



**УНИВЕРЗИТЕТ „СВ.КИРИЛ И МЕТОДИЈ“**

**МЕДИЦИНСКИ ФАКУЛТЕТ, СКОПЈЕ**

**Институт за претклиничка и клиничка  
фармакологија со токсикологија**



**Александар Љупчо Никодиновски**

**Индивидуализација на дозирањето на амикацин преку  
терапевтско мониторирање на концентрациите ја  
зголемува ефикасноста и безбедноста на лекот**

**докторски труд**

**Скопје, 2024**

**Докторанд:**

Александар Љупчо Никодиновски

**Тема:**

Индивидуализација на дозирањето на амикацин преку терапевтско мониторирање на концентрациите ја зголемува ефикасноста и безбедноста на лекот

**Ментор:**

Проф.д-р Никола Лабачевски,  
Институт за претклиничка и клиничка фармакологија, Медицински факултет,  
Универзитет „св.Кирил и Методиј“, Скопје

**Комисија за одбрана:**

Проф.д-р Димче Зафиров (претседател)  
Институт за претклиничка и клиничка фармакологија, Медицински факултет,  
Универзитет „св.Кирил и Методиј“, Скопје

Проф.д-р Маја Сланинка-Мицеска,  
Институт за претклиничка и клиничка фармакологија, Медицински факултет,  
Универзитет „св.Кирил и Методиј“, Скопје

Проф.д-р Трајан Балканов,  
Институт за претклиничка и клиничка фармакологија, Медицински факултет,  
Универзитет „св.Кирил и Методиј“, Скопје

Проф.д-р Светлана Кочева,  
ЈЗУ Универзитетска клиника за детски болести-Скопје, Медицински факултет,  
Универзитет „св.Кирил и Методиј“, Скопје

**Научна област на докторскиот труд:**

Фармакологија

**Датум на одбрана:**

---

**Александар Љупчо Никодиновски**

## **Индивидуализација на дозирањето на амикацин преку терапевтско мониторирање на концентрациите ја зголемува ефикасноста и безбедноста на лекот**

– А п с т р а к т –

**Вовед:** Терапевтско мониторирање на лековите ( therapeutic drug monitoring - TDM) претставува мерење на концентрациите на лековите и нивна соодветна интерпретација од страна на клинички фармаколог, клинички фармацевт или доктор од друга специјалност со посебна едукација. Со терапевтското мониторирање на лековите се постигнува индивидуализација на терапевтскиот режим кај пациентот со цел да се добие оптимален сооднос помеѓу користа од примената на лекот и несаканите дејства кои се јавуваат при примена на лекот, односно се постигнува најдобар одговор кон терапијата од страна на пациентот. Амикацин и другите аминокликозидни антибиотици имаат мал терапевтски индекс и мала терапевтска ширина. Целта на терапевтското мониторирање на амикацин е да се одбегне опасноста од субдозирање на лекот и да се намали неговата токсичност посебно врз бубрезите и ототоксичност. При индивидуалното одредување на дозата и режимот на дозирање на амикацин се користат фармакокинетски и фармакодинамски параметри и се земаат во предвид индивидуалните особини на пациентот (висина, тежина, возраст, функцијата на бубрезите и други витални органи). Тие се добиени со комбинирање на фармакокинетските параметри (C<sub>max</sub>, T<sub>max</sub>, AUC) и фармакодинамските параметри, добиени од активноста на микроорганизмот (MIC) и се наречени PK/PD параметри. Параметарот C<sub>max</sub>/MIC е најсоодветен за употреба за индивидуализација на терапијата со амикацин. Од спроведените студии, заклучено е дека за постигнување на клинички ефикасна терапија максималната концентрација на аминокликозидите треба да биде 8-10 пати поголема од минималната инхибиторна концентрација на микроорганизмот кај пациенти со инфекции предизвикани со грам-негативни причинители. Мониторирање на терапијата со амикацин се врши по постигнување на “steady-state” состојба на концентрациите на лекот во крвта на пациентот.

**Цел на студијата:** Проценка на терапевтската ефикасност и безбедност на амикацин даден во форма на интравенска инфузија во доза од 30 mg/kg, но не повеќе од 1.5g, во времетраење од 30 минути, секој ден, најмалку во период од 7 дена и одредување на потребата од индивидуализација на дозата на амикацин кај пациенти со цистична фиброза.

