

**ΕΘΝΙΚΟ ΚΑΙ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΗΣ
ΤΟΜΕΑΣ ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΗΣ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ**



**ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΟ ΔΙΠΛΩΜΑ ΕΙΔΙΚΕΥΣΗΣ
ΣΤΗΝ ΚΛΙΝΙΚΗ ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΗ**

***ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΔΟΣΟΛΟΓΙΚΩΝ ΣΧΗΜΑΤΩΝ ΤΙΓΕΚΥΚΛΙΝΗΣ ΣΕ
ΝΟΣΗΛΕΥΟΜΕΝΟΥΣ ΑΣΘΕΝΕΙΣ***

**ΟΛΓΑ Δ. ΚΑΡΑΝΗ
ΦΑΡΜΑΚΟΠΟΙΟΣ**

ΑΘΗΝΑ 2012

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΣΥΜΒΟΥΛΕΥΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

- Βαλσαμή Γεωργία, Επίκουρος Καθηγήτρια Τμήματος Φαρμακευτικής (Υπεύθυνη Καθηγήτρια)
- Μαρκαντώνη-Κυρούδη Σοφία, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Τμήματος Φαρμακευτικής
- Δοκουμετζίδης Αριστείδης, Λέκτορας Τμήματος Φαρμακευτικής

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Με την εργασία αυτή ολοκληρώνεται ο κύκλος των σπουδών μου στο Μεταπτυχιακό Πρόγραμμα Ειδίκευσης “Κλινική Φαρμακευτική”. Με ιδιαίτερη συγκίνηση αλλά και ικανοποίηση αποχωρίζομαι το πανεπιστημιακό περιβάλλον και τους διδάσκοντες, ελπίζοντας πως η σχέση αυτή που δημιουργήθηκε στη διάρκεια της φοίτησής μου στο τμήμα της Φαρμακευτικής Σχολής Αθηνών όχι μόνο θα με συντροφεύει ως μία ξεχωριστή ανάμνηση αλλά θα συνεχίσει να υφίσταται και να εξελίσσεται. Θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά όλους όσους με στήριξαν και με βοήθησαν σε αυτήν μου την προσπάθεια, δίνοντας μου την ευκαιρία να βελτιωθώ και να εξελιχθώ ως επιστήμονας και ως άνθρωπος.

Ιδιαίτερα, θα ήθελα να ευχαριστήσω την Αναπληρώτρια Καθηγήτρια του Τομέα Φαρμακευτικής Τεχνολογίας του Τμήματος Φαρμακευτικής κ. Μαρκαντώνη-Κυρούδη Σοφία, για την καθοδήγηση και την ηθική συμπαράσταση που μου έδειξε αυτά τα χρόνια, καθώς επίσης και για τη γνώση και την εμπειρία που πραγματικά κέρδισα στα πλαίσια του μεταπτυχιακού προγράμματος ειδίκευσης “Κλινική Φαρμακευτική”.

Ένα τεράστιο ευχαριστώ οφείλω στην επιβλέπουσα της μεταπτυχιακής μου εργασίας, Επίκουρο Καθηγήτρια του Τομέα Φαρμακευτικής Τεχνολογίας του Τμήματος Φαρμακευτικής κ. Βαλσαμή Γεωργία, η οποία τόσο στοργικά και υπομονετικά με συμβούλεψε, με εκπαίδευσε, με καθοδήγησε ακούραστα και με στήριξε σε όλη τη διάρκεια της μεταπτυχιακής μου εργασίας. Το χαμόγελο, η υπομονή και η θετικής της στάση είχαν καταλυτική σημασία στην ολοκλήρωση αυτής μου της προσπάθειας.

Ακόμα, θα ήθελα να εκφράσω τις ιδιαίτερες ευχαριστίες μου στον Λέκτορα του Τομέα Φαρμακευτικής Τεχνολογίας του Τμήματος Φαρμακευτικής κ. Δοκουμετζίδη Αριστείδη, καθώς χωρίς την ουσιαστική του καθοδήγηση και εκπαίδευση στο νέο για εμένα πεδίο της Πληθυσμιακής Φαρμακοκινητικής και των εφαρμογών της δε θα ήταν δυνατή η ολοκλήρωση της μεταπτυχιακής αυτής εργασίας.

Επιπλέον, θα ήθελα να ευχαριστήσω τον λοιμωξιολόγο-παθολόγο κ. Βρυώνη Ευάγγελο για την πολύτιμη βοήθεια του στην περάτωση του κλινικού μέρους αυτής της εργασίας, καθώς και τον Καθηγητή Παθολογίας και Διευθυντή της Ε' παθολογικής κλινικής του Γ.Ν.Α «Ευαγγελισμός» κ. Σκουτέλη Αθανάσιο υπό τη σκέπη του οποίου κατέστη δυνατή η υλοποίηση της συγκεκριμένης μεταπτυχιακής εργασίας.

Τις θερμές και εγκάρδιες ευχαριστίες μου θα ήθελα να εκφράσω στον Καθηγητή του Τομέα Φαρμακευτικής Τεχνολογίας του Τμήματος Φαρμακευτικής κ. Μαχαίρα Παναγιώτη, καθώς υπήρξε Δάσκαλος μοναδικός με περίσσεια αγάπη για όλους εμάς τους φοιτητές του.

Θα ήθελα επίσης να ευχαριστήσω τον Επίκουρο Καθηγητή του Τομέα Φαρμακευτικής Τεχνολογίας του Τμήματος Φαρμακευτικής κ. Δρακούλη Νικόλαο για την εμπειρία που μου μετέδωσε στα πλαίσια του μεταπτυχιακού αυτού προγράμματος.

Παράλληλα, θα ήθελα να ευχαριστήσω τη συνάδελφο φαρμακοποιό και Διδάκτορα του τμήματος Φαρμακευτικής του Πανεπιστημίου Αθηνών Χαρκοφτάκη Γεωργία, για την εξαιρετική υποστήριξή της στην πραγματοποίηση του πειραματικού μέρους αυτής εργασίας.

Ξεχωριστές ευχαριστίες θα ήθελα να αποδώσω στις συμφοιτήτριες μου Δάσου Πηνελόπη, Δημαράκη Μαριλένα, Λαμπροπούλου Δήμητρα, Συκαρά Μαριάννα για τη συνεργασία, τις έντονες στιγμές και τη δημιουργική αλλά και ουσιαστική φιλική σχέση που αναπτύξαμε στη διάρκεια αυτών των ετών. Ακόμα, θα ήθελα να ευχαριστήσω την αδελφή μου Παναγιώτα και τους φίλους μου Ανδρέα, Αμαλία και Κωνσταντίνο, που με στήριξαν ηθικά και με βοήθησαν στη συγγραφή και ολοκλήρωση της εργασίας μου.

Κλείνοντας το εκτενές αυτό, αλλά αναγκαίο για εμένα, κείμενο ευχαριστιών θα ήθελα να αφιερώσω αυτή την εργασία στους γονείς μου εκφράζοντας την αγάπη και την ευγνωμοσύνη μου για την υπομονή, την υποστήριξη, το σεβασμό στις επιθυμίες μου και την ευκαιρία που μου έδωσαν να συνεχίσω τις σπουδές μου με τη συμμετοχή μου στη μεταπτυχιακή ειδίκευση «Κλινική Φαρμακευτική».

Όλγα Καράνη.

Πίνακας περιεχομένων

A. Θεωρητικό Μέρος	8
A1. Τιγεκυκλίνη	8
A1.1 Χημική Δομή	8
A1.2 Μηχανισμός Δράσης	10
A1.3 Αντιβακτηριακό φάσμα δράσης	13
A1.4 Μηχανισμός αντοχής των βακτηρίων έναντι των τετρακυκλινών και υπεροχή της τιγεκυκλίνης	14
A1.5 Όρια ευαισθησίας	17
A1.6. In vitro και in vivo δεδομένα για τη δραστικότητα της τιγεκυκλίνης	20
A1.6.α. Έναντι πολυανθεντικών στελεχών <i>Acinetobacter baumannii</i> (MDR <i>A. Baumannii</i>), συμπεριλαμβανομένων και των ανθεκτικών στην καρβαπενέμη	20
A1.6.β. Έναντι πολυανθεντικών στελεχών της οικογένειας των <i>Enterobacteriaceae</i> (με παραγωγή ESBL πρωτεϊνών ή ανθεκτικότητα στις καρβαπενέμες: ερταπενέμη ή/και ιμιπενέμη ή/και μεροπενέμη)	22
A1.6.γ. Έναντι του <i>Clostridium difficile</i>	23
A1.6.δ. Έναντι του <i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	24
A1.7.α. Φαρμακοκινητικά δεδομένα της τιγεκυκλίνης	25
α) Απορρόφηση	25
β) Κατανομή	25
γ) Βιομετατροπή	29
δ) Απομάκρυνση	30
ε) Παράγοντες που επηρεάζουν τις φαρμακοκινητικές παραμέτρους της τιγεκυκλίνης – Ειδικοί πληθυσμοί - Επίδραση της τιγεκυκλίνης στη φαρμακοκινητική συγχορηγούμενων φαρμάκων	31
ε1. Κατανάλωση τροφής	31
ε2. Ηλικία, φύλο και φυλή	31
ε3. Νεφρική ανεπάρκεια	32
ε4. Ηπατική ανεπάρκεια	33
ε5. Χολική απέκκριση – Χολόσταση	33

ε6. Φαρμακοκινητικές αλληλεπιδράσεις κατά τη συγχορήγηση τιγκεκυκλίνης με άλλα φάρμακα	34
A1.7.β. Φαρμακοδυναμικά δεδομένα της τιγκεκυκλίνης.....	35
A1.7.γ. Φαρμακοδυναμικές αλληλεπιδράσεις κατά τη συγχορήγηση της τιγκεκυκλίνης με άλλα φάρμακα	38
A1.7.δ. Άλλα φαρμακοκινητικά/φαρμακοδυναμικά δεδομένα	38
A1.8. Προκλινικά δεδομένα για την ασφάλεια της τιγκεκυκλίνης και ανεπιθύμητες ενέργειες - Ειδικές προειδοποιήσεις και προφυλάξεις	41
A1.9 Η τιγκεκυκλίνη στην καθημερινή κλινική πράξη (μέχρι σήμερα): Θεραπευτικές Ενδείξεις- Δοσολογικό σχήμα - Τρόπος χορήγησης - Ανασύσταση - Ιδιαίτερες προφυλάξεις.....	52
A2. Πληθυσμιακή φαρμακοκινητική και φαρμακοδυναμική: Εφαρμογή της στην Παρακολούθηση των Θεραπευτικών Επιπέδων Φαρμάκου (Therapeutic Drug Monitoring) στο αίμα	54
ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ	57
B. ΠΕΙΡΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ.....	59
B.1 Υλικά και Μεθοδολογία.....	59
B.1.α. Ασθενείς.....	59
B.1.β Πρωτόκολλο - Συλλογή δειγμάτων αίματος από ετερογενή ομάδα ασθενών που έλαβαν τουλάχιστον μία δόση τιγκεκυκλίνης (με ή χωρίς δόση φόρτισης).....	61
B.2 Αναλυτική Μέθοδος	62
B.2.α Οργανολογία.....	62
B.2.α.1 Σύστημα υγροχρωματογραφίας υψηλής απόδοσης (HPLC).....	62
B.2.α.2 Σύστημα διήθησης διαλυτών	63
B.2.α.3 Αναλυτικός ζυγός	63
B.2.α.4 Σύστημα παροχής ύδατος αντίστροφης ώσμωσης	63
B.2.α.5 Πεχάμετρο	64
B.2.α.6 Συσσκευή περιδίνησης (Vortex)	64
B.2.α.7 Φυγόκεντρος	64
B.2.α.8 Διάφορα όργανα-υλικά	64
B.2.β Διαλύτες-Αντιδραστήρια-Διαλύματα.....	65
B.2.β.1 Διαλύτες.....	65
B. 2.β.2 Αντιδραστήρια-Διαλύματα	65
B.2.β.3 Πλάσμα.....	68

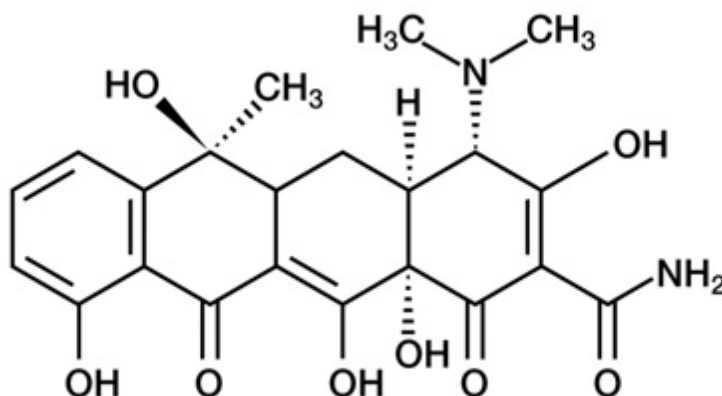
B.2.γ. Χρωματογραφικές συνθήκες-Πορεία ανάλυσης	68
B.2.γ.1 Χρωματογραφικές συνθήκες.....	68
B.2.γ.2 Παρασκευή πρότυπων δειγμάτων σε πλάσμα αίματος - Κατασκευή καμπύλης βαθμονόμησης στο πλάσμα	69
B.2.γ.3 Προκατεργασία άγνωστων δειγμάτων σε πλάσμα αίματος ασθενών που λάμβαναν τιγκεκυκλίνη	71
Γ. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ-ΣΥΖΗΤΗΣΗ.....	72
Γ1. Χαρακτηριστικά των καμπυλών αναφοράς	72
Γ2. Υπολογισμός των εξατομικευμένων παραμέτρων των ασθενών που έλαβαν τιγκεκυκλίνη.....	75
ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	96
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	97
ΠΕΡΙΛΗΨΗ	105
ABSTRACT	107
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ	109

A. ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

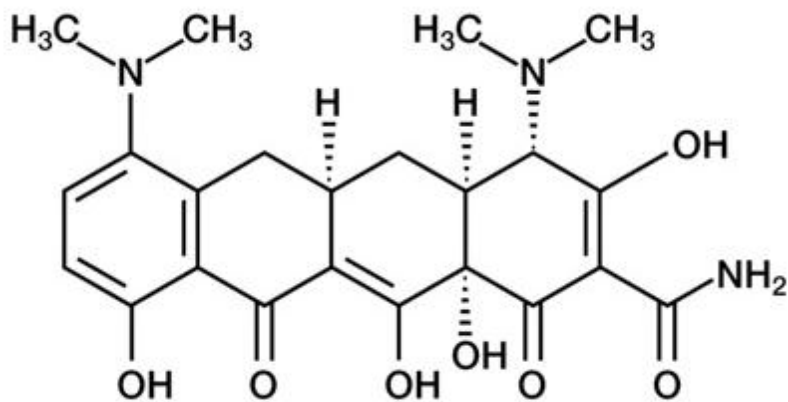
A1. Τιγκεκυκλίνη

A1.1 Χημική Δομή:

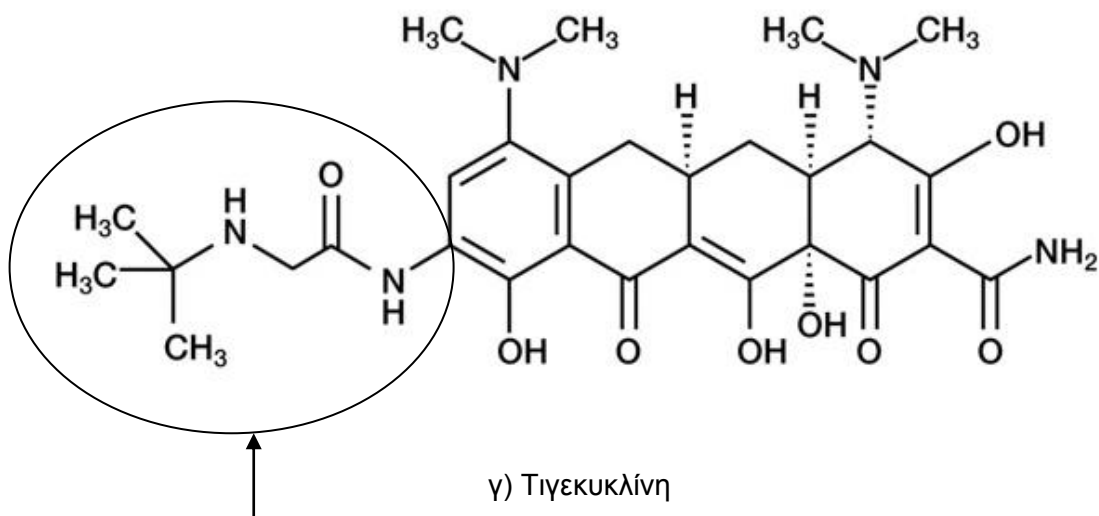
Η τιγκεκυκλίνη είναι η πρώτη γλυκυλκυκλίνη που κυκλοφόρησε και το πρώτο νέο ανάλογο των τετρακυκλινών μετά την ανακάλυψη της μινोकυκλίνης περισσότερο από 30 χρόνια πριν. Γνωστή και ως GAR-936, είναι ημισυνθετικό ανάλογο της μινोकυκλίνης με εξαιρετικά ευρύ φάσμα δράσης έναντι Gram-αρνητικών και Gram-θετικών βακτηριδίων.¹⁻³ Η έρευνα για τις γλυκυλκυκλίνες ξεκίνησε στην αρχή της δεκαετίας του 1990² που οδήγησε λίγα χρόνια αργότερα στην ανάπτυξη του μορίου της τιγκεκυκλίνης με την προσθήκη μιας πλευρικής αλυσίδας στη μινोकυκλίνη, της tert-βουτυλ-γλυκυλ-αμιδο-ομάδας στον άνθρακα 9 του D-δακτυλίου του βασικού σκελετού των τετρακυκλινών (Σχήμα A1). Η αναλυτική χημική ονομασία της τιγκεκυκλίνης είναι: (4S,4aS,5aR,12aS)-9-[2-(tert-butylamino)acetamido]-4,7-bis(dimethylamino)-1,4,4a,5,5a,6,11,12a-octahydro-3,10,12,12a-tetrahydroxy-1,11-dioxo-2naphthacenecarboxamide. Ο χημικός τύπος είναι C₂₉H₃₉N₅O₈ και το μοριακό βάρος της ισούται με 585,65.^{4,5}



α) Τετρακυκλίνη



β) Μινοκυκλίνη



γ) Τιγκεκυκλίνη

9-tert-βουτυλ-γλυκυλαμιδο- ομάδα η πλευρική αλυσίδα που έχει προστεθεί στη θέση 9 του D-δακτυλίου του βασικού σκελετού της μινοκυκλίνης

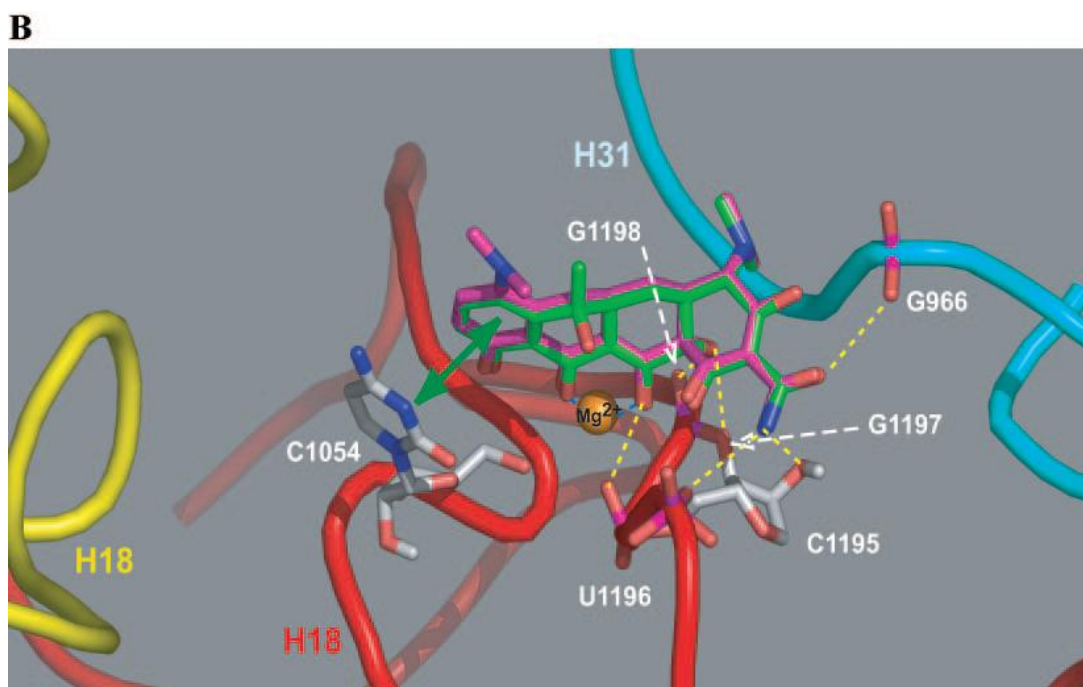
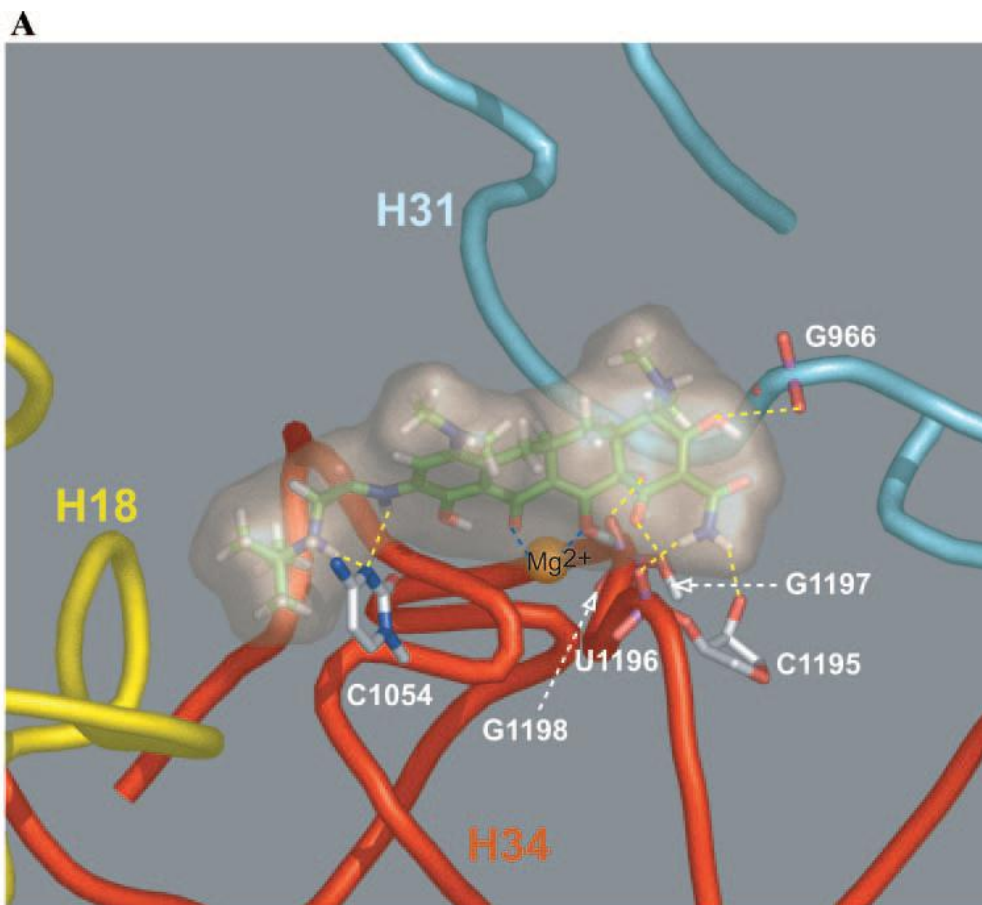
Σχήμα Α1. Χημική δομή α) της τετρακυκλίνης, β) της μινοκυκλίνης και γ) της τιγκεκυκλίνης.¹

Η τιγκεκυκλίνη εγκρίθηκε από τον FDA τον Ιούνιο του 2005 για τη θεραπεία πεπλεγμένων λοιμώξεων του δέρματος και των μαλακών μορίων,

συμπεριλαμβανομένων λοιμώξεων από MRSA, καθώς επίσης και για χρήση σε ασθενείς με πεπλεγμένες ενδοκοιλιακές λοιμώξεις.^{3,6,7}

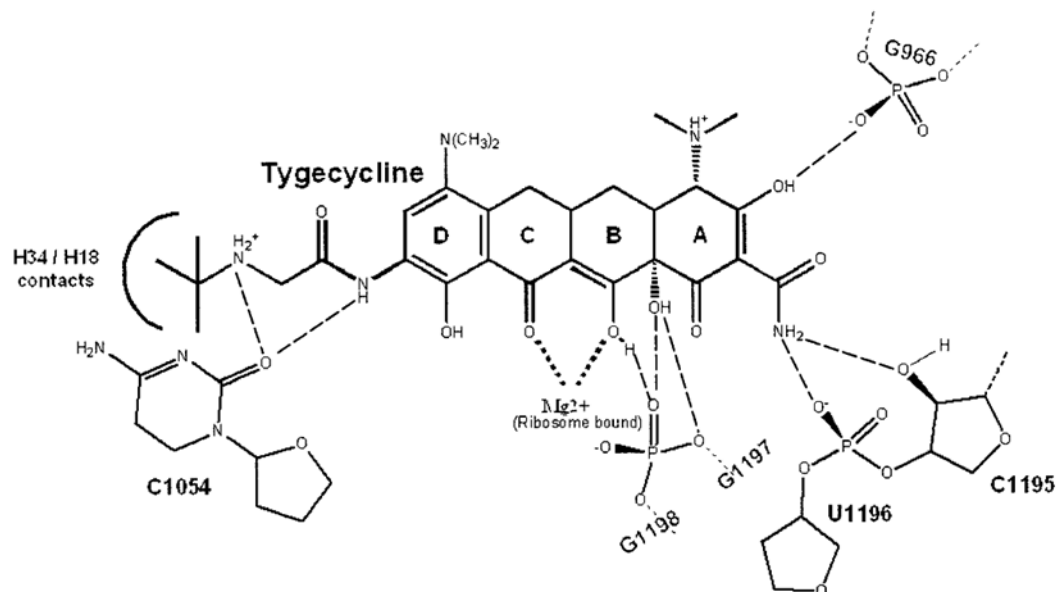
A1.2 Μηχανισμός Δράσης

Όπως οι τετρακυκλίνες, έτσι και η τιγκεκυκλίνη είναι βακτηριοστατικό. Η βακτηριοστατική δράση των τετρακυκλινών έχει μελετηθεί εκτενώς τα τελευταία 50 χρόνια και είναι ευρέως γνωστό ότι εμποδίζουν τη βιοσύνθεση των πρωτεϊνών.⁸ Στο μόριο της τιγκεκυκλίνης η κεντρική δομή των τεσσάρων δακτυλίων είναι υπεύθυνη για την αντιμικροβιακή δράση ενώ οι πλευρικές ομάδες επιτρέπουν ένα διευρυμένο φάσμα δράσης έναντι ποικίλων κλινικά σημαντικών παθογόνων. Το μόριο συνδέεται αντιστρεπτά στην 30S υπομονάδα του βακτηριακού ριβοσώματος, αλληλεπιδρώντας κυρίως με μια ελικοειδή περιοχή που ονομάζεται H34. Με τον τρόπο αυτό παρεμποδίζει την είσοδο της ομάδας aminoacyl transfer RNA (t-RNA) στην πλευρά σύνδεσης-A (acceptor site) του βακτηριακού ριβοσώματος και αναστέλλει τη φυσιολογική διαδικασία της πρωτεϊνοσύνθεσης, μη επιτρέποντας τη σύνδεση αμινοξέων για την επιμήκυνση της πεπτιδικής αλυσίδας^{4,8}. (Σχήμα A2).



Σχήμα A2. Υπολογιστική απεικόνιση της σύνδεσης.⁹ A) Επισκόπηση της θέσης δέσμευσης της τιγκεκυκλίνης και προβλεπόμενες αλληλεπιδράσεις με το ριβόσωμα. Οι έλικες H34, H31, H18 του RNA απεικονίζονται με κόκκινο, μπλε και κίτρινο αντίστοιχα. B)

Επισκόπηση της αλληλεπίδρασης μεταξύ τετρακυκλίνης και ριβοσώματος και προβλεπόμενες αλληλεπιδράσεις μεταξύ μινοκυκλίνης και ριβοσώματος. Οι έλικες H34, H31, H18 του RNA απεικονίζονται με κόκκινο, μπλε και κίτρινο αντίστοιχα. Τα άτομα άνθρακα της τετρακυκλίνης διακρίνονται με πράσινο και της μινοκυκλίνης με ροζ. Το αμφίδρομο πράσινο βέλος αντιπροσωπεύει την Ο-αλληλεπίδραση μεταξύ του δακτυλίου D και της κυτοσίνης C1054.



Σχήμα A3. Απεικόνιση της χημικής δομής και των αλληλεπιδράσεων της τιγκεκυκλίνης με την ομάδα 16S-RNA στην πλευρά σύνδεσης A. Με τις διακεκομμένες γραμμές (- - - -) συμβολίζονται οι δεσμοί υδρογόνου και με τις τελείες (••••••) η σύνδεση της τιγκεκυκλίνης με το ιόν μαγνησίου (Mg^{2+}) στην επιφάνεια του ριβοσώματος.⁹

Το τελικό αποτέλεσμα της αναστολής της πρωτεϊνικής σύνθεσης είναι η κυτταρική απόπτωση. Η σύνδεση της τιγκεκυκλίνης στην ελικοειδή περιοχή H34 στην πλευρά A του ριβοσώματος είναι χαρακτηριστική του εν λόγω μορίου διακρίνοντάς το από άλλα που επίσης αλληλεπιδρούν με την ίδια περιοχή. Ωστόσο, απαραίτητη προϋπόθεση για τη δράση της αποτελεί η είσοδός της στο εσωτερικό του κυττάρου. Η οδός διαμέσου της οποίας μπορεί να εισέλθει το μόριο της τιγκεκυκλίνης στο βακτηριακό κύτταρο καθορίζεται από το αν ο οργανισμός είναι Gram-θετικός ή Gram-αρνητικός. Στα Gram-αρνητικά εντεροβακτηρίδια, η τιγκεκυκλίνη εισέρχεται διαμέσου ειδικών αντλιών,

συγκεκριμένα των OmpF και OmpC πορινών που βρίσκονται στην εξωτερική πλευρά του κυτταρικού τοιχώματος σαν ένα θετικά φορτισμένο σύμπλεγμα και απελευθερώνεται εν συνεχεία στο κυτταρόπλασμα. Στα Gram-θετικά βακτήρια η είσοδος επιτυγχάνεται διαμέσου της μεταφοράς ελεύθερων λιπόφιλων μορίων φαρμάκου κατά μήκος της κυτταροπλασματικής μεμβράνης. Στο κυτταρόπλασμα το μόριο της τιγκεκυκλίνης αλληλεπιδρά με ιόντα Mg^{2+} , οπότε σχηματίζονται χηλικές ενώσεις που συνιστούν την ενεργό-δραστική μορφή του φαρμάκου.^{10,11} (Σχήμα A3).

A1.3 Αντιβακτηριακό φάσμα δράσης

Η τιγκεκυκλίνη είναι ένας ευρέου φάσματος αντιμικροβιακός παράγοντας με βακτηριοστατική γενικά δράση έναντι πολλών Gram-αρνητικών και Gram-θετικών βακτηρίων, αερόβιων, αναερόβιων και άτυπων ειδών, συμπεριλαμβανομένων πολλών παθογόνων ανθεκτικών σε ιστορικές κατηγορίες αντιμικροβιακών παραγόντων.^{12,13} Η μελέτη TEST (Tigecycline Evaluation and Surveillance Trial), ένα παγκόσμιο, πολυκεντρικό, πρόγραμμα παρατήρησης, τεκμηρίωσε ότι η τιγκεκυκλίνη παρουσιάζει υψηλή δραστικότητα σε Gram- θετικούς μικροοργανισμούς συμπεριλαμβανομένων των ανθεκτικών στη μεθικιλίνη σταφυλοκόκκων - MRSA (Methycillin Resistant Staphylococcus Aureus) και MRSE (Methycillin Resistant Staphylococcus Epidermidis)- και των εντεροκόκκων, συμπεριλαμβανομένου του VRE (Vancomycin Resistant Enterococci).^{14,15} Επίσης, υψηλή δραστικότητα διαπιστώθηκε προς την οικογένεια των Enterobacteriaceae, σε αναερόβια και άτυπα παθογόνα^{1,14-16}, καθώς και σε πολυανθεκτικά στελέχη *Acinetobacter baumannii* τουλάχιστον *in vitro*.^{17,18} Μειωμένη δραστικότητα έχει παρατηρηθεί για τα γένη *Proteus*, *Providencia* και *Morganella*, καθώς επίσης διαφαίνεται ότι και το στέλεχος *Pseudomonas aeruginosa* δεν αναστέλλεται ικανοποιητικά από την τιγκεκυκλίνη.^{1,16} Επιπλέον, έχει παρατηρηθεί βακτηριοκτόνος δράση έναντι ορισμένων παθογόνων, όπως ο *Streptococcus pneumoniae* και ο *Haemophilus influenzae*, καθώς και μερικά στελέχη *Escherichia coli*.^{19,20}

A1.4 Μηχανισμός αντοχής των βακτηρίων έναντι των τετρακυκλινών και υπεροχή της τιγκεκυκλίνης

Οι τετρακυκλίνες χρησιμοποιήθηκαν ευρέως την περίοδο 1950-1970 και οι γλυκυλκυκλίνες αναπτύχθηκαν με σκοπό την επίλυση των προβλημάτων που δημιουργήθηκαν από την παρατεταμένη χρήση των προηγούμενων. Ο αριθμός των βακτηρίων που αποκτούν βακτηριακή αντίσταση στις τετρακυκλίνες αυξάνεται ολοένα και περισσότερο, καθιστώντας απαραίτητη τη γνώση των διάφορων μηχανισμών άμυνας των βακτηρίων. Οι κύριοι μηχανισμοί αντίστασης κατά των τετρακυκλινών εδράζουν σε γονίδια που μεταφράζουν πρωτεΐνες. Έχουν ανακαλυφθεί, μέχρι στιγμής, 27 tet γονίδια που μεταφράζουν πρωτεΐνες κατά των τετρακυκλινών, 3 γονίδια που μεταφράζουν πρωτεΐνες κατά της οξυτετρακυκλίνης (otr) και 1 γονίδιο με την ονομασία tcr3.²¹ Η έκφραση αυτών των γονιδίων οδηγεί σε πρωτεΐνες που συνεισφέρουν στους δύο βασικούς μηχανισμούς αντοχής έναντι των τετρακυκλινών: τις πρωτεΐνες-αντλίες εξώθησης και τη ριβοσωμική προστασία. Έχει διαπιστωθεί και μια τρίτη οδός που βασίζεται στην ενζυματική αδρανοποίηση των μορίων των τετρακυκλινών.³ Δεκαεπτά από τα tet γονίδια (π.χ. tet[A], tet[B]), το γονίδιο tcr3 και ένα από τα otr γονίδια (otr[B]) κωδικοποιούν πρωτεΐνες-αντλίες εξώθησης.²¹ Πρόκειται για διαμεμβρανικές πρωτεΐνες οι οποίες εξωθούν τα μόρια των τετρακυκλινών προς το εξωτερικό του βακτηριακού κυττάρου, μειώνοντας τα ενδοκυτταρικά επίπεδα του φαρμάκου και προστατεύοντας έτσι το βακτηριακό ριβόσωμα.^{3,11,22} Οχτώ από τα tet γονίδια (π.χ. tet [A], tet-[M]) και ένα από τα otr (otr[A]) κωδικοποιούν πρωτεΐνες που παρέχουν ριβοσωμική προστασία στο βακτήριο²¹ προκαλώντας μείωση της ευαισθησίας του ριβοσώματος για τη σύνδεσή του με τις τετρακυκλίνες. Φαίνεται πως διαθέτουν δράση ριβοσωμικά εξαρτώμενης GTP-άσης. Οι μικροοργανισμοί που φέρουν τέτοια γονίδια, με εξαίρεση το γονίδιο tet[B], φαίνεται να διαθέτουν ευρύτερο φάσμα ανθεκτικότητας σε σχέση με εκείνους που φέρουν στη μεμβράνη τους πρωτεΐνες-αντλίες εξώθησης.^{3,11} Το γονίδιο tet(C) δεν έχει ακόμη πλήρως αποκρυπτογραφηθεί, ενώ το tet(U) δεν σχετίζεται με την κωδικοποίηση πρωτεϊνών εξώθησης, ριβοσωμικής προστασίας ή ενζυμικών πρωτεϊνών. Το γονίδιο tet(I) δεν έχει αποκωδικοποιηθεί ακόμη, αλλά διάφορες μελέτες

φαινοτύπου οδηγούν στο μηχανισμό αντλιών εξώθησης.²¹ Ο μηχανισμός ανθεκτικότητας μέσω της οδού της ενζυματικής αδρανοποίησης των μορίων του φαρμάκου αποδίδεται στο γονίδιο tet(X). Το γονίδιο αυτό φαίνεται πως κωδικοποιεί ένα ένζυμο, μια κυτταροπλασματική πρωτεΐνη M.B. 44-kDa, που καταλύει τη χημική δομή των τετρακυκλινών παρουσία οξυγόνου και NADPH οδηγώντας στην απενεργοποίηση τους.²³ Κλινικές μελέτες έχουν δείξει ότι για αυτή τη διαδικασία πράγματι απαιτείται η παρουσία οξυγόνου, όμως το συγκεκριμένο γονίδιο έχει εντοπιστεί σε αναερόβια βακτήρια, κάτι το οποίο τείνει να αποκλείσει αυτό τον τρόπο δράσης.²¹ Επίσης, άγνωστοι μηχανισμοί φαίνεται να συνεισφέρουν, σε μικρό ωστόσο βαθμό, στην εικόνα που συνθέτει τη βακτηριακή ανθεκτικότητα έναντι της ομάδας των τετρακυκλινών.¹¹ Στον πίνακα A1 που ακολουθεί, συνοψίζονται τα γονίδια που συμμετέχουν στην προστασία των βακτηρίων και ο μηχανισμός με τον οποίο δρουν.

Πίνακας A1. Μηχανισμοί αντίστασης των βακτηρίων κατά των τετρακυκλινών, που σχετίζονται με τα γονίδια tet και otr.²¹

Αντλίες εξώθησης	Ριβοσωμική προστασία	Ενζυμική προστασία	Άγνωστη ^a
tet(A), (B), (C), (D), (E)	tet(M)	tet(X)	tet(U)
tet(G), (H), (I), (J)	tet(O)		otr(C)
tet(K), (L)	tet(Q), (S), (T)		
tet(V)	tet(W)		
tet(Y), (Z)	tet ^β		
tcr3 ^β	otr(A)		
tet(30), (31) ^γ	tetP(B) ^δ		
otr(B)			
tetP(A)			

^aΤο γονίδιο tet(U) δεν έχει ακόμη αποκρυπτογραφηθεί, αλλά φαίνεται να σχετίζεται με αντλίες εξώθησης ή πρωτεΐνες που προσφέρουν ριβοσωμική προστασία. Το otr(C) γονίδιο δεν έχει ακόμη αποκρυπτογραφηθεί. ^βΣτα γονίδια αυτά δεν έχει δοθεί νέος χαρακτηρισμός. ^γΤα πρώτα γονίδια των οποίων η ονομασία περιλαμβάνει αραβικούς αριθμούς. ^δΤο γονίδιο tetP(B) δεν μπορεί να παράγει πρωτεΐνες ανθεκτικές στις τετρακυκλίνες απουσία του tetP(A).

