματικό δέσιμο που δημιουργεί μεταξύ της μητέρας και του νεογνού, παρέχει πολλά θρεπτικά συστατικά στο νεογνό αλλά και πλεονεκτήματα που ωφελούν τόσο την νέα μητέρα, όσο και το νεογνό αλλά και το κοινωνικό σύνολο γενικότερα. Ωστόσο, λόγω της ύπαρξης χρόνιων ή ευκαιριακών προβλημάτων υγείας σε πολλές νέες μητέρες που επιθυμούν να θηλάσουν, πρέπει να γίνεται λήψη της κατάλληλης θεραπείας. Το γεγονός ότι κάποια φάρμακα έχουν αποδεδειγμένες ανεπιθύμητες ενέργειες κατά την εγκυμοσύνη ή είναι εμβρυοτοξικά δεν σημαίνει ότι απαραίτητα θα είναι επιβλαβή κατά το θηλασμό. Συνεπώς, κάθε φάρμακο πρέπει να εξετάζεται ξεχωριστά για την εγκυμοσύνη και για το θηλασμό και να κατηγοριοποιείται αναλόγως με τη συμβατότητά του. Σε τέτοιες περιπτώσεις, πρέπει να αξιολογείται η θεραπευτική αξία και επιτακτικότητα λήψης φαρμακευτικής αγωγής, ώστε να διασφαλίζεται η απαραίτητη ασφάλεια για το νεογνό, αλλά και να αντισταθμίζεται η ανάγκη θηλασμού σε σχέση με την ανάγκη θεραπείας της μητέρας. Η ανεύρεση πληροφοριών σχετικά με τη διέλευση φαρμάκων στο μητρικό γάλα είναι ιδιαίτερα σημαντική για την προστασία των βρεφών από την έκθεση σε επικίνδυνες για αυτά φαρμακευτικές ουσίες, όταν είναι αναγκαία η παροχή φαρμακοθεραπείας σε νοσούσες θηλάζουσες γυναίκες.

*Corresponding Author:

Ειρήνη Παντερή,
E-mail:
ipanderi@pharm.uoa.gr

1. Εισαγωγή

Το μητρικό γάλα παρέχει όλα τα θρεπτικά συστατικά που απαιτούνται για την υγιή ανάπτυξη ενός βρέφους τους πρώτους μήνες της ζωής του. Σύμφωνα με τον Παγκόσμιο Οργανισμό Υγείας (Π.Ο.Υ.), ο πρώτος μητρικός θηλασμός στο βρέφος πρέπει να πραγματοποιείται μόλις μια ώρα μετά τη γέννηση του, καθώς το μητρικό γάλα που παράγεται στο τέλος της εγκυμοσύνης έχει την ιδανική σύσταση για τη σίτιση του νεογνού. Επιπλέον, συστήνεται η αποκλειστική θρέψη μέσω θηλασμού να συνεχίζεται μέχρι και την ηλικία των 6 μηνών, και εν συνεχεία, μέχρι την ηλικία των δύο ετών, πρέπει να συνδυάζεται με κατάλληλα τρόφιμα συμπληρωματικά με το θηλασμό. Παρόλο που όλες σχεδόν οι μητέρες έχουν την ικανότητα να θηλάσουν, πρέπει να διαθέτουν επαρκή πληροφόρηση, καθώς και υποστήριξη από την οικογένειά τους, το σύστημα υγείας αλλά και την κοινωνία γενικότερα^{1,2}.

2. Επιδημιολογία

Τα τελευταία χρόνια ο αριθμός των θηλαζουσών γυναικών έχει αυξηθεί, ιδιαίτερα λόγω της όλο και καλύτερης ενημέρωσης που δέχονται οι γυναίκες γύρω από τα οφέλη του μητρικού θηλασμού³. Είναι αξιοσημείωτο ότι στις Η.Π.Α., το ποσοστό των γυναικών που θηλάζουν αυξήθηκε κατά 10% μέσα σε μία δεκαετία, φτάνοντας το 2014 σε ποσοστό 83% των νέων μητέρων⁴. Στην Ελλάδα παρόλο που τα τελευταία χρόνια παρατηρείται αύξηση στο ποσοστό των γυναικών που θηλάζουν, οι ελληνίδες εξακολουθούν να βρίσκονται στα χαμηλότερα ποσοστά των χωρών της Ευρώπης. Συγκεκριμένα, σε έρευνα που πραγματοποιήθηκε το 2005, αναφέρει ότι μόλις το 19,1% των γυναικών θρέφει το μωρό τους αποκλειστικά με θηλασμό τους πρώτους μήνες, όπως συστήνει ο Π.Ο.Υ., ενώ το 7,2% επιλέγει και εναλλακτικές υγρές μορφές διατροφής. Τα ποσοστά αυτά το 2014, αν και εμφανίζουν αύξηση, φτάνοντας το 44,4% και 7,9% αντίστοιχα, εξακολουθούν να είναι χαμηλά, αν αναλογιστεί κανείς χώρες όπως η Σουηδία και η Ολλανδία που το ποσοστό ξεπερνά το 65%^{5,6}. Μάλιστα, σε μακροχρόνια παρακολούθηση του θηλα-

σμού σε γυναίκες στην Ελλάδα, παρατηρήθηκε ότι οι γυναίκες που θηλάζουν για χρονικό διάστημα ίσο ή περισσότερο από 6 μήνες ανέρχονται μόλις σε ποσοστό 0,8%⁷. Τα οφέλη του μητρικού θηλασμού είναι πολυπαραμετρικά, επηρεάζοντας τόσο τη μητέρα, όσο και το νεογνό, αλλά και γενικότερα το κοινωνικό σύνολο. Αξίζει να σημειωθεί ότι έχει παρατηρηθεί αρνητική συσχέτιση μεταξύ του μητρικού θηλασμού και του αριθμού των γυναικών που υποβάλλονται σε καισαρική τομή^{5,6}. Επιπλέον, αρκετές νέες μητέρες εκφράζουν την επιφύλαξη τους σχετικά με τη συμβατότητα και την ασφάλεια της λήψης θεραπευτικής αγωγής και της ταυτόχρονης εφαρμογής της πρακτικής του θηλασμού. Ωστόσο, ο ενδοιασμός αυτός αμβλύνεται με την κατάλληλη ενημέρωση των επιστημόνων υγείας, αλλά και με τις απαραίτητες γνώσεις γύρω από τη φαρμακευτική αγωγή, καθώς θηλασμός και θεραπευτική αγωγή, συχνά μπορούν να είναι δυο αντικείμενα καλώς συμβατά³.

3. Οφέλη γαλουχίας

3.1. Οφέλη προς το νεογνό

Το μητρικό γάλα παρέχει στα νεογνά σημαντική ποσότητα από προστατευτικούς ανοσολογικούς παράγοντες^{8,9}. Το γεγονός αυτό, σε συνδυασμό με την αύξηση του αριθμού των βρεφών που θηλάζουν, έχει συνδεθεί με μειωμένα ποσοστά παιδικής θνησιμότητας. Τα οφέλη του μητρικού θηλασμού για την υγεία του βρέφους είναι πολλαπλά καθώς έχει παρατηρηθεί ότι μειώνονται τα ποσοστά παχυσαρκίας και η εμφάνιση αλλεργιών, ενώ υπάρχει προστασία ενάντια σε μολύνσεις του Γ.Ε.Σ., του αναπνευστικού, του ουροποιητικού συστήματος, αλλά και σε βακτηριακία ή μηνιγγίτιδα. Επιπλέον, ο μητρικός θηλασμός έχει συσχετιστεί θετικά με μειωμένη εμφάνιση του συνδρόμου του αιφνίδιου θανάτου του βρέφους. Συγκριτικά με βρέφη που τρέφονται με έτοιμα σκευάσματα του εμπορίου, εκείνα που θηλάζουν εμφανίζουν αυξημένη γνωστική ανάπτυξη και μειωμένα ποσοστά ανάπτυξης ινσουλινοεξαρτώμενου διαβήτη¹⁰. Το εντυπωσιακότερο από αυτά τα ευρήματα είναι η ένδειξη ότι οι θετικές επιδράσεις διατηρούνται έως και την ενήλικη ζωή¹¹.

3.2. Οφέλη για τη νέα μητέρα

Ο θηλασμός έχει θετική επίδραση και στη νέα μητέρα, εκτός από το νεογνό που επωφελείται ποικιλοτρόπως από τη γαλουχία. Πέρα από το συναισθηματικό δέσιμο που δημιουργείται μεταξύ της μητέρας και του νεογνού, αλλά και τη συναισθηματική ικανοποίηση της μητέρας, έχει καταγραφεί αύξηση των επιπέδων της ωκυτοκίνης, που μειώνει τις αιμορραγίες μετά τον τοκετό και διευκολύνει την επιστροφή της μήτρας στην πρότερή της κατάσταση. Οι γυναίκες που θηλάζουν επιστρέφουν ευκολότερα στα κιλά που είχε το σώμα τους πριν την εγκυμοσύνη. Στις θετικές επιδράσεις του θηλασμού περιλαμβάνεται και η καθυστέρηση της ωορρηξίας και η αντίστοιχη καθυστέρηση σε επόμενη εγκυμοσύνη. Επιπλέον, οι μητέρες που θηλάζουν έχουν μειωμένο κίνδυνο οστεοπόρωσης, καρκίνου των ωοθηκών και προ-εμμηνοπαυσικού καρκίνου του μαστού^{12,13}.

3.3. Κοινωνικά οφέλη

Το κόστος αγοράς γάλακτος για το νεογνό είναι ένα έξοδο που επωμίζεται η οικογένεια σε περίπτωση αδυναμίας ή άρνησης θηλασμού της μητέρας. Το κόστος αυτό ανεβαίνει ακόμα περισσότερο, εάν αναλογιστεί κανείς ότι δεν περιλαμβάνει μόνο την αγορά του γάλακτος, αλλά και όλου του απαραίτητου εξοπλισμού. Το συνολικό κόστος υγειονομικής περίθαλψης των βρεφών που δε θηλάζουν και συνεπώς δεν προφυλάσσονται από όλες τις προαναφερθείσες λοιμώξεις, θα μπορούσε να αποφευχθεί και να αποταμιευθεί από το σύστημα υγείας, εάν αυτά θήλαζαν^{13,14}.

4. Φυσιολογία της γαλουχίας

Ο μαστός αποτελεί εξειδικευμένο αδένιο του δέρματος που αποτελείται από λίπος, αδενικό και συνδετικό ιστό¹⁶. Η προετοιμασία του γυναικείου στήθους για τη γαλουχία, πραγματοποιείται σε τρία στάδια:

- **Μαστογένεση:** ωρίμανση του στήθους που ξεκινάει εμβρυϊκά και τελειώνει με την εγκυμοσύνη
- **Γαλακτογένεση:** έκκριση γάλακτος που ξεκι-

νάει κατά την εγκυμοσύνη και αυξάνεται κατά τον τοκετό

- **Γαλακτοποίηση:** γαλουχία μετά τον τοκετό

Πολλές ορμόνες ελέγχουν το σχηματισμό και τη μεταφορά του γάλακτος στο στήθος. Ο ρόλος της προλακτίνης είναι ζωτικής σημασίας καθώς φαίνεται ότι διεγείρει την παραγωγή και την έκκριση του μητρικού γάλακτος, ενώ η ωκυτοκίνη διεγείρει τη συστολή των μυοεπιθηλιακών κυττάρων που περιβάλλουν τις κυψελίδες του μαστού. Επίσης για την παραγωγή και την έκκριση γάλακτος χρειάζονται η αδενοκορτικοτρόπος ορμόνη, η κορτιζόλη, η αυξητική ορμόνη, η ινσουλίνη και η θυροξίνη.