**Материјал и методи:** Во студијата беа вклучени 40 пациенти со цистична фиброза кои примаат терапија со амикацин според претходно утврден протокол. Пациентите беа на возраст од 6-37 години. Сите пациенти примаа Амикацин во доза од 30 mg/kg на ден (најмногу 1.5 g на ден), даден еднократно во форма на инфузија во времетраење од 30 минути, еднаш на ден. Примерок на крв за одредување на концентрациите на амикацин во серум беше земена. Примероци на крв (по 1 ml) за одредување на концентрациите на амикацин во серум беа земени пред давање на третата доза на лекот, 30 минути по завршување на инфузијата, 6 h и 23 h по започнување на инфузијата и пред давање на петтата доза на лекот. Серумските концентрации на амикацин беа одредени со флуоресцентен поларизационен имуноесеј (FPIA) на анализатор ARCHITECT C4000 од АBBОТТ. Фармакокинетските параметри (C<sub>min</sub>, Kel, T/2el, Vd и Cl<sub>tot</sub>) беа пресметани од добиените серумски концентрации, а максималните концентрации на амикацин во серум во “steady-state” беа пресметани со екстраполација од концентрациите добиени во елиминациониот дел на кривата. За цело времетраење на испитувањето беа следени параметрите за терапевтската ефикасност на лекот (клинички, лабораториски, микробиолошки) и безбедност на лекот (посебно за нефротоксичност и ототоксичност).

**Заклучок:** Врз основа на добиените резултати е заклучено дека кај ниту еден пациент со цистична фиброза вклучен во истражувањето не беше потребно да се индивидуализира дозата на амикацин бидејќи пред давање на третата, четвртата и петтата доза на лекот беа постигнати серумски концентрации на амикацин  $\leq 2\mu\text{g/ml}$ . Поради тоа може да се заклучи дека кај пациентите со цистична фиброза во нашата популација не треба да се врши терапевтски мониторинг на концентрациите на амикацин во серум при давање на лекот во доза од 30 mg/kg, но не повеќе од 1.5 g на ден, еднаш на ден, во времетраење од 30 минути, освен кај пациенти кај кои се забележани несакани дејства. Амикацин во дадената доза покажа одлична терапевтска ефикасност (клиничка и микробиолошка) и безбедност на лекот со одсуство на знаци на нефротоксичност и ототоксичност. За време на истражувањето не беше забележано влијание врз хематолошките и биохемиските параметри кое би било клинички значајно за безбедноста на лекот.

**Клучни зборови:** терапевтско мониторирање, амикацин, концентрации на лекот во крв (плазма, серум), терапевтска ефикасност, безбедност, фармакокинетски и фармакодинамски параметри.

**Aleksandar Ljupcho Nikodinovski**  
**Individualization of Amikacin Dosage Through Therapeutic Monitoring of Concentrations Increases Efficacy and Safety of Drug**

– Abstract –

**Introduction:** Therapeutic drug monitoring (TDM) involves measuring drug concentrations and their appropriate interpretation by a clinical pharmacologist, clinical pharmacist, or a doctor from another specialty with specific education. Through therapeutic drug monitoring, the therapeutic regimen is individualized for the patient to achieve an optimal balance between the benefits of drug use and the adverse effects that may occur with drug administration. In other words, it ensures the best therapeutic response for the patient. Amikacin and other aminoglycoside antibiotics have a narrow therapeutic index and a small therapeutic window. The goal of therapeutic drug monitoring of amikacin is to avoid the risk of underdosing the drug and to reduce its toxicity, particularly on the kidneys and ototoxicity. When determining the individual dose and dosing regimen of amikacin, pharmacokinetic and pharmacodynamic parameters are used, and the patient's individual characteristics (height, weight, age, kidney function, and other vital organ functions) are taken into account. These parameters are obtained by combining pharmacokinetic parameters (C<sub>max</sub>, T<sub>max</sub>, AUC) and pharmacodynamic parameters derived from the activity of the microorganism (MIC) and are referred to as PK/PD parameters.

The C<sub>max</sub>/MIC parameter is the most appropriate for use in the individualization of amikacin therapy. Studies have concluded that, to achieve clinically effective therapy, the maximum concentration of aminoglycosides should be 8-10 times higher than the minimum inhibitory concentration (MIC) of the microorganism in patients with infections caused by gram-negative pathogens. Monitoring of amikacin therapy is performed after achieving a steady-state concentration of the drug in the patient's blood.

**Study Objective:** To evaluate the therapeutic efficacy and safety of amikacin administered as an intravenous infusion at a dose of 30 mg/kg, but not exceeding 1.5 g, over a duration of 30 minutes, daily, for at least 7 days, and to determine the need for dose individualization of amikacin in patients with cystic fibrosis.

**Materials and Methods:** The study included 40 patients with cystic fibrosis receiving amikacin therapy according to a pre-established protocol. The patients were aged 6-37 years. All patients received amikacin at a dose of 30 mg/kg per day (not exceeding 1.5 g per day), administered as a single infusion over 30 minutes, once daily. Blood samples for determining serum amikacin concentrations were collected. Blood samples (1 ml each) were taken before administering the third dose of the drug, 30 minutes after the end of the infusion, 6 hours, and 23 hours after the start of the infusion, as well as before administering the fifth dose of the drug. Serum concentrations of amikacin were determined using fluorescence polarization immunoassay (FPIA) on the ARCHITECT C4000 analyzer from ABBOTT. The pharmacokinetic parameters (C<sub>min</sub>, K<sub>el</sub>, T<sub>1/2el</sub>, V<sub>d</sub>, and Cl<sub>tot</sub>) were calculated from the obtained serum concentrations, and the maximum serum concentrations of amikacin in the "steady-state" were estimated by extrapolation from the concentrations obtained in the elimination phase of the curve. Throughout the study, parameters for therapeutic efficacy of the drug (clinical, laboratory, microbiological) and drug safety (with particular focus on nephrotoxicity and ototoxicity) were monitored.