Η τιγεκυκλίνη μπορεί να υπερνικήσει τους δύο κύριους μηχανισμούς ανθεκτικότητας των τετρακυκλινών, τη ριβοσωμική προστασία και το μηχανισμό αποβολής του αντιβιοτικού.²⁴ Σε αυτό το γεγονός βασίζεται το μεγαλύτερο εύρος της δράσης της σε σχέση με τα αντιβιοτικά της ομάδας των τετρακυκλινών. Πειραματικά δεδομένα δείχνουν ότι η τιγεκυκλίνη παρουσιάζει ισχυρότερη ικανότητα σύνδεσης, μεγαλύτερη συγγένεια, με τις ριβοσωμικές περιοχές όπου συνδέεται για να εκδηλωθεί η δράση της συγκριτικά με τις τετρακυκλίνες. Συγκεκριμένα, αναλύσεις του σταδίου της μετάφρασης που πραγματοποιήθηκαν σε στελέχη *E.coli* που έφεραν τα γονίδια *tet[M]* και *tet[O]* έδειξαν ότι η τιγεκυκλίνη και άλλες γλυκυλκυκλίνες συνδέονται 5 φορές ισχυρότερα από τη μινοκυκλίνη ή την τετρακυκλίνη στις υπομονάδες του βακτηριακού ριβοσώματος διατηρώντας την αντιμικροβιακή τους δραστηριότητα. Η βελτιωμένη αυτή σύνδεση οφείλεται στην υποκατάσταση στον άνθρακα-9 του βασικού σκελετού που ξεπερνά το μηχανισμό ριβοσωμικής προστασίας των βακτηρίων. Επιπλέον, φαίνεται πως είναι η ογκώδης πλευρική αλυσίδα που αποτρέπει μέσω στερεοχημικής παρεμπόδισης την απομάκρυνση της τιγεκυκλίνης από το κύτταρο με τις πρωτεΐνες-αντλίες εξώθησης.^{1,3,4,21} Ύστερα από διαδικασίες βελτιστοποίησης της δομής των γλυκυλκυκλινών, φάνηκε ότι ομάδες όπως οι *tet*-βουτυλομάδα ή μικρές κυκλικές δομές αλκυλίων στο γλυκινο-άζωτο, αποτελούν το ιδανικό μέγεθος για τη βέλτιστη δραστηριότητα. Στην περίπτωση δε που κάποια παράγωγα διαθέτουν σε εκείνη τη θέση διάλκυλο-υποκαταστάτες, τότε οι ιδανικοί υποκαταστάτες φαίνεται να είναι η διμέθυλο-ομάδα και η πυρρολιδινο-ομάδα. Η βασικότητα του αζώτου της ομάδας της γλυκίνης κρίνεται απαραίτητη. Επίσης, μεταβολές που έγιναν στην απόσταση μεταξύ του αζώτου και της καρβονυλο-ομάδας, είχαν σαν αποτέλεσμα τη μείωση της δραστηριότητας του μορίου. Τέλος, η εισαγωγή κάποιου ετεροατόμου στην αλκυλο-αμινο-ομάδα μείωσε την αντιμικροβιακή δράση του μορίου.²¹ Πιο συγκεκριμένα, η τιγεκυκλίνη αποφεύγει τις πρωτεΐνες-αντλίες εξώθησης που κωδικοποιούνται από τα γονίδια *tet[A-E]* και ευθύνονται για την ανθεκτικότητα των στελεχών *Enterobacteriaceae* και *Acinetobacter spp.* προς την τετρακυκλίνη και τη μινοκυκλίνη, καθώς και τις αντλίες εξώθησης που κωδικοποιεί το γονίδιο *tet-[K]* και απαντούν ευρέως σε

στελέχη σταφυλοκόκκων και ευθύνονται για την αντοχή αυτών στη τετρακυκλίνη (αλλά όχι στη μινοκυκλίνη ή τη δοξυκυκλίνη). Επίσης, φαίνεται πως διατηρεί την ικανότητά της να συνδέεται ισχυρά στο βακτηριακό ριβόσωμα όταν αυτό έχει τροποποιηθεί υπό την επίδραση του γονιδίου tet-[M], που συνιστά συχνό μηχανισμό αντίστασης Gram-θετικών κόκκων και των στελεχών *Neisseria* spp. προς όλες τις διαθέσιμες τετρακυκλίνες. Η αποφυγή του συγκεκριμένου μηχανισμού ριβοσωμιακής προστασίας που κωδικοποιείται από το γονίδιο tet-[M], είναι πιθανό να βασίζεται στο διαφορετικό προσανατολισμό πρόσδεσης της τιγκεκυκλίνης στο βακτηριακό ριβόσωμα συγκριτικά με τις κλασικές τετρακυκλίνες. Ωστόσο, δεν παύει το μόριο της τιγκεκυκλίνης να παραμένει ευάλωτο στις χρωμοσωμιακά κωδικοποιημένες αντλίες εξώθησης στα πολυανθεκτικά στελέχη *Proteae* και *Pseudomonas aeruginosa*, όπως επίσης και στο μηχανισμό ενζυματικής αδρανοποίησης που, αν και σπάνια, απαντά σε στελέχη *Bacteroides*.² Τα παθογόνα της οικογένειας *Proteae* (*Proteus* spp., *Providencia* spp. και *Morganella* spp.) είναι γενικά λιγότερο ευαίσθητα στην τιγκεκυκλίνη σε σχέση με άλλα μέλη των *Enterobacteriaceae*. Η μειωμένη ευαισθησία και στις δύο ομάδες έχει αποδοθεί στην υπερέκφραση της μη ειδικής για πολλά φάρμακα αντλίας ενεργητικής εκροής AcrAB. Η μειωμένη ευαισθησία έναντι του *Acinetobacter baumannii* έχει αποδοθεί στην υπερέκφραση της αντλίας ενεργητικής εκροής AdeABC.²⁴

A1.5 Όρια ευαισθησίας

Τα όρια ευαισθησίας της ελάχιστης ανασταλτικής συγκέντρωσης (Minimum Inhibitory Concentration, MIC) για ορισμένα σημαντικά παθογόνα, όπως καθορίστηκαν από την European committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST)²⁵, έχουν ως εξής:

Staphylococcus spp. $S^* \leq 0.5 \text{ mg/l}$ και $R^* > 0.5 \text{ mg/l}$

Streptococcus spp. εκτός από *S.pneumonia* $S \leq 0.25 \text{ mg/l}$ και $R > 0.5 \text{ mg/l}$

Enterococcus spp. $S \leq 0.25 \text{ mg/l}$ και $R > 0.5 \text{ mg/l}$

Enterobacteriaceae S ≤ 1 mg/l και R > 2 mg/l

(*: S= Sensitive→ευαίσθητο, R= Resistant→ανθεκτικό)

Στους πίνακες A2 και A3, φαίνονται αναλυτικά τα όρια ευαισθησίας που προτείνουν οι διαφορετικές αρχές για στελέχη της οικογένειας των *Enterobacteriaceae*, όπως *K. Pneumonia*, *E. Coli* και άλλα εντεροβακτηριακά. Οι διαφορές που παρατηρούνται μεταξύ των αρχών είναι αξιοσημείωτες και εξαρτώνται από τα διαφορετικά κριτήρια που έχουν χρησιμοποιηθεί προκειμένου να οριστούν τα διάφορα όρια ευαισθησίας των μικροοργανισμών.²⁶

Πίνακας A2. Όρια ευαισθησίας της πιγκεκυκλίνης για τα διάφορα είδη παθογόνων σύμφωνα με την πιο πρόσφατη ενημέρωση της EUCAST (1-1-2012)

Παθογόνο	Ελάχιστη ανασταλτική συγκέντρωση/όριο ευαισθησίας (mg/L)		Δόση (μg)	Διάμετρος ζώνης ανάπτυξης αντιβιοτικού/ Όριο Ευαισθησίας (mm)	
	S≤	R>		S≥	R<
Enterobacteriaceae	1 ^a	2 ^a	15	18 ^β	15 ^β
Acinetobacter spp.	A.Δ.	A.Δ.		A.Δ.	A.Δ.
Staphylococcus spp.	0.5 ^γ	0.5	15	18	18
Enterococcus spp.	0.25 ^{γ,δ}	0.5	15	18	15
Streptococcus groups A, B, C and G	0.25 ^γ	0.5	15	19	16
Streptococcus pneumoniae	IE	IE		IE	IE
Viridans group streptococci	IE	IE		IE	IE
Haemophilus influenzae	IE	IE		IE	IE
Gram-θετικά και Gram-αρνητικά αναερόβια βακτήρια εκτός από το <i>Clostridium difficile</i>	Σημείωση ^ε			Σημείωση ^ζ	
Όρια ευαισθησίας ανεξάρτητα από το παθογόνο	0.25	0.5		—	

A.Δ.= Ανεπαρκή δεδομένα για την ευαισθησία αυτών των ειδών στην πιγκεκυκλίνη

^aΗ πιγκεκυκλίνη έχει in vitro μειωμένη δραστηριότητα έναντι των *Proteus*, *Providencia* και *Morganella* spp. ^βΟ υπολογισμός αφορά μόνο στο βακτήριο *E. Coli*. ^γΌταν ανιχνεύονται στελέχη με τιμές MIC μεγαλύτερες του ορίου ευαισθησίας απαιτείται επανέλεγχος μέχρι να επιβεβαιωθεί η ανθεκτικότητα. ^δ Για την ενδοκαρδίτιδα να χρησιμοποιούνται οι τοπικές ή διεθνείς οδηγίες σχετικά με τα όρια ευαισθησίας της οικογένειας των Εντεροκόκκων. ^εΓια αναερόβια βακτήρια υπάρχουν κλινικά στοιχεία αποτελεσματικότητας σε πολυμικροβιακές ενδοκοιλιακές λοιμώξεις, αλλά δεν υπάρχει καμία συσχέτιση μεταξύ των τιμών MIC, των PK/PD δεδομένων και της κλινικής έκβασης. ^ζ Δεν έχουν προσδιορισθεί ακόμη.

Πίνακας Α3. Όρια ευαισθησίας της τιγκεκυκλίνης για διάφορα είδη παθογόνων σύμφωνα με τον FDA (έκδοση 2010)

Παθογόνο	Ελάχιστη Ανασταλτική Συγκέντρωση/ Όριο Ευαισθησίας (mg/L)			Διάμετρος ζώνης ανάπτυξης αντιβιοτικού/ Όριο Ευαισθησίας (mm)		
	S≤	I	R≥	S≥	I	R≤
Staphylococcus aureus (συμπεριλαμβανομένων στελεχών ανθεκτικών στη μεθικιλίνη)	0.5*	—	—	19	—	—
Στρεπτόκοκκοι (εκτός <i>S.pneumoniae</i>)	0.25*	—	—	19	—	—
<i>S.pneumoniae</i>	0.06*	—	—	19	—	—
<i>Enterococcus faecalis</i>	0.25*	—	—	19	—	—
Εντεροβακτηριακά**	2	4	8	19	15-18	14
Αιμόφιλος της γρίπης	0.25*	—	—	19	—	—
Αναερόβια βακτήρια***	4	8	16	M.Δ.	M.Δ.	M.Δ.

M.Δ.= Μη διαθέσιμα δεδομένα για την ευαισθησία των αναερόβιων βακτηρίων στην τιγκεκυκλίνη

*Η τρέχουσα απουσία ανθεκτικών στελεχών αποκλείει οποιοδήποτε αποτέλεσμα πλην του χαρακτηρισμού ως «ευαίσθητο»

**Η τιγκεκυκλίνη έχει μειωμένη in vitro δράση έναντι των οικογενειών *Morganella spp.*, *Proteus spp.* και *Providencia spp.*

*** Καλλιέργεια σε άγαρ.

Η επικράτηση της επίκτητης αντοχής, η οποία μπορεί να ποικίλλει γεωγραφικά και χρονικά για επιλεγμένα είδη, καθιστά αναγκαία την πληροφόρηση σχετικά με την τοπική επίπτωση της αντοχής προκειμένου να υπάρξει ορθός προσανατολισμός τη θεραπευτικής αντιμετώπισης σοβαρών λοιμώξεων.^{24,27} Είδη για τα οποία η επίκτητη αντοχή μπορεί να αποτελεί πρόβλημα είναι τα ακόλουθα αρνητικά κατά Gram αερόβια βακτήρια, *Acinetobacter baumannii*, *Burkholderia cepacia*, *Enterobacter aerogenes*, *Enterobacter cloacae*, *Klebsiella pneumoniae*, *Morganella morganii*, *Proteus spp.*, *Providencia spp.*, *Serratia marcescens*, *Stenotrophomonas maltophilia*, καθώς και από τα αναερόβια η ομάδα των *Bacteroides fragilis*. Να σημειωθεί ότι για τα στελέχη *Enterobacter cloacae* και *Klebsiella pneumoniae* η δραστηριότητα της τιγκεκυκλίνης θεωρείται ότι έχει καταδειχθεί ικανοποιητικά σε κλινικές μελέτες, αλλά ενδεχόμενη επίκτητη αντοχή δεν παύει να προβληματίζει.

Η τιγκεκυκλίνη έχει in vitro μειωμένη δραστηριότητα έναντι των *Proteus*, *Providencia* και *Morganella spp.*

Για αναερόβια βακτήρια υπάρχουν κλινικά στοιχεία αποτελεσματικότητας σε πολυμικροβιακές ενδοκοιλιακές λοιμώξεις, αλλά δεν υπάρχει καμία συσχέτιση μεταξύ των τιμών MIC, των PK/PD δεδομένων και της κλινικής έκβασης. Ως εκ τούτου, δεν έχουν καθορισθεί όρια ευαισθησίας. Πρέπει να σημειωθεί ακόμη ότι οι κατανομές των MIC των οργανισμών στα γένη *Bacteroides* και *Clostridium* είναι ευρείες και μπορεί να περιλαμβάνουν τιμές άνω των 2mg/l τιγκεκυκλίνης. Τα στοιχεία της κλινικής αποτελεσματικότητας της τιγκεκυκλίνης έναντι των εντεροκόκκων είναι περιορισμένα. Ωστόσο, πολυμικροβιακές ενδοκοιλιακές λοιμώξεις δείχνουν να ανταποκρίνονται στη θεραπεία με τιγκεκυκλίνη.^{24,25}

Η περίπτωση του *Acinetobacter baumannii* ως προς τα όρια ευαισθησίας που πρέπει να εφαρμόζονται και τη μέθοδο προσδιορισμού αυτών είναι περίπλοκη: Στις περισσότερες δημοσιευμένες μελέτες έχει χρησιμοποιηθεί το όριο MIC \leq 2 mg/l. Ωστόσο ο Αμερικανικός Οργανισμός Φαρμάκων και η Ευρωπαϊκή Επιτροπή για τα τεστ ευαισθησίας στα αντιμικροβιακά δεν έχουν καταλήξει σε συγκεκριμένες συστάσεις, ενώ η Αγγλική Ένωση για την Αντιμικροβιακή Χημειοθεραπεία (BSAC) είχε προτείνει ένα αρκετά συντηρητικό όριο ευαισθησίας (\leq 1 mg/l) όμοιο με αυτό που πρότεινε για την οικογένεια των *Enterobacteriaceae*.²⁸⁻³⁰ Ένα ακόμη στοιχείο που φαίνεται να περιπλέκει τον προσδιορισμό του ορίου ευαισθησίας για το *Acinetobacter baumannii* είναι η παρουσία μαγγανίου στο μέσο της καλλιέργειας (Mueller-Hinton). Φαίνεται πως επηρεάζονται τα αποτελέσματα της ευαισθησίας καθώς έχουν διαπιστωθεί αυξήσεις των τιμών MIC μέσω του προσδιορισμού με E-test.^{31,32}

A1.6. In vitro και in vivo δεδομένα για τη δραστηριότητα της τιγκεκυκλίνης

A1.6.α. Έναντι πολυανθετικών στελεχών *Acinetobacter baumannii* (MDR *A. Baumannii*), συμπεριλαμβανομένων και των ανθεκτικών στην καρβαπενέμη:

Σχετικά με την in vitro αποτελεσματικότητα της τιγκεκυκλίνης έναντι MDR *A. Baumannii* και στελεχών ανθεκτικών στην καρβαπενέμη, διαπιστώθηκε σε 9 από 18 μελέτες και αντίστοιχα σε 7 από 15 μελέτες ότι το 90% τουλάχιστον των στελεχών παρουσίασαν ευαισθησία στο φάρμακο με MIC \leq 2 mg/l.³³ Ακόμη,

δραστική εμφανίστηκε η τιγκεκυκλίνη σε 9 από 10 στελέχη ανθεκτικά στις πολυμυξίνες και σε 17 στα 17 στελέχη με ενδιάμεση ευαισθησία σε αυτά τα αντιβιοτικά.²⁶ Κλινικά δεδομένα για την αποτελεσματικότητα της τιγκεκυκλίνης έχουν σε μικρό βαθμό δημοσιευτεί. Αναδρομικά στοιχεία που έχουν συγκεντρωθεί από 42 βαριά ασθενείς (μεταξύ των οποίων 8 ασθενείς με βακτηριαιμία) οι οποίοι έλαβαν θεραπεία με τιγκεκυκλίνη έδειξαν ότι σε συνδυασμό με άλλους αντιμικροβιακούς παράγοντες (κυρίως πολυμυξίνες έλαβαν 28 ασθενείς) ήταν αποτελεσματική σε ποσοστό 76% (32/42). Παρόλα αυτά σε 3 ασθενείς εκδηλώθηκε βακτηριακή αντοχή έναντι της τιγκεκυκλίνης στη διάρκεια της θεραπείας και στους 2 από αυτούς συνδέθηκε με κλινική αποτυχία. Επιπρόσθετα, σε 2 ασθενείς που αντιμετωπίστηκαν θεραπευτικά με τιγκεκυκλίνη για κάποιο είδος λοίμωξης πλην βακτηριαιμίας αναφέρθηκε η ανάπτυξη βακτηριαιμίας στην πορεία της θεραπείας.^{33,34} Αξίζει να σημειωθεί ότι η εμφάνιση αντοχής στην τιγκεκυκλίνη από στελέχη *A. Baumannii* σε ασθενείς που βρίσκονται σε κρίσιμη κατάσταση μπορεί να επιτείνεται και από το συνιστώμενο δοσολογικό σχήμα –δόση εφόδου 100 mg, δόση συντήρησης 50 mg κάθε 12ωρο-καθώς ο υψηλός όγκος κατανομής του φαρμάκου στους ιστούς είναι δυνατό να καθιστά ανεπαρκές το δοσολογικό σχήμα οδηγώντας τους ασθενείς σε υποθεραπεία. Υπάρχουν μη δημοσιευμένες αναφορές που ενισχύουν την παραπάνω άποψη προτείνοντας καλύτερη αποτελεσματικότητα της τιγκεκυκλίνης σε μεγαλύτερες δόσεις συντήρησης των 100-150 mg διατηρώντας ίδια το μεσοδιάστημα χορήγησης και τη δόση εφόδου. Ίσως μάλιστα να είναι περισσότερο συνετό να συνδυάζεται ένα τέτοιο δοσολογικό σχήμα με τη χορήγηση και άλλων αντιμικροβιακών παραγόντων (πολυμυξίνες, καρβαπενέμες, ριφαμπικίνη) για την αντιμετώπιση πολυανθεκτικών λοιμώξεων από *Acinetobacter baumannii* σε ασθενείς σε κρίσιμη κατάσταση.²⁶

A1.6.β. Έναντι πολυανθεκτικών στελεχών της οικογένειας των *Enterobacteriaceae* (με παραγωγή ESBL πρωτεϊνών ή ανθεκτικότητα στις καρβαπενέμες: ερταπενέμη ή/και ιμιπενέμη ή/και μεροπενέμη)³³

Σε μια πρόσφατη σχετικά συστηματική ανασκόπηση αναφέρονται τα ακόλουθα σχετικά με την *in vitro* ευαισθησία της τιγκεκυκλίνης έναντι μικροοργανισμών της οικογένειας *Enterobacteriaceae* που είτε παράγουν ESBL είτε είναι ανθεκτικά στις καρβαπενέμες λόγω της δράσης των νέων καρβαπενεμασών της *Klebsiella pneumoniae* ή των μεταλλο-β-λακταμασών: Η τιγκεκυκλίνη λοιπόν βρέθηκε δραστική σε ποσοστό > 99% των πολυανθεκτικών *E.coli* (N=1936, εκ των οποίων 1636 στελέχη που παράγααν ESBL και 14 ανθεκτικά στις καρβαπενέμες) χρησιμοποιώντας είτε τα κριτήρια ευαισθησίας του FDA (MIC≤2 mg/l) είτε τα κριτήρια της EUCAST (MIC≤1 mg/l). Για πολυανθεκτικά στελέχη *K. pneumoniae* τα αντίστοιχα ποσοστά δραστηριότητας με βάση τα όρια ευαισθησίας που ορίζονται από τον κάθε οργανισμό είναι 91.2% (N= 2.627) και 72.3% (N= 1504). Για τα στελέχη που παράγουν ESBL η *in vitro* ευαισθησία της τιγκεκυκλίνης ήταν 92.3% (N= 2030) και 72.3% (N= 1284) και για τα ανθεκτικά στις καρβαπενέμες στελέχη ήταν αντίστοιχα 94.8% (N= 402) και 71.9% (N= 231). Για τα παράγοντα ESBL-*Enterobacter spp.* ευαισθησία στην τιγκεκυκλίνη διαπιστώθηκε σε ποσοστό 91.3% (N= 69) και 77.6% (N= 49) αυτών, ενώ μειωμένη διαπιστώθηκε για τα ανθεκτικά στις καρβαπενέμες στελέχη με ποσοστά 80.3% (N= 102) και 57.8% (N= 102) αντίστοιχα, με βάση τα κριτήρια ευαισθησίας του FDA και της EUCAST.

Αναφορικά με την κλινική αποτελεσματικότητα της τιγκεκυκλίνης επί λοιμώξεων προκαλούμενων από πολυανθεκτικά στελέχη των *Enterobacteriaceae* έχουν αναφερθεί λίγα δεδομένα που αφορούσαν σε σύνολο 33 ασθενών από 10 μελέτες (πεπλεγμένες ενδοκοιλιακές και πνευμονικές λοιμώξεις N= 16, βακτηραιμία N= 8, πνευμονική λοίμωξη N= 6, λοιμώξεις του ουροποιητικού N= 3): Διαπιστώθηκε θεραπευτική επιτυχία σε 69.7% των ασθενών (23/33), ενώ για 3 περιστατικά θεωρήθηκε αβέβαιη η κλινική έκβαση. Σε 23 περιστατικά η τιγκεκυκλίνη είχε χορηγηθεί ως μονοθεραπεία, ενώ στα υπόλοιπα 7 σε συνδυασμό

με άλλα αντιμικροβιακά (κυρίως πολυμυξίνες). Είναι σημαντικό να αναφερθεί ότι σε έναν ασθενή υπήρξε επάνοδος του εμπυήματος σχετιζόμενη με αύξηση της MIC από 0.75 σε 2mg/l. Επιπλέον, παρατεταμένη θεραπεία με τιγκεκυκλίνη για περισσότερες από 21 ημέρες απαιτήθηκε σε 5 περιπτώσεις. Φαίνεται πως η τιγκεκυκλίνη αποτελεί μία καλή εναλλακτική επιλογή για την αντιμετώπιση τέτοιων λοιμώξεων, και ιδιαίτερα από στελέχη ευαίσθητα στις καρβαπενεμάσες, όπου άλλα Gram-αρνητικά δραστικά αντιβιοτικά δεν είναι διαθέσιμα.

A1.6.γ. Έναντι του *Clostridium difficile*

Οι μέχρι τώρα αναφερόμενες τιμές MIC₉₀ είναι χαμηλές και κυμαίνονται από 0.06 μέχρι 0.25 mg/l.^{35,36} Η μέση συγκέντρωσή της στα κόπρανα είναι 5.6 mg/l (εύρος τιμών: 3.0-14.1 mg/l) μετά από ενδοφλέβια χορήγηση μιας δόσης εφόδου των 100 mg ακολουθούμενης από 50 mg δύο φορές την ημέρα. Αυτή η συγκέντρωση τιγκεκυκλίνης στα κόπρανα είναι σημαντικά υψηλότερη από την αντίστοιχη της μετρονιδαζόλης ή των μεταβολιτών της (μέση τιμή 0 mg/l, εύρος τιμών 0-10.2 mg/l).^{37,38} Σε ένα μοντέλο ανθρώπινου εντέρου διαπιστώθηκε πως η τιγκεκυκλίνη δεν επάγει τον πολλαπλασιασμό του μικροοργανισμού ούτε ενισχύει την παραγωγή κυτταροτοξινών.³⁹ Η ενδοφλέβια χορήγηση του φαρμάκου φαίνεται να είναι πιο κατάλληλη σε σχέση με την από του στόματος χορήγηση βανκομυκίνης σε ασθενείς που βρίσκονται σε κρίσιμη κατάσταση και παρουσιάζουν λοίμωξη οφειλόμενη στο *C. Difficile* (CDI), καθώς η κινητικότητα του εντέρου σε αυτές τις καταστάσεις διαταράσσεται και επιπλέον είναι αμφίβολο αν το κλύσμα βανκομυκίνης δύναται να μεταφέρει επαρκείς συγκεντρώσεις του φαρμάκου στο παχύ έντερο, ιδιαιτέρως στο εγκάρσιο και ανιόν σκέλος αυτού. Σε σοβαρές αποφρακτικές λοιμώξεις από *C. difficile* έχει πρόσφατα περιγραφεί η επιτυχής θεραπευτική αντιμετώπιση αυτών των περιστατικών με τιγκεκυκλίνη μετά από αποτυχία της θεραπείας με μετρονιδαζόλη ή βανκομυκίνη και σκέψεις για ενδεχόμενη κολεκτομή. Όλοι οι ασθενείς βελτιώθηκαν εντός μιας εβδομάδας χωρίς την εμφάνιση υποτροπών.⁴⁰

A1.6.δ. Έναντι του *Stenotrophomonas maltophilia*

Η πλειοψηφία των κλινικών στελεχών *S.maltophilia* που έχουν απομονωθεί παρουσιάζουν αντοχή στους περισσότερους αντιμικροβιακούς παράγοντες. Σε μια πολυκεντρική, πολυεθνική έρευνα που πραγματοποιήθηκε σε ασθενείς νοσηλευόμενους σε μονάδες εντατικής θεραπείας αναφέρονται 131 απομονωθέντα στελέχη *S.maltophilia* και αντίστοιχα 108 τέτοια στελέχη που απομονώθηκαν από μονάδες του Καναδά.^{41,42} Και στις δύο αυτές μελέτες οι πιο δραστικοί αντιμικροβιακοί παράγοντες απέναντι στο συγκεκριμένο παθογόνο ήταν η τιγκεκυκλίνη και η τριμεθοπρίμη-σουλφομεθοξαζόλη με αναφερόμενες τιμές MIC₉₀ 2 έως 4 mg/l και εύρος τιμών MIC από 0.12 έως 8 mg/l για την τιγκεκυκλίνη και από 0.25 έως 16 mg/l για την τριμεθοπρίμη-σουλφομεθοξαζόλη. Με κριτήριο ευαισθησίας την τιμή MIC ≤ 2 mg/l, 90.1% των στελεχών που απομονώθηκαν ήταν ευαίσθητα.⁴¹ Σε αντίθεση με τις παραπάνω αναφορές, πιο πρόσφατα δημοσιεύτηκε η ευαισθησία στελεχών *S.maltophilia* (N= 142) που απομονώθηκαν από καλλιέργειες αίματος ασθενών από την περιοχή του Ηνωμένου Βασιλείου και την Ιρλανδία, από τα οποία 89% ήταν ευαίσθητα στην τιγκεκυκλίνη με όριο ευαισθησίας MIC ≤ 1 mg/l, MIC₉₀ ίσο με 1 mg/l και εύρος των τιμών MIC από 0.12 έως 4 mg/l.⁴³ Τα δεδομένα για την κλινική αποτελεσματικότητα της τιγκεκυκλίνης έναντι του παθογόνου αυτού δεν είναι αρκετά, ωστόσο υπάρχει μία αναφορά περιστατικού επιτυχημένης θεραπείας «όψιμης έναρξης» (late-onset) νοσοκομειακής πνευμονίας αποδιδόμενης σε στέλεχος *S.maltophilia*.⁴⁴ Η EUCAST στις ανανεωμένες οδηγίες της για τα όρια ευαισθησίας των αντιμικροβιακών παραγόντων συμπεριλαμβάνει σχετικά με το στέλεχος *Stenotrophomonas maltophilia* μόνο την τριμεθοπρίμη-σουλφομεθοξαζόλη με όριο ευαισθησίας MIC ≤ 4 mg/l.⁴⁵

A1.7.α. Φαρμακοκινητικά δεδομένα της τιγκεκυκλίνης

α) Απορρόφηση

Η βιοδιαθεσιμότητά της όταν χορηγηθεί *per os* είναι χαμηλή και για αυτό το λόγο η ενδοφλέβια οδός είναι η καταλληλότερη για τη χορήγησή της με έγχυση που διαρκεί 30 ή 60 λεπτά.

β) Κατανομή

Φαρμακοκινητικές μελέτες που έγιναν τόσο σε ζώα όσο και σε ανθρώπους έδειξαν ότι η τιγκεκυκλίνη κατανέμεται με ευκολία στους ιστούς. Ο όγκος κατανομής της σε σταθεροποιημένη κατάσταση στον ανθρώπινο οργανισμό υπολογίστηκε κατά μέσο όρο σε 7-9 L/kg (πίνακας A5), καταδεικνύοντας ότι η τιγκεκυκλίνη κατανέμεται εκτενέστερα πέρα από τον όγκο του πλάσματος και συγκεντρώνεται στους ιστούς. Σε μελέτες που είχαν προηγηθεί σε αρουραίους και οι οποίοι είχαν λάβει μία ή πολλαπλές δόσεις της ραδιοεπισημασμένης ¹⁴C-τιγκεκυκλίνης, διαπιστώθηκε εκτεταμένη κατανομή στους περισσότερους ιστούς με τη μεγαλύτερη συνολική έκθεση να παρατηρείται στο μυελό των οστών, τους σιελογόνους αδένες, το θυρεοειδή αδένα, το σπλήνα και τα νεφρά.^{3,4,46} Σε κάποιες μελέτες ωστόσο ο ποσοτικός προσδιορισμός της τιγκεκυκλίνης στα οστά κατέδειξε σημαντικά χαμηλότερες από τις αναμενόμενες συγκεντρώσεις γεγονός που αποδόθηκε όμως στη δυσκολία εκχύλισης του φαρμάκου από τη μήτρα του οστού.⁴⁶

Σε υγιείς (N= 10) στους οποίους χορηγήθηκε τιγκεκυκλίνη (αφού έλαβαν μέτριο γεύμα μισή ώρα πριν την έναρξη της χορήγησης) με ενδοφλέβια έγχυση διάρκειας 30 λεπτών, με δόση εφόδου 100mg ακολουθούμενη από δόση συντήρησης 50 mg κάθε 12-ωρο για συνολικά 7 δόσεις, διαπιστώθηκε 74% (mean percent penetration) διαπερατότητα του φαρμάκου στο υγρό περιεχόμενο επιδερμικής φυσαλίδας σε σχέση με τον ορό.⁴⁷ Σε μια άλλη μελέτη εξετάστηκε το προφίλ κατανομής της τιγκεκυκλίνης στο υπερκείμενο διάμεσο υγρό του πνεύμονα και στα κυψελιδικά κύτταρα μετά από ενδοφλέβια χορήγηση τιγκεκυκλίνης, αρχικής δόσης εφόδου 100 mg και δόσης συντήρησης 50 mg δύο φορές την

ημέρα. Παρατηρήθηκε ευρεία κατανομή και συγκεκριμένα συγκέντρωση σχεδόν 78 φορές μεγαλύτερη στα κυψελιδικά κύτταρα και 32% υψηλότερη στο διάμεσο υγρό συγκριτικά με τα επίπεδα που μετρήθηκαν στον ορό.^{1,48} Σε μία ακόμη μελέτη χορήγησης εφάπαξ δόσης τιγκεκυκλίνης 100 mg ενδοφλεβίως, σε ασθενείς που επρόκειτο να υποβληθούν σε χειρουργική επέμβαση βρέθηκαν αρκετά υψηλότερες συγκεντρώσεις του φαρμάκου σε ιστούς όπως η χοληδόχος κύστη, ο πνεύμονας και το έντερο.^{1,49} Τα αποτελέσματα των δύο προαναφερόμενων μελετών συνοψίζονται στον παρακάτω πίνακα (Πίνακας A4).

Πίνακας A4. Κατανομή τιγκεκυκλίνης στους ιστούς σε σύγκριση με τον ορό¹

Ιστός/Υγρό	Συγκέντρωση στον ιστό συγκριτικά με τον ορό	Αναλογία AUC ₂₄ site/ιστός	Αναλογία AUC ₀₋₁₂ ιστός/ορός
Χοληδόχος Κύστη ^α	38-φορές	23/14	-
Παχύ έντερο ^α	2.3-φορές	2.6/1.8	-
Υγρό επιδερμικής φυσαλίδας ^β	26% μικρότερη από τον ορό	-	1.6/2.18
Κυψελιδικά κύτταρα ^β	78-φορές	-	134/1.73
Διάμεσο υγρό πνεύμονα ^β	32% υψηλότερη από τον ορό	-	2.28/1.73
Πνεύμονας ^α	8.6-φορές	2.0/2.0	-
Αρθρικό υγρό ^β	0.58-φορές	0.3/0.3	-
Οστά ^α	0.35-φορές	0.4/0.3	-

^α Οι ασθενείς έλαβαν εφάπαξ δόση 100 mg τιγκεκυκλίνης, i.v., πριν το χειρουργείο. Δεν έχει γίνει εκτίμηση μετά από επαναλαμβανόμενη χορήγηση.

^β Υγιείς εθελοντές έλαβαν μία δόση 100 mg τιγκεκυκλίνης ακολουθούμενη από 50 mg κάθε 12 ώρες.

Όσον αφορά στη διαπέραση του αιματοεγκεφαλικού φραγμού έχει διαπιστωθεί πως ελάχιστες ποσότητες τιγκεκυκλίνης μπορούν να τον διαπεράσουν.⁴

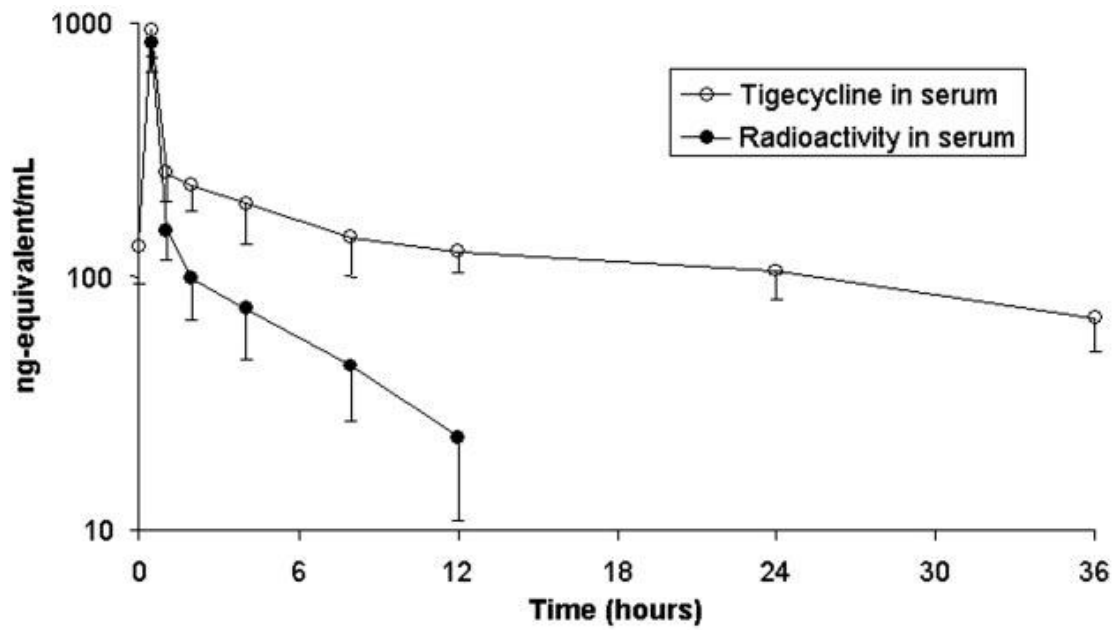
Η in vitro πρωτεϊνική σύνδεση της τιγκεκυκλίνης στο πλάσμα έχει εύρος μεταξύ 71 και 89% περίπου, σε συγκεντρώσεις (από 0,1 έως 1,0 µg/ml) που παρατηρήθηκαν σε κλινικές μελέτες (Πίνακας A5). Ο μέτριος βαθμός σύνδεσης με τις πρωτεΐνες του πλάσματος συνεισφέρει στην απουσία σημαντικών αλληλεπιδράσεων με άλλα φάρμακα που παρουσιάζουν υψηλό ποσοστό πρωτεϊνικής σύνδεσης. Ωστόσο πρέπει να σημειωθεί ότι ο βαθμός της

πρωτεϊνικής σύνδεσης του φαρμάκου αυξάνεται με την αύξηση της χορηγούμενης δόσης και είναι πιθανό αυτό να οφείλεται στο σχηματισμό συμπλόκων με μεταλλοϊόντα παρόμοιων αυτών που σχηματίζουν οι τετρακυκλίνες.⁵⁰

Η τιγεκυκλίνη ακολουθεί γραμμική φαρμακοκινητική.¹³ Μελέτες σε υγιείς εθελοντές σχετικά με το φαρμακοκινητικό της προφίλ έδειξαν ότι η σταθεροποιημένη κατάσταση στον αίμα επιτυγχάνεται για την τιγεκυκλίνη την έβδομη ημέρα της χορήγησης. Στο συμπέρασμα αυτό οδήγησαν οι μετρήσεις των συγκεντρώσεων τιγεκυκλίνης στον ορό (C_{trough}) μετά από δειγματοληψίες κατά τις ημέρες 7, 8, 9 και 10 που εφαρμόστηκαν για όλα τα δοσολογικά σχήματα που μελετήθηκαν (απλές δόσεις από 12.5 μέχρι 300mg, επαναλαμβανόμενες δόσεις από 25 έως 100 mg κάθε 12 ώρες).¹³ Μετά από 30-λεπτη έγχυση δόσης εφόδου 100mg τιγεκυκλίνης ακολουθούμενης από επαναλαμβανόμενες δόσεις 50 mg φαρμάκου κάθε 12 ώρες, ο χρόνος ημιζωής της τιγεκυκλίνης ανέρχεται σε 42 ώρες. Η μέγιστη συγκέντρωση στο πλάσμα ($C_{pss, max}$) είναι 0.63 $\mu\text{g/ml}$ και η ελάχιστη ($C_{pss, min}$) 0.13 $\mu\text{g/ml}$. Η AUC στη σταθεροποιημένη κατάσταση είναι 4.70 $\mu\text{g.h/ml}$. Επίσης, παρατηρήθηκε ότι η αύξηση της χορηγούμενης δόσης του φαρμάκου (25 mg, 50 mg, 100 mg) οδήγησε σε αντίστοιχη αύξηση των μέσων τιμών C_{max} , C_{min} και της AUC στη σταθεροποιημένη κατάσταση γεγονός που επιβεβαιώνει τη γραμμική κινητική της.^{1,13} . Μετά από τη χορήγηση μόνο εφάπαξ δόσης 100 mg φαρμάκου ο χρόνος ημιζωής απομάκρυνσης έχει υπολογιστεί σε 27 ώρες.^{1,5} Ωστόσο, διαπιστώθηκε ότι ο χρόνος ημιζωής απομάκρυνσης της τιγεκυκλίνης μπορεί να διαφοροποιείται δραστικά ανάλογα με τον ιστό.¹⁰ (πίνακας A5)

Η γραφική απεικόνιση των επιπέδων της συγκέντρωσης του φαρμάκου σε συνάρτηση με το χρόνο (σχήμα A4) είναι χαρακτηριστική όσων αναφέρθηκαν προηγουμένως. Μετά την ενδοφλέβια χορήγηση τιγεκυκλίνης παρατηρείται μια διφασική καμπύλη συγκέντρωσης η οποία χαρακτηρίζεται από το αρχικό τμήμα που εκφράζει τη γρήγορη κατανομή στους ιστούς και συνοδεύεται από μία παρατεταμένη φάση απομάκρυνσης που πιθανότατα εκφράζει την αργή απομάκρυνση του φαρμάκου από ιστούς, όπως π.χ. τα οστά, στους οποίους

καθυστερεί η εξισορρόπηση των συγκεντρώσεων στα δύο διαμερίσματα. (Σχήμα A4)⁶



Σχήμα A4. Μέσες (\pm SD) συγκεντρώσεις τιγκεκυκλίνης και ραδιενεργού ουσίας στον ορό μετά από την ενδοφλέβια χορήγηση μίας δόσης 50mg 14 C-τιγκεκυκλίνης.