Η παραγωγή μητρικού γάλακτος κυμαίνεται από 600 έως 1000 mL ημερησίως, με το μέγιστο ημερήσιο όγκο γάλακτος να εμφανίζεται περίπου στις 06:00 και το χαμηλότερο μεταξύ 18:00 και 22:00. Άλλες μεταβολές του όγκου του γάλακτος σχετίζονται με το χρονικό διάστημα που αφιερώνει η γυναίκα στο θηλασμό, αλλά και οι αυξημένες διατροφικές ανάγκες καθώς το βρέφος αναπτύσσεται και ωριμάζει.

Κατά τη διάρκεια των πρώτων εβδομάδων γαλουχίας, το βρέφος λαμβάνει το λεγόμενο πύαρ ή πρωτόγαλα, που είναι ένα διαυγές κιτρινωπό υγρό με υψηλή περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες, ανοσοσφαιρίνες, αλλά χαμηλή περιεκτικότητα σε λιπαρά και υδατάνθρακες (λακτόζη). Μέχρι το τέλος του πρώτου μήνα θηλασμού, το γάλα αποκτά την τελική του σύνθεση, που συνεπάγεται μείωση των πρωτεϊνών και αύξηση της λακτόζης και του λίπους. Το γάλα αυτό ονομάζεται ώριμο γάλα, και είναι ουσιαστικά ένα σύστημα διασποράς, αποτελούμενο από 88 έως 95% υδατική φάση με πρωτεΐνες και υδατάνθρακες και τη λιπαρή φάση να αποτελεί το υπόλοιπο ποσοστό. Επιπλέον, στο γάλα περιέχονται υδατοδιαλυτές και λιποδιαλυτές βιταμίνες και άλλα θρεπτικά συστατικά^{3,17}. Η σύνθεση του ανθρώπινου γάλακτος ποικίλλει τόσο ανάλογα με την περίοδο θηλασμού, όσο και με τη μητρική διατροφή, παραδείγματος χάρι, διατροφή πλούσια σε λίπη οδηγεί σε αυξημένο ποσοστό λιπιδίων στο γάλα³.

Η λήψη φαρμάκων από τη νέα μητέρα προκαλεί προβληματισμό, καθώς εκτός από τον κίνδυνο μεταφοράς μέσω του γάλακτος στο βρέφος, μπορεί να μεταβάλει και την ίδια την παραγωγή γάλακτος λόγω

επηρεασμού των ορμονών που ελέγχουν τη διαδικασία της γαλουχίας. Επιπλέον, εξαιτίας ηθικών και νομικών κωλυμάτων, οι φαρμακευτικές εταιρείες αποφεύγουν να συστήνουν τη χρήση φαρμάκων κατά τη διάρκεια της γαλουχίας ή της εγκυμοσύνης, λόγω της αδυναμίας διεξαγωγής τυχαιοποιημένων κλινικών δοκιμών. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα οι διαθέσιμες πληροφορίες να περιορίζονται σε τυχαίες αναφορές περιστατικών, και έτσι υπάρχουν περισσότερες διαθέσιμες πληροφορίες για τα παλαιότερα, και όχι για τα πιο καινούργια φαρμακομόρια^{3,9}.

Επιπλέον, η χρήση διαφορετικών ειδών γάλακτος από άλλα θηλαστικά σε μελέτες, μπορεί να επιφέρει αμφιλεγόμενα φαρμακοκινητικά αποτελέσματα, δεδομένου ότι η σύσταση του γάλακτος, δε διαφέρει μόνο μεταξύ των διαφόρων σταδίων θηλασμού και ανάπτυξης του βρέφους, αλλά και μεταξύ των διαφόρων ζωικών ειδών. Ενδεικτικά αναφέρεται ότι το ανθρώπινο γάλα περιέχει το χαμηλότερο ποσοστό σε πρωτεΐνες, καταλαμβάνοντας κατά μέσο όρο μόνο 0,9% του συνολικού βάρους, ενώ στους επίμυες φτάνει το 12,0% και στο αγελαδινό φτάνει το 3,4%^{3,9,18}.

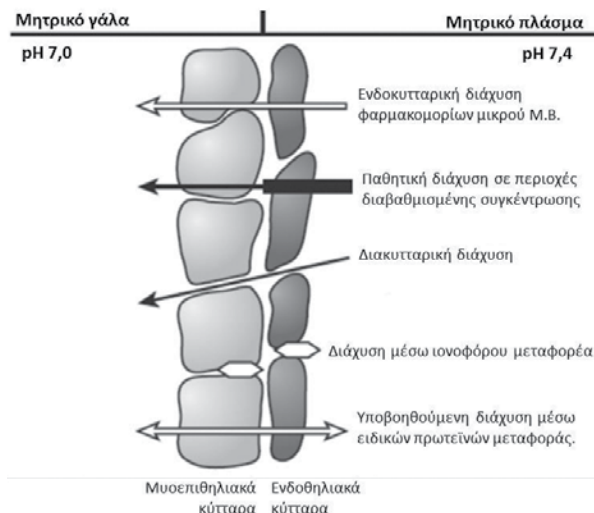
5. Τρόποι εισόδου φαρμάκων από το πλάσμα στο μητρικό γάλα

Η πορεία που ακολουθεί το φάρμακο μετά τη λήψη του, από οποιαδήποτε οδό χορήγησης, αποτελείται από τα εξής τέσσερα στάδια. Αρχικά, εισέρχεται στο μητρικό κυκλοφορικό σύστημα στη συνέχεια μεταφέρεται στο μαστό και κατόπιν στους γαλακτοφόρους αδένες και τελικά στο γάλα από όπου και καταναλώνεται από το βρέφος^{3,9}.

Το μητρικό γάλα και το πλάσμα χαρακτηρίζονται από ισοτονικότητα, έτσι τα περιεχόμενα του πλάσματος είναι εύκολο να εισέρθουν στο γάλα, με δύο κύριους τρόπους: παθητική διάχυση ή ενεργό μεταφορά¹⁹. Πιο αναλυτικά παρουσιάζονται οι εξής μηχανισμοί μεταφοράς:

- **Διακυτταρική διάχυση** (Transcellular diffusion) μικρών και μη ιοντισμένων μορίων, με υψηλή λιπιδική διαλυτότητα, στα οποία οι συγκεντρώσεις του πλάσματος και του μητρικού γάλακτος είναι παρόμοιες.

- Ενδοκυτταρική διάχυση.



Σχήμα 1: Διάφοροι πιθανοί μηχανισμοί μεταφοράς φαρμακομορίων από το μητρικό πλάσμα στο μητρικό γάλα.¹⁹

- Παθητική διάχυση σε περιοχές διαβαθμισμένης συγκέντρωσης.
- Διάχυση μέσω ιοντικών διαύλων υποβοηθούμενη από πρωτεΐνες που συμμετέχουν σε μεμβρανικές μεταφορές.
- Ενεργή μεταφορά μέσω ειδικών μεταφορέων φαρμάκων.

Οι διάφοροι πιθανοί μηχανισμοί μεταφοράς φαρμακομορίων από το μητρικό πλάσμα στο μητρικό γάλα φαίνονται στο **Σχήμα 1**¹⁹.

Η διάχυση των φαρμάκων στο μητρικό γάλα είναι μια αμφίδρομη διαδικασία, όχι μόνο τα φάρμακα διαχέονται στο μητρικό γάλα από το πλάσμα, αλλά μπορούν επίσης να μεταφερθούν από το μητρικό γάλα στο πλάσμα. Επιπλέον, οι αρχές της μεταφοράς φαρμάκων μέσα και έξω από το μητρικό γάλα εφαρμόζονται εξίσου στους μεταβολίτες των φαρμάκων^{19,20}.

6. Παράγοντες που επηρεάζουν τη μεταφορά φαρμάκων

6.1. Φυσικοχημικοί παράγοντες φαρμακομορίων

Ο συνηθέστερος τρόπος εισόδου των φαρμάκων στο μητρικό γάλα είναι μέσω παθητικής διάχυσης,

με βάση την οποία λιποδιαλυτά και μη ιοντισμένα φάρμακα διαπερνούν ευκολότερα στο γάλα.

Οι κύριοι παράγοντες που επηρεάζουν την είσοδο στο γάλα είναι το μοριακό βάρος, ο βαθμός ιοντισμού, η λιποδιαλυτότητα (λιποφιλία) καθώς επίσης η πρωτεϊνική σύνδεση, δεδομένου ότι το μη συνδεδεμένο φάρμακο διέρχεται τις μεμβράνες.

Το μοριακό βάρος των φαρμάκων επηρεάζει σημαντικά τη μεταφορά τους στο μητρικό γάλα. Τα περισσότερα φάρμακα μικρού Μ.Β. μπορούν να διασχίσουν τις βιολογικές μεμβράνες και να καταλήξουν στο μητρικό γάλα σε αντίθεση με τα φάρμακα μεγαλύτερου Μ.Β. που συνήθως δεν ανιχνεύονται στο μητρικό γάλα.

Σημαντικός παράγοντας είναι και ο βαθμός ιοντισμού του φαρμάκου αλλά και το σχετικό pH του μητρικού πλάσματος και του μητρικού γάλακτος. Το μητρικό γάλα είναι πιο όξινο σε σχέση με το πλάσμα και το pH του κυμαίνεται από 6,35 έως 7,65, γεγονός που επηρεάζει το βαθμό ιοντισμού των φαρμάκων. Καθώς τα περισσότερα φάρμακα είναι ασθενή οξέα ή βάσεις, η κατανομή τους μεταξύ του αίματος και του μητρικού γάλακτος εξαρτάται από το pH. Ο λόγος M/P, δηλαδή ο λόγος της ποσότητας στο μητρικό γάλα προς την ποσότητα στο πλάσμα, μπορεί να υπολογιστεί από τις ακόλουθες εξισώσεις:

Για ασθενείς βάσεις:

$$M/P = \frac{1 + 10^{(pK_a - pH_m)}}{1 + 10^{(pK_a - pH_p)}}$$

Για ασθενή οξέα:

$$M/P = \frac{1 + 10^{(pH_m - pK_a)}}{1 + 10^{(pH_p - pK_a)}}$$

Όπου:

- pH_m : pH μητρικού γάλακτος
- pH_p : pH μητρικού πλάσματος
- pK_a : η σταθερά ιονισμού για το φάρμακο ενδιαφέροντος

Από τις παραπάνω σχέσεις γίνεται εμφανές ότι το χαμηλότερο pH του μητρικού γάλακτος, σε σχέση με αυτό του πλάσματος, οδηγεί σε υψηλότερη

συγκέντρωση της ιοντικής μορφής στο πλάσμα και σε χαμηλότερο λόγο M/P. Το αντίθετο συμβαίνει με τις βασικές ενώσεις. Στην περίπτωση αυτή η αυξημένη συγκέντρωση της ιοντικής μορφής στο γάλα οδηγεί σε εγκλωβισμό του φαρμάκου στο γάλα (ion trapping).