**Conclusion:** Based on the obtained results, it was concluded that none of the cystic fibrosis patients included in the study required individualization of the amikacin dose, as serum concentrations of amikacin  $\leq 2 \mu\text{g/ml}$  were achieved before administering the third, fourth, and fifth doses of the drug. Therefore, it can be concluded that in cystic fibrosis patients within our population, therapeutic drug monitoring of serum amikacin concentrations is not necessary when the drug is administered at a dose of 30 mg/kg, but not exceeding 1.5 g per day, once daily, over a duration of 30 minutes, except in cases where adverse effects are observed.

Amikacin, at the given dose, demonstrated excellent therapeutic efficacy (both clinical and microbiological) and drug safety, with no signs of nephrotoxicity or ototoxicity. During the study, no clinically significant effects on hematological or biochemical parameters were observed that would impact the drug's safety.

**Key words:** therapeutic monitoring, amikacin, concentrations of drug (plasma, serum), therapeutic efficacy, safety, pharmacokinetic and pharmacodynamic parameters.

## **Благодарност**

**Изјавувам дека докторскиот труд го изработив самостојно, дека уредно ги цитирам сите користени извори и литература и дека трудот не е користен во рамките на други универзитетски студии или за стекнување на друго звање.**

**с.р.**

**Изјавувам дека електронската верзија на овој труд е идентична со печатената верзија.**

**с.р.**

## Содржина

<b>1.ВОВЕД</b>	
<b>1.1.Терапевтско мониторирање на лековите</b>	9
<b>1.2.Амикацин</b>	13
<i>1.2.1.Индикации на амикацин</i>	16
<i>1.2.2.Дозирање на амикацин</i>	16
<i>1.2.2.1.Дозирање кај возрасни и деца постари од 12 години</i>	17
<i>1.2.2.2.Дозирање кај деца на возраст од 4 недели до 12 години</i>	17
<i>1.2.2.3.Дозирање кај новородени</i>	17
<i>1.2.2.4.Дозирање кај предвремено родени деца</i>	17
<i>1.2.2.5.Дозирање кај пациенти со уринарни инфекции</i>	17
<i>1.2.2.6.Дозирање кај пациенти со инфекции кои го загрозуваат животот</i>	18
<i>1.2.2.7.Дозирање кај стари лица и пациенти со бубрежна инсуфициенција</i>	18
<i>1.2.3.Употреба на амикацин кај пациенти со цистична фиброза</i>	18
<i>1.2.4.Претклинички податоци за безбедноста на лекот</i>	27
<i>1.2.5.Несакани дејства на амикацин</i>	29
<i>1.2.6.Фармакокинетика на амикацин</i>	37
<i>1.2.7.Терапевтско мониторирање на амикацин</i>	37
<b>2.ЦЕЛ НА ИСПИТУВАЊЕТО</b>	45
<b>3.МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДИ</b>	46
<b>3.1.Субјекти во истражувањето</b>	46
<i>3.1.1.Критериуми за влучување во истражувањето</i>	46
<i>3.1.2.Критериуми за невклучување во истражувањето</i>	46
<i>3.1.3.Критериуми за исклучување од истражувањето</i>	46
<b>3.2. Третман за време на истражувањето</b>	47
<b>3.3. Методи на истражувањето</b>	47
<i>3.3.1.Анамнеза и клинички преглед</i>	47
<i>3.3.2.Лабораториски методи</i>	49
<i>3.3.2.1.Методи за одредувањето на лабораториските (хематолошки и биохемиски анализи )</i>	49
<i>3.3.2.2.Методи за одредувањето на концентрацијата на амикацин во серум</i>	49
<i>3.3.3.Пресметување на фармакокинетските параметри</i>	54
<i>3.3.4.Статистички методи</i>	56
<b>4.ЕКСПЕРИМЕНТАЛЕН ПРОТОКОЛ</b>	57
<b>5.РЕЗУЛТАТИ</b>	61
<b>5.1.Карактеристики на испитаниците</b>	61
<b>5.2.Серумски концентрации и фармакокинетски параметри на амикацин</b>	62
<b>5.3.Концентрации на креатинин во серум, клиренс на креатинин и уреа во серум</b>	63
<b>5.4.Хематолошки параметри</b>	68
<b>5.5.Биохемиски параметри</b>	77