Πίνακας Α5. Φαρμακοκινητικές παράμετροι της τιγκεκυκλίνης σε υγιείς ενήλικες εθελοντές⁴

Φαρμακοκινητική παράμετρος	Τιμή
Πρωτεϊνική σύνδεση στο πλάσμα	71%-89%
V_d	7-9 L/kg
C_{max}	0.63 $\mu\text{g/mL}$
C_{min}	0.13 $\mu\text{g/mL}$
AUC_{0-24}	4.70 $\mu\text{g} \cdot \text{h/mL}$
Χρόνος ημιζωής απομάκρυνσης $t_{1/2}$	42.4 h
Κύριες οδοί απομάκρυνσης	Χολική (59%), νεφρική (33%) σαν αμετάβλητο φάρμακο, γλυκουρονίδιο, επιμερές ή N-ακετυλ-μεταβολίτης
Κάθαρση	περίπου 0.2 L/h/kg

*Βασισμένες σε εθελοντές που έλαβαν δόση εφόδου 100 mg τιγκεκυκλίνης ενδοφλεβίως ακολουθούμενη από επαναλαμβανόμενη δόση συντήρησης 50 mg κάθε 12 ώρες (με εξαίρεση την πρωτεϊνική δέσμευση που βασίζεται σε in vitro data.

γ) Βιομετατροπή

Κατά μέσο όρο εκτιμάται ότι λιγότερο από το 20% της τιγκεκυκλίνης μεταβολίζεται πριν την απέκκριση. Σε υγιείς εθελοντές, μετά από χορήγηση ¹⁴C-τιγκεκυκλίνης, η αμετάβλητη τιγκεκυκλίνη ήταν το πρωταρχικό ¹⁴C-επισημασμένο υλικό που ανακτήθηκε στα ούρα και στα κόπρανα. Ανιχνεύθηκαν επίσης ένα γλυκουρονίδιο, ένας N-ακετυλ-μεταβολίτης (N-acetyl-9-aminocycline) και ένα επιμερές της τιγκεκυκλίνης, σε ποσοστό που δεν ξεπερνούσε όμως το 10%.^{6,24}

In vitro μελέτες σε μικροσωματικά συστήματα του ανθρώπινου ήπατος δείχνουν ότι η τιγκεκυκλίνη δεν αναστέλλει το μεταβολισμό μέσω κανενός εκ των ακόλουθων 6 ισομορφών του κυτοχρώματος P-450 (CYP-450): 1A2, 2C8, 2C9, 2C19, 2D6 και 3A4 μέσω ανταγωνιστικής αναστολής. Επιπροσθέτως, η τιγκεκυκλίνη δεν έδειξε αναστολή των CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6 και CYP3A

με μηχανισμό που εξαρτάται από το NADPH, υποδεικνύοντας την απουσία αντίστοιχου μηχανισμού αναστολής αυτών των CYP ενζύμων.²⁴ Το γεγονός αυτό έχει ιδιαίτερη σημασία για σοβαρά ασθενείς και ασθενείς που λαμβάνουν ποικίλους θεραπευτικούς παράγοντες.^{1,51}

δ) Απομάκρυνση

Η ανάκτηση της συνολικής ραδιενέργειας στα κόπρανα και στα ούρα μετά από τη χορήγηση της ¹⁴C-τιγκεκυκλίνης καταδεικνύει ότι 59% της χορηγούμενης δόσης απομακρύνεται μέσω της χολής στα κόπρανα και 33% απεκκρίνεται στα ούρα. Συνολικά, η κύρια οδός απομάκρυνσης της τιγκεκυκλίνης είναι η απέκκριση μέσω της χολής του αμετάβλητου φαρμάκου, ενώ η γλυκουρονιδίωση και η νεφρική απέκκριση της αμετάβλητης τιγκεκυκλίνης αποτελούν δευτερεύουσες οδούς.

Η συστηματική κάθαρση της τιγκεκυκλίνης είναι περίπου 0.2 L/h/kg μετά από ενδοφλέβια έγχυση.^{4,10} Η νεφρική κάθαρση αποτελεί περίπου το 13% της συνολικής κάθαρσης. Η τιγκεκυκλίνη εμφανίζει μια πολυεκθετική κινητική απομάκρυνσης από το αίμα με ένα μέσο τελικό χρόνο ημίσειας ζωής απομάκρυνσης ($t_{1/2}$) μετά από επαναλαμβανόμενη χορήγηση της τάξης των 42 ωρών, όπως αναφέρθηκε και παραπάνω, αν και υπάρχει υψηλή διατομική μεταβλητότητα ($t_{1/2}$ =40-60h).^{4,24} Επίσης, η σημαντική διαφοροποίηση του χρόνου ημιζωής ανάλογα με τον ιστό στον οποίο κατανέμεται το φάρμακο είναι γεγονός¹⁰, όπως για παράδειγμα συμβαίνει με την αργή απομάκρυνση από τα οστά.⁶ Από μελέτες σε αρουραίους έχει προκύψει ότι η τιγκεκυκλίνη μπορεί να ανιχνευτεί στα οστά, αλλά και στους υπόλοιπους ιστούς όπου παρουσιάζει υψηλή κατανομή (8 φορές ή και περισσότερο συγκριτικά με τη συγκέντρωσή της στο πλάσμα), έως και μία εβδομάδα μετά τη χορήγηση της τελευταίας δόσης και ο χρόνος ημιζωής απομάκρυνσης από τα οστά βρέθηκε περίπου 206 ώρες.⁵²

ε) Παράγοντες που επηρεάζουν τις φαρμακοκινητικές παραμέτρους της τιγκεκυκλίνης - Ειδικοί πληθυσμοί - Επίδραση της τιγκεκυκλίνης στη φαρμακοκινητική συγχορηγούμενων φαρμάκων

ε1. Κατανάλωση τροφής:

Η κατανάλωση τροφής φαίνεται πως δεν επηρεάζει τη φαρμακοκινητική της τιγκεκυκλίνης ούτε προηγηθείσα θεραπεία με ονδασετρόνη για την αποφυγή ενδεχόμενων γαστρεντερικών ενοχλήσεων.⁴

ε2. Ηλικία, φύλο και φυλή:

Συγκριτικές μελέτες πραγματοποιήθηκαν σε υγιείς εθελοντές τόσο μεταξύ ανδρών και γυναικών όσο και μεταξύ διάφορων ομάδων ηλικιών και διάφορων φυλών.^{4,53} Διαφαίνεται ότι τόσο το φύλο όσο και η ηλικία δεν επηρεάζουν τις μέγιστες και ελάχιστες συγκεντρώσεις του φαρμάκου στο αίμα (C_{max} , C_{min}), τη συνολική επιφάνεια κάτω από την καμπύλη συγκέντρωσης-χρόνου (AUC) ή άλλες φαρμακοκινητικές παραμέτρους.⁵¹ Η μόνη διαφορά που διαπιστώθηκε αφορούσε σε αριθμητικά υψηλότερη τιμή AUC στην ομάδα των νέων γυναικών συγκριτικά με την ομάδα των νέων ανδρών, χωρίς όμως να υπάρχει στατιστική σημαντικότητα. Στα πλαίσια αυτά οι διάφοροι ερευνητές κατέληξαν ότι δεν απαιτείται προσαρμογή της δόσης της τιγκεκυκλίνης με βάση την ηλικία ή το φύλο. Αντίστοιχα ήταν τα συμπεράσματα μελέτης σχετικά με τη επίδραση της φυλής στην φαρμακοκινητικές παραμέτρους του φαρμάκου. Διαπιστώθηκε πως η κάθαρση της τιγκεκυκλίνης είναι παρόμοια και τα δεδομένα προήλθαν από συγκεντρωτικά στοιχεία (pooled data) του δείγματος που μελετήθηκε και είχε την ακόλουθη σύσταση: 190 Λευκοί, 73 Ασιάτες, 53 Μαύροι, 15 Ισπανικής καταγωγής και 3 κατηγοριοποιημένοι ως «άλλοι».⁴

Στον παιδιατρικό πληθυσμό ηλικίας 8 έως 18 ετών η ασφάλεια και η αποτελεσματικότητα της τιγκεκυκλίνης δεν έχουν τεκμηριωθεί, γι' αυτό και η χρήση της σε παιδιά ηλικίας μικρότερης των 18 ετών δεν αποτελεί αντικείμενο της καθημερινής κλινικής πρακτικής. Η φαρμακοκινητική της εξετάσθηκε σε δύο μελέτες: Στην πρώτη συμμετείχαν παιδιά ηλικίας από 8 έως 16 ετών (n=24) που

έλαβαν εφάπαξ δόση τιγκεκυκλίνης (0.5, 1 ή 2 mg/kg, χωρίς περιορισμό της δόσης) με ενδοφλέβια έγχυση 30 λεπτών. Η δεύτερη μελέτη διεξήχθη σε παιδιά ηλικίας από 8 έως 11 ετών (n=47) τα οποία έλαβαν επαναλαμβανόμενες δόσεις του φαρμάκου (0.75, 1 ή 1.25 mg/kg έως μέγιστη δόση 50 mg), χορηγούμενου κάθε 12 ώρες με ενδοφλέβια έγχυση μέσα σε 30 λεπτά. Σε καμία από αυτές τις μελέτες δεν χορηγήθηκε δόση εφόδου.^{24,54} Οι φαρμακοκινητικές παράμετροι φαίνονται στον πίνακα Α6:

Πίνακας Α6. Αποτελέσματα δύο παιδιατρικών κλινικών μελετών σχετικά με τις φαρμακοκινητικές παραμέτρους της τιγκεκυκλίνης στον παιδιατρικό πληθυσμό.²⁴

Ομαλοποιημένη δόση σε 1 mg/kg, Μέση±SD των C _{max} και AUC της τιγκεκυκλίνης σε παιδιά			
Ηλικία (ετών)	N	C _{max} (ng/mL)	AUC (ng•h/mL)*
Εφάπαξ δόση			
8 – 11	8	3881 ± 6637	4034 ± 2874
12 – 16	16	8508 ± 11433	7026 ± 4088
Επαναλαμβανόμενη Χορήγηση			
8 – 11	47	1899 ± 2954	2833 ± 1557
* Εφάπαξ δόση AUC _{0-∞} , σε πολλαπλές δόσεις AUC _{0-12h}			

Ο στόχος AUC_{0-12h} σε ενήλικες μετά από τη συνιστώμενη δόση εφόδου των 100 mg και 50 mg κάθε 12 ώρες, ήταν περίπου 2500 ng • h / mL.

ε3. Νεφρική ανεπάρκεια:

Σε μια μικρή, ανοικτού τύπου μελέτη εξετάσθηκε η επίδραση της νεφρικής λειτουργίας στη φαρμακοκινητική της τιγκεκυκλίνης. Διαπιστώθηκε πως μετά από τη ενδοφλέβια χορήγηση μίας εφάπαξ δόσης 100 mg φαρμάκου ακολουθούμενης από δόση 50 mg κάθε 12 ώρες, δεν μεταβλήθηκε η φαρμακοκινητική της τιγκεκυκλίνης στους ασθενείς με σοβαρή νεφρική ανεπάρκεια (Κάθαρση κρεατινίνης < 30 ml/min) σε σχέση με τους υγιείς εθελοντές. Η μέση τιμή της C_{max} βρέθηκε 0.6 μg/ml στο τέλος της έγχυσης διάρκειας μίας ώρας και

στις δύο αυτές ομάδες μελέτης, ενώ ελαφρώς αυξημένη μετρήθηκε η C_{max} (0.96 $\mu\text{g/ml}$) στους ασθενείς με τελικού σταδίου νεφρική ανεπάρκεια (ESRD) που βρίσκονταν σε αιμοκάθαρση. Επιπλέον, η τιγκεκυκλίνη ανιχνεύτηκε σε ελάχιστες ποσότητες όταν χορηγήθηκε πριν την αιμοκάθαρση και διαφαίνεται πως το μόριο δεν απομακρύνεται σημαντικά διαμέσου των φίλτρων κατά τη διαδικασία αυτή. Συνολικά, οι συγγραφείς κατέληξαν βασιζόμενοι στις τιμές των AUCs, και παρά τη μικρή αύξηση των συγκεντρώσεων της τιγκεκυκλίνης στους ασθενείς με τελικού σταδίου νεφρική νόσο, ότι δεν είναι αναγκαία η προσαρμογή της δοσολογίας σύμφωνα με τη νεφρική λειτουργία και η χορήγησή της δεν επηρεάζεται από το πρόγραμμα αιμοκάθαρσης που μπορεί να εφαρμόζεται σε έναν ασθενή.^{4,55}

ε4. Ηπατική ανεπάρκεια:

Η φαρμακοκινητική της τιγκεκυκλίνης μελετήθηκε σε ασθενείς με ηπατική δυσλειτουργία, ήπια, μέτρια και σοβαρή, σε σύγκριση με υγιείς εθελοντές μετά από τη χορήγηση εφάπαξ δόσης. Σε σχέση με τους υγιείς εθελοντές διαπιστώθηκε μείωση της συστηματικής κάθαρσης του φαρμάκου σε ποσοστό 25% στους ασθενείς με μέτρια ηπατική ανεπάρκεια (Child-Pugh class B) και κατά 55% σε αυτούς που έπασχαν από σοβαρή ηπατική ανεπάρκεια (Child-Pugh class C), ενώ και ο χρόνος ημιζωής ήταν παρατεταμένος κατά 23% και 43% αντίστοιχα στις δύο ομάδες ασθενών. Προσαρμογή της δοσολογίας είναι αναγκαία και προτείνεται στους ασθενείς με σοβαρή ηπατική δυσλειτουργία (Child-Pugh class C) διατήρηση της δόσης εφόδου στα 100 mg και μείωση σε 25 mg (αντί 50 mg) των δόσεων που χορηγούνται ανά δωδεκάωρο με τον ασθενή να παρακολουθείται στενά για την ανταπόκριση στην θεραπευτική αυτή αγωγή.^{4,24}

ε5. Χολική απέκκριση – Χολόσταση:

Η επίδραση της χολόστασης στη φαρμακοκινητική της τιγκεκυκλίνης δεν έχει πλήρως εξακριβωθεί. Με δεδομένο ότι η απέκκριση της τιγκεκυκλίνης αντιπροσωπεύει το 50% της συνολικής απέκκρισής της, οι ασθενείς που παρουσιάζουν χολόσταση θα πρέπει να παρακολουθούνται στενά.²⁴

ε6. Φαρμακοκινητικές αλληλεπιδράσεις κατά τη συγχορήγηση τιγκεκυκλίνης με άλλα φάρμακα:

Όπως αναφέρθηκε παραπάνω στην παράγραφο A1.7.α.β, ο μέτριος βαθμός σύνδεσης της τιγκεκυκλίνης με τις πρωτεΐνες του πλάσματος καθιστά μικρή την πιθανότητα επίδρασης της στο φαρμακοκινητικό προφίλ άλλων ουσιών. Επίσης, η τιγκεκυκλίνη δεν μεταβολίζεται εκτενώς στο ήπαρ και ως εκ τούτου δεν αναμένεται η κάθαρσή της να επηρεάζεται από δραστικές ουσίες που αναστέλλουν ή επάγουν τη δραστικότητα των ισομορφών του CYP-450. Όπως επίσης αναφέρθηκε στην παράγραφο 1.7.α.γ), *in vitro* η τιγκεκυκλίνη δεν παρουσιάζει δράση ούτε ανταγωνιστικού αναστολέα ούτε μη αναστρέψιμου αναστολέα των ενζύμων του CYP-450. Ωστόσο, μελέτες αλληλεπίδρασης έχουν πραγματοποιηθεί αλλά αποκλειστικά σε ενήλικους εθελοντές. Σε δύο μελέτες εκτιμήθηκε η πιθανή επίδραση της τιγκεκυκλίνης στο στενό θεραπευτικό εύρος της βαρφαρίνης και της διγοξίνης. Στη μία μελέτη όπου συγχορηγήθηκαν 25 mg βαρφαρίνης με τιγκεκυκλίνη σε υγιή άτομα, αποκαλύφθηκε ότι η πρώτη δεν επηρεάζει τη φαρμακοκινητική της δεύτερης. Από την άλλη πλευρά παρατηρήθηκε μείωση της κάθαρσης της R- και S- βαρφαρίνης κατά 40% και 23% αντιστοίχως και μια αύξηση της AUC κατά 68% και 29% αντίστοιχα. Ο μηχανισμός αυτής της αλληλεπίδρασης δεν έχει διευκρινισθεί. Τα διαθέσιμα δεδομένα δεν καταδεικνύουν ότι η αλληλεπίδραση αυτή μπορεί να προκαλέσει σημαντικές αλλαγές στον δείκτη INR. Με δεδομένο όμως ότι η τιγκεκυκλίνη μπορεί να παρατείνει τόσο το χρόνο προθρομβίνης (PT) όσο και το χρόνο μερικής θρομβοπλαστίνης (aPTT), καθίσταται αναγκαία η στενή παρακολούθηση του χρόνου πήξης του αίματος (π.χ. δύο φορές την εβδομάδα) και η προσεκτική εξέταση του ασθενή για πιθανά κλινικά σημεία αιμορραγίας, όταν συγχορηγείται με αντιπηκτικά.⁵⁶ Στη δεύτερη μελέτη συγχορηγήθηκε διγοξίνη, αρχικά 0.5 mg και στη συνέχεια 0.25 mg ημερησίως, μαζί με τιγκεκυκλίνη στη συνιστώμενη δοσολογία σε υγιείς εθελοντές. Η διγοξίνη δεν επηρέασε τις φαρμακοκινητικές παραμέτρους της τιγκεκυκλίνης και αντίστοιχα δεν επηρεάστηκαν ούτε ο ρυθμός ούτε η έκταση της απορρόφησης ούτε η κάθαρση της διγοξίνης.⁵⁷ Στη βιβλιογραφία αναφέρεται επίσης ένα περιστατικό πιθανής αλληλεπίδρασης της

τιγκεκυκλίνης με την κυκλοσπορίνη. Συγκεκριμένα παρατηρήθηκε αύξηση των συγκεντρώσεων της κυκλοσπορίνης σε νεφροτοξικά επίπεδα (διαπιστώθηκε κλινικά σημαντική αύξηση των επιπέδων κρεατινίνης) στο αίμα μετά την έναρξη της αντιβιοτικής αγωγής με τιγκεκυκλίνη. Κρίθηκε αναγκαία η μείωση της ημερήσιας χορηγούμενης δόσης κυκλοσπορίνης κατά 50% και επιπλέον η παράλειψη της χορήγησης για μία ημέρα. Στη συγκεκριμένη περίπτωση, τρεις ημέρες μετά τη ολοκλήρωση της θεραπείας με τιγκεκυκλίνη ήταν δυνατή η χορήγηση της κυκλοσπορίνης στην αρχική ημερήσια δοσολογία των 120mg (προ έναρξης της τιγκεκυκλίνης). Φαίνεται πως σε αυτή την περίπτωση η στενή παρακολούθηση των θεραπευτικών επιπέδων της κυκλοσπορίνης σε συνδυασμό με τις εργαστηριακές παραμέτρους της κλινικής εικόνας του ασθενούς είναι επιτακτική ανάγκη.⁵⁸

A1.7.β. Φαρμακοδυναμικά δεδομένα της τιγκεκυκλίνης

Η τιγκεκυκλίνη εμφανίζει χρονοεξαρτώμενη βακτηριοστατική δράση σε σημαντικό αριθμό παθογόνων, αλλά και περιορισμένη βακτηριοκτόνο δράση απέναντι σε συγκεκριμένα στελέχη, όπως αναφέρθηκε παραπάνω στην παράγραφο 1.3- αντιβακτηριακό φάσμα δράσης. Επιπλέον, εμφανίζει εξαρτώμενη από τη συγκέντρωσή και παρατεταμένο «post antibiotic effect» (PAE-χρονική διάρκεια αναστολής του πολλαπλασιασμού των μικροβίων μετά την απομάκρυνση του αντιβιοτικού) έναντι κοινών Gram- θετικών και Gram –αρνητικών βακτηρίων με μέγιστη δράση σε συγκέντρωση 1 φορά πάνω από την ελάχιστη ανασταλτική συγκέντρωση (MIC).^{4,51} Σε μελέτες που χρησιμοποίησαν τα στελέχη *E.coli*, *K.pneumonia* και *Enterobacter cloacae*, το μέσο (\pm SD) PAE ήταν 1.5 (0.4), 2.3 (1.0) και 4.3 (2.1) ώρες για συγκεντρώσεις 1 φορά, 4 φορές και 10 φορές πάνω από την MIC, αντίστοιχα, χωρίς καμία διαφορά ανάμεσα στα διαφορετικά είδη βακτηρίων.⁴ Σε επίπεδα *in vitro* 8 φορές πάνω από την MIC η επίδραση του «post antibiotic effect» είχε διάρκεια 3 έως 4 ώρες για το στέλεχος *Staphylococcus aureus* και περίπου 2 με 3 ώρες για το βακτήριο *Escherichia coli*, ανεξάρτητα από την αντοχή αυτών στις τετρακυκλίνες.¹⁹ Για συγκεντρώσεις >8 ×MIC το «PAE» κυμαινόταν από 1 έως 4 ώρες για το στέλεχος *E.faecalis*.⁵⁷

Διαπιστώθηκε ακόμη ότι οι αναφερόμενες αυτές τιμές (σε ώρες) για το «ΡΑΕ» ήταν μεγαλύτερες *in vivo* για τους ίδιους μικροοργανισμούς συγκριτικά με τα *in vitro* αποτελέσματα. Σε ουδετεροπενικά ποντίκια το φαινόμενο αυτό ήταν 8.9 ώρες για το βακτήριο *Streptococcus pneumonia* και 4.9 ώρες για το *E. coli* σε δόση 3mg/kg.⁶⁰ Προτείνεται ακόμη ότι η δράση αυτή της τιγκεκυκλίνης εξαρτάται σημαντικά από το χρόνο παραμονής της συγκέντρωσής της στο αίμα πάνω από την MIC. Φαίνεται μάλιστα πως η συγκέντρωση του φαρμάκου στη θέση της λοίμωξης πρέπει να παραμένει πάνω από την MIC για το 50% του μεσοδιαστήματος των χορηγούμενων δόσεων, ώστε να επιτευχθεί 80% επιτυχία του θεραπευτικού αποτελέσματος.¹⁰ Σε ένα πειραματικό μοντέλο όπου ουδετεροπενικά ποντίκια μολύνθηκαν στο μηρό με στελέχη συνηθισμένων παθογόνων, όπως *S.pneumoniae*, *S.aureus*, *E.coli* και *K.pneumoniae*, και στη συνέχεια αντιμετωπίστηκαν θεραπευτικά με τιγκεκυκλίνη σε δόσεις από 0.75 έως 192 mg/ημέρα προσδιορίστηκε η φαρμακοδυναμική παράμετρος που είχε την καλύτερη συσχέτιση με το κλινικό αποτέλεσμα. Η παράμετρος αυτή που προέβλεπε καλύτερα την αποτελεσματικότητα του φαρμάκου ήταν το ποσοστό του χρόνου που η συγκέντρωση της τιγκεκυκλίνης παρέμεινε πάνω από την MIC, για 5 από τους 6 μελετηθέντες συνδυασμούς μικροοργανισμού-δόσης φαρμάκου. Το παραπάνω σε συνδυασμό με την παρατεταμένη επίδραση του «post antibiotic effect» *in vivo* (>4 ώρες)⁶⁰, ο μεγάλος όγκος κατανομής ($V_{dss}=7-9$ L/kg) της τιγκεκυκλίνης και ο σχετικά μεγάλος χρόνος ημίσειας ζωής απομάκρυνσης του φαρμάκου ($t_{1/2}=42.4$ hrs) όπως προσδιορίστηκαν σε υγιείς ενήλικες εθελοντές⁴, οδήγησαν στην άποψη ότι ο λόγος AUC_{24}/MIC (σε ώρες) είναι η φαρμακοδυναμική παράμετρος που καλύτερα συσχετίζεται με την *in vivo* δράση του φαρμάκου κατάλληλη για την εκτίμηση του θεραπευτικού αποτελέσματος.^{61,62} Από το πειραματικό αυτό μοντέλο προέκυψε ότι για να υπάρξει βακτηριοστατική επίδραση σε διάφορα στελέχη *S.pneumoniae*, *S.aureus* και *E.coli*, ο μέσος λόγος AUC_{24}/MIC (σε ώρες) έπρεπε να έχει μια τιμή περίπου 20. Μάλιστα η παρουσία ουδετεροφίλων θα έπρεπε να μειώνει την τιμή αυτή κατά 4-5 φορές σε μια μέση τιμή AUC_{24}/MIC (σε ώρες) περίπου 5 με 10, όπως διαπιστώθηκε κατά τη διάρκεια των πειραμάτων αυτών σε άλλες τετρακυκλίνες.⁵¹ Συγκεντρωτικά

δεδομένα αναλύθηκαν από μία μελέτη φάσης II και δύο μελέτες φάσης III, που προήλθαν από 71 ασθενείς με ενδοκοιλιακές λοιμώξεις (cIAIs) από τους οποίους απομονώθηκαν 106 παθογόνα με κυρίαρχα τα *Escherichia coli* και *Bacteroides fragilis*. Σκοπός της ανάλυσης αυτής (exposure-response analysis) ήταν να εκτιμηθεί ο λόγος $AUC_{ss,0-24}/MIC$ σαν ένας προγνωστικός δείκτης της ανταπόκρισης των ασθενών στη θεραπεία με τιγκεκυκλίνη και να προσδιοριστεί ένα τελικό σημείο τόσο της μικροβιολογικής όσο και την κλινικής ανταπόκρισης των ασθενών. Τα αποτελέσματα έδειξαν πιθανότητα 94% επιτυχημένης θεραπείας των ασθενών με αναλογία $AUC/MIC > 6.96$ (P values= 0.0004 για την μικροβιολογική ανταπόκριση και 0.399 για την κλινική ανταπόκριση). Οι ασθενείς παρουσίασαν απαλλαγή από τα σημεία και τα συμπτώματα της εν λόγω λοίμωξης χωρίς να απαιτείται περαιτέρω αντιμικροβιακή αγωγή. Σε σύγκριση με τους ασθενείς που είχαν αναλογία $AUC/MIC \leq 6.96$, οι παραπάνω ασθενείς είχαν 5.7 φορές μεγαλύτερη πιθανότητα να εμφανίσουν μικροβιολογική ανταπόκριση στη θεραπεία με τιγκεκυκλίνη και 10 φορές μεγαλύτερη πιθανότητα να παρουσιάσουν κλινική ανταπόκριση.⁶³ Αντίστοιχη ανάλυση (exposure-response analysis) είχε προηγηθεί με αντικείμενο δεδομένα τριών κλινικών μελετών, μία φάσης I και δύο φάσης III, που αφορούσαν σε 49 ασθενείς με επιπλεγμένες λοιμώξεις δέρματος και μαλακών μορίων (cSSIs) και 79 παθογόνα με κύρια τα στελέχη *Staphylococcus aureus* και *Streptococci*. Τα αποτελέσματα αυτής της ανάλυσης ανέδειξαν ως τελικό σημείο της μικροβιολογικής και κλινικής ανταπόκρισης των ασθενών στη αγωγή με τιγκεκυκλίνη την τιμή 17.9 για το λόγο AUC/MIC (σε ώρες) (P values =0.0001 για τη μικροβιολογική ανταπόκριση και 0.376 για την κλινική ανταπόκριση). Οι ασθενείς με $AUC/MIC > 17.9$ είχαν πιθανότητα 17 φορές μεγαλύτερη για μικροβιολογική ανταπόκριση και 3.7 φορές μεγαλύτερη για κλινική ανταπόκριση συγκριτικά με εκείνους που βρέθηκαν με $AUC/MIC \leq 17.9$.⁶⁴

A1.7.γ. Φαρμακοδυναμικές αλληλεπιδράσεις κατά τη συγχορήγηση της τιγκεκυκλίνης με άλλα φάρμακα:

Σύμφωνα με in vitro αναλύσεις των MICs και «time-kill» δοκιμές για διάφορους μικροοργανισμούς διαπιστώθηκε μικρή ή καθόλου συνέργεια ή ανταγωνισμός όταν η τιγκεκυκλίνη συγχορηγήθηκε με αμικασίνη, γενταμυκίνη, αμπικιλλίνη/σουλμπακτάμη, πιπερακιλλίνη/ταζομπακτάμη, αζιθρομυκίνη, σιπροφλοξασίνη, κολιστίνη, λεβοφλοξασίνη, μινοκυκλίνη, ιμιπενέμη, πολυμυξίνη Β, ριφαμπικίνη ή βανκομυκίνη.⁶⁶⁻⁶⁸ Λόγω της δομικής και λειτουργικής ομοιότητας της τιγκεκυκλίνης με τη μινοκυκλίνη είναι πιθανό να παρατηρηθούν όμοιες με αυτήν αλληλεπιδράσεις με άλλες κατηγορίες φαρμάκων όπως ο αυξημένος κίνδυνος εμφάνισης ψευδοόγκου του εγκεφάλου σε συγχορήγηση με παράγωγα του ρετινοϊκού οξέος²⁴, πιθανή μείωση της αποτελεσματικότητας των αντισυλληπτικών δισκίων, μείωση της ινσουλινοθεραπείας σε ασθενείς με σακχαρώδη διαβήτη και αύξηση των επιπέδων αζώτου ουρίας (BUN) στο αίμα ασθενών με προϋπάρχουσα νεφρική ανεπάρκεια που λαμβάνουν διουρητικά.⁶⁸ Σε ασθενείς που λαμβάνουν αντιπηκτικά είναι δυνατό να επιταθεί η δράση τους κατά τη συγχορήγηση με τιγκεκυκλίνη λόγω αθροιστικής επίδρασης στην παράταση του χρόνου προθρομβίνης (PT) και στο χρόνο ενεργοποιημένης μερικής θρομβοπλαστίνης (aPTT).^{4,24} Αλληλεπίδραση με φάρμακα, όπως τα αντιόξινα, τα συμπληρώματα ασβεστίου και σιδήρου, καθαρτικά που περιέχουν μαγνήσιο ή η χολεστυραμίνη, λόγω σύνδεσης ή σχηματισμού σύμπλοκων ενώσεων με την τιγκεκυκλίνη δεν αναμένεται καθώς χορηγείται ενδοφλεβίως.⁴

A1.7.δ. Άλλα φαρμακοκινητικά/φαρμακοδυναμικά δεδομένα

Σύμφωνα με δεδομένα που προέκυψαν μετά από προσομοίωση με τη μέθοδο Monte Carlo για 5.000 άτομα προκειμένου να εκτιμηθούν οι φαρμακοκινητικές παράμετροι καθενός και στη συνέχεια να υπολογιστεί το προφίλ της συγκέντρωσης συναρτήσει του χρόνου, φαίνεται πως η μονοθεραπεία με τιγκεκυκλίνη έχει παρόμοια πιθανότητα με τη θεραπεία συνδυασμού βανκομυκίνης με ιμιπενέμη/σιλαστατίνη ή πιπερακιλλίνη/ταζομπακτάμη να επιτύχει την

απαιτούμενη φαρμακοδυναμική έκθεση για την εμπειρική θεραπεία των πεπλεγμένων λοιμώξεων του δέρματος και των μαλακών μορίων (cSSIs). Στόχος της ανάλυσης ήταν να γίνει μια συγκριτική εκτίμηση της φαρμακοδυναμικής αποτελεσματικότητας της τιγκεκυκλίνης με αντιβιοτικά που χρησιμοποιούνται στην εμπειρική θεραπεία των CSSIs (β-λακταμικά αντιβιοτικά και φθοριοκινολόνες). Για κάθε ένα από τα αντιβιοτικά που αποτέλεσαν αντικείμενο της μελέτης ακολούθησε η γραφική απεικόνιση της πιθανότητας επίτευξης του θεραπευτικού στόχου (Probability of Target Attainment) και ο υπολογισμός των Cumulative Fraction of Response (CFR) και weighted CFR (WCFR) κάθε αντιβιοτικού προς τα υπεύθυνα πιθανά παθογόνα (εξετάστηκαν τα ακόλουθα: MSSA, MRSA, E.coli, Enterobacter spp., Klebsiella spp., Pseudomonas aureginosa). Τα αποτελέσματα έδειξαν πως η τιγκεκυκλίνη ήταν το μόνο αντιβιοτικό που ως μονοθεραπεία είχε τη μεγαλύτερη πιθανότητα να επιτύχει το θεραπευτικό στόχο σε ασθενείς με CSSIs που έφεραν ως παθογόνο τον MRSA, ενώ τα υπόλοιπα αντιβιοτικά της κατηγορίας των β-λακταμικών και των φθοριοκινολονών παρουσίασαν σαφή βελτίωση της αποτελεσματικότητάς τους έναντι του MRSA με την προσθήκη της βανκομυκίνης στο θεραπευτικό σχήμα.⁶⁹

Σε μια άλλη πρόσφατη μελέτη⁷⁰ που πραγματοποιήθηκε σε ένα πειραματικό μοντέλο αρουραίων έγινε προσπάθεια να προσομοιάζουν οι πειραματικές συνθήκες με την πραγματική κλινική κατάσταση ασθενών που φέρουν εγκαύματα προκειμένου να συγκριθεί η in vivo αποτελεσματικότητα της τείκοπλανίνης και της τιγκεκυκλίνης στη θεραπεία δερματικών λοιμώξεων από Staphylococcus aureus επί των εγκαυμάτων. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι και οι δύο αντιμικροβιακοί παράγοντες είχαν σημαντικά αποτελεσματική επίδραση στην επούλωση των εγκαυμάτων με την τιγκεκυκλίνη να επιδεικνύει την υψηλότερη αντιμικροβιακή δράση με σημαντική βελτίωση και της ιστολογικής εικόνας του τραύματος. Σε σύγκριση με τα υπόλοιπα αντιβιοτικά που παρουσίασαν in vivo εξίσου καλή δράση έναντι των οφειλόμενων σε MRSA λοιμώξεων, το πλεονέκτημα της τιγκεκυκλίνης βρίσκεται στην ιδιότητά της να διατηρεί τη δράση της ακόμη και παρουσία των σχηματιζόμενων από τα βακτήρια “biofilms”.

Πρόκειται για αποικίες βακτηριακών κυττάρων, καλά δομημένες (structured communities of bacterial cells) που τους επιτρέπουν να επιβιώνουν στην επιφάνεια των εγκαυμάτων ακόμη και σε συγκεντρώσεις 1000 φορές υψηλότερες από τις συνήθεις για τα διάφορα χρησιμοποιούμενα αντιβιοτικά καθώς διατηρούν έναν πιο αργό ή καθόλου ρυθμό ανάπτυξης. Επίσης δεν αποκλείεται να εκφράζονται και συγκεκριμένα γονίδια σε αυτούς τους βακτηριακούς σχηματισμούς επιτείνοντας την αντοχή στη θεραπεία. Σε προηγούμενες μελέτες είχε μάλιστα διαπιστωθεί ότι η τιγκεκυκλίνη ήταν σημαντικά δραστικότερη έναντι MRSA ενσωματωμένων σε “biofilms” σε σύγκριση με τη βανκομυκίνη και τη λινεζολίδη. Ακόμη παρατηρήθηκε ότι η ομάδα των αρουραίων στους οποίους χορηγήθηκε θεραπεία με τιγκεκυκλίνη παρουσίασε σημαντική μείωση στην έκφραση της μεταλλοπρωτεϊνάσης MMP-9 (Matrix Metalloproteinase 9) τόσο στο επιθήλιο όσο και στην επιδερμίδα συγκριτικά με την ομάδα στην οποία χορηγήθηκε τεϊκοπλανίνη. Η ισορροπημένη έκφραση της MMP-9 στην εστία του τραύματος είναι εξαιρετικά σημαντική για τη διαδικασία της επούλωσης, καθώς η υπερέκφρασή της όπως συνηθίζεται σε καταστάσεις χρόνιων τραυμάτων ευθύνεται σε μεγάλο βαθμό για τη λύση του παθολογικού ιστού. Επίσης, πρόσφατα διαφάνηκε ότι η παρατεταμένη και μαζική έκφραση της MMP-9 οδηγεί σε αποδιοργάνωση της διαδικασίας επούλωσης των τραυμάτων, ενώ και η καταστολή των κανονικών επιπέδων της καθυστερεί την επιθηλιοποίηση στην τραυματισμένη επιφάνεια. Πιθανώς, η καλύτερη επίδραση της τιγκεκυκλίνης στην ιστολογική εικόνα του παθολογικού ιστού να οφείλεται και στην ικανότητά της να διαφοροποιεί την MMP-9 και να προάγει την ενεργοποίηση και τη σύνθεση του παράγοντα νέκρωσης TNF- α . Δεδομένα για την άμεση αναστολή της MMP-9 από την τιγκεκυκλίνη δεν υπάρχουν, όμως για μία τετρακυκλίνη, τη δοξυκυκλίνη, έχει διαπιστωθεί ότι δρα σαν αναστολέας της MMP-9 προκαλώντας τόσο την αναστολή της δράσης αυτής της μεταλλοπρωτεϊνάσης όσο και της σύνθεσης των προ-ενζύμων της.