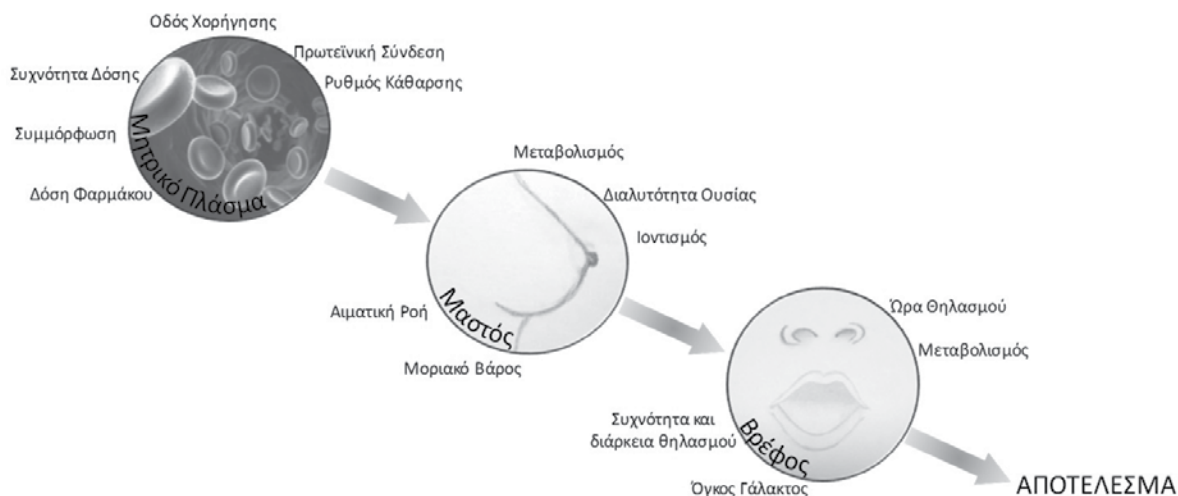
Εξίσου σημαντικός παράγοντας αποτελεί και η λιποδιαλυτότητα του φαρμάκου. Το μητρικό γάλα αποτελείται από μια λιπαρή και μια υδατική φάση. Αναλόγως με τη λιποδιαλυτότητά του, το φάρμακο συγκεντρώνεται περισσότερο στη μια ή την άλλη φάση. Τα φάρμακα με αυξημένη λιποδιαλυτότητα, που συγκεντρώνονται στη λιπαρή φάση, εισέρχονται ευκολότερα στο μαστό σε αντίθεση με μη λιποδιαλυτά μόρια. Για τα μόρια αυτά, ο υπολογισμός του λόγου M/P γίνεται με χρήση παράγοντα διόρθωσης, και συγκεκριμένα του συντελεστή μερισμού οκτανόλης/νερού. Φάρμακα με υψηλό συντελεστή κατανομής μπορούν να δεσμευθούν στα λιπίδια του γάλακτος και να εμφανίσουν μεγαλύτερες συγκεντρώσεις σε σχέση με το πλάσμα.

Η συγγένεια του φαρμάκου με τις πρωτεΐνες του πλάσματος επηρεάζει την μεταφορά προς το μαστό. Τα φάρμακα που δεσμεύονται σε υψηλό ποσοστό με τις πρωτεΐνες του πλάσματος, παραμένουν στο μητρικό πλάσμα κυρίως, εκτός αν υπάρχουν ειδικοί πρωτεϊνικοί μεταφορείς των φαρμάκων αυτών όπου υποβοηθούν τη μεταφορά τους στο γάλα. Ο υπολογισμός του δείκτη M/P, για αυτά φάρμακα αυτά, γίνεται ομοίως με προηγούμενως με χρήση παράγοντα διόρθωσης, λαμβάνοντας υπ' όψη ως M το αποβουτυρωμένο γάλα^{19,20}.

6.2. Μητρικοί παράγοντες

Οι μητρικοί παράγοντες που επηρεάζουν την είσοδο ενός φαρμάκου στο μητρικό γάλα περιλαμβάνουν τη δόση, τη συχνότητα χορήγησης, τη συμμόρφωση κατά τη λήψη και την οδό χορήγησης του μητρικού φαρμάκου. Επίσης, ο χρόνος του θηλασμού σε συνάρτηση με το χρονοδιάγραμμα χορήγησης του φαρμάκου είναι ύψιστης σημασίας καθώς καθορίζουν την ποσότητα φαρμάκου που θα καταναλώσει το βρέφος.

Επιπλέον, η χρονική διάρκεια μετά τον τοκετό που γίνεται η φαρμακευτική χορήγηση, είναι πολύ



Σχήμα 2: Σχηματική αναπαράσταση των παραγόντων που επηρεάζουν τη μεταφορά των φαρμακομορίων έως την εμφάνιση του πιθανού αποτελέσματος στο βρέφος.⁹

σημαντική, καθώς συμβαίνουν αλλαγές στη φυσιολογία του οργανισμού της μητέρας. Εντός δύο εβδομάδων μετά τον τοκετό, η πλειονότητα των μεταβολών που εμφανίζονται στο κυκλοφορικό σύστημα μιας εγκύου, έχουν επανέλθει στην κατάσταση που ήταν προ-εγκυμοσύνης. Αυτό σημαίνει ότι στις πρώτες 2 εβδομάδες της γαλουχίας οι συγκεντρώσεις των φαρμάκων στο πλάσμα μπορεί να διαφέρουν σημαντικά σε σχέση με μετέπειτα χορήγηση, καθώς μετά από αυτήν την περίοδο, τα επίπεδα των υδατοδιαλυτών φαρμάκων στο πλάσμα θα είναι παρόμοια με εκείνα των μη εγκύων γυναικών. Αντίθετα, η κατανομή του σωματικού λίπους χρειάζεται περισσότερο χρόνο ώστε να επανέλθει στην κατάσταση προ-εγκυμοσύνης. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα τα λιποδιαλυτά φάρμακα να έχουν χαμηλότερη συγκέντρωση κατά τη διάρκεια της γαλουχίας σε σύγκριση με μια μη έγκυο γυναίκα.

Άλλος παράγοντας που αλλάζει σημαντικά, είναι η απέκκριση των φαρμάκων από τον οργανισμό της θηλάζουσας μητέρας, καθώς κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης τροποποιείται η φυσιολογική νεφρική λειτουργία.

Ωστόσο, τα περισσότερα φάρμακα θα περάσουν στο μητρικό γάλα σε μεγαλύτερες ή μικρότερες ποσότητες. Η ποσότητα του φαρμάκου που διατίθεται

για μεταφορά στο στήθος θα εξαρτηθεί από τη ροή του αίματος στο μαστό. Είναι γνωστό ότι η ροή του αίματος στο μαστό αυξάνεται γενικά κατά τη διάρκεια της γαλουχίας, αλλά δεν είναι σαφές εάν υπάρχουν μεταβολές στη ροή του αίματος κατά τη διάρκεια ή μεταξύ της σίτισης. Τέλος, εάν το γάλα είναι στο στάδιο του πρωτογάλακτος (πύαρ) ή του ώριμου γάλακτος, τροποποιεί τη μεταφορά φαρμάκων. Αυτό οφείλεται στο γεγονός ότι η σύσταση του μητρικού γάλακτος σταδιακά μεταβάλλεται καθώς το βρέφος μεγαλώνει και αυξάνονται τα ποσοστά των λιπιδίων που αυτό περιέχει. Ως εκ τούτου, στο ώριμο γάλα υπάρχουν υψηλότερες συγκεντρώσεις λιποδιαλυτών φαρμάκων σε σχέση με το πρωτόγαλα^{3,8,9}.

6.3. Βρεφικοί παράγοντες

Βασικοί παράγοντες που επηρεάζουν τη διαθέσιμη ποσότητα του φαρμάκου για το βρέφος, είναι η συχνότητα, ο όγκος και η διάρκεια του θηλασμού. Τα μωρά που τρώνε περισσότερο θα λάβουν αναγκαστικά αυξημένες ποσότητες φαρμάκων. Δεδομένου ότι το μεταβολικό σύστημα των νεογνών είναι ανώριμο συγκριτικά με αυτό των ενηλίκων, ο χρόνος ημιζωής ορισμένων φαρμάκων αυξάνεται κατά πολύ όταν αυτά βρεθούν σε ένα βρεφικό σώμα

μέσω του θηλασμού και έτσι κατ' επέκταση μπορεί να εμφανιστεί βιοσυσώρευση⁸.

Στο **Σχήμα 2** συνοψίζονται όλοι οι παράγοντες που καθορίζουν την επίδραση των φαρμάκων στο θηλασμό από μεταφορά τους στο γάλα έως την εμφάνιση του πιθανού αποτελέσματος στο βρέφος⁹.

7. Πρόβλεψη έκθεσης νεογνού στο φάρμακο

Ο λόγος μεταξύ των συγκεντρώσεων του φαρμάκου στο γάλα και το μητρικό πλάσμα ονομάζεται λόγος γάλακτος προς πλάσμα (M/P ratio). Αυτή είναι μία χρόνο-εξαρτώμενη παράμετρος, που επηρεάζεται από παράγοντες όπως η φαρμακοκινητική του εκάστοτε φαρμάκου στη θηλάζουσα μητέρα και οι αλλαγές στη σύνθεση του γάλακτος. Έχει προταθεί ότι η αναλογία μπορεί να προβλεφθεί από τα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά του φαρμάκου που μεταφέρεται κυρίως σε γάλα με παθητική διάχυση⁸.

Για να υπολογιστεί η δόση του φαρμάκου που λαμβάνει το νεογνό μέσω του θηλασμού μπορεί να χρησιμοποιηθεί η σχέση:

$$\text{Δόση (mg/kg/day)} = C_{ss} \times M/P \times A$$

Όπου:

- C_{ss} : η συγκέντρωση του φαρμάκου στη σταθερή κατάσταση, για τη μητέρα

- A = η προσληφθείσα ποσότητα γάλακτος που συνήθως ισούται με 0,1 mL/kg/min (για λήψη 150 mL/kg/ ημέρα)

Ο «δείκτης έκθεσης» έχει προταθεί γιατί συνδέει την αναλογία M/P, την πρόσληψη γάλακτος, και την κάθαρση του βρέφους από το φάρμακο σε ένα κατά μέσο όρο χρόνο έκθεσης στο φάρμακο του θηλάζοντος βρέφους:

$$\% \text{ δείκτης έκθεσης} = \frac{100 \times M/P \times A}{\text{νεφρική κάθαρση στο βρέφος}}$$

όπου το A είναι η πρόσληψη γάλακτος (150 mL / kg / ημέρα = 0,1 mL / kg / min), και η κάθαρση εκφράζεται ως mL / kg / min.

Αυτή η παράμετρος είναι εννοιολογικά ισοδύναμη με τη δόση του φαρμάκου στο γάλα του βρέ-

φους που εκφράζεται ως ποσοστό της θεραπευτικής δόσης του βρέφους (δηλαδή, εγκατεστημένης ή θεωρητικής). Εναλλακτικά, μπορεί να θεωρηθεί ως μια μέση σταθερή κατάσταση συγκέντρωσης φαρμάκου στον ορό του θηλάζοντος βρέφους (η οποία επιτυγχάνεται μετά από την έκθεση στο φάρμακο μέσω του γάλακτος) που εκφράζεται ως ποσοστό του αντίστοιχου θεραπευτικού επιπέδου στον ορό (δηλαδή, εγκατεστημένης ή θεωρητικής).

Λόγω της υπερβολικής σχέσης που παρατηρείται μεταξύ της κάθαρσης και της έκθεσης, όταν παρατηρείται χαμηλή κάθαρση υπάρχει πολύ αυξημένη έκθεση στο βρέφος. Ο λόγος M/P παίζει επίσης σημαντικό ρόλο στο δείκτη έκθεσης στην περίπτωση χαμηλής κάθαρσης.

Ο υπολογισμός του M/P στα διάφορα στάδια μέχρι την ωρίμανση του γάλακτος, είναι αρκετά πολύπλοκος και υπάρχουν ελάχιστες μελέτες στη βιβλιογραφία^{19,20}. Επίσης, η νεφρική απέκκριση των φαρμάκων εξαρτάται από το ρυθμό σπειραματικής διήθησης (GFR) και τη σωληναριακή κάθαρση. Ο GFR των νεογνών κατά τη γέννηση, είναι μόλις 25% του επιπέδου των ενηλίκων. Η αύξηση του GFR στις αντίστοιχες τιμές των ενηλίκων επιτυγχάνεται μετά από 3-5 μήνες ζωής, ωστόσο η σωληναριακή κάθαρση ωριμάζει πιο αργά. Όμως, ακόμα και έτσι δεν είναι εύκολο να γίνει πρόβλεψη της απέκκρισης του φαρμάκου, καθώς το κάθε φάρμακο έχει δικό του μεταβολικό προφίλ σε διαφορετικές υποοικογένειες ενζύμων. Εκτός από την κάθαρση του φαρμάκου, η ανάπτυξη διαδικασιών γαστρεντερικής απομάκρυνσης και απορρόφησης του φαρμάκου στο βρέφος είναι επίσης σημαντικές, δεδομένου ότι το φάρμακο στο γάλα υπόκειται σε απορρόφηση και στο φαινόμενο πρώτης διόδου από το Γ.Ε.Σ. και το ήπαρ του βρέφους αντίστοιχα⁸.