<b>5.6.Тест на шепот</b>	89
<b>5.7.Терапевтска ефикасност</b>	90
<b>6.ДИСКУСИЈА</b>	94
<b>6.1.Серумски концентрации на амикацин и фармакокинетски параметри</b>	94
<b>6.2.Биохемиски параметри</b>	99
<i>6.2.1.Концентрација на креатинин во серум, клиренс на креатинин и концентрација на уреа во серум</i>	99
<i>6.2.2.Други биохемиски параметри</i>	100
<b>6.3.Хематолошки параметри</b>	104
<b>6.4.Безбедност на терапијата со амикацин</b>	106
<b>6.5.Терапевтска ефикасност</b>	107
<b>7.ЗАКЛУЧОЦИ</b>	111
<b>ЛИТЕРАТУРА</b>	114



## 1. ВОВЕД

### 1.1. ТЕРАПЕВТСКО МОНИТОРИРАЊЕ НА ЛЕКОВИТЕ

Терапевтско мониторирање на лековите ( therapeutic drug monitoring - TDM) претставува мерење на концентрациите на лековите и нивна соодветна интерпретација од страна на доктор кој има завршено посебна едукација ( клинички фармаколог, а во некои држави со развиена фармацевтска индустрија и клинички фармацевт).

Со терапевтското мониторирање на лековите се постигнува индивидуализација на терапевтскиот режим кај пациентот со цел да се добие оптимален сооднос помеѓу користа од примената на лекот и несаканите дејства кои се јавуваат при примена на лекот, а со тоа и да се обезбеди најдобар одговор кон терапијата од страна на пациентот (1,2,3,4).

Постојат повеќе причини за разика во индивидуалниот одговор кон лекот од страна на пациентот. Тие може да се поделат на причини кои произлегуваат од страна на пациентот и од страна на лекот (1).

Причини за различниот одговор кон лекот од страна на пациентот се: самата болест (видот, карактеристиките и тежината на болеста), расната припадност, полот, возраста (деца или постара возраст), телесната маса (потхранети пациенти или со поголема телесна тежина), исхраната (видот и количината на храна која се зема од страна на пациентот), користењето на средства за уживање (пушење, алкохол) и генетските карактеристики (постоење на мутации на гени и други генетски пореметувања).

Причини за различниот одговор кон лекот од страна на самиот лек се: истовремено примање на повеќе лекови и можни интеракции помеѓу нив, нелинеарност на одговорот во зависност од применетата доза на лекот, нелинеарност на одговорот во зависност од времетраењето на примањето на лекот и специфичностите во фармакокинетиката на лекот.

Терапевтското мониторирање на лековите се врши преку мерење на концентрациите на лековите во различни биолошки течности, најчесто цела крв, плазма или серум. За прв пат е воведено во 60-тите години на XX век, а клиничката фармакокинетика како дисциплина се развила во доцните 60-ти и раните 70-ти години на XX век (5). Во почетокот цел на терапевтското мониторирање на лековите било при примена на терапевтски дози на лекот да се одбегнат или

намалат бројот и тежината на несакани дејства на некои лекови како дигоксин, фенитоин, литиум и теофилин. Подоцна е утврдено дека за некои лекови постои директна корелација помеѓу концентрациите на лекот во биолошките течности и нивната ефикасност и безбедност. Со развој на аналитичките методи кои овозможиле точно одредување на концентрациите на лекот во биолошките течности и развојот на фармакокинетиката како наука се развиле математички модели кои овозможиле преку пресметување на фармакокинетичките параметри да се одреди точната доза со која ќе се постигне максимална ефикасност и безбедност на дадените лекови. За некои исклучително значајни лекови како што се дигоксин, фенитоин и варфарин (посебно значајни во периодот на 70-тите и 80-тите години на минатиот век) се утврдени интериндивидуални разлики во големината на плазматските концентрации за 10 пати или повеќе. Утврдено било дека овие разлики се должат на различни формулации на лекот, генетски варијации, придружни болести, фактори од околината и интеракции со други лекови. Овие податоци уште повеќе го наметнуваат персонализираниот третман при одредување на дозата на лекот.

Терапевтското мониторирање на лековите покрај за индивидуализација на дозирањето во раната фаза на третманот или промена на дозата е значајно и за утврдување на соработката на пациентот за време на лекувањето (дали пациентот го зема лекот во точно пропишаната доза), за одбегнување или намалување на токсичноста на лековите, за дијагноза на токсичност на лековите, за откривање и следење на интеракциите помеѓу лековите и како водич за прекин на давањето на лекот.

Треба да се биде внимателен при интерпретацијата на резултатите од добиените концентрации на лековите во биолошка течност. Пример: кај пациенти кои примаат литиум поради манично-депресивни напади, фенитоин поради превенција на епилептични напади поради неврохируршки интервенции или траума или циклоспорин за да се превенира отфрлање на трансплантатот, следењето на концентрациите на лекот во раната фаза на терапијата е исклучително значајно со цел да се одбегнат токсични концентрации (1). Токсичноста на фенитоин е лесно да се препознае и не е неопходно одредување на концентрациите на лекот за поставување на дијагноза. Меѓутоа, токсичноста на дигоксин дава симптоми слични на срцеви заболувања, а нефротоксичноста предизвикана од аминокликозидни антибиотици е со слични симптоми како и тешки инфекции за

кои е индицирано давањето на антибиотикот (6,7). Во ваков случај е неопходно да се одредат концентрациите на дигоксин и аминокликозидниот антибиотик со цел да се утврди дали симптомите произлегуваат од токсичноста на лекот или оштетувања на органите и нивната нарушена функција е од друга причина бидејќи третманот е сосема различен.