A1.8. Προκλινικά δεδομένα για την ασφάλεια της τιγκεκυκλίνης και ανεπιθύμητες ενέργειες - Ειδικές προειδοποιήσεις και προφυλάξεις

Σε μελέτες τοξικότητας επαναλαμβανόμενων δόσεων που πραγματοποιήθηκαν σε αρουραίους και σκύλους παρουσιάστηκαν ανεπάρκεια λεμφικού ιστού/ατροφία των λεμφαδένων, σπλήνα και θύμου αδένα, μειωμένα ερυθροκύτταρα, δικτυοερυθροκύτταρα, λευκοκύτταρα και αιμοπετάλια σε συνδυασμό με μειωμένη κυτταροβριθεία του μυελού των οστών, καθώς και ανεπιθύμητες ενέργειες από το νεφρικό και το γαστρεντερικό σύστημα σε εκθέσεις τιγκεκυκλίνης 8 και 10 φορές της ανθρώπινης ημερήσιας δόσης με βάση την AUC σε αρουραίους και σκύλους, αντίστοιχα. Οι μεταβολές αυτές έδειξαν να είναι αντιστρεπτές μετά από χορήγηση δύο εβδομάδων. Δυσχρωματισμός των οστών παρατηρήθηκε σε αρουραίους, ο οποίος όμως δεν ήταν αναστρέψιμος μετά από χορήγηση δύο εβδομάδων. Αποτελέσματα μελετών σε ζώα δείχνουν ότι η τιγκεκυκλίνη διαπερνά τον πλακούντα και ανευρίσκεται στους εμβρυϊκούς ιστούς. Σε μελέτες τοξικότητας της τιγκεκυκλίνης για την αναπαραγωγή έχουν παρατηρηθεί μειωμένα εμβρυϊκά βάρη σε αρουραίους, με σχετιζόμενες καθυστερήσεις στην οστεοποίηση, και απώλεια του εμβρύου σε κουνέλια. Η τιγκεκυκλίνη δεν ήταν τερατογόνος ούτε σε αρουραίους ούτε σε κουνέλια. Δεν επηρέασε το ζευγάρωμα ή τη γονιμότητα αρουραίων σε εκθέσεις έως και 4,7 φορές της ανθρώπινης ημερήσιας δόσης με βάση την AUC. Σε θηλυκούς αρουραίους δεν υπήρξαν επιδράσεις σχετιζόμενες με την ουσία στις ωοθήκες ή στους κύκλους οίστρου σε εκθέσεις έως και 4,7 φορές της ανθρώπινης δόσης με βάση την AUC. Με τη χρήση της ¹⁴C-επισημασμένης τιγκεκυκλίνης μελέτες σε ζώα δείχνουν ότι η τιγκεκυκλίνη απεκκρίνεται εύκολα μέσω του γάλακτος αρουραίων που θηλάζουν. Σε συμφωνία με την περιορισμένη από του στόματος βιοδιαθεσιμότητα της τιγκεκυκλίνης υπάρχει μικρή ή καθόλου συστηματική έκθεση στο φάρμακο σε θηλάζοντα κουτάβια ως αποτέλεσμα έκθεσης μέσω του μητρικού γάλακτος. Μελέτες καθόλη τη διάρκεια ζωής των ζώων δεν έχουν πραγματοποιηθεί προκειμένου να αξιολογηθεί το καρκινογόνο δυναμικό της τιγκεκυκλίνης, αν και βραχυχρόνιες μελέτες γονοτοξικότητας ήταν αρνητικές. Η άμεση ενδοφλέβια χορήγηση (i.v. bolus) της τιγκεκυκλίνης έχει συσχετισθεί με

αντίδραση ισταμίνης σε μελέτες σε ζώα. Τα αποτελέσματα αυτά παρατηρήθηκαν σε εκθέσεις 3 και 14 φορές την ανθρώπινη ημερήσια δόση με βάση την AUC σε αρουραίους και σκύλους αντίστοιχα. Αντιδράσεις φωτοευαισθησίας σε αρουραίους μετά από χορήγηση τιγκεκυκλίνης δεν παρατηρήθηκαν.²⁴

Σε συνέχεια των παραπάνω διαπιστώσεων σχετικά με το προφίλ τοξικότητας και ανεπιθύμητων ενεργειών της τιγκεκυκλίνης από μελέτες σε ζώα ακολουθούν τα συμπεράσματα κλινικών μελετών που πραγματοποιούνται σε ανθρώπους-εθελοντές. Σε τέσσερις κλινικές μελέτες φάσης III, διπλές-τυφλές, τυχαιοποιημένες και πολυκεντρικές έλαβαν μέρος συνολικά 1415 ασθενείς που ακολούθησαν αγωγή με τιγκεκυκλίνη. Αντίστοιχα, ένας άλλος πληθυσμός 1382 ασθενών αφού τυχαιοποιήθηκε έλαβε άλλο αντιμικροβιακό σχήμα πλην τιγκεκυκλίνης, είτε βανκομυκίνη σε συνδυασμό με αζτρεονάμη για τους ασθενείς με πεπλεγμένες λοιμώξεις δέρματος και μαλακών μορίων είτε ιμιπενέμη/σιλαστατίνη για τους ασθενείς με πεπλεγμένες ενδοκοιλιακές λοιμώξεις. Τα αποτελέσματα σχετικά με την επίπτωση των σχετιζόμενων με τη θεραπεία ανεπιθύμητων ενεργειών συνοψίζονται στον πίνακα A7¹:

Πίνακας Α7. Επίπτωση (%) των σχετιζόμενων με τη θεραπεία κοινών ανεπιθύμητων ενεργειών της τιγκεκυκλίνης από κλινικές μελέτες φάσεις ΙΙΙ

Ανεπιθύμητες ενέργειες	Επίπτωση (%)		τιμή P
	Τιγκεκυκλίνη (N = 1,415)	Αντιμικροβιακός παράγοντας σύγκρισης* (N = 1,382)	
Ναυτία	29.5	15.8	<0.001
Έμετος	19.7	10.8	<0.001
Διάρροια	12.7	10.8	0.127
Θρομβοκυττοπενία	6.1	6.2	0.937
Φλεβίτιδα	1.8	3.8	0.002
Εξάνθημα	2.4	4.1	0.011
Λοίμωξη	8.3	5.4	0.003
Υπερχολερυθριναιμία	2.3	0.9	0.004
Αύξηση αλανινο- αμινοτρανσφεράσης (ALT)	5.6	4.7	0.305
Αύξηση ασπαρτικής αμινοτρανσφεράσης (AST)	4.3	4.4	0.926

* Βανκομυκίνη με αζιτρεονάμη για τη θεραπεία πεπλεγμένων λοιμώξεων δέρματος και μαλακών μορίων, ιμιπενέμη/σιλαστατίνη για τη θεραπεία πεπλεγμένων ενδοκοιλιακών λοιμώξεων ή λινεζολίδη για ανθεκτικά παθογόνα.

Στον πληθυσμό που έλαβε αγωγή με τιγκεκυκλίνη εμφανίστηκαν ανεπιθύμητες ενέργειες σε ποσοστό 41% των ασθενών και η θεραπεία διακόπηκε λόγω εμφάνισης ανεπιθύμητων ενεργειών σε ποσοστό 5% των ασθενών. Οι πλέον συχνές σχετιζόμενες με τη φαρμακευτική αγωγή ανεπιθύμητες αντιδράσεις που εκδηλώθηκαν στους ασθενείς που έλαβαν τουλάχιστον μία δόση τιγκεκυκλίνης σύμφωνα με το εγκεκριμένο δοσολογικό σχήμα (δόση εφόδου 100 mg, δόση συντήρησης 50 mg, ενδοφλεβίως κάθε 12 ώρες) ήταν αναστρέψιμη ναυτία (20%) και έμετος (14%).²⁴ Άλλες συχνές επίσης ανεπιθύμητες αντιδράσεις που εμφανίστηκαν στην ομάδα των ασθενών στους οποίους χορηγήθηκε το εν λόγω φάρμακο ήταν διάρροια, τοπική αντίδραση στη θέση της έγχυσης, λοίμωξη,

πυρετός, κοιλιακός πόνος και πονοκέφαλος. Διαταραχές στο εργαστηριακό προφίλ των ασθενών και συγκεκριμένα στον αιματολογικό έλεγχο (π.χ. θρομβοκυτοπενία, λεμφοπενία) και στο βιοχημικό έλεγχο (π.χ. υποκαλιαιμία, υποφωσφαταιμία) υπήρξαν μέτριας βαρύτητας και δεν αποτέλεσαν αιτία πρόωρης διακοπής της αγωγής με τιγκεκυκλίνη.⁴ Επίσης δεν παρατηρήθηκαν κλινικά σημαντικές μεταβολές σε παραμέτρους όπως η αρτηριακή πίεση και το ηλεκτροκαρδιογράφημα.⁵¹ Αξίζει να σημειωθεί ότι δεν αναφέρθηκαν περιπτώσεις διάρροιας προκαλούμενης από το βακτήριο *Clostridium difficile* παρά την εφαρμογή θεραπείας διάρκειας μεγαλύτερης των 5 ημερών έως 14 ημερών. Όμως είναι σημαντικό σε ασθενείς που εμφανίζουν διάρροια σε κάποια φάση της αντιβιοτικής αγωγής, κατά τη διάρκεια ή μετά τη χορήγηση, να λαμβάνεται υπόψη η πιθανότητα ψευδομεμβρανώδους κολίτιδας. Η ανεπιθύμητη αυτή ενέργεια έχει αναφερθεί με όλους σχεδόν τους αντιβακτηριακούς παράγοντες και η βαρύτητά της μπορεί να ποικίλλει από ήπια έως απειλητική για τη ζωή. Θάνατος επήλθε σε ποσοστό 2.2% στην ομάδα της τιγκεκυκλίνης (τριάντα ασθενείς), όμως μόνο 2 περιστατικά χαρακτηρίστηκαν ως «πιθανά σχετιζόμενα» με την εφαρμοζόμενη αγωγή λόγω αποτυχίας της θεραπείας.⁴ Στον πίνακα Α8 αναφέρονται οι ανεπιθύμητες ενέργειες του φαρμάκου κατηγοριοποιημένες σύμφωνα με τη συχνότητα εμφάνισής τους, από δεδομένα που προέκυψαν τόσο από τις κλινικές δοκιμές όσο και από την εμπειρία μετά από την κυκλοφορία της δραστικής ουσίας υπό τη εμπορική ονομασία Tygacil[®]. Για τις ανεπιθύμητες ενέργειες που καταγράφηκαν ως αποτέλεσμα της αυθόρμητης αναφοράς τους μετά την κυκλοφορία του Tygacil[®] και για τις οποίες δεν ήταν δυνατός ο προσδιορισμός της συχνότητας εμφάνισής τους η ταξινόμησή τους έγινε ως μη γνωστές.²⁴

Πίνακας Α8. Συνοπτική περίληψη των ανεπιθύμητων ενεργειών που έχουν αναφερθεί με το Tygacil®, συμπεριλαμβανομένων αυτών από κλινικές δοκιμές και την εμπειρία μετά την κυκλοφορία την κυκλοφορία του προϊόντος.²⁴

	Πολύ συχνές (≥1/10)	Συχνές (≥1/100 έως <1/10)	Όχι συχνές (≥1/1.000 έως ≤1/100)	Μη γνωστές
Λοιμώξεις και παρασιτώσεις		Πνευμονία, απόστημα, λοιμώξεις	Σήψη/σηπτική καταπληξία	
Διαταραχές του αιμοποιητικού και του λεμφικού συστήματος		Παρατεταμένος χρόνος ενεργοποιημένης μερικής θρομβοπλαστίνης (aPTT), παρατεταμένος χρόνος προθρομβίνης	Αυξημένη τιμή INR	Θρομβοκυτοπενία
Διαταραχές του ανοσοποιητικού συστήματος				Αναφυλαξία/ αναφυλακτοειδείς αντιδράσεις
Διαταραχές του μεταβολισμού και της θρέψης		Υπογλυκαιμία	Υποπρωτεϊναιμία	
Διαταραχές του νευρικού συστήματος		Ζάλη		
Αγγειακές διαταραχές		Φλεβίτιδα	Θρομβοφλεβίτιδα	
Διαταραχές του γαστρεντερικού συστήματος	Ναυτία, έμετος, διάρροια	Κοιλιακό άλγος, δυσπεψία, ανορεξία	Οξεία παγκρεατίτιδα	
Διαταραχές του ήπατος και των χοληφόρων		Αυξημένη ασπαρτική αμινοτρανσφεράση (AST) στον ορό και αυξημένη αμινοτρανσφεράση της αλανίνης (ALT) στον ορό, υπερχολερυθριναιμία	Ίκτερος, ηπατική βλάβη, κυρίως χολοστατική	Ηπατική ανεπάρκεια
Διαταραχές του δέρματος και του υποδόριου ιστού		Κνησμός, εξάνθημα		Σοβαρές αντιδράσεις δέρματος, συμπεριλαμβανομέ νου του συνδρόμου Stevens-Johnson
Γενικές διαταραχές και καταστάσεις της οδού χορήγησης		Κεφαλαλγία	Αντίδραση της θέσης ένεσης, φλεγμονή της θέσης ένεσης, άλγος της θέσης ένεσης, οίδημα της θέσης ένεσης, φλεβίτιδα της θέσης ένεσης	

	Πολύ συχνές (≥1/10)	Συχνές (≥1/100 έως <1/10)	Όχι συχνές (≥1/1.000 έως ≤1/100)	Μη γνωστές
Παρακλινικές εξετάσεις		Αυξημένη αμυλάση στον ορό, αυξημένο άζωτο ουρίας αίματος (BUN)		

Η επίπτωση των ανεπιθύμητων ενεργειών τόσο στην ομάδα της τιγκεκυκλίνης όσο και στην ομάδα διαφορετικού αντιμικροβιακού σχήματος (βανκομυκίνης+αζτρεονάμης ή ιμιπενέμης/σιλαστατίνης) ήταν παρόμοια.^{68,71-74} Ωστόσο υπήρξαν στατιστικά σημαντικές διαφορές στην επίπτωση της ναυτίας σε δύο από τις τέσσερις κλινικές μελέτες φάσης III (43.2 % για την ομάδα της τιγκεκυκλίνης vs 11.0% για τη ομάδα άλλης αντιμικροβιακής θεραπείας⁷¹ και 25.2 % vs 5.2% αντίστοιχα⁷² P<0.05) και στην επίπτωση του εμέτου σε τρεις από αυτές τις μελέτες (26.7 % vs 5.0%⁷¹ 12.0 % vs 2.2%⁷² και 25.7% vs 19.4%, P<0.05).

Σχετικά με τη ναυτία και τον έμετο, που επίσης εμφανίζονται σε ασθενείς που λαμβάνουν τετρακυκλίνες, παρατηρήθηκε ότι συνήθως εκδηλώνονταν νωρίς κατά τις πρώτες ημέρες έναρξης της αγωγής με τιγκεκυκλίνη, ημέρα 1η και 2η συνήθως, με βαρύτητα ήπια ή μέτρια και ήταν παροδική η εκδήλωσή τους στους περισσότερους ασθενείς (μελέτες φάσεις III). Διαφάνηκε ακόμη ότι οι γαστρεντερικές αυτές ανεπιθύμητες ενέργειες επιτείνονταν με αύξηση της χορηγούμενης δόσης (δοσοεξαρτώμενες). Ωστόσο στις υψηλότερες χορηγούμενες δόσεις των 200 και 300 mg (μελέτη SAD, υγιείς εθελοντές, n=6 για κάθε ομάδα) παρατηρήθηκε ότι η παράταση της διάρκειας έγχυσης από τη μία ώρα στις τέσσερις ώρες δεν επέφερε καμία βελτίωση στη συχνότητα εμφάνισης ή στη βαρύτητα της ναυτίας, γεγονός που υποδεικνύει ότι η ναυτία ως ανεπιθύμητη ενέργεια δεν συνδέεται απευθείας με τη μέγιστη συγκέντρωση (C_{max}) του φαρμάκου στον ορό. Στην ίδια μελέτη κατέληξαν ότι η τριαντάλεπτη διάρκεια έγχυσης του φαρμάκου οδηγούσε σε μικρότερη συχνότητα πρόκλησης γαστρεντερικών διαταραχών από το φάρμακο. Επιπλέον, παρατηρήθηκε ότι η λήψη γεύματος πριν από την έναρξη της έγχυσης του φαρμάκου βελτίωνε τη

μέγιστη ανεκτή δόση από 100mg σε 200 mg ελαττώνοντας τις γαστρεντερικές ενοχλήσεις και αντίστοιχα η προετοιμασία με τη χορήγηση ονδασετρόνης ή άλλου αντιεμετικού παράγοντα (συνήθως μετοκλοπραμίδη ή χλωροπεραζίνη) σε όσους δεν λάμβαναν γεύμα είχε ως αποτέλεσμα βελτίωση της ανοχής του φαρμάκου. Υπεροχή συγκεκριμένου αντιεμετικού ανάμεσα στα τρία συνηθέστερα χρησιμοποιούμενα (μετοκλοπραμίδη, χλωροπεραζίνη, ονδασετρόνη) για την προετοιμασία του ασθενούς δεν διαπιστώθηκε.^{13,20,75} Παρατηρήθηκε ακόμη σε μελέτη που έγινε σε υγιείς για τη διερεύνηση τυχόν επίδρασης της ηλικίας και του φύλου στη φαρμακοκινητική της τιγκεκυκλίνης, ότι τα ηλικιωμένα άτομα (ηλικία > 75 ετών) και οι άνδρες ανέφεραν λιγότερο το σύμπτωμα της ναυτίας σε σύγκριση με τις γυναίκες και τα νεότερης ηλικίας άτομα που συμμετείχαν στη μελέτη.⁷⁶ Σε μελέτες φάσεις II σε ασθενείς με πεπλεγμένες λοιμώξεις του δέρματος και των μαλακών μορίων ή πεπλεγμένες ενδοκοιλιακές λοιμώξεις η συχνότητα των γαστρεντερικών διαταραχών ήταν μικρότερη συγκριτικά με την παρατηρούμενη στους υγιείς εθελοντές.^{78,79} Μια υπόθεση για το μηχανισμό πρόκλησης ναυτίας και εμέτου από την τιγκεκυκλίνη ήταν η πιθανή διέγερση της απελευθέρωσης σεροτονίνης από το βλεννογόνο του στομάχου ως αποτέλεσμα της έκκρισης του φαρμάκου στη χολή η οποία με τη σειρά της μπορεί να προκαλούσε ερεθισμό του γαστρικού βλεννογόνου. Η υπόθεση αυτή απορρίφθηκε, καθώς σε φαρμακοκινητικές μελέτες φάσεις I δεν εντοπίστηκαν στα ούρα υγιών εθελοντών, που παρουσίασαν ανεπιθύμητες ενέργειες από το γαστρεντερικό σύστημα, ικανοποιητικές συγκεντρώσεις του μεταβολίτη της σεροτονίνης, 5-υδροξυινδολοξικό οξύ (5-HIAA), που να συσχετίζουν την παρουσία του με την πρόκληση ναυτίας και εμέτου σε σύγκριση και με την ομάδα που δεν εμφάνισε τα ανεπιθύμητα αυτά συμπτώματα.¹³ Οξεία παγκρεατίτιδα, ακόμη και σοβαρή, έχει παρατηρηθεί, όχι συχνά όμως, σε συνδυασμό με θεραπεία με τιγκεκυκλίνη. Σε ασθενείς στους οποίους χορηγείται τιγκεκυκλίνη και αναπτύσσουν κλινικά συμπτώματα (σοβαρή ναυτία και κοιλιακός πόνος), σημεία ή διαταραχές των εργαστηριακών παραμέτρων ενδεικτικών οξείας παγκρεατίτιδας (αυξημένα επίπεδα αμυλάσης και λιπάσης στον ορό) πρέπει να εξετάζεται η περίπτωση τέτοιας διάγνωσης. Τα περισσότερα περιστατικά που αναφέρθηκαν προέκυψαν

μετά από μία τουλάχιστον εβδομάδα θεραπείας, ενώ έχουν αναφερθεί και περιστατικά σε ασθενείς χωρίς την παρουσία γνωστών παραγόντων κινδύνου για την εκδήλωση παγκρεατίτιδας. Σε αυτή την περίπτωση βελτίωση παρατηρείται μετά από τη διακοπή της τιγκεκυκλίνης και συστήνεται η άμεση διακοπή της σε ασθενείς με υποψία τέτοιας διάγνωσης.²⁴ Για πρώτη φορά τον Ιούλιο του 2006 συμπεριλήφθηκε η οξεία παγκρεατίτιδα από την παραγωγό εταιρία (Wyeth Pharmaceuticals) στην ενημερωμένη έκδοση των χαρακτηριστικών του προϊόντος και συγκεκριμένα στη λίστα των ανεπιθύμητων ενεργειών που παρατηρήθηκαν μετά την κυκλοφορία του, παρά το γεγονός ότι τα κλινικά περιστατικά ή οι διαταραχές των φυσιολογικών επιπέδων αμυλάσης και λιπάσης στον ορό που είχαν δημοσιευθεί μέχρι τότε ήταν πολύ περιορισμένα. Μέχρι το 2009 είχαν συνολικά αναφερθεί στη βιβλιογραφία τέσσερα περιστατικά οξείας παγκρεατίτιδας. Παράλληλα, υπήρχε σαφής συσχέτιση της οξείας παγκρεατίτιδας με την ομάδα των τετρακυκλινών. Τα χαρακτηριστικά συμπτώματα που παρουσιάστηκαν στους ασθενείς που έλαβαν τιγκεκυκλίνη ήταν ναυτία και σοβαρός κοιλιακός πόνος μετά την έναρξη της αγωγής, εντός των πρώτων 7 έως 14 ημερών (ο μέσος χρόνος έναρξης των συμπτωμάτων για τα τέσσερα αυτά περιστατικά ήταν 11 ημέρες από την έναρξη της χορήγησης) σαφώς πιο γρήγορα από την επαγόμενη από τις τετρακυκλίνες παγκρεατίτιδα. Ο μηχανισμός με τον οποίο η τιγκεκυκλίνη μπορεί να προκαλεί οξεία παγκρεατίτιδα στους ασθενείς δεν είναι ακόμη γνωστός, όμως τουλάχιστον τρεις θεωρίες έχουν διατυπωθεί για τη σχετιζόμενη με τις τετρακυκλίνες παγκρεατίτιδα: 1η) Ο Steinberg⁸⁰ υπέθεσε τη συσσώρευση κάποιου τοξικού μεταβολίτη. 2η) Οι Elmore και Rogge⁸¹ πρότειναν τη συσσώρευση τριγλυκεριδίων στο αίμα, εξαιτίας αναστολής του μηχανισμού αποβολής τους από το ήπαρ που πιθανώς προκαλούν οι τετρακυκλίνες εμποδίζοντας την πρωτεϊνσύνθεση και ευνοώντας τη συσσώρευση ελαττωματικών πρωτεϊνών εντός των ηπατοκυττάρων. 3η) Ο Gilson et al. συσχέτισαν τις εξαιρετικά υψηλές χολικές συγκεντρώσεις των τετρακυκλινών με την πρόκληση παγκρεατίτιδας. Παραμένει να διευκρινισθεί ο ακριβής μηχανισμός για την επαγόμενη από την τιγκεκυκλίνη οξεία παγκρεατίτιδα, καθώς και η πιθανή διασταυρούμενη αντίδραση μεταξύ της τιγκεκυκλίνης και των τετρακυκλικών

αντιβιοτικών.⁸² Αναφυλακτικές αντιδράσεις δυνητικά απειλητικές για τη ζωή έχουν αναφερθεί με την τιγκεκυκλίνη.²⁴ Σε μια κλινική μελέτη φάσης II με 160 συμμετέχοντες ασθενείς με πεπλεγμένες λοιμώξεις δέρματος και μαλακών μορίων καταγράφηκαν ένα περιστατικό αλλεργίας (κνησμός) και ένα επεισόδιο παραισθήσεων, τα οποία και συσχετίστηκαν με τη χρήση του φαρμάκου.⁸³ Για το λόγο αυτό υπερευαισθησία στη δραστική ουσία ή σε κάποιο από τα έκδοχα, όπως και υπερευαισθησία στην ομάδα των τετρακυκλικών αντιβιοτικών (διασταυρούμενη ευαισθητοποίηση)⁵¹ συνιστούν αντένδειξη για τη χορήγηση του φαρμάκου σε αυτό τον πληθυσμό.²⁴

Συχνά παρατηρούνται σε ασθενείς που λαμβάνουν τιγκεκυκλίνη αυξημένες τιμές στον ορό της ασπαρτικής αμινοτρανσφεράσης (AST) και της αμινοτρανσφεράσης της αλανίνης (ALT), καθώς και υπερχολερυθριναιμία.²⁴ Η αύξηση αυτή είναι συνήθως παροδική και μπορεί να παρατηρηθεί κατά τη μεταθεραπευτική περίοδο κυρίως.^{24,51} Σε μια αναδρομική ανασκόπηση που πραγματοποιήθηκε για ασθενείς που είχαν λάβει τιγκεκυκλίνη σε ένα μεγάλο κέντρο τριτοβάθμιας υγειονομικής περίθαλψης, αναφέρεται ότι 2% των ασθενών αυτών (N=528) παρουσίασαν ανεξήγητη, υπερβολική αύξηση των τιμών αλκαλικής φωσφατάσης (ALP) πάνω από το φυσιολογικό όριο (είτε >5 φορές του ανώτατου φυσιολογικού ορίου είτε >750 U/L) είτε κατά τη διάρκεια είτε εντός δύο εβδομάδων από τη διακοπή της τιγκεκυκλίνης.⁸⁴ Περιπτώσεις ηπατικής βλάβης, κυριότερα χολοστατικής μορφής, έχουν αναφερθεί σε ασθενείς που λαμβάνουν θεραπεία με τιγκεκυκλίνη συμπεριλαμβανομένων κάποιων περιπτώσεων ηπατικής ανεπάρκειας με θανατηφόρα κατάληξη. Παρόλο που ηπατική ανεπάρκεια μπορεί να εμφανισθεί λόγω των υποκείμενων παθήσεων ή των συγχωρηγούμενων φαρμακευτικών προϊόντων, μια πιθανή συμμετοχή της τιγκεκυκλίνης θα πρέπει να λαμβάνεται υπόψη.²⁴

Συχνά επίσης παρατηρείται παράταση του χρόνου ενεργοποιημένης μερικής θρομβοπλαστίνης (aPTT) και του χρόνου προθρομβίνης (PT). Για το λόγο αυτό συστήνεται η στενή παρακολούθηση των ασθενών που λαμβάνουν τιγκεκυκλίνη παράλληλα με αντιπηκτικά.²⁴

Εξαιτίας της δομικής ομοιότητας των γλυκυλκυκλινών με τις τετρακυκλίνες, είναι πιθανό η τιγκεκυκλίνη να προκαλέσει ανεπιθύμητες αντιδράσεις όμοιες με αυτές. Τέτοιες ανεπιθύμητες ενέργειες είναι η φωτοευαισθησία, ο ψευδοόγκος του εγκεφάλου, η παγκρεατίτιδα και η αντι-αναβολική δράση που οδηγεί σε αυξημένα επίπεδα αζώτου ουρίας στο αίμα (BUN), αζωθαιμία, οξέωση και υπερφωσφαταιμία. Ακόμη, η τιγκεκυκλίνη μπορεί να σχετίζεται με μόνιμο δυσχρωματισμό των δοντιών εάν χρησιμοποιηθεί κατά την περίοδο ανάπτυξης αυτών. *In vivo* μελέτες σε αρουραίους έδειξαν δυσχρωματισμό των οστών γεγονός που μπορεί να συνδεθεί με πιθανή εμφάνισή του και στους ανθρώπους. Σε κλινικές μελέτες φάσεις III διαπιστώθηκε ότι τα σχετιζόμενα με λοιμώξεις σοβαρά ανεπιθύμητα συμβάντα αναφέρονταν με μεγαλύτερη συχνότητα σε άτομα που λάμβαναν τιγκεκυκλίνη (6,7%) έναντι των φαρμάκων σύγκρισης (4,6%). Επιπλέον, παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές στην εκδήλωση σήψης/σηπτικής καταπληξίας με τιγκεκυκλίνη (1,5%) έναντι των φαρμάκων σύγκρισης (0,5%). Οι διαταραχές της AST και της ALT αναφέρθηκαν συχνότερα στη μεταθεραπευτική περίοδο σε σχέση με τους ασθενείς που έλαβαν φάρμακο σύγκρισης και οι οποίοι εμφάνισαν τις παραπάνω διαταραχές πιο συχνά κατά τη διάρκεια της θεραπευτικής αγωγής.²⁴

Η υπερανάπτυξη των μη ευαίσθητων στην τιγκεκυκλίνη οργανισμών συμπεριλαμβανομένων των μυκήτων αποτελεί γενικό χαρακτηριστικό της ομάδας των αντιβιοτικών. Γι' αυτό επιβάλλεται η στενή παρακολούθηση των ασθενών κατά τη διάρκεια της θεραπείας.²⁴

Για τον παιδιατρικό πληθυσμό αναφέρεται ότι το Tygacil® δεν πρέπει να χρησιμοποιείται σε παιδιά ηλικίας μικρότερης των 8 ετών λόγω μόνιμου δυσχρωματισμού των δοντιών που μπορεί να προκληθεί μετά από πολλαπλές δόσεις τιγκεκυκλίνης. Επίσης δε συστήνεται η εφαρμογή τέτοιας θεραπείας σε εφήβους κάτω των 18 ετών. Ο λόγος είναι η έλλειψη δεδομένων σχετικά με την ασφάλεια και την αποτελεσματικότητα του φαρμάκου για την χρήση του σε αυτή την ιδιαίτερα ευαίσθητη ομάδα ασθενών, γεγονός που εγείρει ζητήματα ηθικής ως προς τη συμμετοχή του σε κλινικές δοκιμές. Όπως αναφέρθηκε και παραπάνω (παράγραφος A1.7.α.ε)2) από μία φαρμακοκινητική μελέτη πολλαπλών δόσεων

που πραγματοποιήθηκε σε παιδιά ηλικίας από 8 έως 11 ετών προέκυψαν πολύ περιορισμένα δεδομένα ασφαλείας, όπου δεν παρατηρήθηκε ωστόσο καμία νέα ή απροσδόκητη ανησυχία σχετικά με την ασφάλεια της τιγκεκυκλίνης.²⁴ Δεδομένης και της ομοιότητας της τιγκεκυκλίνης με την ομάδα των τετρακυκλινών που επίσης προκαλούν δυσχρωματισμό οστών και δοντιών πρέπει να αποφεύγεται η χρήση της στα παιδιά.⁸⁵ Επιπρόσθετα, αποτελέσματα μελετών σε ζώα, όπως αναφέρθηκε και την αρχή του κεφαλαίου αυτού, έχουν δείξει ότι η τιγκεκυκλίνη διαπερνά τον πλακούντα και μπορεί να προκαλέσει εμβρυϊκή βλάβη.⁸⁵ Ο ενδεχόμενος κίνδυνος για τον άνθρωπο είναι άγνωστος. Πρέπει όμως να λαμβάνονται υπόψη και τα δεδομένα για την ασφάλεια των τετρακυκλινών, με τις οποίες η τιγκεκυκλίνη έχει δομική και λειτουργική ομοιότητα, και συγκεκριμένα η ιδιότητά τους να προκαλούν μόνιμες οδοντικές βλάβες – δυσχρωματισμός και βλάβες της αδαμαντίνης- και μια καθυστέρηση στις διαδικασίες της οστεοποίησης στα έμβρυα που εκτίθενται εντός της μήτρας (*in utero*) κατά τη διάρκεια του τελευταίου μισού της κύησης και σε παιδιά ηλικίας κάτω των 8 ετών λόγω εμπλουτισμού των ιστών με ασβέστιο υψηλού ρυθμού μεταβολισμού και σχηματισμό χηλικών συμπλόκων ασβεστίου με τις τετρακυκλίνες. Η πιθανότητα η τιγκεκυκλίνη να προκαλεί αντίστοιχα φαινόμενα είναι ισχυρή γι' αυτό η χρήση της κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης πρέπει να αποφεύγεται εκτός εάν το δυνητικό όφελος για τη μητέρα δικαιολογεί τον κίνδυνο για το έμβρυο.⁵⁴ Αντίστοιχα άγνωστο είναι αν η τιγκεκυκλίνη εκκρίνεται στο ανθρώπινο μητρικό γάλα. Και πάλι όμως μελέτες σε ζώα έχουν δείξει ότι το φάρμακο εκκρίνεται στο γάλα θηλαζόντων αρουραίων. Ακριβώς επειδή δε μπορεί να αποκλειστεί ο δυνητικός κίνδυνος για το θηλάζον νεογνό, θα πρέπει με ιδιαίτερη προσοχή να εξετάζεται το ενδεχόμενο διακοπής του θηλασμού όταν στη μητέρα χορηγείται τιγκεκυκλίνη. Όσον αφορά στην επίδραση της τιγκεκυκλίνης στη γονιμότητα, από μελέτες σε αρουραίους δε φάνηκε να επηρεάζεται το ζευγάριωμα ή η γονιμότητα τους μετά από έκθεση έως και 4,7 φορές της ανθρώπινης ημερήσιας δόσης με βάση την AUC. Σε θηλυκούς αρουραίους δεν υπήρξαν επιδράσεις σχετιζόμενες με την παρουσία της ουσίας στις ωοθήκες ή στους κύκλους οίστρου σε εκθέσεις έως και 4,7 φορές της ανθρώπινης ημερήσιας δόσης με βάση την AUC.²⁴ Μεταξύ αυτών

των μελετών σε ζώα η πιο σημαντική ανεπιθύμητη ενέργεια που παρατηρήθηκε ήταν η εντεροκολίτιδα⁸⁶ σε κουνέλια με οστεομυελίτιδα στα οποία χορηγήθηκε τιγκεκυκλίνη και τα οποία παρουσίασαν σημαντική απώλεια βάρους με αποτέλεσμα ένα από αυτά να υποστεί ευθανασία εξαιτίας δριμύτατης επιδείνωσης της κατάστασης θρέψης του.

Μελέτες σχετικά με την επίδραση του φαρμάκου στην ικανότητα οδήγησης και χειρισμού μηχανημάτων δεν έχουν πραγματοποιηθεί. Μπορεί όμως να εμφανισθεί ζάλη (συχνότητα εμφάνισης συχνή: $\geq 1/100$ έως $< 1/10$) , γεγονός που μπορεί να επηρεάσει την ικανότητα οδήγησης και χειρισμού μηχανημάτων.²⁴

A1.9 Η τιγκεκυκλίνη στην καθημερινή κλινική πράξη (μέχρι σήμερα): Θεραπευτικές Ενδείξεις- Δοσολογικό σχήμα - Τρόπος χορήγησης - Ανασύσταση - Ιδιαίτερες προφυλάξεις

Η τιγκεκυκλίνη ενδείκνυται σε ενήλικες για τη θεραπεία πεπλεγμένων λοιμώξεων του δέρματος και των μαλακών μορίων, εξαιρουμένων των λοιμώξεων διαβητικού ποδός, καθώς και για τη θεραπεία πεπλεγμένων ενδοκοιλιακών λοιμώξεων.²⁴ Επίσης έχει λάβει έγκριση από τον FDA και για τη θεραπεία της πνευμονίας από την κοινότητα (community-acquired pneumonia, CAP) με βάση τα αποτελέσματα πολλών τυχαιοποιημένων (RCTs: Randomized Controlled Trials) κλινικών δοκιμών που ανέδειξαν μη κατωτερότητα της τιγκεκυκλίνης αναφορικά με την επιτυχία των κλινικών εκβάσεων σε σύγκριση με άλλα αντιβιοτικά.⁸⁷

Η συνιστώμενη δόση για ενήλικες είναι μία αρχική δόση των 100mg (loading dose) ακολουθούμενη από 50 mg κάθε 12 ώρες για 5 έως 14 ημέρες. Η διάρκεια της θεραπείας θα πρέπει να καθορίζεται από τη βαρύτητα, τη θέση της λοίμωξης και την κλινική ανταπόκριση του ασθενούς.

Το φάρμακο χορηγείται μόνο μέσω ενδοφλέβιας έγχυσης διάρκειας 30 έως 60 λεπτών, η οποία μπορεί να γίνει είτε μέσω μιας ξεχωριστής γραμμής είτε μέσω καθετήρα τριπλού αυλού (Y-site). Η έγχυση πρέπει να γίνεται με ένα διάλυμα συμβατό με την τιγκεκυκλίνη και οποιοδήποτε άλλο φαρμακευτικό προϊόν που χορηγείται μέσω μιας κοινής γραμμής. Στα συμβατά ενδοφλέβια διαλύματα περιλαμβάνονται: ενέσιμο διάλυμα χλωριούχου νατρίου 0,9 % (9 mg/ml), ενέσιμο

διάλυμα δεξτρόζης 5 % (50 mg/ml) και ενέσιμο διάλυμα Lactated Ringer's. Η συμβατότητα του προϊόντος, όταν χορηγείται μέσω καθετήρα τριπλού αυλού, αραιωμένο σε ενέσιμο διάλυμα χλωριούχου νατρίου (0,9 %) έχει καταδειχθεί με τα ακόλουθα φαρμακευτικά προϊόντα ή μέσα αραιώσης: αμικασίνη, δοβουταμίνη, ντοπαμίνη υδροχλωρική, γενταμυκίνη, αλοπεριδόλη, Lactated Ringer's, λιδοκαΐνη υδροχλωρική, μετοκλοπραμίδη, μορφίνη, νορεπινεφρίνη, πιπερακιλλίνη/ταζοπακτάμη (EDTA σύνθεση), χλωριούχο κάλιο, προποφόλη, ρανιτιδίνη υδροχλωρική, θεοφυλλίνη και τομπραμυκίνη. Οι ακόλουθες δραστικές ουσίες δεν πρέπει να χορηγούνται ταυτόχρονα με το συγκεκριμένο προϊόν μέσω του ίδιου καθετήρα (Y-site): Αμφοτερικίνη Β, λιπιδικό σύμπλεγμα αμφοτερικίνης Β, διαζεπάμη, εσομεπραζόλη, ομεπραζόλη και ενδοφλέβια διαλύματα που μπορεί να προκαλέσουν αύξηση του pH πάνω από το 7.

Η ανασύσταση της λυοφιλοποιημένης σκόνης πρέπει να γίνεται με 5.3 ml ενέσιμου διαλύματος χλωριούχου νατρίου 0.9% (0.9 mg/ml), με ενέσιμο διάλυμα δεξτρόζης 50 mg/ml (5%) ή ενέσιμο διάλυμα Lactated Ringer's προκειμένου να επιτευχθεί μια συγκέντρωση των 10 mg/ml τιγκεκυκλίνης. Το φιαλίδιο πρέπει να ανακινείται ήπια έως ότου διαλυθεί το φαρμακευτικό προϊόν και έπειτα 5 ml από το ανασυσταθέν διάλυμα θα πρέπει αμέσως να αφαιρούνται από το φιαλίδιο και να προστίθενται σε ένα σάκο ενδοφλέβιας έγχυσης των 100 ml ή άλλο κατάλληλο περιέκτη για έγχυση (π.χ. γυάλινη φιάλη). Σημειώνεται ότι το φιαλίδιο περιέχει πλεόνασμα 6%, οπότε 5 ml ανασυσταθέντος διαλύματος ισοδυναμούν με 50 mg της δραστικής ουσίας. Το χρώμα του διαλύματος αναμένεται μεταξύ κίτρινου και πορτοκαλί, σε διαφορετική περίπτωση το διάλυμα θα πρέπει να απορριφθεί.

Γενικά, τα παρεντερικά προϊόντα, όπως το ενέσιμο διάλυμα τιγκεκυκλίνης, πρέπει να εξετάζονται οπτικά για σωματίδια ύλης και δυσχρωματισμό (π.χ. πράσινο ή μαύρο χρώμα) πριν τη χορήγηση. Εφόσον η ίδια ενδοφλέβια γραμμή χρησιμοποιείται για διαδοχική χορήγηση περισσότερων δραστικών ουσιών, πρέπει να γίνεται έκπλυση της γραμμής πριν και μετά την έγχυση του προϊόντος είτε με ενέσιμο διάλυμα χλωριούχου νατρίου 0.9% (0.9 mg/ml) είτε με ενέσιμο διάλυμα δεξτρόζης 5% (50 mg/ml).²⁴

A2. Πληθυσμιακή φαρμακοκινητική και φαρμακοδυναμική: Εφαρμογή της στην Παρακολούθηση των Θεραπευτικών Επιπέδων Φαρμάκου (Therapeutic Drug Monitoring) στο αίμα

Η πληθυσμιακή φαρμακοκινητική και φαρμακοδυναμική αποτελεί τη βάση της φαρμακομετρίας (pharmacometrics), δηλαδή του επιστημονικού κλάδου που μελετά ποσοτικά, την χρονική μεταβολή της συγκέντρωσης και το φαρμακολογικό αποτέλεσμα του φαρμάκου στον οργανισμό.^{88,89} Αυτό γίνεται με την βοήθεια μαθηματικών μοντέλων που ποσοτικοποιούν παραμετρικά την πληροφορία που περιέχεται σε πειραματικά ή κλινικά δεδομένα (συγκεντρώσεις του φαρμάκου στο αίμα, biomarkers, κλπ). Έτσι η πληροφορία που περιέχεται στα αποτελέσματα ενός πειράματος περιγράφεται από ένα μικρό σύνολο παραμέτρων που μπορούν εύκολα να ερμηνευτούν και να συγκριθούν με άλλα πειράματα. Επίσης το παραμετρικό αυτό μοντέλο μπορεί να χρησιμοποιηθεί ώστε να γίνουν προβλέψεις και προσομοιώσεις στον υπολογιστή, εικονικών πειραμάτων, διαφορετικών από αυτά που έχουν υλοποιηθεί στην πράξη, διερευνώντας έτσι εναλλακτικά σενάρια. Επιπρόσθετα, χρησιμοποιούνται στατιστικά μοντέλα για να περιγραφεί η μεταβλητότητα των παραμέτρων αυτών σε πληθυσμούς πειραματόζωνων, εθελοντών, ή ασθενών. Δηλαδή οι φαρμακοκινητικές παράμετροι θεωρούνται ότι ακολουθούν παραμετρικές στατιστικές κατανομές οι παράμετροι των οποίων προσδιορίζονται από τα δεδομένα. Έτσι, ο χαρακτηρισμός των φαρμακοκινητικών παραμέτρων γίνεται με την μορφή στατιστικών κατανομών σε πληθυσμούς. Η περιγραφή της στατιστικής κατανομής των τιμών των φαρμακοκινητικών παραμέτρων είναι απαραίτητη διότι η μεταβλητότητα στα βιολογικά συστήματα είναι μια σύμφυτη ιδιότητα τους, καθώς κανένα βιολογικό ον δεν είναι πανομοιότυπο με κάποιο άλλο.