Ένας πιο άμεσος και αποτελεσματικός τρόπος για τον προσδιορισμό του λόγου M/P, είναι με τη χρήση αναλυτικών μεθόδων για την άμεση μέτρηση της ποσότητας που βρίσκεται στο μητρικό γάλα και πλάσμα, οπότε και της διαθέσιμης δόσης²¹⁻²³.

Θα μπορούσε να υποθέσει κανείς ότι ο θηλασμός μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως εναλλακτική οδός χορήγησης φαρμάκων στο βρέφος στα πλαίσια μιας θεραπευτικής αγωγής. Ωστόσο, κάτι τέτοιο δεν

θα ήταν δόκιμο δεδομένου ότι η απορρόφηση των φαρμάκων που παρέχονται μέσω του μητρικού γάλακτος, δεν είναι ανάλογη της παρεντερικής χορήγησης φαρμάκου. Στα φάρμακα αυτά είναι παρούσα μεγάλη ποσότητα «διαλύτη», που περιλαμβάνει πληθώρα συστατικών που μπορούν να αλληλεπιδράσουν με το φάρμακο και να μεταβάλουν τη διαθέσιμη ποσότητα του φαρμάκου^{19,20}.

8. Φαρμακευτική αγωγή θηλάζουσας μητέρας

Στις περιπτώσεις που είναι απαραίτητη η χορήγηση φαρμάκων στη θηλάζουσα μητέρα τόσο οι γυναίκες που θηλάζουν όσο και οι επαγγελματίες υγείας ανησυχούν κυρίως για την έκθεση του βρέφους στο φάρμακο και για το πως αυτό μπορεί να επηρεάσει την υγεία του βρέφους και την ανάπτυξή του, τόσο βραχυπρόθεσμα όσο και μακροπρόθεσμα. Οι αντενδείξεις πρέπει να αξιολογούνται ανά ασθενή, με τα οφέλη και τους κινδύνους να ζυγίζονται τόσο για τη μητέρα όσο και το βρέφος. Η παρουσία ανεπιθύμητων ενεργειών δε συνιστά αυτόματα αντένδειξη, αλλά μπορεί να απαιτηθεί μια προσεκτική προσέγγιση (π.χ. παρακολούθηση του βρέφους για σωματικές αλλαγές ή αλλαγές στη συμπεριφορά). Ορισμένα φάρμακα μπορεί να μειώσουν την παραγωγή γάλακτος, και αυτό θεωρείται ως ανεπιθύμητο αποτέλεσμα, αλλά υπάρχουν και φάρμακα που την αυξάνουν. Επιπλέον, εάν το φάρμακο, που θεωρείται ασφαλές κατά τη διάρκεια του θηλασμού, είναι για χρόνια πάθηση, μπορεί να επηρεαστεί η απόφαση σχετικά με τη σίτιση.

Σε γενικές γραμμές, όσον αφορά στην έκκριση φαρμάκων στο μητρικό γάλα και την επίδραση στο βρέφος ισχύουν τα εξής:

- Η πλειονότητα των φαρμάκων μεταφέρονται από το μητρικό πλάσμα στο μητρικό γάλα.
- Η σχέση συγκέντρωσης-χρόνου των φαρμάκων στο μητρικό γάλα συμπίπτει με τη σχέση συγκέντρωσης-χρόνου φαρμάκων στο πλάσμα, με αναλογίες M/P να κυμαίνονται συνήθως από 0,5 έως 1,0.
- Η συγκέντρωση φαρμάκων στο μητρικό γάλα είναι σχεδόν πάντοτε πολύ χαμηλή και απρόβλεπτη για να επιτρέπει τη θεραπεία των βρεφών με το να παίρνουν φάρμακα οι μητέρες τους.

- Οι χρόνοι ημίσειας ζωής των φαρμάκων στο πλάσμα και στο μητρικό γάλα είναι παρόμοιοι μετά από μία μόνο θεραπευτική δόση της μητέρας, που υποδηλώνει ταχεία μεταφορά του φαρμάκου από το πλάσμα στο γάλα.

- Η ποσότητα φαρμάκου που διατίθεται στο μητρικό γάλα για απορρόφηση από το βρέφος συνήθως είναι μικρότερη από το 1% της μητρικής δόσης. Αυτή η ποσότητα μπορεί να ελαχιστοποιηθεί με το θηλασμό σε περιόδους όπου οι μητρικές συγκεντρώσεις φαρμάκου στο πλάσμα είναι χαμηλές, δηλαδή πριν από την επόμενη δόση.

- Λίγες μελέτες έχουν περιγράψει τη μεταφορά φαρμάκων στο πλαίσιο της μακροχρόνιας μητρικής θεραπείας σε ημέρες ή εβδομάδες.

- Στην περίπτωση των περισσότερων φαρμάκων, ακόμη και εκείνων με ισχυρές φαρμακολογικές επιδράσεις, ο κίνδυνος για ανεπιθύμητες ενέργειες στα βρέφη που θηλάζουν είναι συνήθως αμελητέος, ειδικά εάν δοθεί προσοχή στο σχεδιασμό του προγράμματος θηλασμού κατά τη διάρκεια της ελάχιστης έκθεσης σε φάρμακα.

- Τα ισχυρά φάρμακα πρέπει να χορηγούνται σε μητέρες που θηλάζουν μόνο μετά από προσεκτική εξέταση και συμβουλευτική των γονέων ως προς την παρακολούθηση πιθανών ανεπιθύμητων ενεργειών. Η απόφαση αυτή θα πρέπει επίσης να περιλαμβάνει την εξέταση της κάθαρσης του φαρμάκου στα βρέφη^{19,20,24}.

8.1. Ενδεικνύόμενες θεραπευτικές ομάδες φαρμάκων^{19,20,24}

1. Αναλγητικά και αντιφλεγμονώδη φάρμακα: Παρακεταμόλη, ασπιρίνη και μη στεροειδή αντιφλεγμονώδη φάρμακα εκκρίνονται στο μητρικό γάλα αλλά σε μικρές ποσότητες. Σαλικυλισμός, έχει εμφανιστεί σε βρέφη όπου οι μητέρες τους έπαιρναν ασπιρίνη, ωστόσο το φαρμακοκινητικό προφίλ των νεογνών υποδηλώνει διαφορετική οδό έκθεσης από το μητρικό γάλα. Από τα οπιοειδή, η είσοδος της μορφίνης στο μητρικό γάλα, θεωρείται περιορισμένη.

2. Αντιασθματικά φάρμακα: Τα εισπνεόμενα φάρμακα, όπως η σαλβουταμόλη, δεν έχουν εμφα-

νίσει ανεπιθύμητες ενέργειες στα βρέφη. Ομοίως και τα εισπνεόμενα αδρενοκορτικοστεροειδή, ιδιαίτερα σε δόσεις μικρότερες των 1000μg ανά ημέρα, δεν συσχετίζονται με ανεπιθύμητες ενέργειες. Η θεοφυλλίνη είναι συμβατή με το θηλασμό μόνο σε βραδείας δράσεως σκευάσματα. Τέλος, για πιο σύγχρονα σκευάσματα όπως η μοντελουκάστη, δεν έχουν γίνει μελέτες, ωστόσο, από μελέτες παρόμοιων ουσιών θεωρείται ασφαλή κατά τον θηλασμό.

3. Αντιμικροβιακά φάρμακα: β-λακταμικά αντιβιοτικά, τετρακυκλίνες, ερυθρομυκίνη, κλαριθρομυκίνη, κινολόνες και μετρονιδαζόλη εισέρχονται στο μητρικό γάλα αλλά σε συγκεντρώσεις που θεωρούνται συμβατές με το θηλασμό. Προσοχή πρέπει να δίνεται σε περίπτωση χορήγησης ναλιδικού οξέος, νιτροφουραντοΐνης, κινίνης και σουλφοναμιδίων σε μητέρες με ανεπάρκεια ενζύμου G6PD, λόγω συσχετισμού που έχει γίνει με αιμόλυση στα βρέφη. Η χρήση ακυκλοβίρης θεωρείται συμβατή με το θηλασμό, παρότι διέρχεται σε μεγαλύτερη ποσότητα από την αναμενόμενη στο μητρικό γάλα. Τέλος, τα αντιρετροϊκά φάρμακα ζιδοβουδίνη, νεβιραπίνη και λαμβουδίνη εισέρχονται σε μεγάλες ποσότητες στο μητρικό γάλα, ωστόσο το κατά πόσο μπορούν να προφυλάξουν το νεογνό από τον HIV, είναι υπό αμφισβήτηση.

4. Αντιυπερτασικά/Διουρητικά: Η έκταση της εισόδου των β αδρενεργικών ανταγωνιστών στο μητρικό γάλα σχετίζεται άμεσα από την πρωτεϊνική σύνδεση που παρουσιάζουν. Από αυτή την κατηγορία τα φάρμακα προπρανολόλη, ναδολόλη και μετοπρολόλη είναι συμβατά με το θηλασμό, ενώ τα υπόλοιπα συσσωρεύονται σε μεγάλες ποσότητες. Σε κάθε περίπτωση τα νεογνά πρέπει να παρακολουθούνται για περίπτωση εμφάνισης βραδυκαρδίας. Επιπλέον, η καπτοπρίλη, η υδραλαζίνη, η μεθυλντόπα, η βεραπαμίλη και η φουροσεμίδη είναι συμβατά με τον θηλασμό. Τέλος, η χλωροθειαζίδη μπορεί να καταστείλει την έκκριση γάλακτος, ωστόσο χρησιμοποιείται σε θηλάζουσες γυναίκες.

5. Αντισπασμωδικά / ψυχοδραστικά: Καρβαμαζεπίνη, φαινυτοΐνη, βαλπροϊκό οξύ, αιθοσουξιμίδη, τοπιραμάτη και γκαμπαπεντίν είναι συμβατά με

το θηλασμό. Επίσης, η φαινοβαρβιτάλη και η πριμιδόνη έχουν μικρή βρεφική κάθαρση και συνεπώς πρέπει να αποφεύγονται διότι συσσωρεύονται. Βαλπροϊκό οξύ και λαμοτριγίνη χορηγούνται αλλά τα βρέφη πρέπει να παρακολουθούνται για πιθανή εμφάνιση ανεπιθύμητων ενεργειών. Επίσης, βενζοδιαζεπίνες, φαινοθειαζίνες και κλασσικά αντικαταθλιπτικά πρέπει να χορηγούνται με προσοχή. Τέλος, οι εκλεκτικοί αναστολείς επαναπρόσληψης σεροτονίνης (SSRI's) εμφανίζουν ελάχιστη έκθεση του βρέφους που αγγίζει μόλις το 10% της μητρικής δόσης.

6. Καρδιαγγειακά: Διγοξίνη, φλεκαϊνίδη, μεξιλετίνη και κινιδίνη θεωρούνται συμβατά με το θηλασμό. Αντίθετα τα φάρμακα προκαϊναμίδη και δισοπιραμίδη χορηγούνται αλλά πρέπει να παρακολουθούνται τα επίπεδά τους.

7. Φάρμακα Ενδοκρινικού/Γαστρεντερικού: Λεβοθυροξίνη, τολβουταμίδη, χλωροπροπαμίδη καθώς και καθαρτικά, ρανιτιδίνη, σιμετιδίνη, αντιόξινα, ομεπραζόλη, εσομεπραζόλη και πανταπραζόλη χορηγούνται κατά το θηλασμό, ενώ και τα φάρμακα μετοκλοπραμίδη και δομπεριδόνη είναι συμβατά και ταυτόχρονα αυξάνουν και την έκκριση γάλακτος.