Утврдено е дека мерењето на концентрациите на лекот во биолошки течности (крв, плазма или серум) е значајно во клиничката пракса само за релативно мал број на лекови (од вкупниот број на одобрени лекови за употреба). Од таа причина, терапевтското мониторирање на лековите се препорачува:

- a) за лекови кај кои постои утврдена поврзаност помеѓу нивото на концентрациите на лекот во серум/плазма и фармаколошкиот ефект и/или токсичноста;
- b) за лекови кои покажуваат сигнификантни интериндивидуални фармакокинетски варијабилности при администрирање на стандардната доза на лекот, а фармакокинетските карактеристики на лекот се релативно стабилни кај ист пациент;
- c) за лекови со мала терапевтска ширина;
- d) за лекови кај кои оптималната доза не може да се утврди само врз основа на клиничка опсервација;
- e) за лекови кај кои поради времетраењето на лекувањето и клиничката состојба на пациентот треба да се направи напор за давање на оптималната доза на лекот;
- f) за поставување на дијагноза дека токсичноста на лековите е причина за симптомите на пациентот;
- g) ако соработката на пациентот за време на лекувањето не задоволува со цел врз основа на концентрациите на лекот во крвта/плазмата/ серумот да се утврди дали пациентот редовно го зема лекот.

Врз основа на овие критериуми е утврдено дека за следните лекови или групи на лекови е потребно терапевтско мониторирање (1,2,3,8):

- a) антиепилептици (фенобарбитон, фенитоин, примидон, карбамазепин, натриум валпроат и валпроична киселина, етосукцимид, ламотригин);
- b) антидепресивни лекови (амитриптилин, дезипрамин, имипрамин, нортриптилин)
- c) литиум;

- d) дигоксин;
- e) имуносупресивни лекови (циклоспорин, сиролимус, такролимус);
- f) антиаритмици (амјодарон, флекаинид, дизопирамид, лидокаин, прокаинамид, кинидин);
- g) теофилин;
- h) перхексилин;
- i) метотрексат;
- j) салицилати и парацетамол (за дијагноза на труење);
- k) аминокликозидни антибиотици (гентамицин, тобрамицин, амикацин и канамицин) и ванкомицин.

Обично примерокот на крв/плазма/серум за одредување на концентрацијата на лекот треба да се зема кога е постигната динамичка концентрација на лекот во биолошката течност (“steady-state“) (1,2,9,10). Времето на постигнување на “steady-state“ зависи од полуживотот на елиминација на лекот. За најголем број на лекови (95%), “steady-state“ се постигнува за време од 4-5 полуживоти на елиминација на лекот. За лековите кои имаат долг полуживот на елиминација како што се фенобарбитон и амјодарон, примерокот на крв може да се земе во било која точка на дозниот интервал.

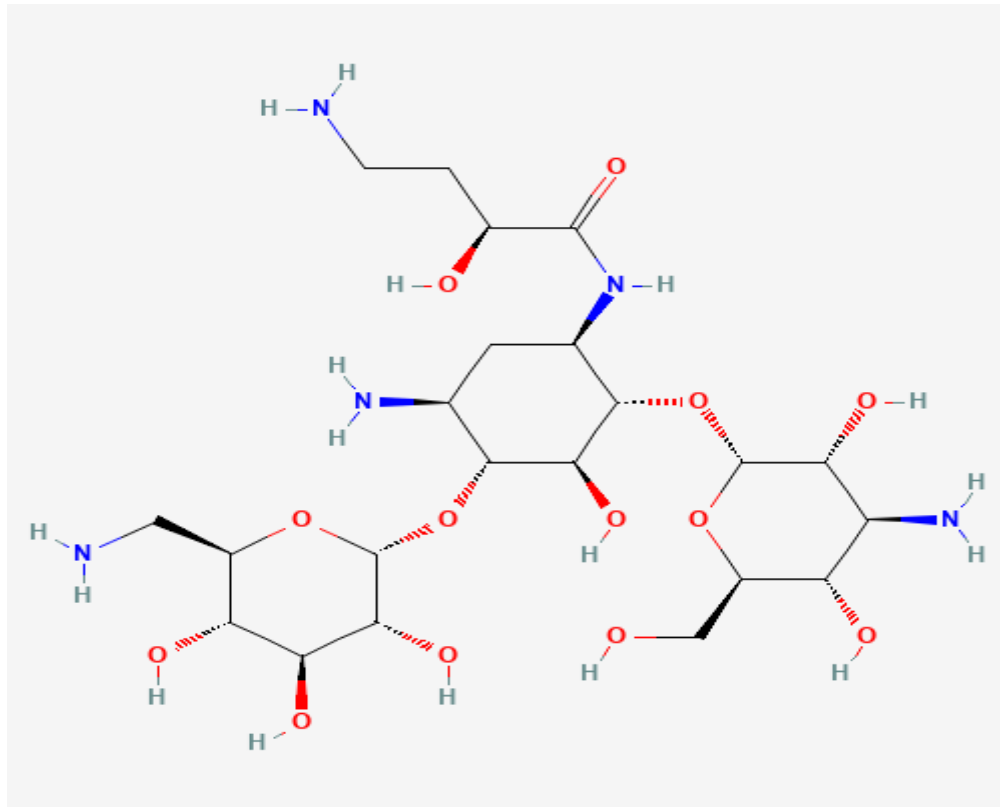
Практични проблеми кои се јавуваат при терапевтското мониторирање на лековите се:

- непостоење на аналитичка лабораторија опремена со соодветна опрема и стручен кадар што го намалува ентузијазмот на клиничките доктори за терапевтско мониторирање на лековите;
- недостаток на стручен кадар за точна интерпретација на добиените резултати;
- погрешно одбрано време на земањето на примерок на крв/плазма/серум;
- постоење на активни метаболити што придонесуваат за терапевтскиот ефект на лекот, а чии концентрации не се мерат (пример: карбамазепин, прокаинамид);
- постоење на други фактори кои влијаат на ефектот на лекот и не се поврзани со неговите концентрации во плазмата (баланс на електролити, ацидо-базна рамнотежа, возраст, резистенција кон бактерии, врзување за протеините во плазмата).

Во последните 30-тина години е направена евалуација на фармакоекономските аспекти од терапевтското мониторирање на лековите и неговиот придонес за здравствениот систем. Како параметри на ефикасноста на терапевтското мониторирање на лековите биле земени инциденцата на јавување на несакани дејства предизвикани со лекови, бројот на излекувани пациенти, бројот на пациенти со смртен исход и трошоците поврзани со услугите за терапевтско мониторирање на лековите (11,12,13). Кај возрасни пациенти со епилепсија било утврдена подобра контрола на нападите, помалку несакани дејства, подобар функционален капацитет, помали трошоци за пациентот, помал број на хоспитализации поради нападите и зголемување на шансите за ремисија. Слични резултати се добиени и со мета-анализа на клинички студии во кои е користено терапевтско мониторирање на лековите за дигоксин, теофилин, ванкомицин, имunosупресивни лекови и аминокликозидни антибиотици. За некои од лековите за кои се препорачува терапевтско мониторирање сеуште нема добро дизајнирани студии во кои ќе се испита дополнителната вредност која се добива за пациентот во однос на трошоците поврзани со терапевтското мониторирање на лековите.

## **1.2.АМИКАЦИН**

Амикацин е полу-синтетски антибиотик од групата на аминокликозидни антибиотици добиен со модификација на структурата на канамицин. Добиен е со ацилација на L-(-)- $\gamma$ -амино- $\alpha$ -хидроксипутирил страничниот ланец на C-1 аминокликозидната група во деоксистрептаминскиот дел на канамицин А. Патентиран е во 1971 година, а првата комерцијална употреба е од 1976 година. Аминокликозидните антибиотици се употребуваат уште од 40-тите години на XX-тиот век во терапија на голем број на бактериски инфекции предизвикани со Грам-негативни микроорганизми.



**Слика 1 Хемиска структура на Амикацин**

Амикацин е бактерициден лек кој делува преку инхибиција на синтезата на протеини во бактериската клетка. Се врзува за 30 S поединицата на рибозомите во бактериската клетка (14,15). Кај Грам-негативните бактерии амикациноот се врзува за липополисахаридите, фосфолипидите и надворешните мембрански протеини на бактериската клетка, додека кај Грам-позитивните бактерии се врзува за теихоичните киселини и фосфолипиди. Со врзувањето на амикациноот за овие соединенија се зголемува пермеабилноста и пенетрацијата на неговите молекули во периплазматскиот простор. Овој процес е енергетски независен и наречен “самопоттикнато прифаќање” (“self-promoted uptake”). Со помош на функционален електронски транспортен систем мал број на молекули од антибиотикот ќе навлезат во цитоплазмата -”енергетски зависна фаза I” и ќе ја нарушат транслацијата на протеини во бактериската клетка. Третата фаза позната како “енергетски зависна фаза II” се состои од навлегување на голем број молекули од антибиотикот низ дезинтегрираната мембрана која сега се состои од аберантни мембрански протеини. Со навлегувањето на се поголем број молекули од антибиотикот во цитоплазмата, клетката продуцира поголем број на грешки во протеинската синтеза и тоа резултира со клеточна смрт (16).