Θεωρώντας ότι η συγκέντρωση του φαρμάκου τη χρονική στιγμή j στον ασθενή i , έχει τιμή C_{ij} και το φαρμακοκινητικό μοντέλο που την περιγράφει δίδεται από την μαθηματική συνάρτηση $f(a_i, t_j)$, όπου a_i το διάνυσμα των φαρμακοκινητικών παραμέτρων για τον ασθενή i και t_j ο χρόνος, τότε ισχύει

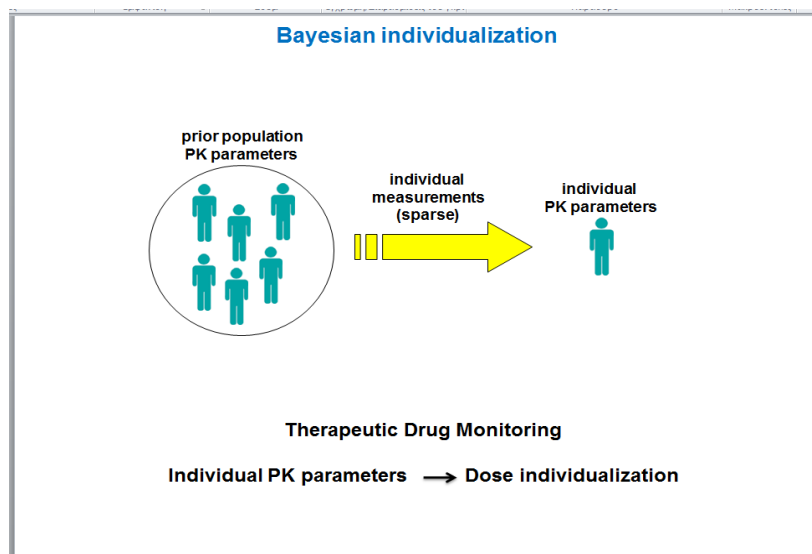
$$C_{ij}=f(a_i, t_j)+\varepsilon_{ij}$$

με $a_i = g(\theta, b_i) + \eta_i$

όπου θ είναι οι τυπικές πληθυσμιακές τιμές των παραμέτρων, b_i είναι μια συμμεταβλητή (covariate) για τον ασθενή i (βάρος, ηλικία, ύπαρξη αλληλόμορφων), $g(\theta, b_i)$ είναι μια συνάρτηση που συνδέει αυτά τα μεγέθη και η_i είναι η τυχαία διατομική μεταβλητότητα δηλαδή η απόκλιση του ασθενούς i από τις πληθυσμιακές τιμές θ , που δεν ερμηνεύεται από την συμμεταβλητή b_i . Συνήθως το η_i θεωρούμε ότι ακολουθεί μια κατάλληλη στατιστική κατανομή με τυπική τιμή 0 και συν-διακύμανση Ω που εκφράζει τη διατομική μεταβλητότητα του πληθυσμού γύρω από τις τυπικές τιμές θ . Επίσης ε_{ij} είναι το σφάλμα (μεταβλητότητα) που δεν ερμηνεύεται από τη διατομική μεταβλητότητα και το οποίο επίσης ακολουθεί μια στατιστική κατανομή (πολλές φορές θεωρούμε κανονική κατανομή) με τυπική τιμή 0 και τυπική απόκλιση σ . Το παραπάνω είναι το τυπικό σχήμα της πληθυσμιακής φαρμακοκινητικής που μας επιτρέπει να αναλύσουμε αραιά κλινικά δεδομένα και να προσδιορίσουμε τις παραμέτρους θ , Ω και σ , οι οποίες αφενός συνοψίζουν την πληροφορία που περιέχεται στα δεδομένα, αφετέρου μας επιτρέπουν να κάνουμε προβλέψεις και να προσομοιώσουμε εικονικούς ασθενείς.⁹⁰ Μία από τις πιο σημαντικές εφαρμογές της πληθυσμιακής φαρμακοκινητικής στην κλινική πράξη, είναι στην Παρακολούθηση των Θεραπευτικών Επιπέδων Φαρμάκου (Therapeutic Drug Monitoring, TDM) στο αίμα. Λόγω της δι-ατομικής μεταβλητότητας που παρουσιάζουν οι τιμές των φαρμακοκινητικών παραμέτρων των φαρμάκων (όπως κάθαρση, όγκος κατανομής κλπ) σε φάρμακα με μικρό θεραπευτικό εύρος, είναι σημαντικό η χορηγούμενη δόση να εξατομικευθεί. Για να γίνει αυτό πρέπει να υπολογιστούν οι φαρμακοκινητικές παράμετροι για κάθε ασθενή, κάτι που όμως απαιτεί την συλλογή πολλών δειγμάτων από τον ασθενή και δεν είναι πρακτικό. Με την βοήθεια της πληθυσμιακής φαρμακοκινητικής, οι ατομικές τιμές των παραμέτρων μπορούν να εκτιμηθούν ακόμα και με ένα μόνο σημείο δειγματοληψίας. Αυτό επιτυγχάνεται με τη βοήθεια των πληθυσμιακών τιμών των παραμέτρων (πληροφορία προερχόμενη από την βιβλιογραφία) και με χρήση Μπαεσιανών τεχνικών για την εκτίμηση των εξατομικευμένων παραμέτρων.

Η Μπαεσιανή προσέγγιση⁹¹ είναι μια εξαιρετικά χρήσιμη μέθοδος για την εξαγωγή της μέγιστης δυνατής πληροφορίας από πειραματικά δεδομένα, γιατί δίνει την δυνατότητα αξιοποίησης της προϋπάρχουσας πληροφορίας (prior) συνδυάζοντας την με την πληροφορία που περιέχεται στα δεδομένα. Η πληροφορία αυτή συνήθως αποτελείται από τις τιμές των πληθυσμιακών φαρμακοκινητικών παραμέτρων μαζί με τη μεταβλητότητά τους δηλαδή τις τιμές θ και Ω καθώς και την αβεβαιότητα που συνοδεύει αυτές τις εκτιμήσεις.

Χρησιμοποιώντας αυτές τις τιμές ως prior μπορούμε εφαρμόζοντας την αρχή του θεωρήματος του Bayes να προσδιορίσουμε τις φαρμακοκινητικές παραμέτρους ενός συγκεκριμένου ασθενούς, και να τις χρησιμοποιήσουμε εξατομικεύοντας τη θεραπεία. Το θεώρημα του Bayes περιγράφει ότι για μια στοχαστική μεταβλητή (στην προκειμένη περίπτωση μια φαρμακοκινητική παράμετρο για έναν ασθενή) η posterior κατανομή είναι ανάλογη του γινομένου της prior κατανομής επί την πιθανότητα που προκύπτει από τα διαθέσιμα δεδομένα για τη μεταβλητή αυτή (data likelihood). Η prior κατανομή εδώ προκύπτει από την πληθυσμιακή πληροφορία. Έχοντας διαθέσιμες τις φαρμακοκινητικές παραμέτρους ενός ασθενή είναι εύκολος ο ακριβής εξατομικευμένος καθορισμός του δοσολογικού σχήματος με τη βοήθεια προσομοιώσεων στον υπολογιστή, που λαμβάνουν υπόψη συγκεκριμένους επιθυμητούς κλινικούς στόχους, πχ. ένα συγκεκριμένο επιθυμητό εύρος στις συγκεντρώσεις ή ένα επιθυμητό AUC (επιφάνεια κάτω από την καμπύλη).



ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ

Σκοπός της παρούσας μελέτης ήταν η διερεύνηση του δοσολογικού σχήματος της τιγκεκυκλίνης σε νοσηλευόμενους ασθενείς και της ανάγκης για εξατομίκευση της δοσολογίας σε ασθενείς με διάφορους τύπους λοίμωξης για τους οποίους κρίνεται κατάλληλη η χορήγηση του εν λόγω φαρμάκου. Η τιγκεκυκλίνη έχει λάβει έγκριση από τον EMA και τον FDA για τη θεραπεία πεπλεγμένων λοιμώξεων δέρματος και μαλακών μορίων, με εξαίρεση τη λοίμωξη διαβητικού ποδός, καθώς και πεπλεγμένων ενδοκοιλιακών λοιμώξεων σε ενήλικες ασθενείς. Ο FDA έχει επιπλέον συμπεριλάβει στις ενδείξεις για τη χορήγηση της τιγκεκυκλίνης την πνευμονία από την κοινότητα. Το συνιστώμενο δοσολογικό σχήμα περιλαμβάνει την ενδοφλέβια χορήγηση μίας αρχικής δόσης εφόδου 100 mg τιγκεκυκλίνης ακολουθούμενης από 50 mg κάθε 12 ώρες. Η διάρκεια της θεραπείας, συστήνεται έως σήμερα, να καθορίζεται από την εστία, τη βαρύτητα της λοίμωξης και την κλινική ανταπόκριση κάθε ασθενούς. Μέσα από τη βιβλιογραφία διαφαίνεται ότι λόγω του εξαιρετικά ευρέος φάσματος της αποτελεί κατάλληλη αγωγή και για την αντιμετώπιση λοιμώξεων από πολυανθεκτικά στελέχη καθώς και όπου αλλού υπάρχει αδυναμία εφαρμογής εναλλακτικής, περισσότερο στοχευμένης, αγωγής ως θεραπεία διάσωσης. Ωστόσο το καθιερωμένο δοσολογικό σχήμα που προαναφέρθηκε φαίνεται να μην επαρκεί θεραπευτικά τόσο για τις ενδεδειγμένες για τη χορήγησή της λοιμώξεις όσο και για τις περιπτώσεις που απαιτείται η χορήγηση της τιγκεκυκλίνης, λόγω του ευρέος φάσματός της και της ικανότητάς της να ξεπερνά τους μηχανισμούς αντοχής των βακτηρίων, όπου άλλοι αντιμικροβιακοί παράγοντες υστερούν. Επιπλέον είναι σημαντικό να αποφευχθεί η διεύρυνση της βακτηριακής αντοχής έναντι της τιγκεκυκλίνης. Σε αυτό μπορεί καθοριστικά να συμβάλει, πέραν των δεδομένων για την ορθολογική διαχείριση της χρήσης των αντιβιοτικών, ο θεραπευτικός έλεγχος των επιπέδων της τιγκεκυκλίνης ώστε με την κατάλληλη εξατομίκευση του δοσολογικού σχήματος για κάθε ασθενή να περιορίζονται οι πιθανότητες αποτυχημένης κλινικής και μικροβιολογικής ανταπόκρισης του ασθενούς. Σε προηγούμενες μελέτες έχει υπάρξει προσπάθεια καθιέρωσης κάποιων

θεραπευτικών στόχων-ορίων ανάλογα με τον τύπο της λοίμωξης, που να εξασφαλίζουν την αποτελεσματικότητα της θεραπευτικής αγωγής με τιγεκυκλίνη, μέσω εκτίμησης του δείκτη AUC/MIC. Με αφορμή αυτά συλλέχθηκαν δείγματα αίματος ασθενών που έλαβαν θεραπεία με τιγεκυκλίνη σε δύο διαφορετικά δοσολογικά σχήματα (δόση εφόδου 100 mg, δόση συντήρησης 50 mg x 2 ή 50 mg x 3), προσδιορίστηκαν οι συγκεντρώσεις του φαρμάκου στο αίμα με μέθοδο HPLC, υπολογίστηκαν οι Μπαεσιανές εξατομικευμένες φαρμακοκινητικές παράμετροι των ασθενών με τη χρήση κατάλληλου φαρμακοκινητικού μοντέλου και του λογισμικού NONMEM, ακολούθησε η αξιολόγηση των επιπέδων του φαρμάκου στο αίμα για συγκεκριμένο θεραπευτικό στόχο AUC/MIC (θεραπευτικά, υποθεραπευτικά επίπεδα) και στη συνέχεια συσχετίστηκαν με την κλινική ανταπόκριση (θεραπευτική επιτυχία ή αποτυχία) για κάθε ασθενή προκειμένου να εξαχθούν συμπεράσματα για την αποτελεσματικότητα της θεραπείας. Παράλληλα πραγματοποιήθηκε προσομείωση δεδομένων με τη μέθοδο Monte Carlo, ώστε να διαπιστωθεί η εφαρμοσιμότητα των δύο διαφορετικών δοσολογικών σχημάτων που έλαβαν οι ασθενείς.

B. ΠΕΙΡΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

B.1 Υλικά και Μεθοδολογία

B.1.α. Ασθενείς

Στη μελέτη συμμετείχαν συνολικά δεκατέσσερις ασθενείς στους οποίους διαγνώσθηκε κάποιος τύπος λοίμωξης και κρίθηκε κατάλληλη η χορήγηση θεραπείας με τιγκεκυκλίνη. Η μελέτη πραγματοποιήθηκε στο Γενικό Νοσοκομείο «Ευαγγελισμός» υπό την επίβλεψη του Καθηγητή Παθολογίας και διευθυντή της Ε' Παθολογικής κλινικής κ. Σκουτέλη Α. και του λοιμωξιολόγου ιατρού κ. Βρυώνη Ε. Τα χαρακτηριστικά των ασθενών που μελετήθηκαν αναφέρονται συγκεντρωτικά στον πίνακα Β1.

Σύμφωνα με την αρχική οδηγία της ομάδας των λοιμωξιολόγων σε κάθε ασθενή θα χορηγούνταν τιγκεκυκλίνη για περίπου 10 ημέρες θεραπείας. Όλοι οι ασθενείς εκτός από έναν (ασθενής 02) έλαβαν δόση φόρτισης 100 mg. Για έναν ακόμη ασθενή (ασθενής 15) είναι άγνωστα από το ιστορικό του αν έλαβε δόση φόρτισης καθώς και η ακριβής διάρκεια της θεραπείας με τιγκεκυκλίνη, λόγω μεταφοράς του από άλλο νοσοκομείο όπου ήδη λάμβανε τιγκεκυκλίνη για περισσότερες από δέκα ημέρες. Σε οκτώ ασθενείς χορηγούνταν ημερησίως 100mg φαρμάκου σε δύο διαιρεμένες δόσεις με μεσοδιάστημα χορήγησης δώδεκα ώρες και σε 6 ασθενείς χορηγούνταν ημερησίως 150 mg σε τρεις διαιρεμένες δόσεις ανά οκτάωρο. Στα περιστατικά που συμπεριλήφθηκαν στη μελέτη αναφέρονται τέσσερις περιπτώσεις πεπλεγμένων λοιμώξεων δέρματος και μαλακών μορίων, τρεις περιπτώσεις ενδοκοιλιακών λοιμώξεων και τέσσερις περιπτώσεις με επιβεβαιωμένη βακτηριαιμία.

Πίνακας Β1. Συγκεντρωτικά στοιχεία των 14 ασθενών που συμμετείχαν στη μελέτη

ΑΡΙΘΜΟΣ ΑΣΘΕΝΗ	ΦΥΛΟ	ΗΛΙΚΙΑ (ΕΤΗ)	Σ.Β. (kg)	ΥΨΟΣ (cm)	ΕΝΔΟΦΛΕΒΙΟ		ΘΕΡΑΠΕΙΑΣ (που καταγράφηκαν)	ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΛΙΕΡΓΕΙΑΣ ΠΡΙΝ ΤΗΝ ΕΝΑΡΞΗ ΑΓΩΓΗΣ ΜΕ ΤΙΓΕΚΥΚΛΙΝΗ	ΛΟΙΜΩΞΗ	ΣΥΝΟΣΗΡΟΤΗΤΑ	ΣΥΓΧΟΡΗΓΟΥΜΕΝΑ ΦΑΡΜΑΚΑ
					ΔΟΣΗ ΕΦΟΔΟΥ	ΗΜΕΡΗΣΙΑ ΔΟΣΟΛΟΓΙΑ					
2	A	80	85	182	όχι	50x2	11	<u>Κ/α αίματος:</u> Klebsiella pneumoniae MDR	Βακτηριαμία με πύλη εισόδου το ουροποιητικό	Οξεία νεφρική ανεπάρκεια	Γενταμικίνη, διάλυμα αμινοξέων, ανθρωπίνη λευκωματίνη, εσομεπραζόλη
3	Γ	81	60	150	100	50x2	9	—	Εμπειρική κάλυψη ασθενούς με εμπύρετο και λέμφωμα στομάχου με διήθηση μυελού	Αρτηριακή υπέρταση, λέμφωμα στομάχου με διήθηση των οστών	νυστατίνη, μεροπενέμη, γενταμικίνη, ομεπραζόλη, υδροκλωδόνη/φαινυλεφρίνη/τυριλαμίνη, φουροσεμίδα, ανθρωπίνη λευκωματίνη, ινσουλίνη διφασική, συνδυασμό αμινοξέων με βιταμίνες/υδατάνθρακες/λιπίδια
4	A	80	70	164	100	50x2	4	<u>Κ/α υγρού παροχέτευσης:</u> Klebsiella pneumonia MDR/ Enterococcus faecalis/ Proteus mirabilis	Επιμόλυνση τραύματος μετά από χειρουργημένο καρκίνο στομάχου και μετεγχειρητική διαφυγή	Χειρουργημένος καρκίνος στομάχου	Μεροπενέμη, ενοξαπαρίνη, ομεπραζόλη, φουροσεμίδα, τριντρική γλυκερίνη, ιπρατρόπιο, ινσουλίνη διφασική
5	A	47	70	175	100	50x2	13	<u>Κ/α υγρού ανοιχτού τραύματος:</u> Acinetobacter baumannii	Λοίμωξη τραύματος αριστερής κνήμης με ενδομυελικό πρόβλημα	καμία συνοδός πάθηση	ενοξαπαρίνη, κωδεΐνη/παρακεταμόλη/καφεΐνη, παντοπραζόλη
6	A	33	70	163	100	50x2	16	<u>Κ/α υγρού ανοιχτού τραύματος:</u> Acinetobacter baumannii	Λοίμωξη τραύματος αριστερής πτέρνας	καμία συνοδός πάθηση	Μεροπενέμη, πινζαπαρίνη, ομεπραζόλη, παρεκοζιμπή ή παρακεταμόλη/λιδοκαΐνη (μόνο επί πόνου)
7	A	35	150	183	100	50x3	15	<u>Κ/α υγρού λαπαροσκοπικής οπής:</u> Pseudomonas aureginosa, Enterococcus faecium, Proteus vulgaris group	Διατύπωση λαπαροσκοπικής συλλογής και ενδοκοιλιακή συλλογή	Νοσογόνος παχυσαρκία	φλουικαζόνη τροπονική, πινζαπαρίνη, υοσκίνη, βουτυλοβρωμιούχος, ονδασετρόνη, ομεπραζόλη, TPN
8	Γ	43	110	155	100	50x3	2	Δε βρέθηκε κ/α	Μετεγχειρητική περιτονίτιδα	Ελλιπές ιστορικό	Ελλιπές ιστορικό
9	A	45	47	172	100	50x3	7	<u>Κ/α αίματος, υγρού τραύματος και κερκιδικής:</u> Acinetobacter baumannii MPA, Enterococcus faecalis <u>κ/α ούρων:</u> Enterococcus faecalis		Αποφρακτικός είλεός χειρουργημένος	Μεροπενέμη, ιπρατρόπιο, βεμηπαρίνη, ανιδουλοφουκίνη, ομεπραζόλη, οκρεοτιδία
10	A	74	75	165	100	50x2	10	<u>Κ/α υγρού ανοιχτού τραύματος:</u> Klebsiella pneumonia MDR	Χρόνια οστεομυελίτιδα (από 2006) στη δεξιά κνήμη	καμία συνοδός πάθηση	Μεροπενέμη, ταμσουλοσίνη, παντοπραζόλη, πινζαπαρίνη
11	A	55	133	163	100	50x3	10	<u>Κ/α υγρού ανοιχτού τραύματος:</u> Acinetobacter baumannii MDR, Enterobacter MDR	Διατύπωση χειρουργηθέντος τραύματος μετά από τοποθέτηση μηροϊνιακής παράκαμψης	Χρόνια νεφρική ανεπάρκεια (υπό αιμοκάθαρση), αρτηριακή υπέρταση, νοσογόνος παχυσαρκία	εσομεπραζόλη, ενοξαπαρίνη, αμλοδιπίνη, σίδηρος θειικός/φυλλικό οξύ, βουδεσονίδη, ιπρατρόπιο, επιοστίνη άλφα
12	A	47	70	168	100	50x3	9	<u>Κ/α αίματος:</u> Staphylococcus haemolyticum	Βακτηριαμία	Χρόνια νεφρική ανεπάρκεια (υπό αιμοκάθαρση), σακχαρώδης διαβήτης II, καρδιακή ανεπάρκεια	Βανκομικίνη, βουφλομεδίνη, πεντοξυφυλλίνη, παντοπραζόλη, ακετυλοσαλικυλικό οξύ, κλοπιδογρέλη, σιμβαστατίνη, φυλλικό οξύ, νατριούχος ενοξαπαρίνη, αμιωδαρόνη, μοξιφλοξασίνη, υδροκορτιζόνη, παρεντερική διατροφή με αμινοξέα, ιχνοστοχεία, γλυκόζη και ηλεκτρολύτες.
13	A	78	78	172	100	50x3	5	<u>Κ/α αίματος και ούρων:</u> Klebsiella pneumonia MDR	Βακτηριαμία	Στεφανιαία νόσος	Δεν αναφέρεται
14	Γ	57	90	158	100	50x2	6	<u>Κ/α αίματος:</u> Staph.epidermidis	Λοίμωξη του αναπνευστικού, ατελεκτασία δεξιού πνεύμονα	καμία συνοδός πάθηση	Μεροπενέμη, ιπρατρόπιο, βουδεσονίδη, παντοπραζόλη, επιοστίνη άλφα, φυλλικό οξύ, φουροσεμίδα, ατορβαστατίνη,
15	Γ	70	60	165	άγνωστο	50x2	>10	Δεν βρέθηκε	απουσία ιστορικού	απουσία ιστορικού	απουσία ιστορικού

B.1.β Πρωτόκολλο - Συλλογή δειγμάτων αίματος από ετερογενή ομάδα ασθενών που έλαβαν τουλάχιστον μία δόση τιγκεκυκλίνης (με ή χωρίς δόση φόρτισης)

Από κάθε ασθενή που έχρηζε θεραπείας με τιγκεκυκλίνη για την αντιμετώπιση της λοίμωξης του, επιδιώχθηκε να ληφθούν συνολικά πέντε δείγματα αίματος σε διαφορετικές ημέρες του χορηγούμενου δοσολογικού σχήματος. Το βέλτιστο δειγματοληπτικό σχήμα καθορίστηκε λαμβάνοντας υπόψη από τη βιβλιογραφία ότι για την επίτευξη σταθεροποιημένων επιπέδων της τιγκεκυκλίνης στον ορό απαιτείται χορήγηση δέκα ημερών. Το πρώτο δείγμα για κάθε ασθενή συλλέχθηκε πριν την έναρξη της χορήγησης του θεραπευτικού σχήματος με τιγκεκυκλίνη (blank sample). Τα δείγματα 2, 3, 4 και 5 λήφθηκαν αντίστοιχα την 1^η, 2^η, 3^η και 9^η ημέρα της χορήγησης μεταξύ της 1^{ης} και 2^{ης} ώρας από το τέλος της ενδοφλέβιας έγχυσης του φαρμάκου διάρκειας 30-60 min (συνήθως 30 min). Εναλλακτικά, σε περιπτώσεις μικρότερης των 10 ημερών διάρκειας χορήγησης, η τελευταία δειγματοληψία πραγματοποιούνταν την τελευταία ημέρα της χορήγησης της τιγκεκυκλίνης. Μετά τη συλλογή κάθε δείγματος αίματος σε κατάλληλο, με αντιπηκτικό, σωληνάκι όγκου 5 ml ακολουθούσε φυγοκέντρηση στις 3000 στροφές/min (rpm) για 15 λεπτά στο εργαστήριο του νοσοκομείου. Με το τέλος της φυγοκέντρησης παραλαμβάνονταν το πλάσμα με προσοχή και φυλασσόταν σε κατάλληλο γυάλινο περιέκτη στους -20°C μέχρι την άμεση μεταφορά του (τις επόμενες ημέρες) στον υπερκαταψύκτη στους -70°C. Κάθε γυάλινος περιέκτης έφερε ετικέτα με τα στοιχεία του ασθενούς από τον οποίο είχε παραληφθεί το δείγμα, την ώρα λήψης του σε σχέση με το τέλος της έγχυσης και την ημέρα χορήγησης της υπό προσδιορισμό ουσίας καθώς και την ώρα φυγοκέντρησης και φύλαξης.

B.2 Αναλυτική Μέθοδος

B.2.α Οργανολογία

B.2.α.1 Σύστημα υγροχρωματογραφίας υψηλής απόδοσης (HPLC)

Σύστημα υγροχρωματογραφίας υψηλής απόδοσης αποτελούμενο από αντλία Spectra Physics 8800, ανιχνευτή υπεριώδους-ορατού Spectra Physics 100 UV-vis, και λογισμικό Clarity (ThermoQuest Inc., San Jose, USA).

Σύστημα παροχής διαλυτών

Το σύστημα παροχής διαλυτών αποτελείται από δύο μέρη, την ηλεκτρονική μονάδα ελέγχου Waters 600 και την αντλία παροχής διαλυτών Spectra Physics 8800. Παρέχει τη δυνατότητα ρύθμισης της ταχύτητας ροής της κινητής φάσης και την αποθήκευση δεδομένων. Η βαλβίδα εισαγωγής δείγματος φέρει βρόγχο σταθερού όγκου 50μl, για τις ανάγκες της παρούσας μελέτης, με θέση φόρτωσης και θέση έγχυσης-ένεσης του δείγματος.

Ανιχνευτής

Ως σύστημα ανίχνευσης χρησιμοποιήθηκε φασματοφωτομετρικός ανιχνευτής υπεριώδους-ορατού Spectra Physics 100 UV-vis. Ο συγκεκριμένος ανιχνευτής έχει δυνατότητα μέτρησης στο υπεριώδες και το ορατό φάσμα ακτινοβολίας.

Χρωματογραφική Στήλη

Για τον προσδιορισμό της τιγκεκυκλίνης χρησιμοποιήθηκε η αναλυτική στήλη Hypersil BDS-C18 με διάμετρο σωματιδίων 5μm και διαστάσεις 250x4.6 mm. Για την προστασία της στήλης προηγήθηκε μεταξύ του συστήματος εισαγωγής δείγματος και της στήλης, προσθήκη Hypersil BDS-C18 CPG διαστάσεων 10x4.6 mm, 5μm Waters–Spherisorb (Bischoff, Germany). Ιδιαίτερης σημασίας είναι η χρήση της προσθήκης κατά την ανάλυση βιολογικών υγρών όπως το πλάσμα αίματος των ασθενών, καθώς λειτουργεί σαν φίλτρο και προστατεύει τη χρησιμοποιούμενη στήλη από ακαθαρσίες και προσμίξεις.

Ηλεκτρονικός υπολογιστής-Στατιστικά προγράμματα

Για τον έλεγχο του χρωματογραφικού συστήματος, την επεξεργασία των πειραματικών δεδομένων και την παρουσίαση των αποτελεσμάτων χρησιμοποιήθηκε ηλεκτρονικός υπολογιστής εξοπλισμένος με το πρόγραμμα Clarity της ThermoQuest Inc., San Jose, USA. Η επεξεργασία των αποτελεσμάτων και οι καμπύλες βαθμονόμησης έγιναν με τη χρήση του προγράμματος Microsoft Excel.

B.2.α.2 Σύστημα διήθησης διαλυτών

Η κινητή φάση πριν τη διοχέτευσή της στο χρωματογραφικό σύστημα υφίσταται διήθηση υπό κενό, σε συσκευή διήθησης διαλυτών, μέσω φίλτρων μεμβράνης Nylon μεγέθους πόρων 47mm-0.45μm με σκοπό την εξασφάλιση της μέγιστης δυνατής καθαρότητας της για την αποφυγή απόφραξης της στήλης και των άλλων στενών σωληνώσεων από σωματίδια. Ταυτόχρονα, με τη διήθηση υπό κενό επιτυγχάνεται η απαέρωση της κινητής φάσης, ώστε να περιορίζεται ο κίνδυνος βλάβης του χρωματογραφικού συστήματος από τη διέλευση φυσαλίδων αέρα.

B.2.α.3 Αναλυτικός ζυγός

Για τις διάφορες ζυγίσεις και την παρασκευή των πρότυπων διαλυμάτων χρησιμοποιήθηκε αναλυτικός ζυγός τύπου Kern 770 με ακρίβεια ανάγνωσης $\pm 0,01\text{mg}$ (Kern & Sohn GmbH, Albstadt, Germany).

B.2.α.4 Σύστημα παροχής ύδατος αντίστροφης ώσμωσης

Πρόκειται για ένα σύστημα παραγωγής ύδατος, υψηλής αναλυτικής καθαρότητας, απαλλαγμένο από παρεμποδίζοντα οργανικά και ανόργανα σωματίδια ή φορτίο, κατάλληλου για ενόργανες τεχνικές ανάλυσης όπως η HPLC. (Labconco® water pro ps. System, Kansas City, Missouri, USA) Το σύστημα τροφοδοτείται με νερό βρύσης. Ένδειξη της καταλληλότητας του ύδατος προς αναλυτική χρήση αποτελεί

η αγωγιμότητά του η οποία δεν πρέπει να λαμβάνει τιμές μικρότερες από 18 MΩ.cm.

B.2.α.5 Πεχάμετρο

Ο προσδιορισμός του pH των διαλυμάτων και η ρύθμιση του pH της κινητής φάσης έγινε με πεχάμετρο τύπου ORION model 410A με ηλεκτρόδιο υάλου. Η βαθμονόμηση, δύο σημείων, του πεχαμέτρου διεξάγεται με πρότυπα ρυθμιστικά διαλύματα γνωστού pH σε θερμοκρασία δωματίου.

B.2.α.6 Συσκευή περιδίνησης (Vortex)

Για την έντονη ανάδευση των δειγμάτων χρησιμοποιήθηκε αναδευτήρας περιδίνησης τύπου IKA MS 3 basic, 100-2400 1/min (Heidolph) με διακόπτη ρύθμισης της λειτουργίας της συσκευής και της ταχύτητας περιστροφής.

B.2.α.7 Φυγόκεντρος

Η φυγοκέντρωση των δειγμάτων προς ανάλυση γινόταν με φυγόκεντρο τύπου Sigma 202 MK.

B.2.α.8 Διάφορα όργανα-υλικά

Για τις ανάγκες της ανάλυσης και της προετοιμασίας των δειγμάτων χρησιμοποιήθηκαν ακόμη: Φυγοκεντρικά γυάλινα σωληνάκια με κωνικό πάτο, γυάλινες πιπέτες Pasteur, συσκευή υπερήχων ELMA S,100 H (elmasonic), μικροσύριγγα Hamilton ένεσης των δειγμάτων στον εισαγωγέα του χρωματογραφικού συστήματος και φούρνος θερμοστάτησης στήλης για τη διατήρηση της θερμοκρασίας σταθερής στους 18-20°C κατά τη διάρκεια της ανάλυσης.

B.2.β Διαλύτες-Αντιδραστήρια-Διαλύματα

B.2.β.1 Διαλύτες

Οι διαλύτες που χρησιμοποιήθηκαν στην παρούσα διπλωματική εργασία ήταν: Ύδωρ, βαθμού καθαρότητας HPLC.

Ακετονιτρίλιο (ACN), βαθμού καθαρότητας 99,8% για χρωματογραφική ανάλυση HPLC, της εταιρίας Merck (Darmstadt, Γερμανία).

Μεθανόλη (MeOH) καθαρότητας 99,8% για χρωματογραφική ανάλυση HPLC, της εταιρίας Merck (Darmstadt, Γερμανία).

B. 2.β.2 Αντιδραστήρια-Διαλύματα

Στην παρούσα εργασία χρησιμοποιήθηκαν τα ακόλουθα αντιδραστήρια και διαλύματα:

Τιγκεκυκλίνη (Tigecycline)

Καθαρή ουσία

Για το πειραματικό μέρος χρησιμοποιήθηκε καθαρή στερεή ουσία Τιγκεκυκλίνης σε σκόνη, βάση, ευγενική χορηγία της εταιρίας Wyeth Pharmaceuticals, Pearl River, NY) που διατίθεται στο εμπόριο (εταιρία Wyeth Hellas A.E.B.E.), για την παρασκευή διαλύματος παρακαταθήκης.

Διάλυμα παρακαταθήκης Τιγκεκυκλίνης (stock solution Tigecycline)

Ζυγίζονται 10 mg πρότυπης ουσίας και προστίθενται σε ογκομετρική φιάλη των 100 ml. Ακολουθεί αραίωση με μεθανόλη μέχρι τη χαραγή ώστε να προκύψει διάλυμα τελικής συγκέντρωσης 100 µg/ml. Το διάλυμα παρακαταθήκης (stock solution) φυλάσσεται στην κατάψυξη, στους -20 °C, και χρησιμοποιείται μόνο αφού επανέλθει σε θερμοκρασία δωματίου. Υπό αυτές τις συνθήκες, το διάλυμα παραμένει σταθερό για περίπου τρεις εβδομάδες. Επίσης, ο περιέκτης καλύπτεται με αλουμινόχαρτο για την αποφυγή έκθεσης του διαλύματος στο φως και της πιθανής διάσπασης της ουσίας.

Διαλύματα εργασίας Τιγκεκυκλίνης

Από το παραπάνω διάλυμα παρακαταθήκης παρασκευάζεται κάθε φορά διάλυμα εργασίας (working standard solution) τιγκεκυκλίνης συγκέντρωσης 10μg/ml με αραιώση 1ml διαλύματος παρακαταθήκης με MeOH σε ογκομετρική φιάλη των 10ml. Στη συνέχεια το διάλυμα αυτό εργασίας χρησιμοποιείται για την παρασκευή πρότυπων διαλυμάτων με εύρος συγκεντρώσεων 60-600 ng/ml (60, 80, 120, 200, 300, 600 ng/ml) και την κατασκευή καμπύλης αναφοράς του αναλύτη σε κινητή φάση. Για την κατασκευή αντίστοιχης καμπύλης βαθμονόμησης σε πλάσμα ασθενών παρασκευάζονται πρότυπα διαλύματα εργασίας τιγκεκυκλίνης για έξι επίπεδα συγκέντρωσης του αναλύτη με εύρος από 1800 έως 18000 ng/ml (1800, 2400, 3600, 6000, 9000, 18000 ng/ml), τα οποία αντιστοιχούν σε τελικές συγκεντρώσεις 60-600 ng/ml (60, 80, 120, 200, 300, 600 ng/ml) σε πλάσμα αίματος (αναλυτική περιγραφή στην παράγραφο Β.2.γ.2). Η τελική αραιώση γίνεται με MeOH σε ογκομετρικές φιάλες των 10ml.

Μινοκυκλίνη (Minocycline)

Καθαρή ουσία

Για την πειραματική ανάλυση χρησιμοποιήθηκε επίσης καθαρή στερεή ουσία υδροχλωρικής μινοκυκλίνης (ευγενική χορηγία της φαρμακευτικής εταιρίας ΕΛΠΕΝ Α.Ε.), καθαρότητας 90,3%. Η μινοκυκλίνη χρησιμοποιήθηκε ως εσωτερικό πρότυπο κατά τη μέθοδο προσδιορισμού της τιγκεκυκλίνης σε πλάσμα αίματος ετερογενούς ομάδας ασθενών.

Διάλυμα παρακαταθήκης Μινοκυκλίνης

Ζυγίζονται 10 mg πρότυπης ουσίας και προστίθενται σε ογκομετρική φιάλη των 100 ml. Ακολουθεί αραιώση με μεθανόλη μέχρι τη χαραγή ώστε να προκύψει διάλυμα τελικής συγκέντρωσης 100 μg/ml. Το διάλυμα παρακαταθήκης (stock solution) φυλάσσεται στην κατάψυξη, στους -20 °C, και χρησιμοποιείται μόνο αφού επανέλθει σε θερμοκρασία δωματίου. Υπό αυτές τις συνθήκες, το διάλυμα παραμένει σταθερό για περίπου τρεις εβδομάδες. Επίσης, ο περιέκτης

καλύπτεται με αλουμινόχαρτο για την αποφυγή έκθεσης του διαλύματος στο φως και της πιθανής διάσπασης της ουσίας.

Διάλυμα εργασίας Μινοκυκλίνης

Από το παραπάνω διάλυμα παρακαταθήκης παρασκευαζόταν κάθε φορά διάλυμα εργασίας (working standard solution) μινοκυκλίνης συγκέντρωσης 30μg/ml (ή 30000 ng/ml) με αρραίωση 3 ml διαλύματος παρακαταθήκης με MeOH σε ογκομετρική φιάλη των 10ml.

Υδροξείδιο του Καλίου (Καυστικό Κάλιο, KOH) καθαρότητας 85% της εταιρίας Panreac Quimica SA

Διάλυμα KOH 1M

Δισόξινο φωσφορικό κάλιο διένυδρο ($\text{KH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) βαθμού καθαρότητας pro-analysis της εταιρίας Merck

Ρυθμιστικό διάλυμα KH_2PO_4 0.070 M, pH 7.10 (phosphate buffer)

Για την παρασκευή του ρυθμιστικού διαλύματος ζυγίζονται 9,5263 g KH_2PO_4 (M.B.= 136,09), μεταφέρονται σε ποτήρι ζέσεως των 1000ml και προστίθενται ~700 ml νερό-HPLC. Μετά τη διάλυση του στερεού με παραμονή του στους υπερήχους για 2-3 λεπτά γίνεται ρύθμιση του pH στο 7.1 με σταδιακή προσθήκη KOH 1M και παρακολούθηση του pH με πεχάμετρο. Τέλος, μεταφέρεται το διάλυμα σε ογκομετρική φιάλη των 1000 ml και συμπληρώνεται ο όγκος μέχρι τη χαραγή με νερό HPLC.

Υπερχλωρικό οξύ (HClO_4) 20% v/v της εταιρίας Merck (Darmstadt, Γερμανία)

Υδατικό διάλυμα υπερχλωρικού οξέος συγκέντρωσης 14.2% v/v

Παρασκευάζεται με μεταφορά 4 ml διαλύματος HClO_4 20% v/v σε ογκομετρική φιάλη των 20 ml και προσθήκη νερού-HPLC μέχρι τη χαραγή. Το διάλυμα HClO_4 χρησιμοποιείται κατά τη διαδικασία προκατεργασίας των δειγμάτων πλάσματος,

προτύπων και αγνώστων, με στόχο την καταβύθιση των πρωτεϊνών με αποδιάταξη της δομής τους για την αποφυγή παρεμποδίσεων κατά την χρωματογραφική ανάλυση ή βλάβης του συστήματος HPLC ή/και επίδρασης στην χρωματογραφική απόδοση ή επαναληψιμότητα της μεθόδου.