8.2. Αντενδεικνυόμενες θεραπευτικές ομάδες φαρμάκων^{19,20,24}

- **Αντιμεταβολίτες:** Παρότι η παρεχόμενη δόση για το νεογνό είναι μικρή, οι αυξημένες πιθανότητες για μακροχρόνιες ανεπιθύμητες ενέργειες είναι αυξημένες, γι αυτό και αποφεύγονται.

- **Αντιπηκτικά:** Τα αντιπηκτικά ηπαρίνη, βαρφαρίνη και δικουμαρόλη δεν προκαλούν προβλήματα στο βρέφος, παρότι εκκρίνονται στο μητρικό γάλα. Αντίθετα η εθυλδικουμαρόλη και η φαινινδιόνη προκαλούν αιμορραγίες στα θηλάζοντα βρέφη.

- **Αλκαλοειδή εργοταμίνης:** Η βρωμοκρυπτίνη προκαλεί καταστολή της έκκρισης γάλακτος και συνεπώς δεν είναι συμβατή με την πρακτική του θηλασμού.

- **Άλατα Χρυσού:** αμφιλεγόμενα δεδομένα υπάρχουν στη βιβλιογραφία. Για αυτό το λόγο συστήνεται η συνεχής παρακολούθηση των επιπέδων του

φαρμάκου στο νεογνό για την εμφάνιση ανεπιθύμητων ενεργειών.

- **Ουσίες περιέχουσες ιώδιο:** Δεν πρέπει να χορηγούνται διότι εκκρίνονται σε επαρκείς ποσότητες στο μητρικό γάλα και μπορεί να προκαλέσουν προβλήματα στον θυρεοειδή. Σε αυτή την κατηγορία υπάγεται η αμιοδαρόνη, που πρέπει να χορηγείται μόνο σε μεγάλη ανάγκη μόνο εάν δεν υπάρχει εναλλακτική λύση.

- **Από του στόματος αντισυλληπτικά:** Μειώνουν την έκκριση γάλακτος, ενώ τα οιστρογόνα και τα προγεσταγόνα μπορεί να προκαλέσουν και διαταραχές ανάπτυξης.

- **Ψυχοτρόπα Φάρμακα:** Λίθιο και φαινοβαρβιτάλη αντενδείκνυνται.

- **Ραδιοφάρμακα:** Ποικίλλει ο χρόνος κάθαρσης, αλλά για γενικότερη ασφάλεια αντενδείκνυνται στον θηλασμό.

- **Φάρμακα κατάχρησης:** Αμφεταμίνες, Κοκαΐνη, Αιθανόλη, Μαριχουάνα, Φαινοκυκλιδίνη και Νικοτίνη αντενδείκνυνται κατά τον θηλασμό τόσο διότι διέρχονται ταχέως εντός του μαστού αλλά και διότι εμφανίζουν ανεπιθύμητες ενέργειες στα βρέφη.

9. Συμπεράσματα

Τα τελευταία χρόνια το ποσοστό των θηλαζουσών

μητέρων έχει αυξηθεί σημαντικά. Τα οφέλη από το μητρικό θηλασμό δεν περιορίζονται μόνο στην μητέρα και το νεογνό αλλά και γενικότερα στην κοινωνία. Το πιο ενδιαφέρον, ωστόσο, εύρημα είναι ότι τα οφέλη αυτά είναι μακροπρόθεσμα, και ότι στην περίπτωση των παιδιών διαρκούν έως και την ενηλικίωσή τους. Παρόλα αυτά, ταυτόχρονα με το θηλασμό, πρέπει να εξετάζονται και πιθανές θεραπευτικές προσεγγίσεις ώστε να λυθούν χρόνια και μη προβλήματα υγείας της μητέρας, λαμβάνοντας υπόψη και τα αποτελέσματα που μπορεί να επιφέρουν στο βρέφος. Τα φάρμακα με χαμηλή πρωτεϊνική σύνδεση, χαμηλό μοριακό βάρος, υψηλή λιποφιλία και κατιοντικό χαρακτήρα, έχουν περισσότερες πιθανότητες να μεταφερθούν στο μητρικό γάλα. Ωστόσο, η ποικιλία των παραγόντων που επηρεάζουν τη μεταφορά των φαρμάκων στο μητρικό γάλα καθιστά πολυπλοκότερες τέτοιου είδους μελέτες. Σε κάθε περίπτωση με την κατάλληλη μελέτη και συμβουλή των ειδικών υγείας ο θηλασμός και η θεραπεία μπορούν να συμβαδίσουν. Τέλος, επειδή τα δεδομένα που υπάρχουν για τα φαρμακευτικά σκευάσματα περιορίζονται κυρίως σε παλαιότερα σκευάσματα, λόγω περισσότερων μελετών αλλά και τυχαίων αναφορών περιστατικών, πρέπει να προωθηθεί η έρευνα προς την κατεύθυνση των νέων φαρμακευτικών ομάδων ως προς την επίδρασή τους βρέφος κατά το θηλασμό. □

Medication and breastfeeding: Compatibility and Concerns

Ariadni Geballa-Koukoula¹, Khalil Geballa-Koukoulas², Panagiota Vourna³, Dimitra Gennimata⁴, Eirini Panteri^{1*}

¹*National and Kapodistrian University of Athens, School of Pharmacy, Division of Pharmaceutical Chemistry, Laboratory of Pharmaceutical Analysis, Panepistimiopolis, Zografou 157 71, Athens, Greece*

²*National and Kapodistrian University of Athens, Department of Biology, Division of Zoology-Marine Biology, Panepistimiopolis, Zografou 157 71, Athens, Greece*

³*General- Maternity District Hospital Elena Venizelou, Milk Bank and Maternal Breast-feeding Department, 2 Helena Venizelou Square, 115 21, Athens, Greece*

⁴*General Hospital "Korgialenio-Benakio National Red Cross", Erithrou Stavrou 1, 115 26, Athens, Greece*

KEYWORDS:

Breastfeeding; Breast milk; drug treatment

SUMMARY

The percentage of breastfeeding women has increased within the last few years, particularly in the developed countries, due to the better awareness of the beneficial effects of breastfeeding on both the mother and the infant. Human breast milk is the optimum source of nutrition during the first six months of life with several health and social benefits. Breastfeeding benefits the new mother, the newborn and the community in general and it has been associated with improved mother-infant bonding. However, due to the existence of chronic or acute health problems in many new mothers who wish to breastfeed, appropriate treatment should be considered carefully. The fact that some medicines have shown side effects during pregnancy or are embryotoxic does not necessarily mean that they will be harmful during breastfeeding. Therefore, drug administration should be considered separately for pregnancy or breastfeeding and drugs should be categorized according to their compatibility. Information on drugs transfer into the breast milk is essential to protect the infant from undesirable adverse effects of maternal consumption of drugs and to allow effective pharmacological treatment of breastfeeding mothers. The most important reason for the detection of drugs in breast milk is for evaluating the risk of drug exposure through breast milk for the infant.

*Corresponding Author:

Irene Panteri,

E-mail:

ipanderi@pharm.uoa.gr

REFERENCES

1. *Health topics - Breastfeeding*. World Health Organization, Available from Internet: <http://www.who.int/topics/breastfeeding/en/>.
2. *Breastfeeding definitions - An International Comparison Study into the implementation of the WHO Code and other breastfeeding initiatives*. Australian Government. The Department of Health, [cited 03 May 2012]. Available from Internet: <http://www.health.gov.au/internet/publications/publishing.nsf/Content/int-comp-whocode-bf-init~int-comp-whocode-bf-init-bfaro~int-comp-whocode-bf-init-bfaro-defn>.

3. Sagraves R. Drugs in breast milk: A scientific explanation. *Journal of Pediatric Health Care*.11, 230-235, 1997.
4. *Breastfeeding: U.S. Breastfeeding Rates Are Up! More Work Is Needed* Center for Chronic Disease Prevention [cited 26 October 2017] Available from Internet: <https://www.cdc.gov/breastfeeding/resources/us-breastfeeding-rates.html>
5. Pechlivani F, Vassilakou T, Sarafidou J, Zachou T, Anastasiou C.A., Sidossis S.L. Prevalence and determinants of exclusive breastfeeding during hospital stay in the area of Athens, Greece. *Acta Paediatrica*. 94, 928-934, 2005.
6. Tavoulari E.F., Benetou V., Vlastarakos V.P., Andriopoulou E., Kreatsas G., Linos A. Factors affecting breast-feeding initiation in Greece: What is important? *Midwifery*. 31, 323-331, 2015.
7. Έκθεση. Εθνική μελέτη συχνότητας και προσδιοριστικών παραγόντων μητρικού θηλασμού. *Ινστιτούτο Υγείας του Παιδιού*, 1-77, 2009.
8. Ito S, Lee A. Drug excretion into breast milk - Overview. *Advanced Drug Delivery Reviews*. 55, 617-627, 2003.
9. Ratherford, J. Drugs in breastfeeding. In: *Prescribing in pregnancy*; Blackwell Publishing, 4th ed., 2008, p.p. 216-229.
10. Horta B. L., Victora C. G. Long-term consequences of breastfeeding on cholesterol, obesity, systolic blood pressure and type 2 diabetes: a systematic review and meta-analysis. *Acta Paediatr*. 104, 30-37, 2015.
11. Rautava S. Early microbial contact, the breast milk microbiome and child health. *J Dev Orig Health Dis*. 7, 5-14, 2016.
12. Μαλλιαρού, Μαρία-Αδελφάντια. Α' Παιδιατρική Κλινική Πανεπιστημίου Αθηνών: Μητρικός Θηλασμός. [cited 21 November 2011]. Available from Internet: <http://www.firstpediatrics-uoa.gr/parents/μητρικός-θηλασμός/>
13. Renfrew M. J. Pokhrel S, Quigley M, McCormick F, Fox-Rushby J, Dodds R, Duffy S, Trueman P. and Williams A. Preventing disease and saving resources: the potential contribution of increasing breastfeeding rates in the UK. *UK: Unicef*. 2, 4-93, 2012.
14. Cattaneo A., Ronfani L., Burmaz T. Infant feeding and cost of health care: a cohort study. *Acta Paediatr*. 95, 540-6, 2006.
15. Bartick M., Reinhold A. The Burden of Suboptimal Breastfeeding in the United States: A Pediatric Cost Analysis. *Pediatrics*. 125, 1048-56, 2010.
16. Faiz, O., Blackburn, S., Moffat, D. Η φλεβική και λεμφική αποχέτευση του άνω άκρου και του μαστού, In: *Ανατομία με μια ματιά*, Αθήνα. Παρισιάνου Α.Ε., Δεύτερη έκδοση, 2006, p.p. 77
17. Prentice, A. Regional Variations in the Composition of Human Milk, In: Jensen, R. ed. Handbook of milk composition. San Diego. Academic Press, 1995, p.p. 115-217
18. Welch R. M., Findlay J. W. Excretion of drugs in human breast milk. *Drug Metabolism Reviews*. 12, 261-277, 1981.
19. Rieder, M.J. Drug excretion During Breast-Feeding. In: Polin, R.A., Fox, W.W. and Abman, S.H. eds, Fetal and Neonatal Physiology, U.S.A., Elsevier Inc., 2011, vol. 1, p.p. 291-301
20. Anadón, A., Martínez-Larrañaga, M.R., Ramos, E. and Castellano V, Chapter 6: Transfer of drugs and xenobiotics through milk, In: Gupta R.C., Reproductive and Developmental Toxicology, U.S.A, Elsevier Inc., 2011, p.p. 57-71.
21. Fríguls B., Joya X., García-Algar O., Pallás C. R., Vall O. and Pichini S, A comprehensive review of assay methods to determine drugs in breast milk and the safety of breastfeeding when taking drugs. *Anal Bioanal Chem*. 397, 1157-1179, 2010.
22. Kiriazopoulos E., Zaharaki S., Vonaparti A., Vourna P., Panteri-Petratou E., Gennimata D., Lombardo K., Panderi I., Quantification of three beta-lactam antibiotics in breast milk and human plasma by hydrophilic interaction liquid chromatography/positive-ion electrospray ionization mass spectrometry. *Drug Test Anal*, 9(7), 1062-1072, 2017.
23. Geballa-Koukoula A., Panderi I., Zervas K., Geballa-Koukoulas K., Kavvalou E., Panteri-Petratou E., Vourna P., Gennimata D., A porous graphitized carbon LC-ESI/MS method for the quantitation of metronidazole and fluconazole in breast milk and human plasma. *J Chromatogr B* 1084, 175-184, 2018.
24. Berlin C. M., G.G. Briggs. Drugs and chemicals in human milk. *Seminars in Fetal and Neonatal Medicine*. 10, 149-159, 2005.