Главниот механизам на настанување на резистенција кон овие антибиотици е ензимска модификација на структурата на аминокликозидниот антибиотик со учество на ацетил-трансферази, фосфоттрансферази и нуклеотидилтрансферази. Амикацинот е широко употребуван аминокликозиден антибиотик кој е рефрактен на дејството на поголемиот број од овие ензими кои делуваат на другите аминокликозидни антибиотици. Резистенцијата кон амикацин во клинички услови обично настанува со ацетилација во која учествува аминокликозидната б'-N-ацетилтрансфераза кој е ензим кодиран од гени кои се најдени во интегроните, транспозоните, плазмидите и хромозомите на Грам-негативните бактерии. Утврдено е дека мали молекули како што се јонофори-Zn<sup>2+</sup> или Cu<sup>2+</sup> ја инхибираат реакцијата на ацетилација и овозможуваат дејство на амикацин и на бактериите кои го продуцираат овој ензим. И покрај тоа, резистентни соеви се јавуваат во различни географски региони во светот, некои од нив се со опасно висок процент на резистенција. Со плазмиди поврзана ацетилтрансфераза ( AAC(6')-Ib или AacA4 е за прв пат забележана кај соеви на *P.Aeruginosa*. Подоцна се утврдени и со плазмиди поврзана фосфоттрансфераза и хромозомски мутации кои доведуваат до резистенција кон амикацин на соеви на *E.coli*) и со плазмиди поврзана аденилтрансфераза која доведува до резистенција кон амикацин на соеви на *K.pneumoniae*, *E.coli*, *Serratia marcescens* и *Proteus vulgaris*. Соевите на *K.pneumoniae* може да развијат резистенција и поради намалено прифаќање на лекот од страна на бактериските клетки, а соевите на *Mycobacterium* специес преку субституција на рибозомалната RNA.

*Ин vitro* испитувања покажале дека минималните инхибиторни концентрации на амикацин кои ги инхибираат осетливите микроорганизми се движат од 0.3 до 2.1 mcg/ml (17). При тоа уште позначајно е тоа дека амикацин е ефикасен и против оние бактерии кои се резистентни на останатите аминокликозиди (18).

Со компаративните испитувања на осетливоста на еден сој од *Serratia marcescens* на амикацин, гентамицин и тобрамицин *ин vitro*, е утврдено дека амикацин е мошне ефикасен во концентрации од 1 до 32 mcg/ml (19)

Во *ин vivo* спроведени испитувања на зајаци, кај кои што бил предизвикан ендокардитис со *Serratia marcescens*, е утврдено дека амикацин аплициран во болус или во континуирана интравенска инфузија е исто така ефикасен во ерадикацијата на *Serratia marcescens* (19).

### 1.2.1.ИНДИКАЦИИ НА АМИКАЦИН

Амикацин е антибиотик кој се дава кај голем број на инфекции со различна локализација во организмот предизвикани со причинители осетливи на неговото дејство: инфицирани бронхиектазии, инфекции на коските и зглобовите, интраабдоминални инфекции, менингитис, пневмонија, сепса, инфекции на уринарниот тракт, акутна егзацербација на цистична фиброза и туберкулоза резистентна на повеќе лекови (15,19,20,21).

На дејството на амикацин обични се осетливи следните Грам-негативни микроорганизми: *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, индол-позитивен и индол-негативен *Proteus spp.*, *Klebsiella*, *Enterobacter* and *Serratia spp.*, *Minea-Herrerae*, *Citrobacter freundii*, *Salmonella*, *Shigella*, *Acinetobacter* и *Providencia spp.* Голем број соеви од овие бактерии кои се резистентни на гентамицин и тобрамицин, покажуваат осетливост кон амикацин во ин витро услови.

Од Грам-позитивните микроорганизми, осетливи на дејството на амикацин се соеви на *Staphylococcus aureus*, вклучувајќи и соеви кои се резистентни на метицилин. На амикацин се осетливи и други Грам-позитивни микроорганизми како што се соеви на *Streptococcus pyogenes*, *Enterococci* и *Diplococcus pneumoniae*.

Амикацин сам или во комбинација со други антибиотици може да се употребува и кај тешки инфекции предизвикани со Грам-негативни аеробни бактерии како што се соеви на микобактерии и *Nocardia*, како и при инфекции кои го загрозуваат животот кај новородени.

Терапијата со амикацин обично треба да се започне пред добивањето на резултатите од антибиограм со кои испитувања се тестира осетливоста на причинителите на инфекцијата кон амикацин.

### 1.2.2.ДОЗИРАЊЕ НА АМИКАЦИН

Амикацин се дава интравенски, интрамускуларно и по пат на небулизација (15). При специфични инфекции со одредена локализација може да се администрира и интратекално или интравентрикуларно.

За администрација на потребната доза на лекот треба да се земат во предвид телесната тежина и бубрежната функција на пациентот. Бубрежната функција најдобро се одредува со пресметување на клиренсот на креатинин или со следење на серумските концентрации на креатинин. За време на терапијата треба повремено да се ре-евалуира функцијата на бубрезите.