B.2.β.3 Πλάσμα

Για την παρασκευή εμβολιασμένων πρότυπων δειγμάτων τιγεκυκλίνης σε πλάσμα, χρησιμοποιήθηκε πλάσμα από ετερογενή ομάδα ασθενών από τους οποίους λήφθηκε δείγμα αίματος προ της έναρξης της προαποφασισμένης, από την ομάδα των λοιμωξιολόγων, αγωγής με τιγεκυκλίνη. Επίσης, στην ομάδα των ασθενών το αίμα των οποίων χρησιμοποιήθηκε κατά την πειραματική ανάλυση, δεν είχε χορηγηθεί το εσωτερικό πρότυπο μινοκυκλίνη για εύλογο χρονικό διάστημα. Το πλάσμα φυλασσόταν στον υπερκαταψύκτη στους -70°C και αποψυχόταν κατά την ημέρα της ανάλυσης περίπου 20-30 min πριν τη χρήση προκειμένου να έρθει η θερμοκρασία του σε θερμοκρασία δωματίου.

B.2.γ. Χρωματογραφικές συνθήκες-Πορεία ανάλυσης

B.2.γ.1 Χρωματογραφικές συνθήκες

Η στήλη που χρησιμοποιήθηκε αναφέρεται στην ενότητα B.2.α. Η βέλτιστη κινητή φάση είναι μίγμα ρυθμιστικού διαλύματος δισόξινου φωσφορικού καλίου (KH_2PO_4) με pH 7.10 συγκέντρωσης 0.070 M και ακετονιτριλίου σε εκατοστιαία αναλογία 76:24 v/v. Για την παρασκευή του ρυθμιστικού διαλύματος χρησιμοποιήθηκε το άλας δισόξινου φωσφορικού καλίου που διαθέτει την υψηλότερη ρυθμιστική χωρητικότητα. Η τιμή του pH 7.10 εξασφαλίζει τον αποτελεσματικό διαχωρισμό μεταξύ του αναλύτη μας, της τιγεκυκλίνης, και του εσωτερικού προτύπου, της μινοκυκλίνης με αναμενόμενη έκλουση της μεν τιγεκυκλίνης στα 8.1 min της δε μινοκυκλίνης στα 9.9. min. Η συγκέντρωση 0.07 M των φωσφορικών στο διάλυμα είναι ιδανική τόσο για τη συμμετρία της κορυφής, όσο και για το χρόνο έκλουσης της τιγεκυκλίνης. Ο συνολικός χρόνος

της ανάλυσης ήταν 12 min. Πριν τη χρήση της, η κινητή φάση διηθείται υπό κενό μέσω φίλτρων μεμβράνης Nylon μεγέθους πόρων 47mm-0.45μm και ταυτόχρονα απαερώνεται. Η ταχύτητα ροής της κινητής φάσης ρυθμίζεται σε 1 ml/min και το χρωματογραφικό σύστημα αφήνεται να ισορροπήσει για δύο ώρες, πριν την ανάλυση. Ο όγκος του βρόγχου εισαγωγής του δείγματος είναι 50 μl για τις ανάγκες αυτής της ανάλυσης. Η απορρόφηση του υπό ανάλυση αντιβιοτικού μετράται με ρύθμιση του μήκους κύματος (λ) του ανιχνευτή στα 350 nm. Όλα τα πειράματα πραγματοποιήθηκαν σε θερμοκρασία ~18-20°C και για το σκοπό αυτό χρησιμοποιήθηκε φούρνος στήλης ώστε να εξασφαλιστεί σταθερή θερμοκρασία σε όλη τη διάρκεια της πειραματικής διαδικασίας.

B.2.γ.2 Παρασκευή πρότυπων δειγμάτων σε πλάσμα αίματος - Κατασκευή καμπύλης βαθμονόμησης στο πλάσμα

Βήμα 1^ο: Παρασκευή πρότυπων διαλυμάτων εργασίας τιγκεκυκλίνης

Όπως αναφέρθηκε στην παράγραφο B.2.β.2, κάθε φορά παρασκευάζονται έξι πρότυπα διαλύματα εργασίας της υπό προσδιορισμό ουσίας για την κατασκευή καμπύλης αναφοράς της τιγκεκυκλίνης σε πλάσμα αίματος ασθενών, το οποίο συλλέχθηκε όπως περιγράφηκε παραπάνω προ της έναρξης της χορήγησης της θεραπευτικής αγωγής με τιγκεκυκλίνη. Συγκεκριμένα, παρασκευάζονται με προσθήκη 180, 240, 360, 600, 900 και 1800 μl αντίστοιχα από το διάλυμα παρακαταθήκης της τιγκεκυκλίνης (παράγραφος B.2.β.2-stock solution Tigecycline) σε 6 ογκομετρικές φιάλες όγκου 10 ml και αραίωση με MeOH μέχρι τη χαραγή. Τα έξι αυτά επίπεδα συγκέντρωσης αντιστοιχούν σε τελικές συγκεντρώσεις των διαλυμάτων, ύστερα από αναγωγή σε ml καθαρού πλάσματος, με εύρος συγκέντρωσης από 60 έως 600 ng/ml για την τιγκεκυκλίνη.

Βήμα 2^ο: Παρασκευή διαλύματος εργασίας του εσωτερικού προτύπου μινוקυκλίνης

Το διάλυμα εργασίας της μινוקυκλίνης προκύπτει από αραίωση μιας ποσότητας του αντίστοιχου διαλύματος παρακαταθήκης με MeOH σε ογκομετρική φιάλη των 10 ml, όπως περιγράφεται στην παράγραφο B.2.β.2.

Βήμα 3^ο: Παρασκευή υδατικού διαλύματος υπερχλωρικού οξέος συγκέντρωσης 14.2% v/v

Όπως περιγράφηκε αναλυτικά στην παράγραφο Β.2.β.2. γίνεται η παρασκευή του εν λόγω διαλύματος με την προσθήκη του οποίου εξασφαλίζεται η καταβύθιση των πρωτεϊνών του πλάσματος για την αποφυγή παρεμποδίσεων, επιδράσεων στην απόδοση της μεθόδου ή/και βλάβη του χρωματογραφικού συστήματος.

Βήμα 4^ο: Προκατεργασία δείγματος

Για την προκατεργασία των πρότυπων δειγμάτων ακολουθούνται τα εξής βήματα: 500 μl πλάσματος, που έχει παραμείνει σε θερμοκρασία δωματίου περίπου 20-30 min μέχρι να ξεπαγώσει, μεταφέρονται από το γυάλινο περιέκτη φύλαξης σε γυάλινο φυγοκεντρικό σωλήνα με κωνικό πάτο χωρητικότητας 15 ml. Σε αυτόν προστίθενται 25 μl πρότυπου διαλύματος εργασίας τιγκεκυκλίνης (από το βήμα 1) και 25μl διαλύματος εργασίας μινουκυκλίνης (από το βήμα 2). Ακολουθεί αμέσως ανάδευση του διαλύματος με vortex για 1-2 min. Στη συνέχεια γίνεται προσθήκη 200 μl υδατικού διαλύματος HClO_4 14,2% v/v (από το βήμα 3) για την κατακρήμνιση των πρωτεϊνών και αμέσως επαναλαμβάνεται η διαδικασία της ανάδευσης (vortex). Ο τελικός όγκος του παρασκευάσματος είναι 750 μl. Ακολουθεί η φυγοκέντρωση στις 4000 στροφές ανά λεπτό (rpm) για 15 min και με ρύθμιση της θερμοκρασίας στους 5°C. Με τη λήξη της φυγοκέντρωσης συλλέγεται το υπερκείμενο διήθημα με γυάλινη πιπέτα Pasteur, μεταφέρεται σε καθαρό γυάλινο σωληνάκι και εν συνεχεία ενίονται 50μl από αυτό στον εισαγωγέα δείγματος του χρωματογραφικού συστήματος. Στόχος της προκατεργασίας των δειγμάτων πλάσματος, τόσο των γνωστών, όπως εδώ περιγράφεται, όσο και των αγνώστων, όπως περιγράφεται στην παράγραφο Β.2.γ.3, είναι η παραλαβή της τιγκεκυκλίνης και της μινουκυκλίνης από το πλάσμα, καθώς και η απαλλαγή από το σύνολο των πρωτεϊνών της μήτρας του δείγματος μέσω της αποδιάταξης της δομής τους και την απελευθέρωση των ενώσεων από αυτές.

B.2.γ.3 Προκατεργασία άγνωστων δειγμάτων σε πλάσμα αίματος ασθενών που λάμβαναν τιγκεκυκλίνη

Για την προκατεργασία των άγνωστων δειγμάτων από τα οποία θα προσδιορισθεί η συγκέντρωση της τιγκεκυκλίνης στο αίμα των ασθενών που αποτέλεσαν την ομάδα μελέτης, ακολουθείται η διαδικασία που περιγράφηκε παραπάνω στην παράγραφο B.2.γ.2-βήμα 4, για τα πρότυπα δείγματα με μία βασική διαφορά: Παραλείπεται το στάδιο της προσθήκης τιγκεκυκλίνης και αντ' αυτού προστίθενται στο γυάλινο σωλήνα φυγοκέντρωσης 25 μl MeOH αναλυτικής καθαρότητας με την τεχνική της υδροχρωματογραφίας υψηλής απόδοσης. Μετά τη συλλογή του υπερκείμενου διηθήματος και τη μεταφορά του στο καθαρό γυάλινο σωληνάκι γίνεται ένεση 50μl στον εισαγωγέα δείγματος του συστήματος της HPLC.

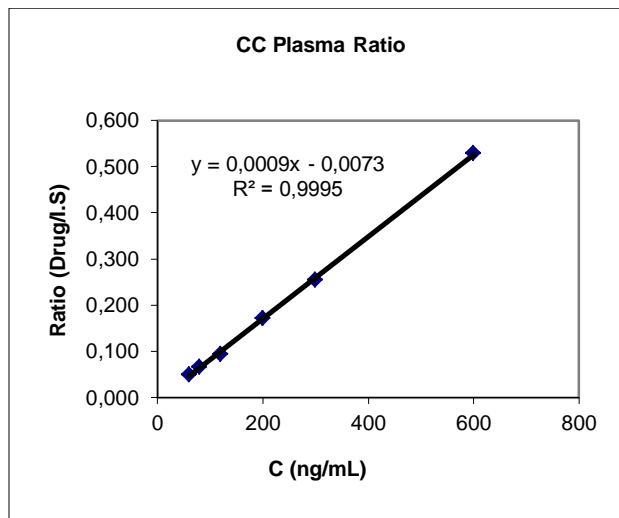
Γ. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ-ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Γ1. Χαρακτηριστικά των καμπυλών αναφοράς

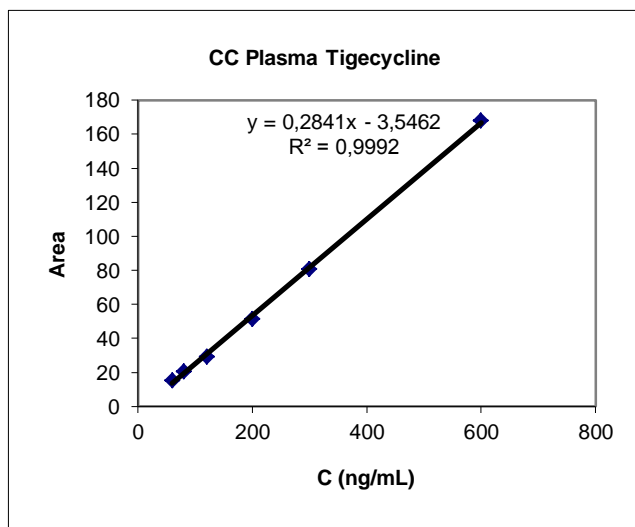
Στον πίνακα Γ1 που ακολουθεί, παρατίθενται τα χαρακτηριστικά των καμπυλών αναφοράς που κατασκευάζονταν πριν από κάθε πείραμα προσδιορισμού των συγκεντρώσεων της τιγκεκυκλίνης στα δείγματα αίματος των ασθενών. Στη συνέχεια, στα σχήματα Γ1, Γ2 παρατίθενται ενδεικτικές καμπύλες αναφοράς με και χωρίς τη χρήση εσωτερικού προτύπου και στα σχήματα Γ3, Γ4 ενδεικτικά χρωματογραφήματα της πειραματικής ανάλυσης για τον προσδιορισμό των συγκεντρώσεων της τιγκεκυκλίνης στο πλάσμα της ομάδας μελέτης των ασθενών.

Πίνακας Γ1. Χαρακτηριστικά των καμπυλών αναφοράς: κλίση, τεταγμένη, εύρος συγκεντρώσεων και r^2 .

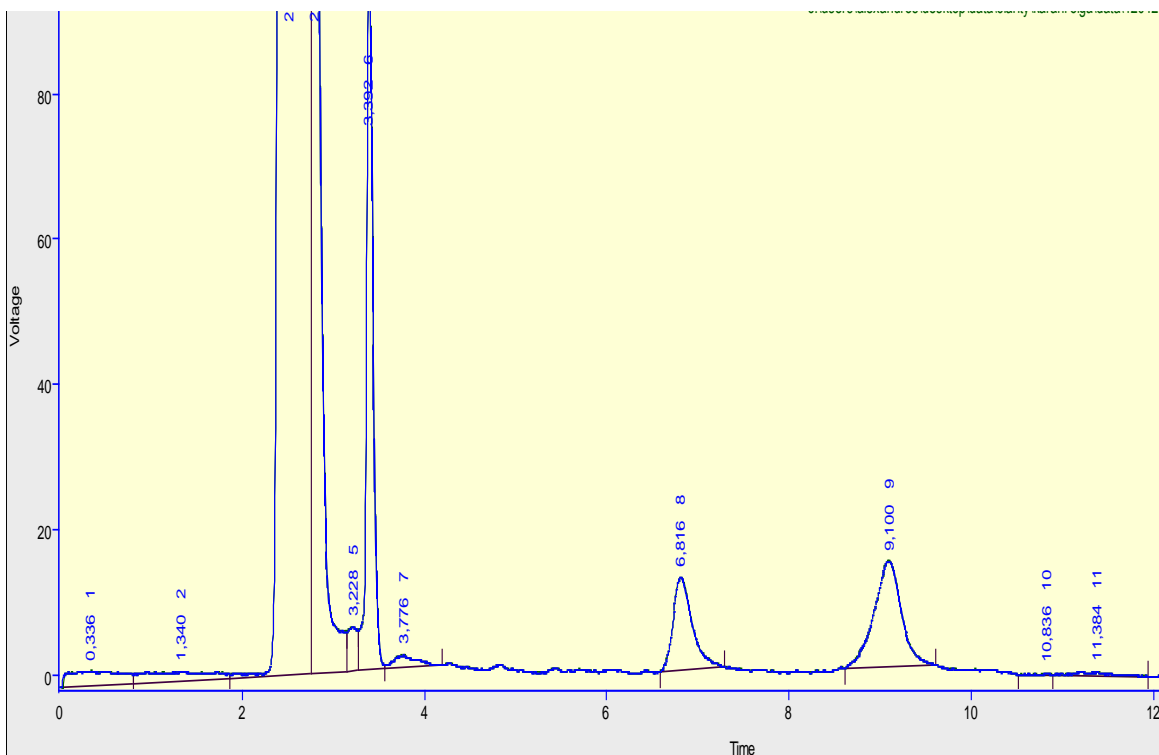
Καμπύλη αναφοράς στο πλάσμα	Κλίση ($b \pm s$)	Τεταγμένη ($a \pm s$)	Εύρος συγκεντρώσεων (ng/ml)	r^2 (n)
1	0,0043 \pm 0,0001	-0,0464 \pm 0,0383	60-600	0,9964 (6)
2	0,001 \pm 0,00003	-0,019 \pm 0,0097	60-600	0,9958 (6)
3	0,0009 \pm 0,00003	-0,024 \pm 0,0097	60-600	0,9943 (6)
4	0,0008 \pm 0,00002	-0,0111 \pm 0,007	60-600	0,9965 (6)
5	0,0009 \pm 0,00001	-0,007 \pm 0,0029	60-600	0,9995 (6)



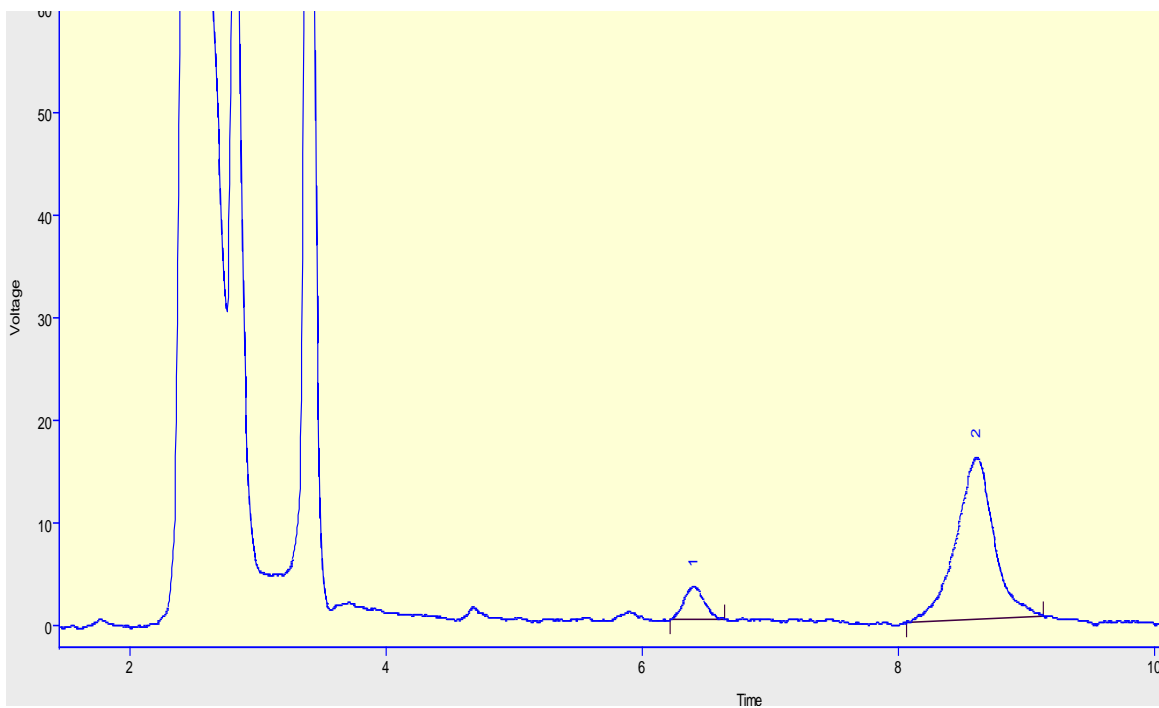
Σχήμα Γ1. Ενδεικτική καμπύλη αναφοράς για τα πειράματα προσδιορισμού των συγκεντρώσεων της τιγκεκυκλίνης στο πλάσμα ασθενών με τη χρήση εσωτερικού προτύπου (I.S.).



Σχήμα Γ2. Ενδεικτική καμπύλη αναφοράς για τα πειράματα προσδιορισμού των συγκεντρώσεων της τιγκεκυκλίνης στο πλάσμα ασθενών.



Σχήμα Γ3. Ενδεικτικό χρωματογράφημα από καμπύλη αναφοράς στο πλάσμα (C=120 ng/ml, 8=τιγκεκυκλίνη, 9=μιννοκυκλίνη).



Σχήμα Γ4. Ενδεικτικό χρωματογράφημα προσδιορισμού της συγκέντρωσης τυγκεκυκλίνης στο πλάσμα ασθενούς (ασθενής 09, 6^η ημέρα χορήγησης, 1=τιγκεκυκλίνη, 2=μιννοκυκλίνη).

Γ2. Υπολογισμός των εξατομικευμένων παραμέτρων των ασθενών που έλαβαν τιγκεκυκλίνη

Σε συνέχεια της πειραματικής ανάλυσης για τη μέτρηση των επιπέδων της τιγκεκυκλίνης στο αίμα των ασθενών ακολούθησε ο προσδιορισμός των εξατομικευμένων φαρμακοκινητικών παραμέτρων κάθε ασθενούς που συμμετείχε στη μελέτη. Συγκεκριμένα έγινε ο υπολογισμός της συστηματικής κάθαρσης της τιγκεκυκλίνης για κάθε ασθενή με τη βοήθεια της πληθυσμιακής φαρμακοκινητικής και του λογισμικού NONMEM με τελικό στόχο να προσδιοριστεί η φαρμακοδυναμική παράμετρος AUC_{24}/MIC (h) που θεωρείται δείκτης της *in vivo* αποτελεσματικότητας της τιγκεκυκλίνης.

Ο υπολογισμός της παραμέτρου AUC_{24} (mg.h/L) βασίζεται στη σχέση:

$$AUC_{24} = F \times D / CL_D \quad \text{εξίσωση 1}$$

όπου $F=1$ η βιοδιαθεσιμότητα λόγω της ενδοφλέβιας χορήγησης, D = ημερήσια χορηγούμενη δόση σε mg και CL_D = συστηματική ή ολική κάθαρση του φαρμάκου σε L/hr ή ml/min.

Για την εξατομικευμένη εκτίμηση της ολικής κάθαρσης της τιγκεκυκλίνης χρησιμοποιήθηκαν από τη βιβλιογραφία οι πληθυσμιακές τιμές των φαρμακοκινητικών παραμέτρων θεωρώντας δι-διαμερισματικό μοντέλο και οι οποίες παρατίθενται στον ακόλουθο πίνακα (Πίνακας Γ2), καθώς και το μοντέλο για την κάθαρση με συμμεταβλητές την επιφάνεια σώματος (BSA) και την κάθαρση κρεατινίνης (CrCL) (Εξίσωση 2)⁹²:

$$CL = 19,6 + [10,2 \times (BSA - 1,73)] + [0,0638 \times (CrCL - 100)] \quad \text{εξίσωση 2}$$

Πίνακας Γ2. Τιμές των πληθυσμιακών παραμέτρων από τη βιβλιογραφία⁹² που χρησιμοποιήθηκαν για τη Μπαεσιανή εκτίμηση των φαρμακοκινητικών παραμέτρων κάθε ασθενούς και την προσομείωση με τη μέθοδο Monte Carlo.

Παράμετροι (μονάδες)	Μέσες Τιμές	BSV% *
Κάθαρση (CL, L/h)	εξίσωση 2	40.4
Όγκος κατανομής κεντρικού διαμερίσματος (V ₁ , L)	65.2	82.1
Κάθαρση από V1 σε V2 (Q, L/h)	85.1	110
Όγκος κατανομής περιφερικού διαμερίσματος (V ₂ , L)	398	40.2
Επιφάνεια σώματος (BSA, m ²)	1.83	12.6
Κάθαρση κρεατινίνης (CrCL, ml/min/1.73m ²)	79.7	44.0

*BSV%: Between Subject Variability

Η μεθοδολογία που εφαρμόστηκε για την εκτίμηση των εξατομικευμένων παραμέτρων των ασθενών της μελέτης έχει τη βάση της στο Θεώρημα του Bayes απ' όπου και πήρε το όνομα της και είναι γνωστή ως εμπειρική Μπαεσιανή εκτίμηση (Empirical Bayesian Estimation). Το θεώρημα του Bayes περιγράφει ότι για μία στοχαστική μεταβλητή, όπως στην προκειμένη περίπτωση μία φαρμακοκινητική παράμετρος, η τελική ή posterior κατανομή (πιθανοτήτων) αυτής είναι ανάλογη του γινομένου της πιθανότητας που προκύπτει γι' αυτή τη μεταβλητή από τις πειραματικές παρατηρήσεις (data likelihood) επί την prior κατανομή (πιθανοτήτων) που προκύπτει από την ήδη υπάρχουσα πληροφορία και η οποία εκφράζεται από τις πληθυσμιακές παραμέτρους. Στην κλινική πράξη η μπαεσιανή προσέγγιση παρέχει τη δυνατότητα εκτίμησης των φαρμακοκινητικών παραμέτρων ενός ασθενούς μέσω ενός μικρού αριθμού μετρήσεων των συγκεντρώσεων του φαρμάκου στο αίμα του σε συνδυασμό με τα αποτελέσματα μιας πληθυσμιακής φαρμακοκινητικής ανάλυσης με μέσες τιμές θ για τον πληθυσμό, τη δι-ατομική μεταβλητότητα Ω και την ενδο-ατομική μεταβλητότητα σ . Οι εμπειρικές μπαεσιανές παράμετροι εκτιμώνται με μη γραμμική ανάλυση παλινδρόμησης. Στα πλαίσια αυτής της εκτίμησης με τη

μέθοδο της μέγιστης πιθανοφάνειας και θέλοντας να περιγράψουμε τα παραπάνω, μπορούμε να δείξουμε ότι οι εξατομικευμένες τιμές των παραμέτρων ξ εκτιμώνται, γνωρίζοντας τις πληθυσμιακές τιμές θ , Ω και σ , με ελαχιστοποίηση της ακόλουθης αντικειμενικής συνάρτησης: (εξίσωση 3)

$$F(\xi) = \sum_{j=1}^n (C_j - f(\xi, t_j))^2 / \sigma^2 + \sum_{k=1}^p (\theta_k - \xi_k)^2 / \Omega_k^2 \quad \text{εξίσωση 3}$$

Όπου C_{ij} η συγκέντρωση του φαρμάκου τη χρονική στιγμή j και το φαρμακοκινητικό μοντέλο που την περιγράφει δίνεται από την μαθηματική συνάρτηση $f(\xi, t_j)$, όπου ξ το διάνυσμα των P φαρμακοκινητικών παραμέτρων (ξ_1, \dots, ξ_k) και t_j ο χρόνος. θ_k είναι η πληθυσμιακή μέση τιμή της k παραμέτρου, Ω_k η διατομική μεταβλητότητα της k παραμέτρου και σ η ενδοατομική μεταβλητότητα.

Στη συνάρτηση αυτή (εξίσωση 3) το πρώτο σκέλος του αθροίσματος τετραγώνων περιγράφει την απόσταση του μοντέλου από τα δεδομένα και το δεύτερο σκέλος περιγράφει την απόσταση των παραμέτρων του ασθενούς από τις πληθυσμιακές τιμές. Όταν η αντικειμενική αυτή συνάρτηση ελαχιστοποιείται τότε οι τιμές ξ των φαρμακοκινητικών παραμέτρων αντανakλούν το γεγονός ότι το μοντέλο και οι εκτιμήσεις του βρίσκονται κοντά στα πειραματικά δεδομένα και ταυτόχρονα δεν απέχουν πολύ από τις πληθυσμιακές τιμές. Με τη μπάεσιανή προσέγγιση ουσιαστικά το πρώτο σκέλος της συνάρτησης αντιστοιχεί στην πιθανότητα που προκύπτει για τη στοχαστική μεταβλητή από τις πειραματικές παρατηρήσεις (data likelihood) και το δεύτερο στην προγενέστερη γνώση (prior) που προκύπτει από τον πληθυσμό. Οι δύο όροι του αθροίσματος των τετραγώνων είναι ζυγισμένοι (weighted), ο μεν πρώτος με τη ενδο-ατομική μεταβλητότητα, σ , ο δε δεύτερος με τη δια-τομική μεταβλητότητα, Ω . Όσο το σ λαμβάνει υψηλότερες τιμές τόσο μεγαλύτερη είναι η αβεβαιότητα για τα πειραματικά δεδομένα, καθώς το σ είναι η τυπική απόκλιση των σφαλμάτων ε_j των παραμέτρων ξ . Επίσης, όσο μικρότερη είναι η τιμή της διακύμανσης Ω τόσο μεγαλύτερη είναι η πιθανότητα οι εκτιμώμενες φαρμακοκινητικές παράμετροι ξ να ενσωματώνουν μικρή διατομική

μεταβλητότητα και συνεπώς να έχουν μεγαλύτερη πιθανότητα να προσεγγίζουν τις πληθυσμιακές μέσες τιμές θ .

Επανερχόμενοι συγκεκριμένα στη μελέτη μας, φαίνονται στον πίνακα Γ2 οι πληθυσμιακές μέσες τιμές των παραμέτρων και η διατομική μεταβλητότητα αυτών εκφρασμένη μέσω της διασποράς των τιμών (%BSV), που χρησιμοποιήθηκαν για την εκτίμηση των εξατομικευμένων φαρμακοκινητικών παραμέτρων των ασθενών. Το φαρμακοκινητικό μοντέλο που εφαρμόστηκε όπως φαίνεται έχει παραμετροποιηθεί με τη χρήση της συστηματικής κάθαρσης (CL), τον όγκο κατανομής στο κεντρικό διαμέρισμα (αίμα) (V_1), την κάθαρση (Q) της κατανομής του φαρμάκου από το κεντρικό διαμέρισμα στο περιφερικό (ιστός) και τον όγκο κατανομής (V_{ss}) στη σταθεροποιημένη κατάσταση.

Για να αναλύσουμε τα πειραματικά δεδομένα με το λογισμικό NONMEM, χρειάστηκε η δημιουργία δύο αρχείων: ενός “Control file” και ενός “Data file”.

Για το σκοπό αυτό τα δεδομένα της πειραματικής ανάλυσης με τις μετρήσεις των επιπέδων του φαρμάκου στο πλάσμα όλων των ασθενών, οι αντίστοιχοι χρόνοι δειγματοληψίας και χορήγησης, οι δόσεις στους αντίστοιχους χρόνους, η διάρκεια και ο ρυθμός ενδοφλέβιας έγχυσης καθώς και οι συμμεταβλητές που συμπεριλαμβάνονται στο φαρμακοκινητικό μοντέλο, επιφάνεια σώματος (BSA) και η κάθαρση κρεατινίνης κάθε ασθενούς, συμπεριλήφθηκαν σε κατάλληλο αρχείο Excel που εν συνεχεία αποτέλεσε το αρχείο DATA FILE (εικόνα Γ1) του NONMEM.

# ID	TIME	DV	AMT	EVID	RATE	TINF	BSA	CLcr
2	0	.	50000	1	100000	0,5	2,06	47,36
2	12	.	50000	1	100000	0,5	2,06	47,36
2	22	.	50000	1	100000	0,5	2,06	47,36
2	34	.	50000	1	100000	0,5	2,06	47,36
2	46	.	50000	1	100000	0,5	2,06	47,36
2	48	227,009	.	0	.	.	2,06	47,36
2	58	.	50000	1	100000	0,5	2,06	47,36
2	72	.	50000	1	100000	0,5	2,06	47,36
2	74,58	193,34	.	0	.	.	2,06	47,36
2	84	.	50000	1	100000	0,5	2,06	47,36
2	94	.	50000	1	100000	0,5	2,06	47,36
2	96	202,81	.	0	.	.	2,06	47,36
2	106	.	50000	1	100000	0,5	2,06	47,36
2	120	.	50000	1	100000	0,5	2,06	47,36
2	132	.	50000	1	100000	0,5	2,06	47,36
2	142	.	50000	1	100000	0,5	2,06	47,36
2	156	.	50000	1	100000	0,5	2,06	47,36
2	167,75	.	50000	1	100000	0,5	2,06	47,36
2	179,75	.	50000	1	100000	0,5	2,06	47,36
2	191,75	.	50000	1	100000	0,5	2,06	47,36
2	193,5	339,96	.	0	.	.	2,06	47,36
2	203,75	.	50000	1	100000	0,5	2,06	47,36
2	215,75	.	50000	1	100000	0,5	2,06	47,36
2	227,75	.	50000	1	100000	0,5	2,06	47,36
2	241,5	.	50000	1	100000	0,5	2,06	47,36
2	243,5	229,453	.	0	.	.	2,06	47,36
3	0	.	100000	1	200000	0,5	1,59	75,51
3	10,25	.	50000	1	100000	0,5	1,59	75,51
3	20,25	.	50000	1	100000	0,5	1,59	75,51
3	22,25	203,333	.	0	.	.	1,59	75,51
3	32,25	.	50000	1	100000	0,5	1,59	75,51
3	44,25	.	50000	1	100000	0,5	1,59	75,51
3	46,42	402,923	.	0	.	.	1,59	75,51
3	56,25	.	50000	1	100000	0,5	1,59	75,51
3	68,25	.	50000	1	100000	0,5	1,59	75,51
3	70	425,297	.	0	.	.	1,59	75,51
3	80,25	.	50000	1	100000	0,5	1,59	75,51

Εικόνα Γ1. Ενδεικτική απεικόνιση του DATA FILE* που δημιουργήθηκε με τα δεδομένα των 14 ασθενών που συμμετείχαν στη μελέτη για την ανάλυση με το λογισμικό NONMEM.

*Επεξήγηση των δεσμευμένων κωδικών για τις στήλες του αρχείου DATA FILE: ID= κωδικός ασθενή, TIME= χρόνος χορήγησης της αντίστοιχης δόσης (h), DV= μέτρηση (ng/ml), AMT= χορηγούμενη δόση (μg), EVID= κωδικός γεγονότος: 0 για μέτρηση, 1 για δόση, RATE= ρυθμός έγχυσης (μg/h), TINF= διάρκεια έγχυσης (hours), BSA= επιφάνεια σώματος (m²) , CLcr= κάθαρση κρεατινίνης (ml/min/1.73 m²)

Το αρχείο που αποτελεί το CONTROL FILE παρουσιάζεται στην εικόνα Γ2:

```
$PROBLEM TIGECYCLIN
$INPUT ID TIME DV AMT EVID RATE TINF BSA CRCL

$DATA Tige_olga-1b.csv IGNORE=#
$SUBROUTINES ADVAN3 TRANS3

$PK

TCL=THETA(1)+THETA(5)*(BSA-1.73)+THETA(6)*(CRCL-100)
CL=TCL*EXP(ETA(1))
V=THETA(2)*EXP(ETA(2))
Q=THETA(3)*EXP(ETA(3))
VSS=THETA(4)*EXP(ETA(4))
S1=V

$THETA 19.6 65.2 85.1 398 10.2 0.0638
|
$OMEGA 0.163216 0.674041 1.21 0.161604
$SIGMA 0.000625 0.021316

$ERROR
Y=F+EPS(1)+F*EPS(2)
IPRED=F ; individual-specific prediction
IRES=DV-IPRED ; individual-specific residual

$ESTIMATION MAXEVAL=0 PRINT=2 POSTHOC

;$TABLE DV IPRED FILE=TAB04.txt

$TABLE ID CL V Q VSS BSA CRCL ETA1 NOAPPEND FIRSTONLY ONEHEADER FILE=tab56.txt
```

Εικόνα Γ2. CONTROL FILE για την ανάλυση των δεδομένων των 14 ασθενών με το λογισμικό NONMEM.

Το CONTROL FILE περιέχει το δομικό μοντέλο μέσα από τις διαθέσιμες βιβλιοθήκες (\$SUBROUTINES). Πρόκειται για το μοντέλο ADVAN3 που αντιστοιχεί στο δι-διαμερισματικό γραμμικό μοντέλο (Two Compartment Linear Model) και την ειδική παραμετροποίηση που δηλώνεται από το μοντέλο TRANS 3 (CL, V_1 , V_{ss} , Q). Επίσης περιέχει το πληθυσμιακό μοντέλο (PK) που χρησιμοποιήθηκε (εξίσωση 2) και το οποίο περιλαμβάνει τις ακόλουθες μεταβλητές: τις πληθυσμιακές μέσες τιμές των έξι παραμέτρων [THETA(1)-(6)], τη δι-ατομική μεταβλητότητα κάθε παραμέτρου [ETA ~ N (0, OMEGA)] και τις δύο ανεξάρτητες μεταβλητές, επιφάνεια σώματος (BSA) και κάθαρση κρεατινίνης (CRCL).

Στον πίνακα Γ3 συνοψίζονται οι πληθυσμιακές μέσες τιμές των φαρμακοκινητικών παραμέτρων του μοντέλου⁹² όπως παρατίθενται στο CONTROL FILE:

Πίνακας Γ3. Πληθυσμιακές μέσες τιμές των φαρμακοκινητικών παραμέτρων του μοντέλου

CL _t intercept (liters/h)	19.6
V (liters)	65.2
CL _d (liters/h)	85.1
V _{ss} (liters)	398
CL _t BSA slope (liters/h.m ²)	10.2
CL _t CrCL slope [(liters/h).(ml/min/1.73m ²)	0.0638

Επεξηγήσεις πίνακα: CL_t intercept (liters/h): κάθαρση της τιγεκυκλίνης χωρίς τις συμμεταβλητές, V (liters): όγκος του κεντρικού διαμερίσματος (αίμα), CL_d (liters/h): ολική κάθαρση της τιγεκυκλίνης, V_{ss} (liters): όγκος κατανομής στη σταθεροποιημένη κατάσταση,

CL_t BSA slope (liters/h.m²): κάθαρση της τιγεκυκλίνης με συμμεταβλητή την επιφάνεια σώματος, CL_t CrCL slope [(liters/h).(ml/min/1.73m²): κάθαρση της τιγεκυκλίνης με συμμεταβλητή την κάθαρση κρεατινίνης

Οι Μπαεσιανές εκτιμήσεις της συστηματικής κάθαρσης κάθε ασθενούς όπως προέκυψαν τρέχοντας το πρόγραμμα NONMEM και στη συνέχεια ο υπολογισμός του λόγου AUC₂₄/MIC (h) ως δείκτη της αποτελεσματικότητας της τιγεκυκλίνης συνοψίζονται στον πίνακα Γ4. Ως όριο ευαισθησίας χρησιμοποιήθηκε η τιμή MIC ίση με 0.2 mg/L (ή 0.2 μg/ml), με βάση το μικροβιακό φορτίο του νοσοκομείου και τη βιβλιογραφία^{93,94}.

Πίνακας Γ4. Εξατομικευμένες τιμές της συστηματικής κάθαρσης με τη χρήση του λογισμικού NONMEM και υπολογισμός των αντίστοιχων λόγων AUC_{24}/MIC ενδεικτικών της *in vivo* αποτελεσματικότητας της τιγεκυκλίνης.

ID	CL	Daily Dose	AUC_{24}/MIC
2	2,04E+01	100,00	24,56761
3	1,16E+01	100,00	42,981174
4	1,52E+01	100,00	32,823475
5	3,45E+01	100,00	14,472618
6	3,18E+01	100,00	15,710425
7	3,08E+01	150,00	24,375975
8	2,69E+01	150,00	27,860327
9	2,42E+01	150,00	31,005829
10	2,20E+01	100,00	22,691173
11	3,63E+01	150,00	20,678246
12	1,55E+01	150,00	48,49347
13	2,06E+01	150,00	36,393634
14	2,55E+01	100,00	19,612458
15	1,08E+01	100,00	46,364985

Επιπλέον, έγινε έλεγχος της εφαρμοσιμότητας των δυο δοσολογικών σχημάτων. Για το σκοπό αυτό πραγματοποιήθηκαν προσομοιώσεις με τη μέθοδο Monte Carlo η οποία είναι μία υπολογιστική τεχνική, που βασίζεται σε προσομοιώσεις ενός φαινομένου με επαναλαμβανόμενες τυχαίες δειγματοληψίες τιμών των παραμέτρων του. Στην προκειμένη περίπτωση υπολογίστηκαν οι κατανομές του λόγου AUC_{24}/MIC για τα δύο δοσολογικά σχήματα τιγεκυκλίνης, 50mg x 2 και 50 mg x 3, σε έναν υποθετικό πληθυσμό 1000 ασθενών. Σε ένα αρχείο Excel, όπως αυτό που απεικονίζεται ενδεικτικά στην εικόνα Γ3, πραγματοποιήθηκε η αναγέννηση 1000 τυχαίων αριθμών για τις παραμέτρους του φαρμακοκινητικού μοντέλου της κάθαρσης (εξίσωση 2).

eta	bsa	CrCL	cl	AUC100	AUC150	AUC/MIC100	AUC/MIC150
1,28929	2,007999	43,90858	68,4547	1,46082	2,19123	7,304100307	10,95615046
0,954591	2,054647	104,7506	60,30212	1,658317	2,487475	8,291582555	12,43737383
1,128785	2,007807	51,08651	59,71366	1,674659	2,511988	8,373293175	12,55993976
1,041579	2,276435	33,57203	59,32474	1,685637	2,528456	8,428186533	12,6422798
1,031623	1,643516	134,451	58,68177	1,704107	2,55616	8,520534224	12,78080134
1,095825	1,808437	84,2666	58,02686	1,72334	2,58501	8,616699129	12,92504869
0,812714	2,117029	132,1575	57,70135	1,733062	2,599593	8,665308572	12,99796286

Εικόνα Γ3. Ενδεικτική παρουσίαση της προσομοίωσης Monte Carlo. Η αναπαραγωγή των δεδομένων έγινε για έναν εικονικό πληθυσμό 1000 ατόμων.