«Quality-by-Design» approach to the development of a dosage form for the liposomal delivery system of cytochrome C.

Oleksii G. Katsai¹, Olena A. Ruban¹, Yuriy M. Krasnopolskyi³

¹The National University of Pharmacy, Department of Industrial Technology of Drugs, Kharkiv, Ukraine.

²The National Technical University "Kharkiv Polytechnic Institute", Department of Biotechnology, Biophysics and Analytical Chemistry. Kharkiv, Ukraine.

KEYWORDS:

**Liposome; QbD;
cytochrome C;
lyophilization;
freeze-dried**

SUMMARY

Cytochrome C (Cyt C) is a natural catalyst for cellular respiration. Aqueous solutions of Cyt C are used in cardiology, neurology and ophthalmology, where they manifests a high activity towards free radicals and bind aggressive molecules of oxidants. The aim of the study was to develop and optimize the preparation of freeze-dried cytochrome C-containing liposomes (FD-Cyt-LS) using the Quality by Design (QbD) approach and to compare the stability of aqueous Cyt-LS and FD-Cyt-LS.

In the case of freeze-dried Cyt-LS (FD-Cyt-LS), the influence of cryoprotectants type and concentration, as well as secondary drying temperature, which ensure integrity of liposomal membrane during lyophilization and preservation throughout the shelf life were studied.

Lactose with a concentration of 6% was established to be the optimal type of cryoprotectant. At the lyophilization programme selected the most preferable secondary drying temperature value was 30°C.

The necessity to choose the form of lyophilizate for solution preparation was shown with the example of stability evaluation of aqueous Cyt-LS and FD-Cyt-LS. During the observation period, aqueous Cyt-LS shows the growth of degradation products of free fatty acids and lysophosphatidylcholine (LPC) by 202.5% and 409.7% respectively, compared with the reference values, as well as the decrease of the content of phosphatidylcholine (PC) and dipalmitoylphosphatidylcholine (DPPG- Na) by 1.5 and 1.0%, respectively. At the same time, no significant changes in the composition of FD-Cyt-LS samples were observed.

*Corresponding Author:

Oleksii Katsai. e-mail:
alexkat-1@yandex.ua

1. Introduction

Cytochrome C (Cyt C) is a natural catalyst for cellular respiration, which stimulates oxidative reactions and regeneration processes, activates metabolism in tissues, and reduces tissue hypoxia at various pathological states.

Cyt C is used in cardiology, neurology and ophthalmology, where it manifests a high activity towards free radicals, binds aggressive molecules of oxidants, stimulates cerebral circulation in damaged blood vessels, protects the lens and cornea from damage, suppresses and prevents the development of lenticular opacity (cataract), obstructs the degeneration of the retina.

There are the following Cyt C-containing drugs known on the world pharmaceutical market (**Table 1**).

However, use of aqueous solution of Cyt C has a significant drawback. Cyt C insignificantly penetrates through membranes into cells and is quickly removed from the body, which contributes to its low bioavailability. To eliminate this drawback it is expedient to create cytochrome C-containing liposomes (Cyt-LS). It was previously established that use of Cyt-LS for the therapy of corneal injury, contributes to a more

rapid process of tissue regeneration and reduction of the inflammatory response in comparison with a non-liposomal form¹ Cyt-LS were shown to be stable superior ophthalmic carriers and were able to markedly retard the onset of cataract development.² Cyt-LS show a higher activity than the non-liposomal form of the drug and reduces the arrhythmia period compared to the control non-liposomal Cyt more than 2 times.³ Also, the infusion of Cyt-LS contributed significantly to the elimination of hemostasis disorders, and prevents the development of decompensated metabolic acidosis, when studying haemostatic activity of the liposomal drugs in acute massive blood loss.⁴

Therefore, when choosing a dosage form, it is worth considering the perspective possibility of using Cyt-LS as a solution for injections and eye drops.

According to the requirements of^{5,6,7} for liposomal drugs, the parameters that determine their stability are: the phospholipid composition, particle size and encapsulation efficiency.

When choosing a dosage form, it is necessary to consider the fact that some undesirable phenomena such as aggregation, hydrolysis of phospholipids may occur in aqueous solutions of liposomes. As an alter-

Table 1. Cytochrome C-containing drugs on the world pharmaceutical market.

Trade mark	Manufacturer	Dosage form
Oftan catachrom	Santen, Finland	Eye drops
Vitaphakol Eye Drops	Laboratoires H. Faure, France	Eye drops
Cytochrome C Eye drops	Samson Med, Russia	Eye drops
Cytochrome C	Samson-Med, Russia	Freeze-dried powder for preparation of solution for injections
Cytochrome C	Samson-Med, Russia	Solution for injection
Cytochrome C solution for injection	Pharmstandard-biolik, Ukraine	Solution for injection
Catrix Eye Drops	Incepta Pharmaceuticals Ltd, Bangladesh	Eye drops
Phacovit	Aristopharma, Bangladesh	Eye drops
Ractovit	The IBN SINA, Bangladesh	Eye drops
Vitafof Eye Drops	Popular Pharmaceutical, Bangladesh	Eye drops

native form of liposome aqueous solutions, freeze-dried liposomes can be considered for the preparation of drops or injectable solutions. Lyophilization is usually used to extend the liposome shelf life⁸ by storing them in a freeze-dried state. This allows to store the liposomal nanoparticles at temperatures lower than aqueous preparation emulsions, which in turn leads to the minimization of such undesirable phenomena as aggregation and hydrolysis of phospholipids, which are the main components of the liposome membrane.

The purpose of this study was to develop and optimize the preparation of freeze-dried cytochrome C-containing liposomes (FD-Cyt-LS) using the Quality by Design (QbD) approach and to compare the stability of the aqueous Cyt-LS and FD-Cyt-LS.

International Conference on Harmonization (ICH) Q8 (R1) guideline defines QbD as “a systematic approach to development that begins with predefined objectives and emphasizes product and process understanding and process control, based on sound science and quality risk management”⁹

QbD aims to identify characteristics that are critical for product quality and to determine how critical parameters of the process can be changed in order to sequentially produce a product with the required characteristics. In the case of FD-Cyt-LS it is necessary to select the optimal composition and technological parameters to protect the integrity of the liposomal membrane during lyophilization and to ensure preservation throughout the shelf life.

2. Materials and Methods

2.1 Materials

Cytochrome C (Calzym lab., USA), Egg Phosphatidylcholine, Lipoid E 100 (Lipoid GmbH, Germany) dipalmitoylphosphatidylglycerol (DPPG-Na) (Lipoid GmbH, Germany), phosphatidylcholine standard Lipoid E PC RS (Lipoid GmbH, Germany), dipalmitoylphosphatidylcholine standard DPPG-Na RS (Lipoid GmbH, Germany), lysophosphatidylcholine (Lipoid GmbH, Germany), lactose (Fluka), trehalose (Fluka), chloroform (Sigma Aldrich), methanol (Sigma Aldrich), potassium di-

hydrogen phosphate (Fluka), sodium dihydrogen phosphate (Sigma Aldrich), disodium hydrogen phosphate (Sigma Aldrich).

2.2 Preparation of liposomes

DPPG-Na and EPC were dissolved in a chloroform:ethanol (4:1) mixture. The resulting mixture was evaporated in a rotary evaporator BUCHI Rotavapor R215 (Switzerland) until a lipid film formed. The lipid film was hydrated with the Cyt C solution until a homogeneous emulsion of multi-lamellar vesicles was formed. The emulsion of multi-lamellar vesicles was homogenized in a high-pressure homogenizer M110P Microfluidizer (USA) until unilamellar LS with an average particle size in the range of 100 to 200 nm were obtained. Lactose and trehalose in concentrations 5%, 6%, 7%, chosen according to design of experiments (DOE) were studied as cryoprotectants. Then, LS were lyophilized in Martin Christ Epsilon 2-6D LSCplus (Germany) Freeze-dryer.

2.3 Assay of Cyt C

The total concentration of Cyt C in the freeze-dried LS-Cyt (C_{total}) was quantified spectrophotometrically on a Shimadzu UV 1800 (Japan) spectrophotometer using the UV absorption spectrum of a diluted emulsion of liposomes with cytochrome C in the range of 400-560 nm.

2.4 Determination of encapsulation efficiency

The encapsulation efficiency was calculated by the formula:

$$EE \% = [(C_{total} - C_{free}) / C_{total}] \times 10$$

Free Cyt C was determined by the gel chromatography method. A Shimadzu LC20 chromatograph was used, a chromatography column Tricorn (GE Healthcare) of 5/200 size filled with a “superose 12” sorbent; mobile phase: 4.515 g/L KH₂PO₄ pH to 6.0, with 2 M NaOH; flow rate 0.5 ml/min; detection at a wavelength of 409 nm; column temperature 25 °C. The solutions of the Cyt C and Cyt-LS were chromatographed alternately

Table 2. Gradient of mobile phase composition

Time (min)	Flow rate (ml/min)	Phase A (% vol.)	Phase B (% vol.)
0	1.0	95	5
5.0	1.0	80	20
8.5	1.0	60	40
15.0	1.0	0	100
17.5	1.0	0	100
17.6	1.0	95	5
21.0	1.0	95	5
22.0	2.0	95	5
27.0	2.0	95	5
29.0	1.0	95	5

2.5 Assay of phospholipids (lysophosphatidylcholine and free fatty acids)

The content of phospholipids in liposomes was determined by HPLC using a Shimadzu (Japan) chromatograph with evaporative light-scattering detector, under the following conditions: column 0.125 m x 4 mm, 5 μ m packing L20, column temperature 55 $^{\circ}$ C, sample volume 20 μ l. Mobile phase: A) 1341.6 g of n-hexane, 334.1 g of 2-propanol, 39.4 g of acetic acid, and 1.45 g of triethylamine (or 2.0 mL of triethylamine). B) 663.5 g of 2-propanol, 140.0 g of water, 15.8 g of acetic acid, and 0.58 g of triethylamine. Gradient composition of mobile phase is presented in **Table 2**.

2.6 Physicochemical characterization of liposomes

The particle size was determined by the dynamic light scattering technique using a Malvern Zetasizer Nano S (UK). The pH of the liposome emulsion with Cyt C was measured using a pH meter by SCHOTT Instruments (Germany).

2.7 Stability studies

The storage of aqueous Cyt-LS and FD-Cyt-LS with the

same lipid and cryoprotectant composition were compared.

FD-Cyt-LS were stored for 1 year in a dark place and at temperature - 15 $^{\circ}$ C (Thermo scientific 7000, USA).

Aqueous Cyt-LS, stored for 1 year in a dark place and at temperature + 5 $^{\circ}$ C (Mettler ICH256, Germany).

The studies were carried out for a period of 0, 1, 3, 6 and 12 months on the particle size, encapsulation, content of the main components (DPPG-Na, PC, Cyt C), LPC content and free fatty acids, appearance, emulsion formation time, emulsion stability.

2.8 Data processing

The design of the experiments was developed using Statistica software (Statsoft, USA). The experimental data were examined using a statistical module from the Statistica software. The same software was used to calculate statistical parameters.

3. Results and Discussion

As a preliminary QbD step, critical quality attributes (CQAs) were identified. In this study, several CQAs for lyophilized liposomes were selected: particle size, encapsulation efficiency, emulsion formation time, and residual moisture in the lyophilizate. According to the

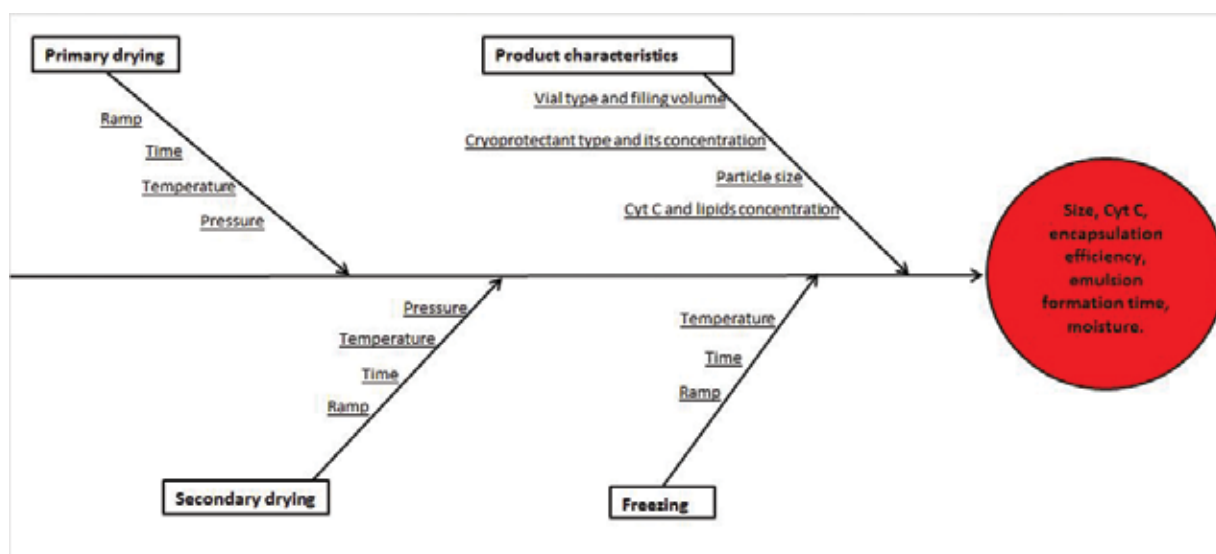


Figure 1. Ishikawa diagram the risk analysis of the lyophilization process.

requirements of^{6,7,9}, these properties should be within the appropriate limits to ensure the desired quality of the product.

The optimal size for liposomal vesicles is usually within 10-200 nm due to the fact that the liposome emulsion must be subjected to the sterilizing filtration through the filters with a 0.22 μm pore size. The size of the liposomal nanoparticles within this range can be obtained by homogenization of multilamellar liposomes in a high pressure homogenizer. In our previous studies, the effect of liposome composition on encapsulation efficiency and particle size in the pharmaceutical development of aqueous Cyt-LS was studied¹⁰

However, the particle size of freshly-prepared liposomes may increase during lyophilization due to the fusion/aggregation of the vesicles and the wrong choice of the freeze-drying regime. In turn, changing the size of Cyt-LS can cause leakage of the encapsulated substance and change of one of the most important CQA of the freeze-drying liposome composition, degree of encapsulation, which can result in a significant change of pharmacological properties of Cyt-LS. Therefore, the change of these parameters after lyophilization should be carefully monitored and prevented^{11,12}.

Moisture is one of the key quality indicators of the freeze-dried liposomes' quality. On one hand, a lower moisture content is desirable for the stability improvement, on the other hand, the excessive remov-

al of water from liposomes can lead to a decrease of the encapsulation efficiency¹³, change in liposome particles size and a poor ability to form homogeneous emulsions. The most important factors affecting the residual moisture content established from the risk analysis are type and concentration of the cryoprotectant, as well as the selection of the lyophilization process.

Another important factor is the emulsion formation time, during which the lyophilizate forms a homogeneous nanosystem with stable sizes.

The risk factors potential of the lyophilization process, that may affect the product quality, was identified by means of the risk analysis using Ishikawa diagram (Fig. 1).

After the risk assessment, three variables were selected for the further study

- a) lactose cryoprotectant and its concentration
- b) trehalose cryoprotectant and its concentration
- c) secondary drying temperature

They are further included into the experimental design of the studies.

To maintain acceptable encapsulation efficiency and to preserve the particle size, it is necessary to optimize concentration and type of the cryoprotectant and lyophilization process. The effect of the secondary drying temperature has a great influence on the moisture and emulsion formation time. In this case it is neces-

Table 3. Independent and dependent variables of the experimental scheme are evaluated for the study of lyophilized liposomes.

Variable	Level used		
	Low (-1)	Medium (0)	High (+1)
Independent variables			
X ₁ = lactose concentration, %	5	6	7
X ₂ = trehalose concentration, %	5	6	7
X ₃ = secondary drying temperature, °C	20	30	35
Dependent variables (CQAs)			
Y ₁ = Liposomal size, nm			
Y ₂ = Encapsulation efficiency, %			
Y ₃ = Emulsion formation time, min			
Y ₄ = Moisture, %			

sary to balance the final temperature and the amount of residual water in the preparation.

The experimental design (DoE) was used in the next stage as a QbD tool to study the risk factors. The variables of the experimental scheme are presented in **Table 3**. As independent variables, the following were chosen: X₁ = lactose cryoprotectant,%; X₂ = trehalose cryoprotectant and its concentration; X₃ = secondary drying temperature, °C.

As a response to the changes in independent variables, the quality attributes of lyophilized liposomes were chosen: Y₁ = Liposomal size, nm; Y₂ = Encapsulation efficiency,%; Y₃ = Emulsion formation time, min; Y₄ = Moisture, %.

The matrix of experimental design is presented in **Table 4**.

According to the proposed production scheme, a multilamellar Cyt-LS emulsion with a previously established optimal phospholipid composition and lipid-cytochrome C ratio was prepared¹

The emulsion of multilamellar Cyt-LS was homogenized until unilamellar liposomes were obtained, after which the total volume of the resulting emulsion was divided into 20 samples. Then, according to the experimental design conditions (**Table 4**), the solutions of cryoprotectants were added to the obtained samples up to the selected concentrations. The obtained sam-

Table 4. The matrix of experimental design.

Code	X ₁ , %	X ₂ , %	X ₃ , °C
1	5	-	20
2	5	-	30
3	5	-	35
4	6	-	20
5	6	-	30
6	6	-	35
7	7	-	20
8	7	-	30
9	7	-	35
10	-	5	20
11	-	5	30
12	-	5	35
13	-	6	20
14	-	6	30
15	-	6	35
16	-	7	20
17	-	7	30
18	-	7	35
19	6	-	30
20	-	6	30



Figure 2. Freeze-drying program

ples were filtered through a 0.22 μm membrane filter and then bottled into 10 ml glass vials. Freshly prepared liposomes were characterized by particle size, Cyt C concentration and encapsulation efficiency parameters. The results of measurements are shown in **Table 5**.

All vials with samples were prefrozen at -30°C

Then, a lyophilization procedure was carried out. Vials with the frozen product were placed in a freeze-drying chamber with shelf temperature of -35°C at a chamber pressure of 1000 mBar for 240 minutes. The sublimation of the solvent was initiated by reducing the pressure to 0.1 mBar and raising the temperature to -20°C during the next 10 hours, after which the selected temperature and pressure were maintained for 330 minutes. Then, secondary drying was carried out to remove the absorbed water from the product. During this process shelf temperature was raised in several stages to the values chosen in the DoE, at the end of secondary drying the pressure was reduced to 0.001 mBar and the product was dried for another 90 minutes at the same temperature. The freeze-drying program is shown in **Fig. 2**

The results of the experimental design studies are shown in **Table 6**.

As it can be seen from the results of the experimental design study, the secondary drying temperature has a significant effect on the particle size after lyophilization. However, the change in secondary drying parameter did not lead to significant changes in encapsulation efficiency. Thus, it was found that at secondary drying temperature of 20°C , the FD-Cyt-LS showed the best results of preservation of the original sizes, while at temperature of 35°C the results of the particle sizes proved to be the worst, regardless of the type of cryoprotectant and its concentration. The same dependence is observed in the effect of the secondary drying temperature on the formation time of stable emulsion. This can probably be due to the excessive removal of water, required to preserve the structure of the lipid bilayer. It is also worth noting that when choosing a secondary drying temperature of 20°C , the average residual moisture in the FD-Cyt-LS was about 4.0%. This obviously can negatively affect the storage of FD-

Table 5. The physico-chemical properties of freshly-prepared liposomes.

Code	Liposomal size	Encapsulation efficiency, %	Cytochrome C, %
1	135 nm – 90% 50 nm – 10%	≥ 95%	100.1
2	144 nm – 100%	≥ 95%	100.2
3	131 nm – 93% 44 nm – 7%	≥ 95%	100.2
4	130 nm – 91% 55 nm – 9%	≥ 95%	100.0
5	133 nm – 93% 46 nm – 7%	≥ 95%	100.3
6	130 nm – 90% 54 nm – 10%	≥ 95%	100.5
7	130 nm – 89% 55 nm – 11%	≥ 95%	100.6
8	135 nm – 90% 51 nm – 10%	≥ 95%	100.1
9	130 nm – 89% 55 nm – 11%	≥ 95%	100.1
10	133 nm – 94% 57 nm – 6%	≥ 95%	100.0
11	131 nm – 88% 50 nm – 12%	≥ 95%	100.3
12	131 nm – 90% 50 nm – 10%	≥ 95%	100.2
13	137 nm – 95% 45 nm – 5%	≥ 95%	100.2
14	135 nm – 94% 58 nm – 6%	≥ 95%	100.3
15	138 nm – 87% 45 nm – 13%	≥ 95%	100.4
16	131 nm – 95% 58 nm – 5%	≥ 95%	100.4
17	136 nm – 92% 44 nm – 8%	≥ 95%	100.2
18	138 nm – 97% 45 nm – 3%	≥ 95%	100.0
19	135 nm – 94% 44 nm – 6%	≥ 95%	100.0
20	139 nm – 90% 45 nm – 10%	≥ 95%	100.0

Table 6. The physico-chemical properties of FD-Cyt-LS (the matrix of responses of the experimental design).

Code	Liposomal size, nm	Encapsulation efficiency, %	Emulsion formation time, min	Moisture, %
1	220 nm – 100%	93.3	4	4.0
4	170 nm – 100%	≥ 95%	4	3.9
7	164 nm – 100%	≥ 95%	4	3.9
10	200 nm – 99% 670 nm – 1%	92 %	4	4.0
13	188 nm – 100%	≥95%	4	4.0
16	170 nm – 100%	≥95%	4	3.9
2	215 nm – 95% 1800 nm – 5%	93.5	4	1.5
5	165 nm – 100%	≥ 95%	3	1.5
8	165 nm – 100%	≥95%	4	1.6
11	205 nm – 97% 1750 nm – 3%	91 %	4	1.6
14	194 nm – 100%	≥95%	4	1.5
17	170 nm – 100%	≥95%	4	1.6

Cyt-LS. For this reason, the choice of this value is unacceptable for the use in the technology.

As a result, one can consider 30°C to be the most preferable value of secondary drying temperature.

As it can be seen from the research results, the smaller Low (-1) concentrations of cryoprotectants, regardless of their type, had worse encapsulation efficiency and particle sizes ratios. While in the samples with concentrations of cryoprotectants Medium (0), High (+1), a decrease in the encapsulation efficiency was not observed. In samples of Medium (0) and High (+1) trehalose,

particle size increase was slightly larger than in samples with lactose with similar concentrations. The samples with lactose concentration of 6% gave the best results in terms of the emulsion formation time.