Θεωρώντας ότι ακολουθείται κανονική κατανομή με μέση τιμή και τυπική απόκλιση που καθορίζονται για κάθε παράμετρο, από τις κατανομές των πληθυσμιακών τιμών, στην αντίστοιχη βιβλιογραφία⁹² αναγεννήθηκαν 1000 τιμές για την επιφάνεια σώματος (BSA), την κάθαρση κρεατινίνης (CrCL) και την υπόλοιπη τυχαία μεταβλητότητα της συστηματικής κάθαρσης (BSV), δηλαδή το τμήμα της μεταβλητότητας που δεν περιγράφεται από τη BSA και την CrCL. Δημιουργήθηκαν τρεις στήλες με τα τυχαία δεδομένα για κάθε παράμετρο (Εικόνα Γ4):

Στην πρώτη στήλη [eta] αναγεννήθηκαν 1000 τιμές της δι-ατομικής μεταβλητότητας της κάθαρσης θεωρώντας γι' αυτήν κανονική κατανομή με μέση τιμή 0 και διακύμανση 0,4 (BSV). Η συνάρτηση που περιγράφει τη συγκεκριμένη διαδικασία είναι η $f_x = \text{NORMINV}(\text{RAND}(); 0; 0,4)$. (Εικόνα Γ4)

	A2		f_x	=NORMINV(RAND();0;0,4)
	A	B	C	
1	eta	bsa	CrCL	
2	-0,32938	1,99149	30,8026	
3	0,03323	2,30058	66,1935	
4	0,00655	1,66866	97,4273	
5	-0,45272	1,53461	35,5934	

Εικόνα Γ4.

Στη δεύτερη στήλη [bsa] αντίστοιχα αναγεννήθηκαν 1000 τιμές για την επιφάνεια σώματος θεωρώντας γι' αυτήν κανονική κατανομή με πληθυσμιακή μέση τιμή ίση με $1,83 \text{ m}^2$ και τυπική απόκλιση 0,232 (SD). Η συνάρτηση που περιγράφει τη συγκεκριμένη διαδικασία είναι η:

$$f_x = \text{NORMINV}(\text{RAND}(); 1,83; 0,232).$$

Στην τρίτη στήλη [CrCL] αναγεννήθηκαν 1000 τιμές για την κάθαρση κρεατινίνης θεωρώντας γι' αυτήν κανονική κατανομή με πληθυσμιακή μέση τιμή ίση με 79,7 (ml/min/ $1,73 \text{ m}^2$) και τυπική απόκλιση 35,1 (SD). Η συνάρτηση που περιγράφει τη συγκεκριμένη διαδικασία είναι η:

$$f_x = \text{NORMINV}(\text{RAND}(); 79,7; 35,1).$$

Στην τέταρτη στήλη (εικόνα Γ3) εκτιμήθηκαν με το φαρμακοκινητικό μοντέλο οι τιμές κάθαρσης της τιγκεκυκλίνης χιλίων εικονικών ασθενών:

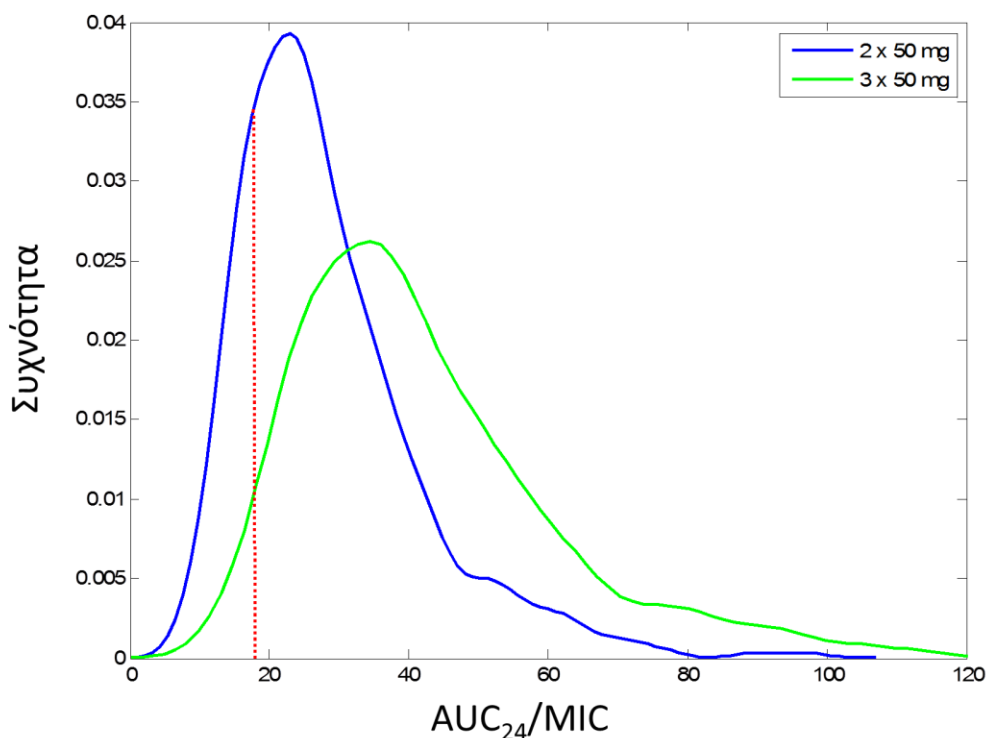
$$f_x = (19,6 + 10,2 \cdot (\text{BSA} - 1,73) + 0,0638 \cdot (\text{CrCL} - 100)) \cdot \text{EXP}(\text{eta})$$

Στις επόμενες δύο στήλες (εικόνα Γ3) εκτιμήθηκαν διαδοχικά οι τιμές της παραμέτρου AUC σύμφωνα με την εξίσωση 1, με ημερήσια χορηγούμενη δόση τιγκεκυκλίνης ίση με 100 mg και 150 mg αντίστοιχα προς την κάθαρση του φαρμάκου για κάθε έναν από τους 1000 εικονικούς ασθενείς.

Ως δείκτης εκτίμησης της αποτελεσματικότητας της θεραπείας με τιγκεκυκλίνη χρησιμοποιήθηκε, όπως προαναφέρθηκε, ο φαρμακοδυναμικός δείκτης

AUC_{24}/MIC , ο υπολογισμός του οποίου συμπεριλήφθηκε επίσης στο αρχείο Excel (εικόνα Γ3), στις δύο τελευταίες στήλες, με την προσομοίωση Monte Carlo για τους 1000 υποθετικούς ασθενείς.

Ως κριτήριο εκτίμησης της αποτελεσματικότητας της θεραπείας με τιγκεκυκλίνη χρησιμοποιήθηκε από τη βιβλιογραφία η τιμή 17.9 του φαρμακοδυναμικού δείκτη AUC_{24}/MIC (h)⁶⁴. Στην ακόλουθη απεικόνιση (σχήμα Γ3) παρουσιάζεται το διάγραμμα της κατανομής πιθανότητας των τιμών του δείκτη AUC_{24}/MIC των εικονικών ασθενών και για τα δύο δοσολογικά σχήματα (50mg x 2 και 50 mg x 3 ημερησίως). Στο διάγραμμα συμπεριλαμβάνεται και το όριο ευαισθησίας $AUC_{24}/MIC=17.9$ κάτω από το οποίο αναμένεται υποθεραπευτική έκθεση των ασθενών στο φάρμακο και μειωμένη κλινική ανταπόκριση.



Σχήμα Γ3. Γράφηματα κατανομής πιθανοτήτων του λόγου AUC_{24}/MIC για τους εικονικούς ασθενείς και για τα δύο θεραπευτικά δοσολογικά σχήματα με τιγκεκυκλίνη, 50mg x 2 και 50 mg x 3, συμπεριλαμβανομένου του ορίου 17.9 κάτω από το οποίο αναμένεται υποθεραπευτική έκθεση των ασθενών στο φάρμακο.

Από το σχήμα Γ3 φαίνεται ότι για το δοσολογικό σχήμα 2x50 mg 19.8% των ασθενών προβλέπεται η τιμή του λόγου AUC_{24}/MIC να είναι μικρότερη από 17.9 (υποθεραπευτικά επίπεδα), ενώ για το δοσολογικό σχήμα 3x50 mg το αντίστοιχο ποσοστό είναι 3.2%.

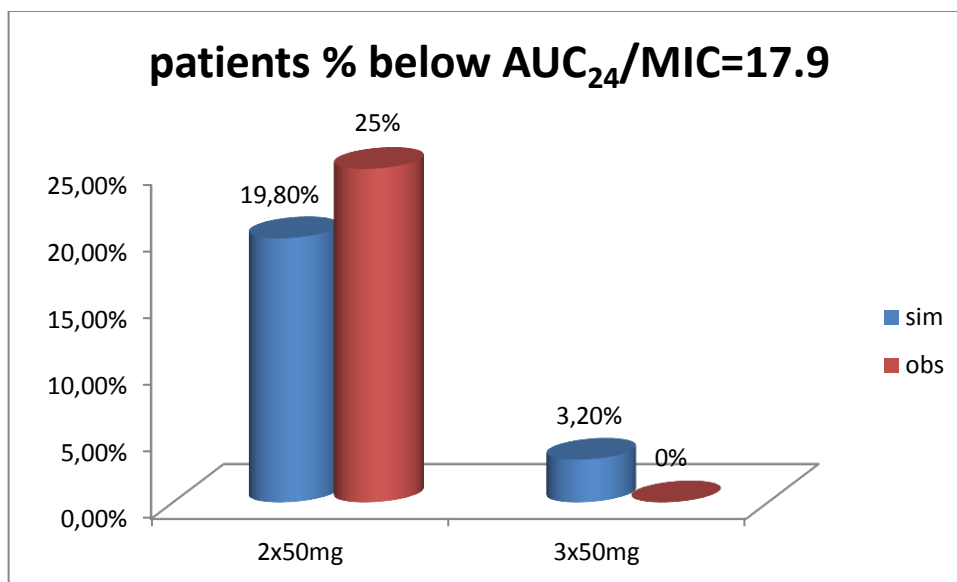
Από τους νοσηλευόμενους ασθενείς που λάμβαναν δόση συντήρησης 50 mg κάθε 12 ώρες, το 25% διαπιστώθηκε να έχει τιμές της φαρμακοδυναμικής παραμέτρου AUC_{24}/MIC μικρότερες από το όριο 17.9 (Σχήμα Γ4). Όπως διακρίνεται στον πίνακα Γ5, 2/8 ασθενείς που έλαβαν ημερήσια δόση τιγκεκυκλίνης 100mg σε δύο διαιρεμένες δόσεις εκτέθηκαν σε υποθεραπευτικά επίπεδα αυτού στο αίμα.

Πίνακας Γ5.

ID	Daily Dose	AUC ₂₄ /MIC
2	100,00	24,56761
3	100,00	42,981174
4	100,00	32,823475
5	100,00	14,472618
6	100,00	15,710425
7	150,00	24,375975
8	150,00	27,860327
9	150,00	31,005829
10	100,00	22,691173
11	150,00	20,678246
12	150,00	48,49347
13	150,00	36,393634
14	100,00	19,612458
15	100,00	46,364985

Το αντίστοιχο ποσοστό για τους εικονικούς ασθενείς για τους οποίους υπολογίστηκε υποθεραπευτική έκθεση είναι 19.8% (198/1000 εικονικούς ασθενείς), αρκετά κοντά σε αυτό που προέκυψε από τα πειραματικά δεδομένα.

Από τους νοσηλευόμενους ασθενείς που λάμβαναν δόση συντήρησης 50 mg κάθε οκτώ ώρες κανένας δεν διαπιστώθηκε με υποθεραπευτική έκθεση στο φάρμακο (0/6 ασθενείς) (Σχήμα Γ4). Με την προσομείωση Monte Carlo για 1000 ασθενείς ποσοστό 3.2% (32/1000 εικονικούς ασθενείς) αυτών που έλαβαν το ίδιο δοσολογικό σχήμα αναμενόταν να έχει τιμές AUC₂₄/MIC μικρότερες από το όριο 17.9.



Σχήμα Γ4. Ποσοστό % των ασθενών, εικονικών και πραγματικών, που παρουσίασαν υποθεραπευτική έκθεση στην τιγκεκυκλίνη με $AUC_{24}/MIC < 17.9$ και για τα δύο δοσολογικά σχήματα.

Για την εκτίμηση της κλινικής ανταπόκρισης των ασθενών στη θεραπεία με τιγκεκυκλίνη λήφθηκε υπόψη η εργαστηριακή ανταπόκριση, η κλινική εκτίμηση των θεραπόντων ιατρών και οι ανεπιθύμητες ενέργειες που παρουσίασαν κάποιοι ασθενείς στη διάρκεια της θεραπευτικής αγωγής, καθώς στάθηκε αιτία μη συμμόρφωσης με το δοσολογικό σχήμα (π.χ. παράλειψη δόσεων, παράταση της διάρκειας έγχυσης λόγω παράλληλης λήψης γεύματος) ή ακόμη και διακοπής της χορήγησης τιγκεκυκλίνης. Συγκεκριμένα, αξιολογήθηκαν τα αποτελέσματα του βιοχημικού ελέγχου πριν και μετά την έναρξη της θεραπευτικής αγωγής με τιγκεκυκλίνη και ειδικότερα σε κάθε ασθενή οι μεταβολές που υπήρχαν τόσο στην C-αντιδρώσα πρωτεΐνη (CRP) όσο και στα λευκά αιμοσφαίρια (WBC). Η C-αντιδρώσα πρωτεΐνη αποτελεί μία ευρέως χρησιμοποιούμενη πρωτεΐνη οξείας φάσης στην κλινική πράξη, καθώς η μέτρηση των επιπέδων της μπορεί να βοηθήσει στην παρακολούθηση της ενεργότητας διαφόρων νοσημάτων. Συμβάλλει στην άμυνα του οργανισμού και παράγεται ως απάντηση στην ιστική βλάβη, στη φλεγμονή, στη λοίμωξη και άλλες παθολογικές καταστάσεις.

Συγκαταλέγεται μεταξύ των θετικών πρωτεϊνών οξείας φάσης καθώς τα επίπεδά της μπορεί να σημειώσουν αύξηση τουλάχιστον κατά 25% στην πορεία της οξείας αντίδρασης. Η αντίδραση οξείας φάσης εμφανίζεται σε χρονικό διάστημα λίγων ωρών έως και δύο ημερών και αποτελεί μέρος της μη ειδικής ανοσολογικής απάντησης, συνιστά, δηλαδή, μια ταχεία αντίδραση σε οξείες ή χρόνιες λοιμώξεις, κακώσεις, εγκαύματα, νεοπλάσματα, αυτοάνοσες παθήσεις και άλλα νοσήματα. Το χαρακτηριστικό της CRP είναι ότι αυξάνεται γρήγορα στο αίμα και στα υγρά του σώματος, δεν εμφανίζει ημερήσια ή εποχιακή διακύμανση και όταν σταματά το ερέθισμα για την αυξημένη παραγωγή της οι συγκεντρώσεις της πέφτουν ταχέως. Ο χρόνος ημίσειας ζωής της είναι περίπου 19 ώρες και παραμένει σταθερός κάτω από κάθε συνθήκη. Ο μόνος παράγοντας που επηρεάζει τα επίπεδά της στον ορό είναι ο ρυθμός παραγωγής της από το ήπαρ. Η ηπατική ανεπάρκεια μειώνει τη CRP αλλά καμιά άλλη συνοδός παθολογία και πολύ λίγα φάρμακα την επηρεάζουν, εκτός και εάν μεταβάλλουν το βασικό μηχανισμό που προκαλεί την αυξημένη παραγωγή της. Όλα τα ανωτέρω καθιστούν την τιμή της CRP ένα χρήσιμο εργαστηριακό δείκτη που αντικατοπτρίζει την παρούσα φλεγμονή ή/και την ιστική καταστροφή ακριβέστερα σε σχέση με άλλους εργαστηριακούς δείκτες οξείας φάσης. Συνεπώς, η CRP αποτελεί έναν κλασικό, μη ειδικό, όμως, εργαστηριακό δείκτη. Στις λοιμώξεις και στα εγκαύματα είναι χαρακτηριστικό ότι παρατηρούνται οι υψηλότερες τιμές της CRP (>200 mg/ml).⁹⁵

Από τους διαθέσιμους βιοχημικούς ελέγχους που πραγματοποιήθηκαν στους υπό μελέτη ασθενείς δεν ήταν δυνατό να αξιολογηθούν οι μεταβολές της CRP και των WBC και στους 14 ασθενείς καθώς δεν ήταν διαθέσιμα όλα τα δεδομένα. Στον παρακάτω πίνακα (Πίνακας Γ6) φαίνεται ποιοι ασθενείς παρουσίασαν μείωση της C-αντιδρώσας πρωτεΐνης ή/και των λευκών αιμοσφαιρίων μετά την έναρξη της αγωγής με τιγκεκυκλίνη σε σύγκριση με τα επίπεδα αυτών στο αίμα των ασθενών πριν την έναρξη της θεραπευτικής αγωγής.

Πίνακας Γ6. Κλινική εικόνα των 14 νοσηλευόμενων ασθενών που μελετήθηκαν. Παρουσιάζονται οι εργαστηριακές μεταβολές (μείωση) της C-αντιδρώσας (CRP) και των λευκών αιμοσφαιρίων (WBC) για τους ασθενείς που υπήρχαν διαθέσιμα στοιχεία από το βιοχημικό έλεγχο πριν και μετά την έναρξη της αγωγής με τιγκεκυκλίνη.

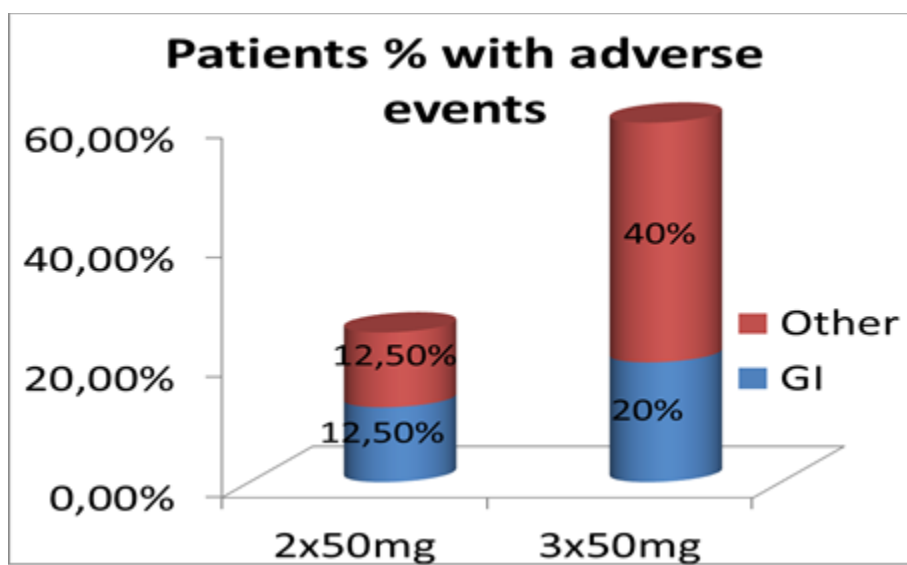
ID	50mg x 2	50mg x 3	↓CRP	↓WBC	A.E.
2	✓		✓		
3	✓		✓		
4	✓		άγνωστο	άγνωστο	
5	✓		✓	✓	
6	✓		άγνωστο		
7		✓	✓	✓	
8		✓	άγνωστο	άγνωστο	✓
9		✓	✓	✓	
10	✓				✓
11		✓	άγνωστο	άγνωστο	άγνωστο
12		✓		άγνωστο	✓
13		✓	άγνωστο	άγνωστο	✓
14	✓		✓		✓
15	✓		✓	άγνωστο	

Για τον ασθενή 10 παρατηρήθηκε εργαστηριακά αύξηση τόσο των λευκών όσο και της CRP μετά την έναρξη της αγωγής με τιγκεκυκλίνη, γεγονός που συνδέθηκε με μη ανταπόκριση της λοίμωξης (χρόνια οστεομυελίτιδα) στη θεραπεία παρόλο που ο λόγος AUC_{24}/MIC για το συγκεκριμένο βρέθηκε μεγαλύτερος από την τιμή 17.9 που αποτέλεσε κριτήριο της αποτελεσματικότητας της τιγκεκυκλίνης.

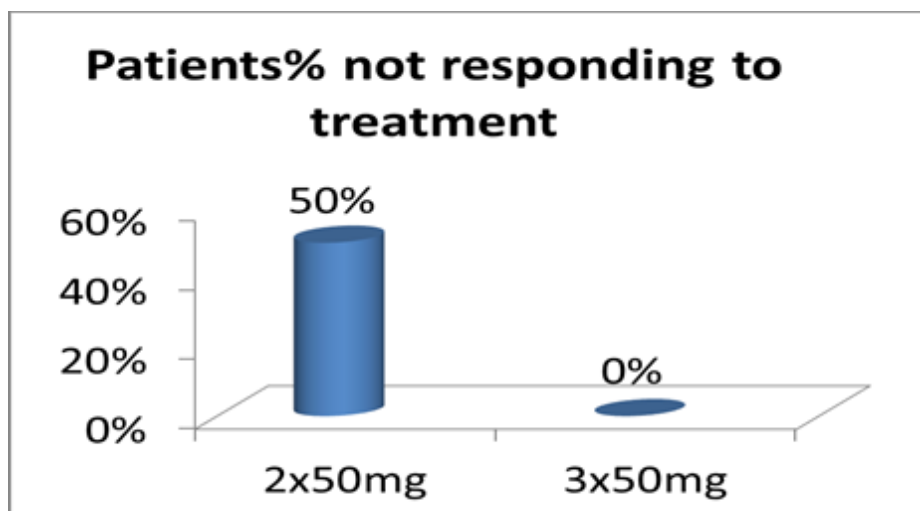
Από τους συνολικά οκτώ ασθενείς που έλαβαν δόση συντήρησης 50 mg τιγκεκυκλίνης δύο φορές την ημέρα με μεσοδιάστημα χορήγησης δώδεκα ώρες, οι δύο (ασθενής 10 και ασθενής 14) παρουσίασαν ανεπιθύμητες ενέργειες, ποσοστό 25% (Σχήμα Γ5). Συγκεκριμένα ο ασθενής 10 παρουσίασε έντονες γαστρεντερικές ενοχλήσεις και για το λόγο αυτό κατά την ενδοφλέβια έγχυση του φαρμάκου (που γινόταν μέσω της σφαγίτιδας φλέβας) λάμβανε παράλληλα γεύμα γεγονός που παρέτεινε τη διάρκεια της έγχυσης. Η ασθενής 14 παρουσίασε δερματική αλλεργία αποδιδόμενη στην αντιβιοτική αγωγή η οποία και διακόπηκε την 6 ημέρα χορήγησης. Τελικά τρεις στους έξι ασθενείς που

έλαβαν τιγκεκυκλίνη 50 mg δύο φορές ημερησίως και δεν παρουσίασαν καμία ανεπιθύμητη ενέργεια παρουσίασαν θετική κλινική έκβαση (ασθενής 2, 3 και 15), ποσοστό 50% (Σχήμα Γ6). Οι τρεις αυτοί ασθενείς είχαν και τιμές AUC_{24}/MIC μεγαλύτερες από το όριο 17.9. Ο ασθενής 5 ενώ ανταποκρίθηκε εργαστηριακά με μείωση τόσο της CRP όσο και των WBC, λίγες ημέρες μετά από τη διακοπή της τιγκεκυκλίνης παρουσίασε επάνοδο των εργαστηριακών τιμών. Η έκθεση αυτού του ασθενούς στο φάρμακο διαπιστώθηκε ότι βρισκόταν σε υποθεραπευτικά επίπεδα ($AUC_{24}/MIC < 17.9$).

Συνολικά έξι ασθενείς έλαβαν δόση συντήρησης τιγκεκυκλίνης ίση με 150 mg ημερησίως με μεσοδιάστημα χορήγησης οκτώ ώρες. Για έναν ασθενή (ασθενής 11) δεν υπήρχαν διαθέσιμα δεδομένα από το ιστορικό του σχετικά με ανεπιθύμητες ενέργειες ούτε εργαστηριακές εξετάσεις στον ιατρικό του φάκελο. Από τους πέντε λοιπόν ασθενείς παρουσίασαν κάποια ανεπιθύμητη ενέργεια τρεις ασθενείς (ποσοστό 60%, Σχήμα Γ5) μεταξύ των οποίων υπήρξε ένας θάνατος από σηπτική καταπληξία (ασθενής 12), μία περίπτωση χολοκυστίτιδας που χρειάστηκε χειρουργική παρέμβαση (ασθενής 13) και μία περίπτωση γαστρεντερικών ενοχλήσεων (ασθενής 8). Τελικά και οι δύο ασθενείς (ασθενής 7 και 9) που έλαβαν τιγκεκυκλίνη 50 mg τρεις φορές ημερησίως και δεν παρουσίασαν καμία ανεπιθύμητη ενέργεια είχαν θετική κλινική έκβαση.



Σχήμα Γ5



Σχήμα Γ6

Από το σχήμα Γ6 διαφαίνεται ότι τα δεδομένα για την κλινική ανταπόκριση των ασθενών στην αγωγή με τιγκεκυκλίνη και για τα δύο δοσολογικά σχήματα βρίσκονται σε συμφωνία με τα αποτελέσματα της ανάλυσης υπολογισμού του λόγου AUC_{24}/MIC .

Σε μια πρόσφατη συστηματική ανασκόπηση και μετα-ανάλυση⁸⁷ σχετικά με την αποτελεσματικότητα και την ασφάλεια της τιγκεκυκλίνης τα αποτελέσματα παρουσιάζουν ενδιαφέρον και προβληματίζουν. Διαπιστώθηκε στατιστικά σημαντική συνολική θνησιμότητα με τη χρήση της τιγκεκυκλίνης σε ασθενείς, αυξημένη κλινική αποτυχία και υψηλότερος κίνδυνος ανάπτυξης σηπτικής καταπληξίας σε σύγκριση πάντα με άλλα αντιβιοτικά. Μεγαλύτερος βαθμός αποτυχημένης κλινικής έκβασης παρατηρήθηκε σε ασθενείς με πεπλεγμένες ενδοκοιλιακές λοιμώξεις, με λοίμωξη διαβητικού ποδός καθώς και στην υποομάδα των ασθενών με λοίμωξη από Gram-αρνητικά παθογόνα. Μικροβιολογική αποτυχία διαπιστώθηκε αλλά δεν βρέθηκε στατιστικά σημαντική. Επιπλέον, ο βαθμός εμφάνισης νέων λοιμώξεων και αποδεδειγμένων βακτηριακών επιμολύνσεων (superinfection) ήταν σημαντικά υψηλότερος με την τιγκεκυκλίνη. Ο βαθμός εμφάνισης ανεπιθύμητων ενεργειών επίσης βρέθηκε μεγαλύτερος, με στατιστική σημαντικότητα, συγκριτικά με άλλα αντιβιοτικά και η διακοπή της θεραπευτικής αγωγής με τιγκεκυκλίνη ήταν συχνό φαινόμενο.

Αυξημένα επίπεδα αμυλάσης στον ορό χωρίς ωστόσο αναφορά επεισοδίων οξείας παγκρεατίτιδας, επεισόδια φλεβικών θρομβώσεων αλλά όχι αρτηριακών, μη φυσιολογικές εξετάσεις της νεφρικής λειτουργίας φαίνεται πως εμφανίζονται πιο συχνά κατά τη χορήγηση της τιγκεκυκλίνης. Ο έμετος και η ναυτία ήταν πιο συχνές ανεπιθύμητες ενέργειες με την τιγκεκυκλίνη, ενώ δεν διαπιστώθηκε σημαντική διαφορά με άλλα αντιβιοτικά στα συχνότητα εμφάνισης διάρροιας. Στον αντίποδα πρέπει να σημειωθεί ότι πρόκειται για ένα αντιβιοτικό με εξαιρετικά ευρύ φάσμα δράσης και την ιδιότητα να υπερβαίνει τους μηχανισμούς αντοχής πολλών βακτηριακών στελεχών. Περιπτώσεις βακτηριακής αντοχής στην τιγκεκυκλίνη αναφέρονται μόνο δύο σε σύνολο επτά μελετών. Ωστόσο, είναι γνωστό ότι μερικά Gram-αρνητικά βακτήρια και συγκεκριμένα τα *Pseudomonas aeruginosa* και είδη *Proteus*^{16,96} είναι ανθεκτικά στην τιγκεκυκλίνη και αυξημένος βαθμός βακτηριακών επιμολύνσεων έχουν αναφερθεί⁹⁷. Αναφορικά με τη χρησιμότητα της τιγκεκυκλίνης στη θεραπεία λοιμώξεων από πολυανθεκτικά Gram-αρνητικά παθογόνα τα δεδομένα απαιτούν περαιτέρω διερεύνηση για να εξαχθούν σαφή συμπεράσματα. Σε μία συστηματική ανασκόπηση μελετών που αφορούσαν στην αποτελεσματικότητα της τιγκεκυκλίνης επί λοιμώξεων από πολυανθεκτικά στελέχη (συμπεριλαμβανομένων στελεχών ανθεκτικών στις καρβαπενέμες) *Acinetobacter baumannii* βρέθηκε ότι η τιγκεκυκλίνη έχει αξιόλογη, αλλά όχι σταθερή, αντιμικροβιακή δράση έναντι αυτών των στελεχών και ειδικά στις περιπτώσεις πνευμονιών αποδιδόμενων στον αναπνευστήρα και βακτηριαιμιών τα στοιχεία είναι περιορισμένα³³. Επίσης στην ανασκόπηση αυτή αναφέρθηκαν τρεις περιπτώσεις ανθεκτικότητας στη διάρκεια της θεραπείας.³³ Σε μία άλλη αναδρομική μελέτη⁸⁷ εξετάστηκε η κλινική και μικροβιολογική έκβαση ασθενών (N=18) που έπασχαν από λοίμωξη οφειλόμενη σε κάποιο πολυανθεκτικό Gram- αρνητικό παθογόνο, συμπεριλαμβανομένων των στελεχών *Acinetobacter baumannii multidrug-resistant (MDR)*, στελεχών Enterobacteriaceae που παράγουν *Klebsiella pneumonia*-καρβαπενεμάσες (*Klebsiella pneumonia* carbapenemase, KPC) και ευρέως φάσματος β-λακταμάσες (extended-spectrum β-lactamase, ESBL). Η πλειοψηφία των ασθενών ήταν σε κρίσιμη κατάσταση όταν έγινε η έναρξη της θεραπείας με τιγκεκυκλίνη και η κλινική έκβαση ήταν

συνολικά φτωχή. Η παρατηρούμενη έξαρση στην ανάπτυξη αντοχής στην τιγκεκυκλίνη κατά τη διάρκεια της θεραπείας λοιμώξεων από πολυανθεκτικά Gram-αρνητικά παθογόνα είναι ένα γεγονός που προβληματίζει καθώς διευρύνεται ανεξέλεγκτα η χρήση του αντιβιοτικού.⁹⁸ Επίσης προβληματισμό εγείρουν και οι περιπτώσεις επίμονης βακτηριαιμίας, που έχουν παρατηρηθεί σε ασθενείς με πολυανθεκτικά Gram-αρνητικά παθογόνα, παρά το γεγονός ότι αυτά διατηρούν τιμές ελάχιστης ανασταλτικής συγκέντρωσης (MIC) μικρότερες από το όριο ευαισθησίας⁹⁸, σε συνδυασμό με άλλες αναφορές στη βιβλιογραφία που θέτουν την ανάγκη περαιτέρω διερεύνησης της χρήσης της τιγκεκυκλίνης στη θεραπεία της βακτηριαιμίας με υπεύθυνα παθογόνα που διατηρούν τιμές MIC ≥ 1 $\mu\text{g/ml}$ δεδομένων των χαμηλών μέσων τιμών των μέγιστων συγκεντρώσεων τιγκεκυκλίνης στο αίμα των ασθενών.^{99,100} Ωστόσο δεν διαπιστώθηκε μέσα από τη συστηματική ανασκόπηση και μετα-ανάλυση 15 μελετών (7654 ασθενείς συνολικά, 378 περιπτώσεις βακτηριαιμίας) σημαντική διαφορά στο βαθμό κλινικής αποτυχίας για την υποομάδα των ασθενών με βακτηριαιμία που αντιμετωπίστηκαν με τιγκεκυκλίνη ή άλλο αντιμικροβιακό παράγοντα⁸⁷. Δεδομένα θνησιμότητας για τη συγκεκριμένη υποομάδα δεν ήταν διαθέσιμα στους συγγραφείς ώστε να εξαχθούν συγκεκριμένα συμπεράσματα. Παρ'όλα αυτά πρόσφατα ο FDA ανακοίνωσε σχετικά με την τιγκεκυκλίνη μία προειδοποίηση που αφορά σε αυξημένο κίνδυνο συνολικής θνησιμότητας από τη χρήση του φαρμάκου όπως διαφάνηκε μετά από (pooled) ανάλυση δεκατρίων κλινικών μελετών. Σύμφωνα με τα δεδομένα του FDA¹⁰¹, ιδιαίτερα υψηλή θνησιμότητα φαίνεται να υπάρχει ανάμεσα στους ασθενείς που αντιμετωπίστηκαν με τιγκεκυκλίνη για τη θεραπεία πνευμονίας οφειλόμενης στον αναπνευστήρα και βακτηριαιμίας κατά την έναρξη της αγωγής [9/18 (50.0%) σε σύγκριση με 1/13 (7.7%) σε θεραπεία με άλλο αντιβιοτικό]. Σε ανάλυση 170 περιπτώσεων δευτερογενούς βακτηριαιμίας από 8 τυχαιοποιημένες ελεγχόμενες (controlled) κλινικές μελέτες όπου συμμετείχαν ασθενείς με πεπλεγμένες ενδοκοιλιακές λοιμώξεις, πεπλεγμένες λοιμώξεις του δέρματος και των μαλακών μορίων και πνευμονία από την κοινότητα φάνηκε παρόμοια θνησιμότητα και ποσοστά θεραπείας μεταξύ της χρήσης τιγκεκυκλίνης και άλλου συγκριτικού παράγοντα.¹⁰²

Η αυξημένη συνολική θνησιμότητα που έχει παρατηρηθεί με τη χρήση της τιγκεκυκλίνης συγκριτικά με άλλα αντιβιοτικά ευρέος φάσματος, φαίνεται πως αποδίδεται τελικά σε πιθανή φτωχότερη κλινική αποτελεσματικότητα της τιγκεκυκλίνης παρά σε θανάσιμες ανεπιθύμητες ενέργειες. Για το γεγονός αυτό μπορούν να αναζητηθούν εξηγήσεις στην κυρίως βακτηριοστατική δράση της τιγκεκυκλίνης, στο μεγάλο όγκο κατανομής της και τις χαμηλές συγκεντρώσεις της στον ορό. Επιπλέον, οι χαμηλές συγκεντρώσεις του φαρμάκου στο επιθηλιακό υγρό των πνευμόνων φαίνεται να οδηγούν στο συμπέρασμα ότι η αντιμετώπιση της πνευμονίας με το συνηθισμένο δοσολογικό σχήμα (δόση εφόδου 100mg, δόση συντήρησης 50 mg κάθε 12 ώρες) είναι υποθεραπευτική.^{48,103} Είναι σημαντικό να μη χρησιμοποιείται η τιγκεκυκλίνη ανεξέλεγκτα για τη θεραπεία λοιμώξεων σε ανατομικές θέσεις όπου το φάρμακο έχει περιορισμένη κατανομή με το σύννηθες δοσολογικό σχήμα, όπως για παράδειγμα στην περίπτωση κατά Gram-αρνητικών λοιμώξεων της ουροφόρου οδού, γεγονός που μπορεί να συνεισφέρει στην ανάπτυξη περαιτέρω αντοχής στο φάρμακο.⁹⁸

Μπορεί συνεπώς η εφαρμογή της εξατομίκευσης της δοσολογίας για την τιγκεκυκλίνη να έχει νόημα. Ο λόγος AUC_{24}/MIC μπορεί να εκτιμά καλά την κλινική ανταπόκριση και να συμβάλλει σε επιτυχή έκβαση στη θεραπεία τόσο των πεπλεγμένων λοιμώξεων για τις οποίες έχει ήδη ένδειξη η τιγκεκυκλίνη όσο και στις βακτηριαιμίες και την πνευμονία όπου φαίνεται από τη βιβλιογραφία να μην επαρκεί το σύννηθες δοσολογικό σχήμα (δόση εφόδου 100mg, δόση συντήρησης 50 mg κάθε 12 ώρες).

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

- Στην παρούσα μελέτη έγινε προσπάθεια διερεύνησης της ανάγκης εξατομίκευσης της δοσολογίας της τιγκεκυκλίνης σε νοσηλευόμενους ασθενείς με διάφορους τύπους λοίμωξης για τους οποίους κρίθηκε κατάλληλη η χορήγηση θεραπείας με τιγκεκυκλίνη.
- Διερευνήθηκαν δύο δοσολογικά σχήματα. Συγκεκριμένα χορηγήθηκε ημερήσια δόση 2×50 mg και 3×50 mg, μετά από αρχική δόση εφόδου 100 mg.
- Ως δείκτης της αποτελεσματικότητας της τιγκεκυκλίνης χρησιμοποιήθηκε ο λόγος AUC_{24}/MIC , για $MIC=0.2$ mg/L.
- Ο έλεγχος της εφαρμοσιμότητας των δυο δοσολογικών σχημάτων που έγινε με προσομοιώσεις Monte Carlo έδειξε ότι 19.8% των ασθενών που λαμβάνουν ημερήσια δόση 2×50 mg αναμένεται να είναι σε υποθεραπευτικά επίπεδα ενώ το αντίστοιχο ποσοστό για τους ασθενείς που λαμβάνουν ημερήσια δόση 3×50 mg αναμένεται να είναι 3.2%.
- Ένας σημαντικός αριθμός των ασθενών που λάμβαναν ημερήσια δόση 2x50 mg (25%) βρέθηκαν σε υποθεραπευτικό κίνδυνο ενώ δεν υπήρξε αντίστοιχος κίνδυνος για τους ασθενείς που λάμβαναν ημερήσια δόση 3x50 mg.
- Όμως, σημαντικός αριθμός των ασθενών που λάμβαναν ημερήσια δόση 3x50 mg εμφάνισαν ανεπιθύμητες αντιδράσεις (60%).
- Μπορεί συνεπώς η εφαρμογή της εξατομίκευσης της δοσολογίας για την τιγκεκυκλίνη να έχει νόημα. Ο λόγος AUC_{24}/MIC μπορεί να εκτιμά καλά την κλινική ανταπόκριση και να οδηγήσει σε επιτυχή έκβαση στη θεραπεία των πεπλεγμένων λοιμώξεων για τις οποίες έχει ένδειξη η τιγκεκυκλίνη, αλλά και στις βακτηριαιμίες όπου φαίνεται από τη βιβλιογραφία ότι απαιτείται αρκετά υψηλότερη δόση εφόδου καθώς και στην πνευμονία όπου φαίνεται να μην επαρκεί το σύνηθες δοσολογικό σχήμα.