Thus, lactose with a concentration of 6% was chosen as the optimum cryoprotectant.

Based on the results of the experiments performed, Cyt-LS emulsion with an optimal phospholipid composition, lipid – Cyt C ratio, type and concentration of the cryoprotectant was prepared. The emulsion of Cyt-LS was bottled in 10 ml glass vials. Filling and capping (under nitrogen) of the

Table 7. Stability study results of aqueous Cyt-LS during storage

Month	0	1	3	6	12
Encapsulation efficiency, %	95.8	95.0	95.5	95.0	95.0
Mean particle size, nm	168	160	166	164	168
pH	6.95	6.81	6.80	6.77	6.65
LPC, %	0.60	0.75	0.88	1.45	2.95
Free fatty acids, %	0.4	0.42	0.5	0.58	0.81
Cyt C, %	100.1	99.8	99.5	99.4	99.2
PC, %	99.8	99.4	99.1	98.5	98.3
DPPG-Na, %	100.2	100.0	99.9	99.4	99.1

Table 8. Stability study results of FD-Cyt-LS during storage.

Month	0	1	3	6	12
Encapsulation efficiency, %	95.8	95.4	95.5	95.0	95.6
Mean particle size, nm	168	163	164	163	169
pH	6.95	6.81	6.80	6.77	6.65
LPC, %	0.60	0.63	0.64	0.64	0.68
Free fatty acids	0.4	0.4	0.43	0.45	0.46
Cyt C, %	100.1	99.8	99.8	99.8	99.6
PC, %	99.8	99.5	99.7	99.4	99.4
DPPG-Na, %	100.2	100.2	100.2	100.2	100.1
Moisture, %	1.5	1.5	1.5	1.6	1.6

vials were performed under aseptic conditions. One part of the vials was left in an aqueous state in a dark place at a temperature of +5°C.

The other part of the vials was lyophilized according to the freeze-drying program, with most preferable value of secondary drying temperature, established as a result of the performed ex-

periments. The FD-Cyt-LS were also stored in a dark place and at a temperature of -15°C

The results of storage of the aqueous Cyt-LS and FD-Cyt-LS with the same composition are shown in **Tables 7 and 8**.

As the stability study results show, it is evident that in the aqueous Cyt-LS during the observation

period there is a growth in degradation products of free fatty acids and lysophosphatidylcholine (LPC) by 202.5% and 409.7% respectively, compared with the original values, as well as the decrease in the content of phosphatidylcholine (PC) and dipalmitoylphosphatidylcholine (DPPG- Na) by 1.5 and 1.0%, respectively.

At the same time, no significant changes in the composition of FD-Cyt-LS samples were observed.

The content of the degradation products - LPC and Free fatty acids is stable during the observation period and is at the initial level, which indicates the preservation of FD-Cyt-LS during 1 year under the chosen storage conditions, in contrast to the aqueous solutions.

In addition, throughout the storage period, the FD-Cyt-LS retained their appearance, formation time and emulsion stability.

4. Conclusion

Current work demonstrates the successful application of the QbD approach in the selection of Cyt-LS dosage form. The influence of such factors as type and concentration of a cryoprotectant, as well as secondary drying temperature on critical quality attributes (particle size, encapsulation efficiency, emulsion formation time and residual moisture) - were determined using DoE.

As a result of the work done, influence of type and concentration of the cryoprotectant as well as the freeze-drying program were established.

The necessity to choose the form of lyophilizate for the preparation of a solution is shown with the example of stability evaluation of a liquid and FD-Cyt-LS.

It can be concluded that QbD is a useful, effective approach to the development of FD-Cyt-LS with a controlled, predictable quality. □

REFERENCES

1. Katsai O.G., Ruban O.A., Krasnopolskyi Y.M. Preparation and in-vivo evaluation of cytochrome-C-containing liposomes. *Die Pharmazie*. 72, 736-740, 2017. doi: 10.1691/ph.2017.7072.
2. Zhang J., Guan P., Wang T., Chang D., Jiang T., Wang S. Freeze-dried liposomes as potential carriers for ocular administration of cytochrome c against selenite cataract formation. *J. Pharm. Pharmacol.* 61, 1171-8, 2009. doi: 10.1211/jpp/61.09.0006.
3. Pylypenko D., Katsai A., Prokhorov V., Konakhovich N., Grigoreva A., Krasnopolsky Y. Investigation of antiarrhythmic activity of liposomal cytochrome C. *ScienceRise: Pharmaceutical Science*. 3, 51-57, 2017. doi: 10.15587/2519-4852.2017.104954.
4. Dobrelya N. V., Karazuba T. A., Gula N. S., Dunyak Y. O., Boytsova L. V., Danova I. V., Tishkin S. M., Khromov O. S. The correction of hemostatic disorders with liposomal drugs in acute massive blood loss. *Pharmacology and Drug Toxicology*. 1, 66 – 71, 2016.
5. State Pharmacopoeia of Ukraine. 2.0. Liposomal preparations. Kharkov. *Derzhavne pidpriemstvo "Naukovo-ekspertnii farmakopeinii tsentr"* 1036 – 1038, 2015
6. Liposome Drug Products Chemistry, Manufacturing, and Controls; Human Pharmacokinetics and Bioavailability; and Labeling Documentation. Guidance for Industry. U.S. Department of Health and Human Services Food and Drug Administration Center for Drug Evaluation and Research (CDER) 1-18, 2018
7. Stability Testing of New Drug Substances and Products. Q1A (R2), current step, 4. Guideline IHT, 2003
8. Shulkin P.M., Seltzer S.E., Davis M.A., Adams D.F. Lyophilized liposomes: a new method for long-term vesicular storage, *J. Microencaps.* 1, 73-80, 2008. doi: 10.3109/02652048409031539
9. Pharmaceutical development Q8(R2) Current Step 4 version. Guideline IHT, 2009
10. Katsai O., Ruban O., Krasnopolskyi Y. The influence of the composition of liposomes on the encapsulation efficiency and the particle size when creating the liposomal form of cytochrome C. *ScienceRise: Pharmaceutical Science*. 4 32-36, 2017. doi: 10.15587/2519-4852.2017.109003.

11. Crowe J.H., Crowe L.M. Factors affecting the stability of dry liposomes, *Biochim. Biophys. Acta (BBA) – Biomembranes*. 939, 327-334, 1988. doi: 10.1016/0005-2736(88)90077-6
12. Hays L.M., Crowe J.H., Wolkers W., Rudenko S. Factors Affecting Leakage of Trapped Solutes from Phospholipid Vesicles during Thermotropic Phase Transitions, *Cryobiology*. 42, 88-102, 2001. doi: 10.1006/cryo.2001.2307
13. Stadnichenko O.V., Krasnopolsky Y.M., Yarnykh T.G. The study of liophilization parameters in the liposomal irinotecan development. *Visnik farmaciï* 4,. 45-49, 2017. doi: 10.24959/nphj.17.2182.

ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΗ, 30, 2 (2018)

ΕΚΔΗΛΩΣΕΙΣ

PHARMAKEFTIKI, 30, 2 (2018)

MEETINGS

• **24-26 MAY 2018, TITANIA HOTEL, ATHENS, GREECE**

EUFEPS Annual Meeting 2018

Info: <http://www.eufepsannualmeeting2018.org/>

• **4-6 JULY 2018, ROME ITALY**

European Chemistry Conference 2018 (ECC 2018)

• **2-6 SEPTEMBER 2018, LJUBLJANA, SLOVENIA**

XXV EFMC International Symposium on Medicinal Chemistry (EFMC-ISM 2018)

http://www.efmc.info/infos.php?langue=english&cle_menus=1201086269&cle_data=1453388474&cle_summary=1113380777&l_month=09&l_year=2018

• **6 - 7 SEPTEMBER 2018, LJUBLJANA, SLOVENIA**

5th Young Medicinal Chemist Symposium (EFMC-YMCS 2018),

https://www.ldorganisation.com/v2/produits.php?langue=english&cle_menus=1238916632&cle_data=1360153499

• **15 -16 ΣΕΠΤΕΜΒΡΙΟΥ 2018, ΗΡΑΚΛΕΙΟ ΚΡΗΤΗΣ**

2η Δημερίδα ΕΛΛΗΝΙΚΗΣ ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΗΣ ΕΤΑΙΡΕΙΑΣ (ΕΦΕ)

“Φυσικές Προσεγγίσεις στην Υγεία & Εργαστήριο Φαρμακείου”

Δορυφορικό Συμπόσιο της ΕΛΛΗΝΙΚΗΣ ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΗΣ ΕΤΑΙΡΕΙΑΣ (ΕΦΕ)

“Γενετικές Νόσοι και Θεραπευτικές Προσεγγίσεις”

<https://www.pharmamanage.gr>

• **16-20 SEPTEMBER 2018, THESSALONIKI, GREECE**

22nd European Symposium on Quantitative Structure-Activity Relationship

<http://euroqsar2018.org/>

• **23 - 26 SEPTEMBER, 2018, ANTALYA, TURKEY**

5th International Conference on Computation for Science and Technology (ICCST 2018)

www.iccst2018.org

• **7-12 OCTOBER 2018, LEYSIN, SWITZERLAND**

13. Swiss Course on Medicinal Chemistry, SCMC'18

<http://scg.ch/scmc/2018>

• **12-13 ΟΚΤΩΒΡΙΟΥ 2018, ΑΘΗΝΑ, ΕΛΛΑΔΑ**

ΘΕΡΜΑ 2018 - ΔΙΗΜΕΡΙΔΑ ΘΕΡΜΙΚΗΣ ΑΝΑΛΥΣΗΣ & ΘΕΡΜΙΔΟΜΕΤΡΙΑΣ

<https://therma2018.wixsite.com/therma2018>

ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΗ, 30, 2 (2018)

ΕΚΔΗΛΩΣΕΙΣ

PHARMAKEFTIKI, 30, 2 (2018)

MEETINGS

• **24 - 25 NOVEMBER 2018, THESSALONIKI, GREECE**

4th DYO FORUM, www.dyoforum.gr

Info: Zita-Congress, Gerasimos Kouloumpis g.kouloumpis@zitamanagement.com

• **4-6 MARCH 2019, PARIS, FRANCE**

"International Conference on PharmScience Research & Development" (Pharma R&D-2019)

<https://pharmaconference.com>

• **6-8 MARCH 2019, FRANKFURT, GERMANY**

EUFEPS Annual Conference 2019: Personalized Medicines, Targeted Therapies, Precision Drug Delivery

• **10-13 JUNE 2019, KRAKOW, POLAND**

EFMC-ACSMEDI: Medicinal Chemistry Frontiers 2019

• **1 - 5 SEPTEMBER 2019, ATHENS, GREECE**

EFMC-ASMC'19 - EFMC International Symposium on Advances in Synthetic and Medicinal Chemistry

<http://www.rsc.org/events/detail/35235/efmc-asmc19-efmc-international-symposium-on-advances-in-synthetic-and-medicinal-chemistry>

www.dyoforum.gr

4ο FORUM ΥΓΕΙΑΣ 2018

ΔΙΑΤΡΟΦΗ | ΥΓΕΙΑ | ΟΜΟΡΦΙΑ

Θεσσαλονίκη

24-25 Νοεμβρίου 2018

ΒΕΛΛΙΔΕΙΟ ΣΥΝΕΔΡΙΑΚΟ ΚΕΝΤΡΟ

**“Ανοίγουμε την Υγεία
στην Κοινωνία!”**

ΔΙΟΡΓΑΝΩΣΗ

20 Επιστημονικές Εταιρείες



Γεράσιμος Κουλουμπής, Εμπορικός Διευθυντής ZITA GROUP

Τηλ.: +30 211 1001 780, Κινητό: 6942 414 786

Φαξ: +30 210 6642116, E-mail: g.kouloumpis@zita-management.com

Follow us



LinkedIn

YouTube