Βιβλιογραφικές Αναφορές:

1. Lance R. Peterson. A review of tigecycline-the first glycylcycline. International Journal of Antimicrobial Agents 2008; 32: S215 – S222.
2. DM Livermore. Tigecycline: what is it, and where should it be used? - Journal of Antimicrobial Chemotherapy 2005; 56: 611 – 614.
3. Mary McIneva. Pharmacokinetics of tigecycline. Literature Review.
4. TL Doan, HB Fung, D Mehta, Paul F. Riska. Tigecycline: A Glycylcycline Antimicrobial Agent. Clinical Therapeutics 2006; 28: 1079-1106.
5. Tigacyl™ (tigecycline) for injection. Package insert. Wyeth Pharmaceuticals Inc. 2005, Philadelphia PA, 19101.
6. Hoffman M. et al. Metabolism, excretion and Pharmacokinetics of [¹⁴C] Tigecycline, a first-in-class glycylcycline antibiotic, after intravenous infusion to healthy male subjects. Drug Metabolism and Deposition 2007; 35 (No 9).
7. SA Van Wart, BB Cirincione, EA Ludwig, A. K. Meagher, J. M. Korth-Bradley, J. S. Owen. Population pharmacokinetics of tigecycline in healthy volunteers. Journal of Clinical Pharmacology 2007; 47: 727-737.
8. Alexey Aleksandrov and Thomas Simonson. Binding of Tetracyclines to Elongation Factor Tu, the Tet Repressor, and the Ribosome: A Molecular Dynamics Simulation Study. Biochemistry, 2008; 47 (51): 13594-13603.
9. Matthew W. Olson, Alexey Ruzin, Eric Feyfant, Thomas S. Rush, John O'Connell and Patricia A. Bradford. Functional, Biophysical, and Structural Bases for Antibacterial Activity of Tigecycline. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 2006; 50: 2156–2166.
10. Rubinstein Ethan, Vaughan David. Tigecycline: A Novel Glycylcycline. Drugs 2005; 65 (10): 1317-1336.
11. Chopra I, Roberts M. Tetracycline antibiotics: Mode of action, applications, molecular biology and epidemiology of bacterial resistance. Microbiology Molecular Review 2001; 65: 232-260.
12. Meagher A.K., Ambrose P.G., Grasela T.H., Ellis-Grosse E.J. Pharmacokinetic/Pharmacodynamic profile for tigecycline - a new glycylcycline antimicrobial agent. Diagnostic Microbiology and Infectious Disease 2005; 52: 165-171.
13. Muralidharan G. et al. Pharmacokinetics of tigecycline after single and multiple doses in healthy subjects. Antimicrobial Agents and Chemotherapy 2005; 49: 220-229.
14. Hoban DJ, Bouchillon SK, Johnson BM, Johnson JL, Dowzicky MJ. Tigecycline Evaluation and Surveillance Trial (TEST program) Group. *In vitro* activity of tigecycline against 6792 Gram-negative and Gram-positive clinical isolates from the global

- Tigecycline Evaluation and Surveillance Trial (TEST program 2004). *Diagn Microbiol Infect Dis* 2005; 52: 215-217.
15. Reinert RR, Low DE, Rossi F, Zhang X, Wattal C, Dowzicky MJ. Antimicrobial susceptibility among organisms from Asia/Pacific Rim, Europe and Latin and North America collected as part of the *in vitro* activity of tigecycline. *J Antimicrob Chemother* 2007; 60: 1018-1029.
 16. Pankey GA. Tigecycline. *J Antimicrob Chemother* 2005; 56: 470-480.
 17. Henwood CJ, Gatward T, Warner M et al. Antibiotic Resistance among clinical isolates of *Acinetobacter baumannii* in the UK and *in-vitro* evaluation of tigecycline (GAR-936). *J Antimicrob Chemother* 2002; 49: 479-87.
 18. Pachon - Ibanez ME, Jimenez - Mejias ME, Pichardo C et al. Activity of tigecycline (GAR-936) against *Acinetobacter baumannii* strains, including those resistant to imipenem. *Antimicrob Agents Chemother* 2004; 48: 4479-81.
 19. Frampton J.E, Curran M.P. Tigecycline. *ADIS Drug Profile. Drugs* 2005; 65: 2623-2635.
 20. Dennis J. Cada (Editor), Terri Levien and Danial E. Baker. Formulary drug reviews: Tigecycline. *Hospital Pharmacy* 2005; 40: 897-907.
 21. Zorpas, Kostas M., Valsami, Georgia N., Vryonis, Evangelos V., Skoutelis, Athanasios T., Archontaki, Helen A. Robust and Sensitive High-Performance Liquid Chromatographic-UV Detection Technique for the Determination of Tigecycline in Rabbit Plasma. *Journal of AOAC* 2011; 94: p. 847-856.
 22. Chopra I. New Developments in tetracycline antibiotics: Glycylcyclines and tetracycline efflux pump inhibitors. *Drug Resistance Update* 2002; 5: 119-125.
 23. Speer B. S., L Bedzyk and A.A. Salyers. Evidence that a novel tetracycline resistance gene found on two *Bacteroides* transposons encodes an NADP-requiring oxidoreductase. *Journal of Bacteriology* 1991; 173: 176-183.
 24. Summary of Product Characteristics, last update April 2011.
 25. European committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST), 1 JAN 2012.
 26. A J Brink, D Bizo, K D Boffard, C Feldman, D C Grolman, J Pretorius, G A Richards, M Senekal, E Steyn, N Welkovic. Guideline: appropriate use of tigecycline. *South African Medical Journal* 2010; 100: 388-394.
 27. European committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST). Presentation 2010.
 28. Navon-Venezia S, Leavitt A, Carmeli Y. High tigecycline resistance in multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*. *J Antimicrob Chemother* 2007; 59: 772-774.
 29. Thamlikitkul V, Tiengram S, Tribuddharat C. Comment on: High tigecycline resistance in multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*. *J Antimicrob Chemother* 2007; 59(4): 772-774.

30. Jones RN, Ferraro MJ, Reller LB, Schrenberger PC, Swenson J, Sader HS. Multicentre studies of tigecycline disk diffusion susceptibility results for *Acinetobacter* spp. *J Clin Microbiol* 2007; 35: 227-230.
31. Casal M, Rodriguez F, Johnson B, et al. Influence of testing methodology on the tigecycline activity profile against presumably tigecycline-non-susceptible *Acinetobacter* spp. *J Antimicrob Chemother* 2009; 64: 69-72.
32. Fernandez-Mazarrasa C, Mazarrasa O, Calvo J, del Arco A, Martinez-Martinez L. High concentrations of manganese in Mueller-Hinton agar increase MICs of tigecycline determined by E-test. *J Clin Microbiol* 2009; 47: 827-829.
33. Karageorgopoulos DE, Kelesedis T, Kelesedis I, Falagas ME. Tigecycline for the treatment of multidrug- resistant (including carbapenem resistant) *Acinetobacter* infections: a review of the scientific evidence. *J Antimicrob Chemother* 2008; 62: 45-55.
34. Peleg AY, Potoski BA, Rea R, et al. *Acinetobacter baumannii* bloodstream infection while receiving Tigecycline: a cautionary report. *J Antimicrob Chemother* 2007; 59:128-131.
35. Baines SD, Saxton K, Freeman J, Wilcox MH. Tigecycline does not induce proliferation or cytotoxin production by epidemic *Clostridium difficile* strains in a human gut model. *J Antimicrob Chemother* 2006; 58: 1062-1065.
36. Hecht DW, Galang MA, Sambol SP, Osmolski JR, Johnson S, Gerding DN. In vitro activities of 15 antimicrobial agents against 110 toxigenic *Clostridium difficile* clinical isolates collected from 1983 to 2004. *Antimicrob Agents Chemother* 2007; 51: 2716-2719.
37. Bolton RP, Culshaw MA. Faecal metronidazole concentrations during oral and intravenous therapy for antibiotic associated colitis due to *Clostridium difficile*. *Gut* 1986; 27: 1169-1172.
38. Nord CE, Sillerstrom E, Wahlund E. Effect of tigecycline on normal oropharyngeal and intestinal microflora. *Antimicrob Agents Chemother* 2006; 50: 3375-3380.
39. Baines SD, Saxton K, Freeman J, Wilcox MH. Tigecycline does not induce proliferation or cytotoxin production by epidemic *Clostridium difficile* strains in a human gut model. *J Antimicrob Chemother* 2006; 58: 1062-1065.
40. Herpers BL, Vlamincx B, Burkhardt O, et al. Intravenous tigecycline as adjunctive or alternative therapy for severe refractory *Clostridium difficile* infection. *Clin Infect Dis* 2009; 48: 1732-1735.
41. Sader HS, Jones RN, Dowzicky MJ, Fritsche TR. Antimicrobial activity of tigecycline tested against nosocomial bacterial pathogens from patients hospitalized in the intensive care unit. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2005; 52: 203-208.

42. Zhanel GG, DeCorby M, Nichol KA, et al. Antimicrobial susceptibility of 3931 organisms isolated from intensive care units in Canada: Canadian National Intensive Care Unit Study, 2005/2006. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2008; 62: 67-80.
43. Livermore DM, Hope R, Brick G, et al. Non-susceptibility trends among *Pseudomonas aeruginosa* and other non-fermentative Gram-negative bacteria from bacteraemias in the UK and Ireland, 2001-06. *J Antimicrob Chemother* 2008; 62: ii55-ii63.
44. Blanquer D, De Otoro J, Padilla E, et al. Tigecycline for treatment of nosocomial-acquired pneumonia possibly caused by multi-drug resistant strains of *Stenotrophomonas maltophilia*. *J Chemother* 2008; 20: 761-763.
45. EUCAST. Clinical breakpoint table v.2.0, valid from 01-01-2012.
46. Tombs NL. Tissue distribution of GAR-936, a broad spectrum antibiotic in male rats. (1999)
47. Heather K. Sun, Christine T. Ong, Ambreen Umer, Dawn Harper, Steven Troy, Charles H. Nightingale and David P. Nicolau. Pharmacokinetic Profile of Tigecycline in Serum and Skin Blister Fluid of Healthy Subjects after Multiple Intravenous Administrations. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 2005; 49: 1629–1632.
48. Conte Jr JE, Golden JA, Kelly MG, Zurlinden E. Steady-state serum and intrapulmonary pharmacokinetics and pharmacodynamics of tigecycline. *Int J Antimicrob Agents* 2005; 25: 523-9.
49. Rodvold KA, Gotfried MH, Cwik M, Korth-Bradley JM, Dukart G, Ellis- Grosse EJ. Serum, tissue and body concentrations of tigecycline after a single 100 mg dose. *J Antimicrob Chemother* 2006; 58: 1221-9.
50. Chin TF, Lach JL. Drug diffusion and bioavailability: tetracycline metallic chelation. *Pharm J Hosp Pharm.* 1975; 32: 625-629.
51. Gary E. Stein and William A. Craig. Tigecycline: A critical analysis. *Clinical Infectious Diseases* 2006; 43: 518-24.
52. NL Tombs. Tissue Distribution of Gar-936, a Broad-Spectrum Antibiotic, in Male Rats. American Society for Microbiology, San Francisco, CA, 1999.
53. Muralidharan G, Fruncillo RJ, et al. Effects of age and sex on single dose pharmacokinetics of tigecycline in healthy subjects, *AAC* 2005; 49: 1656-1659.
54. George A. Pankey and Russell W. Steele. Tigecycline: A Single Antibiotic for Polymicrobial Infections. *The Pediatric Infectious Disease Journal* 2007; 26: 77-78.
55. Troy SM, Muralidharan G, Micalizzi M, et al. The effects of renal disease on the pharmacokinetics of tigecycline (GAR-936). In: Abstracts of the 43rd Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy Chicago, II1: American Society for Microbiology; 2003. Abstract A-22.

56. James J Zimmerman, Donald G Raible, Dawn M Harper, Kyle Matschke, and John L Speth. Evaluation of a Potential Tigecycline-Warfarin Drug Interac. *Pharmacotherapy* 2008; 28: 895-905.
57. James J Zimmerman, Dawn M Harper, Kyle Matschke, John L Speth, Donald G Raible, and Richard J Fruncillo. Absence of an Interaction Between Tigecycline and Digoxin in Healthy Men. *Pharmacotherapy* 2007; 27: 835-844.
58. Annita N, Stumpf, Christian Schmidt, Wolfgang Hiddeman, Armin Gerbitz. High serum concentrations of cyclosporine related to administration of tigecycline. *Eur J Clin Pharmacol* 2009; 65: 101-103.
59. Lefort A, Lafaurie M, Massias L, et al. Activity and diffusion of tigecycline (GAR-936) in experimental enterococcal endocarditis. *Antimicrob Agents Chemother*. 2003; 47: 216-222.
60. van Ogtrop ML, Andes D, Stamstad TJ, et al. In vivo pharmacodynamics activities of two glycylicyclines (GAR-936 and WAY 152,288) against various gram-positive and gram-negative bacteria. *Antimicrob Agents Chemother* 2000; 44: 943-949.
61. Meagher AK, Ambrose PG, Grasela TH, Ellis-Grosse EJ. Pharmacokinetic/pharmacodynamic profile for tigecycline-a new tigecycline antimicrobial agent. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2005; 52: 165-71.
62. Meagher AK, Ambrose PG, Grasela TH, Ellis-Grosse EJ. The pharmacokinetic and pharmacodynamic profile of tigecycline, *Clin Inf Dis* 2005; 41(Suppl 5): S333-S340.
63. Passarell JA, Liolios K, Meagher AK et al. Exposure-Response analysis of Tigecycline Efficacy in Patients with Complicated Intra-Abdominal Infections. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 2008; 53: 204-210.
64. Meagher AK, Passarell JA, Cirincione BB, Van Wart SA, Liolios K, Babinchak T, Ellis-Grosse EJ and Ambrose PG. Exposure-Response analysis of Tigecycline Efficacy in Patients with Complicated Skin and Skin-Structure Infections, *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 2007; 51: 1939-1945.
65. Mercier RC, Kennedy C, Meadows C. Antimicrobial activity of tigecycline (GAR-936) against *Enterococcus faecium* and *Staphylococcus aureus* used alone and in combination. *Pharmacotherapy*. 2002;22:1517-1523.
66. Patel R, Rouse MS, Piper KE, Steckelberg JM. In vitro activity of GAR-936 against vancomycin-resistant enterococci, methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and penicillin-resistant *Streptococcus pneumoniae*. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2000;38:177-179.
67. Petersen PJ, Labthavikul P, Jones CH, Bradford PA. In vitro antibacterial activities of tigecycline in combination with other antimicrobial agents determined by checkerboard and time-kill kinetic analysis. *J Antimicrob Chemother*. 2006;57:573-576.

68. Zhanel GG, Homenuik K, Nichol K, et al. The glycylcyclines: A comparative review with the tetracyclines. *Drugs* 2004; 64: 63-88.
69. Pharmacodynamic Performance of Tigecycline versus Common Intravenous Antibiotics for the Empiric Treatment of Complicated Skin and Skin Structure Infections, Joseph L. Kuti, Michael Dowzicky and David P. Nicolau. *Surgical Infections*, 2008; 9: 57-66.
70. Oriana Simonetti, Oscar Cirioni, Guendalina Lucarini, Fiorenza Orlando, Roberto Ghiselli, Carmela Silvestri, Lucia Brescini, Marco Rocchi, Mauro Provinciali, Mario Guerrieri, Roberto Di Primio, Andrea Giacometti and Annamaria Offidani. Tigecycline accelerates staphylococcal-infected burn wound healing through matrix metalloproteinase-9 modulation. *J Antimicrob Chemother*, 2012; 67: 191–201.
71. Sacchidanand s, Penn RL, Embil JM, et al. Efficacy and safety of tigecycline monotherapy compared with vancomycin plus aztreonam in patients with complicated skin and skin structure infections : Results from a phase 3, randomized, double- blind trial. *Int J Infect Dis*. 2005; 9: 251-261.
72. Breedts J, Teras J, Gardovskis J, et al for the Tigecycline 305 cSSSI Study Group. Safety and efficacy of tigecycline in treatment of skin and skin structure infections : Results from a phase 3 comparison study with vancomycin- aztreonam. *Antimicrob Agents Chemoter*. 2005; 49:4658- 4666.
73. Oliva ME, RekhaA, Yellin A, et al, the 301 Study Group. A multicenter trial of the efficacy and safety of tigecycline versus imipenem/cilastatin in patients with complicated intra-abdominal infections. *BMC Infect Dis*. 2005;5:88.
74. Dartois N, Gioud-Paquet M, Ellis- Grosse EJ, Loh E, for the Tigecycline 306 Study Group. Tigecycline vs imipenem/cilastatin for treatment of complicated intra-abdominal infections. In: Abstracts of the 44th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy [on CD-ROM]. Washington, DC: American Society for Microbiology; 2004. Abstract L-992C.
75. Ellis-Grosse EJ, Babinchak T et al. The efficacy and safety of tigecycline in the treatment of skin and skin-structure infections: Results of 2 Double-blind Phase 3 comparison studies with vancomycin-aztreonam. *Clinical Infectious Disease* 2005;41 (Suppl 5)
76. Sun HK, Ong CT, Umer A, et al. Pharmacokinetic profile of tigecycline in serum and skin blister fluid of healthy subjects after multiple intravenous administrations. *Antimicrob Agents Chemother* 2005;49:1629-32.
77. Muralidharan G, Cruncillo RJ, Micalizzi M, et al. Effects of age and sex in single-dose pharmacokinetics of tigecycline in healthy subjects. *Antimicrob Agents Chemother* 2005;49:1656-9.
78. Murray, J., S. Wilson, S. Klein, A. Yellin, and E. Loh. 2003. The clinical response to tigecycline in the treatment of complicated intra-abdominal infections in hospitalized

- patients: a phase 2 clinical trial. Program Abstr. 43rd Intersci. Conf. Antimicrob. Agents Chemother., abstr. L-739.
79. Postier, R. G., S. L. Green, S. R. Klein, E. J. Ellis-Grosse, E. Loh, et al. 2004. Results of a multicenter, randomized, open-label efficacy and safety study of two doses of tigecycline for complicated skin and skin-structure infections in hospitalized patients. *Clin. Ther.* 26:704–714.
 80. Steinberg WM. Acute drug and toxin induced pancreatitis. *Hosp Pract* 1985;20:95–102.
 81. Elmore MF, Rogge JD. Tetracycline-induced pancreatitis. *Gastroenterology*, 1981; 81: 1134–6.
 82. Whitney Y. Hunga, Laura Kogelmanb, Gretchen Volpeb, Mark Iafrati, Lisa Davidson. Tigecycline-induced acute pancreatitis: case report and literature review. *International Journal of Antimicrobial Agents* 2009; 34: 486–489.
 83. Postier RG, Green SL, Klein SR, Ellis-Grosse EJ, Loh E. Results of a multicenter, randomized, open-label efficacy and safety study of two doses of tigecycline for complicated skin and skin-structure infections in hospitalized patients. *Clin Ther* 2004;26:
 84. Maria-Fernanda Bonilla, Robin K. Avery, Susan J. Rehm, Elizabeth A. Neuner, Carlos M. Isada and David van Duin. Extreme alkaline phosphatase elevation associated with tigecycline. *J Antimicrob Chemother*, 2011. Research letters, p.952-3.
 85. Pankey GA. Tigecycline: A single antibiotic for polymicrobial infections. *The Paediatric Infectious Disease Journal*. Vol 26 No 1 January 2007.
 86. Yin et al. Comparative evaluation of tigecycline and vancomycin, with and without rifampicin, in the treatment of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* experimental osteomyelitis in a rabbit model. *J. Antimicrob. Chemother.*, 2005; 55 (6): 995-1002.
 87. Dafna Yahav, Adi Lador, Mical Paul and Leonard Leibovici. Efficacy and safety of tigecycline: a systematic review and meta-analysis. *J Antimicrob. Chemother*, 2011; 66: 1963-1971.
 88. Aarons et al 2001.
 89. Sheiner & Steimer 2000.
 90. Lewis B. Sheiner and Stuart L. Beal. Bayesian Individualization of pharmacokinetics: Simple Implementation and Comparison with Non-Bayesian Methods. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 1982; 71: 1344-1348.
 91. Gelman et al 2004.
 92. Christopher M. Rubino, Alan Forrest, Sujata M. Bhavnani, Gary Dukart, Angel Cooper, Joan Korth-Bradley and Paul G. Ambrose. Tigecycline Population Pharmacokinetics in Patients with Community- or Hospital-Acquired Pneumonia. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 2010; 52: 5180–5186.

93. Paul G. Ambrose^a, Alison K. Meagher^b, Julie A. Passarelli^b, Scott A. Van Wart^b, Brenda B. Cirincione^b, Sujata M. Bhavnani^a, Evelyn Ellis-Grosse. Application of patient population-derived pharmacokinetic-pharmacodynamic relationships to tigecycline breakpoint determination for staphylococci and streptococci. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, 2009; 63: 155–159.
94. Paul G. Ambrose^a, Alison K. Meagher^b, Julie A. Passarelli^b, Scott A. Van Wart^a, Brenda B. Cirincione^b, Chris M. Rubino^a, Joan M. Korth-Bradley^c, Timothy Babinchak^c, Evelyn Ellis-Grosse^c. Use of clinically derived exposure-response relationship to evaluate potential tigecycline-Enterobacteriaceae susceptibility breakpoints. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, 2009; 63: 38–42.
95. Α. Γουλές, Θ. Σαρικούδης, Γ. Βαϊόπουλος. Η C-αντιδρώσα πρωτεΐνη στην κλινική πράξη. *Ελληνική Πνευματολογία*, 2006; 17(4): 334-339.
96. Bradford PA, Weaver-Sands DT, Petersen PJ. In vitro activity of tigecycline against isolates from patients enrolled in phase 3 clinical trials of treatment for complicated skin and skin-structure infections and complicated intra-abdominal infections. *Clin Infect Dis* 2005; 41 Suppl 5: S315–32.
97. Garcia-Cabrera E, Jimenez-Mejias ME, Gil Navarro MV et al. Superinfection during treatment of nosocomial infections with tigecycline. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 2010; 29: 867–71.
98. Anthony KB, Fishman NO, Linkin DR et al. Clinical and microbiological outcomes of serious infections with multidrug-resistant gram-negative organisms treated with tigecycline. *Clin Infect Dis* 2008; 46: 567–70.
99. Peleg AY, Potoski BA, Rea R, et al. *Acinetobacter baumannii* bloodstream infection while receiving tigecycline: a cautionary report. *J Antimicrob Chemother* 2007; 59:128–31.
100. Daly MW, Riddle DJ, Ledebore NA, Dunne WM, Ritchie DJ. Tigecycline for treatment of pneumonia and empyema caused by carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae*. *Pharmacotherapy* 2007; 27:1052–7.
101. FDA. FDA Drug Safety Communication: Increased Risk of Death with Tygacil (Tigecycline) Compared to Other Antibiotics Used to Treat Similar Infections. <http://www.fda.gov/Drugs/DrugSafety/ucm224370.htm> (April 2011)
102. Gardiner D, Dukart G, Cooper A et al. Safety and efficacy of intravenous tigecycline in subjects with secondary bacteremia: pooled results from 8 phase III clinical trials. *Clin Infect Dis* 2010; 50: 229–38.
103. Burkhardt O, Rauch K, Kaever V et al. Tigecycline possibly underdosed for the treatment of pneumonia: a pharmacokinetic viewpoint. *Int J Antimicrob Agents* 2009; 34: 101–2.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Στόχος: Μελέτη διαφόρων δοσολογικών σχημάτων του αντιβιοτικού τιγκεκυκλίνη που χορηγήθηκε σε ομάδα νοσηλευόμενων ασθενών και αξιολόγηση της δυνητικής εφαρμογής της παρακολούθησης των θεραπευτικών επιπέδων του φαρμάκου στο αίμα ασθενών.

Μέθοδοι: Συλλέχθηκαν δείγματα αίματος από 14 νοσηλευόμενους ασθενείς στη διάρκεια θεραπείας με τιγκεκυκλίνη, μεταξύ της 1^{ης} και 2^{ης} ώρας από το τέλος της ενδοφλέβιας έγχυσης του φαρμάκου και έγινε ποσοτικοποίηση των συγκεντρώσεων του φαρμάκου στο αίμα των ασθενών με πρόσφατα αναπτυγμένη ευαίσθητη μέθοδο υγροχρωματογραφίας υψηλής απόδοσης (HPLC). Στους ασθενείς εφαρμόστηκε η θεραπευτική αγωγή για περίπου δύο εβδομάδες και χορηγήθηκαν είτε 50 mg τιγκεκυκλίνης δύο φορές ημερησίως είτε 50 mg τιγκεκυκλίνης τρεις φορές ημερησίως, με ή χωρίς δόση εφόδου 100 mg. Χρησιμοποιώντας πληθυσμιακές φαρμακοκινητικές παραμέτρους από τη βιβλιογραφία για δι-διαμερισματικό φαρμακοκινητικό μοντέλο, εκτιμήθηκαν οι εξατομικευμένες Εμπειρικές Μπαεσιανές Εκτιμήτριες (EBE) για τις φαρμακοκινητικές παραμέτρους κάθε ασθενή με την εφαρμογή του λογισμικού NONMEM και υπολογίστηκαν οι αντίστοιχοι λόγοι AUC_{24}/MIC . Επιπλέον, χρησιμοποιώντας από τη βιβλιογραφία τις πληθυσμιακές φαρμακοκινητικές παραμέτρους και την ενδοατομική μεταβλητότητα της κάθαρσης του φαρμάκου καθώς και τους κλινικούς στόχους, πραγματοποιήθηκαν προσομοιώσεις Monte Carlo και υπολογίστηκαν οι κατανομές των λόγων AUC_{24}/MIC προκειμένου να αξιολογηθεί η εφαρμοσιμότητα των διαφορετικών δοσολογικών σχημάτων τιγκεκυκλίνης.

Αποτελέσματα: Οι προσομοιώσεις Monte Carlo έδειξαν ότι η υψηλότερη ημερήσια δόση των 150 mg τιγκεκυκλίνης είναι θεωρητικά θεραπευτική για όλους σχεδόν τους ασθενείς, ενώ η χαμηλότερη ημερήσια δόση των 100 mg τιγκεκυκλίνης φαίνεται πως οδηγεί ένα σημαντικό ποσοστό εικονικών ασθενών, μεγαλύτερο από 20%, σε υποθεραπευτικά επίπεδα του φαρμάκου στο αίμα. Η κλινική εικόνα σχετικά με την αποτελεσματικότητα του φαρμάκου στην ομάδα των

πραγματικών ασθενών επιβεβαιώνει μερικώς το αποτέλεσμα ότι η μικρότερη ημερήσια δόση που χορηγήθηκε μπορεί να είναι υποθεραπευτική για ορισμένους ασθενείς, ενώ η υψηλότερη δόση που χορηγήθηκε δεν ήταν συχνά ανεκτή από τους ασθενείς κυρίως λόγω πρόκλησης γαστρεντερικών ενοχλήσεων. Αυτή η μικτή εικόνα για το φάρμακο μας οδηγεί να προτείνουμε ότι μπορεί να έχει νόημα για την τιγεκυκλίνη η εξατομίκευση της δοσολογίας της με την εφαρμογή της παρακολούθησης των θεραπευτικών επιπέδων της στο αίμα ασθενών στα πλαίσια της κλινικής πράξης.

Συμπέρασματα: Η προσομοίωση Monte Carlo δείχνει ότι η χαμηλή δόση τιγεκυκλίνης μπορεί να οδηγήσει σε υποθεραπευτικά επίπεδα του φαρμάκου σε ένα σημαντικό μέρος του πληθυσμού, ενώ σε μια ομάδα ασθενών η υψηλότερη δόση συχνά δεν είναι ανεκτή. Τα ευρήματα αυτά προτείνουν ότι η δυνητική εξατομίκευση της δοσολογίας της τιγεκυκλίνης μπορεί να είναι χρήσιμη.

Λέξεις κλειδιά: τιγεκυκλίνη, εξατομίκευση δοσολογίας, πληθυσμιακή φαρμακοκινητική, λοιμώξεις

ABSTRACT

Objectives: To study various dose regimens of the antibiotic tigecycline in a group of hospitalised patients and assess the potential applicability of TDM for this drug.

Methods: Blood samples from 14 hospitalised patients were collected during treatment with tigecycline, between the first and the second hour after the end of the intravenous infusion, and the concentrations of the drug were quantified using a recently developed sensitive HPLC method. Patients were treated for about 10 days and were administered either 50 mg bid or 50 mg tid with or without a loading dose of 100 mg. Using literature population priors for the two-compartment pharmacokinetic parameters, Empirical Bayes Estimates (EBE) were derived for each of the patients' PK parameters with NONMEM and the corresponding AUC_{24}/MIC were calculated. Further, using the population estimate and the intersubject variability of clearance and clinical targets from literature, Monte Carlo simulations were performed and the distributions of AUC_{24}/MIC were computed to assess the applicability of the different dosing schemes.

Results: The MC simulations showed that the high dose of 50 mg tid is theoretically efficacious for almost all patients while the low dose of 50 mg bid leaves a significant percentage of more than 20% of the population in undertherapeutic levels. The clinical picture for the efficacy of the drug in the group of real patients partially confirms the result that the low dose may be undertherapeutic for some patients, while the high dose was very often not tolerated by the patients causing GI adverse effects. This mixed picture suggests that dose adjustment with TDM may be applicable for this drug.

Conclusion: Monte Carlo simulations show that the low dose of Tigecycline may produce undertherapeutic levels of the drug in a significant portion of the population while in a group of patients the high dose was often not tolerated, suggesting that potential dose adjustment could be useful.

Key words: tigecycline, dose adjustment, population pharmacokinetics, infections

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ

ΓΕΝΙΚΟ ΝΟΣΟΚΟΜΕΙΟ «Ο ΕΥΑΓΓΕΛΙΣΜΟΣ»

**Συνοπτικό πρωτόκολλο μελέτης της ανάγκης εξατομίκευσης της δόσης
σε ασθενείς που χρήζουν θεραπεία με tigacyl**

Σεπτέμβριος 2009

Ε' Παθολογικό Τμήμα και Μονάδα Λοιμώξεων Νοσοκομείου Ευαγγελισμός

Μικροβιολογικό Τμήμα Νοσοκομείου Ευαγγελισμός

Επιτροπή Λοιμώξεων Νοσοκομείου Ευαγγελισμός

Εργαστήριο Βιοφαρμακευτικής-Φαρμακοκινητικής Πανεπιστημίου Αθηνών

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η τιγεκυκλίνη κυκλοφορεί ως ενέσιμο σκεύασμα των 50 mg με την εμπορική ονομασία Tigacyl. Συγκεκριμένα, το σκεύασμα διατίθεται υπό μορφή λυοφιλοποιημένης πορτοκαλί χρώματος κόνεως, για παρασκευή διαλύματος προς έγχυση. Το Tigacyl ενδείκνυται για τη θεραπεία λοιμώξεων του δέρματος και των μαλακών μορίων και για επιλεγμένες ενδοκοιλιακές λοιμώξεις. Το συνιστώμενο δοσολογικό σχήμα για ενήλικες είναι η χορήγηση μιας αρχικής δόσης εφόδου 100 mg και στη συνέχεια χορήγηση δόσης 50 mg κάθε 12 ώρες για 5 έως 14 ημέρες, με ενδοφλεβια έγχυση διάρκειας 30-60 λεπτών. Ο χρόνος ημιζωής απομάκρυνσης του φαρμάκου στις διάφορες μελέτες κυμαίνεται μεταξύ 17 και 60 ωρών.

ΣΚΟΠΟΣ

Σκοπός της παρούσας μελέτης είναι η διερεύνηση της αποτελεσματικότητας του συγκεκριμένου δοσολογικού σχήματος και της ανάγκης (ή μη) εφαρμογής της διαδικασίας εξατομίκευσης της δόσης.

Η μελέτη θα είναι μη παρεμβατική και θα γίνει στο Νοσοκομείο «Ευαγγελισμός» σε ασθενείς που χρήζουν της συγκεκριμένης θεραπείας.

ΜΕΘΟΔΟΙ

Στοιχεία ασθενών

Η ένταξη ασθενών στη μελέτη, θα διαρκέσει τουλάχιστον ένα έτος. Κάθε ασθενής θα ενημερώνεται για τη μελέτη και θα υπογράφει γραπτή συγκατάθεση συμμετοχής. Για κάθε ασθενή θα καταχωρούνται τα στοιχεία όπως αναφέρονται στη συνέχεια.

Στοιχεία ασθενούς:

1. Ονοματεπώνυμο
2. Ηλικία
3. Ημερομηνία εισόδου στο Νοσοκομείο
4. Σωματικό βάρος
5. Είδος μικροβιακής λοίμωξης
6. Δοσολογικό σχήμα - Διάρκεια θεραπείας με tigacyl
7. Άλλες ασθένειες
8. Συγχωρηγούμενα φάρμακα

Παραμετροί αναφοράς AUC, MIC

Δεδομένου ότι η δράση του φαρμάκου είναι χρονοεξαρτώμενη για τον υπολογισμό της αποτελεσματικότητας είναι απαραίτητος ο υπολογισμός της παραμέτρου *AUC/MIC* καθώς και των επιμέρους παραμέτρων, *AUC* και *MIC*, που θα χρησιμοποιηθούν ως παράμετροι αναφοράς.

AUC είναι το εμβαδόν της επιφάνειας κάτω από την καμπύλη «συγκέντρωσης του φαρμάκου στο πλάσμα – χρόνου»

MIC είναι η ελάχιστη ανασταλτική συγκέντρωση του φαρμάκου στο αίμα.

Προσδιορισμός παραμέτρων αναφοράς AUC, MIC

Για τον υπολογισμό της *AUC* είναι απαραίτητος ο προσδιορισμός της συγκέντρωσης του φαρμάκου σε τέσσερα χρονικά σημεία, τουλάχιστον, μετά το τέλος κάθε έγχυσης μεταξύ της 1^{ης} και 2^{ης} ώρας. Θα χρειαστούν ως εκτούτου τουλάχιστον 4 δείγματα αίματος/ασθενή σε κατάλληλα χρονικά σημεία. Η δειγματοληψία θα γίνει την 1^η, 2^η, 3^η και 9^η ημέρα χορήγησης του φαρμάκου ή εναλλακτικά σε περιπτώσεις μικρότερης διάρκειας χορήγησης η τελευταία δειγματοληψία θα πραγματοποιείται την τελευταία ημέρα χορήγησης. Πριν την έναρξη της χορήγησης του Tigacyl θα λαμβάνεται από κάθε ασθενή ένα δείγμα αίματος (blank) ως δείγμα αναφοράς. Το δειγματοληπτικό σχήμα λοιπόν έχει ως εξής:

1^ο δείγμα: Πριν από την έναρξη της χορήγησης του Tigacyl (blank)

2^ο δείγμα: Πρώτη ημέρα χορήγησης, μεταξύ 1^{ης} και 2^{ης} ώρας από το τέλος της έγχυσης.

3^ο δείγμα: Δεύτερη ημέρα χορήγησης, μεταξύ 1^{ης} και 2^{ης} ώρας από το τέλος της έγχυσης.

4^ο δείγμα: Τρίτη ημέρα χορήγησης, μεταξύ 1^{ης} και 2^{ης} ώρας από το τέλος της έγχυσης.

5^ο δείγμα: Ένατη ημέρα χορήγησης, μεταξύ 1^{ης} και 2^{ης} ώρας από το τέλος της έγχυσης, όπως προκύπτει από τη διαδικασία optimal design.

Με βάση το συνήθως χρησιμοποιούμενο δοσολογικό σχήμα, για την επίτευξη σταθεροποιημένων επιπέδων του φαρμάκου στο αίμα είναι απαραίτητη η χορήγησή του επί 10 ημέρες, όπως προκύπτει από τις τιμές του χρόνου ημιζωής απομάκρυνσης του φαρμάκου, που αναφέρονται τη βιβλιογραφία και κυμαίνονται από 17 έως 60 ώρες.

Για τον προσδιορισμό της συγκέντρωσης της τιγκεκυκλίνης στα δείγματα αίματος θα εφαρμοστεί μέθοδος HPLC η οποία αναπτύχθηκε πρόσφατα στα εργαστήρια Αναλυτικής Χημείας και Βιοφαρμακευτικής-Φαρμακοκινητικής του Πανεπιστημίου Αθηνών.

Ο υπολογισμός στη συνέχεια της παραμέτρου *AUC* θα γίνει με προσαρμογή του κατάλληλου φαρμακοκινητικού μοντέλου στα πειραματικά δεδομένα και χρήση ειδικών λογισμικών που έχουν τη δυνατότητα ενσωμάτωσης και χρήσης της υπάρχουσας πληροφορίας από προηγούμενες μελέτες.

Η τιμή του *MIC* αφορά σε κάθε μικροοργανισμό και θα προκύψει τον αιματολογικό έλεγχο του ασθενή και τα μικροβιολογικά δεδομένα της μονάδας λοιμώξεων του Νοσοκομείου. Για κάθε ασθενή θα πρέπει να υπάρχει μια καλλιέργεια αίματος πριν τη χορήγηση του φαρμάκου που θα επιβεβαιώνει αρχικά την ύπαρξη μικροβίου ευαίσθητου στην τιγκεκυκλίνη και στη συνέχεια μια δεύτερη καλλιέργεια στο τέλος της θεραπείας που θα επιβεβαιώνει την εκρίζωση του μικροβίου μετά τη χορήγηση της τιγκεκυκλίνης.

Άλλοι έλεγχοι

Επιπλέον για κάθε ασθενή θα χρησιμοποιηθούν τα δεδομένα από τον βιοχημικό και αιματολογικό έλεγχο που γίνεται σε επίπεδο ρουτίνας στο Νοσοκομείο Ευαγγελισμού ώστε να ελέγχεται η ηπατική, νεφρική κλπ. λειτουργίες του ασθενούς.

BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Conte, J.E., Golden, J.A., Kelly, M.G., and Zurlinden, E., Steady-State Serum and Intrapulmonary Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of Tigecycline, Int. J. Antimicrob. Agents, 2005, 25, 523-529.
2. Rodvold, K.A., Gotfried, M.H., Cwick, M., Bradley, J.M.K., Dukart, G., Grosse, E.J.E., Serum, Tissue and Body Fluid Concentrations of Tigecycline after a Single 100 mg dose, J. Antimicrob. Chemother., 2006, 58, 1221-1229.
3. Lefort, A., Lafaurie, M., Massias, L., Petegnief, Y., Mghir, A.S., Serieys, C.M., Le Guludec, D., and Fantin, B., Activity and Diffusion of Tigecycline (GAR-936) in Experimental Enterococcal Endocarditis, Antimicrob. Agents Chemother., 2003, 47 (1), 216-222.

4. Muralidharan, G., Micalizzi, M., Speth, J., Raible, D., Troy, S., Pharmacokinetics of Tigecycline after Single and Multiple Doses in Healthy Subjects, *Antimicrob. Agents Chemother.*, 2005, 49 (1), 220-229.
5. Garrison, M.W., Neumiller, J.J., and Setter, S.M., Tigecycline: An Investigational Glycylcycline Antimicrobial with Activity Against Resistant Gram-Positive Organisms, 2005, 27 (1), 12-22.
6. Chopra, I., and Roberts, M., Tetracycline Antibiotics: Mode of Action, Applications, Molecular Biology, and Epidemiology of Bacterial Resistance, *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 2001, 65 (2) 232-260.
7. Rubinstein, E., and Vaughan, D., Tigecycline- A Novel Glycylcycline, *Drugs*, 2005, 65 (10), 1317-1336.