Кај најголем број на инфекции се препорачува интрамускуларно давање на лекот, но кај инфекции кои го загрозуваат животот на пациентот амикацин се аплицира интравенски и тоа како спора болус инјекција ( за време од 2-3 минути ) или како краткотрајна инфузија во времетраење од 30-60 минути.

Кај некомплицирани инфекции предизвикани со осетливи микроорганизми, одговор на терапијата се добива по 24-48 часа. Ако не се добие задоволителен одговор по 3-5 дена терапија со амикацин, се препорачува започнување со алтернативна терапија.

#### **1.2.2.1.Дозирање кај возрасни и деца постари од 12 години**

Кај возрасни и деца постари од 12 години со нормална бубрежна функција (креатинин клиренс еднаков или поголем од 50 ml/min.) се препорачува доза од 15 mg/kg/ден дадена одеднаш интрамускуларно или интравенски, или во две еднакви дози на секои 12 часа (15). Дневната доза не смее да биде поголема од 1.5 g. Кај пациенти со ендокардитис или фебрилна неутропенија, дневната доза на амикацин треба да се дава поделена во две еднакви дози.

#### **1.2.2.2.Дозирање кај деца на возраст од 4 недели до 12 години**

Кај деца со нормална бубрежна функција се препорачува интрамускуларно или интравенско (спора интравенска инфузија) дозирање на амикацин во доза од 15-20 mg/kg/ден дадени одеднаш или во две еднакви дози на секои 12 часа (15). Кај пациенти со ендокардитис или фебрилна неутропенија, дневната доза на амикацин треба да се дава поделена во две еднакви дози.

#### **1.2.2.3.Дозирање кај новородени**

Се препорачува давање на ударна доза од 10 mg/kg, а потоа 7.5 mg/kg на секои 12 часа.

#### **1.2.2.4.Дозирање кај предвремено родени деца**

Се препорачува давање на доза од 7.5 mg/kg на секои 12 часа.

#### **1.2.2.5.Дозирање кај пациенти со уринарни инфекции**

Се дава амикацин во доза од 7.5 mg/kg/ден дадени во две еднакви дози на секои 12 часа.

Времетраењето на терапијата со амикацин обично е 7-10 дена. Вкупната доза преку сите начини на администрација не треба да надмине 15-20 mg/kg на ден.

### **1.2.2.6. Дозирање кај пациенти со инфекции кои го загрозуваат животот**

Амикацин се дава во доза од 500 mg на секои 8 часа, но дневната доза не смее да е поголема од 1.5 g на ден и не треба да се дава подолго од 10 дена. Вкупната доза кај возрасни не смее да е поголема од 10 g.

### **1.2.2.7. Дозирање кај стари лица и пациенти со бубрежна инсуфициенција**

Дозата кај амикацин кај стари лица се прилагодува во зависност од функцијата на бубрезите.

Кај пациенти со оштетена функција на бубрезите ( клиренс на креатинин помал од 50 ml/min.) дневната доза на амикацин се дава поделена во 2-3 поединечни дози. Се препорачува следење на серумските концентрации на амикацин. Ако тоа не е можно, како и одредувањето на клиренсот на креатинин, поединечната доза на амикацин од 7.5 mg/kg се дава во временски интервал кој се добива со множење на серумската концентрација на креатинин изразена во mg/100 ml со бројот 9.

### **1.2.3. УПОТРЕБА НА АМИКАЦИН КАЈ ПАЦИЕНТИ СО ЦИСТИЧНА ФИБРОЗА**

Цистична фиброза претставува автосомно рецесивно генетско заболување кое се карактеризира со мутации на CFTR генот кој се наоѓа на долгиот крак од хромозом 7 (locus 7q.31) . Овој ген го енкодира CFTR (CF transmembrane conductance regulator) протеинот кој има улога во јонскиот транспорт во апикалната мембрана на епителијалните клетки на различни органи. Кај цистичната фиброза дисфункцијата на CFTR протеинот резултира со абнормален транспорт на хлориди и бикарбонати низ клеточната мембрана на епителијалните клетки. Поради неадекватна секреција на хлоридни и бикарбонатни анјони во екстрацелуларниот простор настанува промена во осмотскиот притисок и електронеутралноста на клетката која резултира со ексцесивна абсорбција на натриум и вода (22).

Цистичната фиброза клинички се манифестира со пулмонални и екстрапулмонални симптоми.

Респираторните симптоми кај деца на возраст под една година се манифестираат со сува и повторувана кашлица. Постарите деца имаат бронхијална обструкција со кашлица и пурулентен мукозен секрет како постојани симптоми. Напредната форма на цистична фиброза се карактеризира со бронхиектазии со или без хемоптизии, а цијанозата е веќе доцен знак. Синуситис се јавува кај голем дел

од пациентите и се манифестира како хронична назална конгестија, главоболка, слевање на секрет во грлото и нарушувања во спиењето (23).

Со зголемувањето на вискозноста на секретот во дишните патишта како и неговото отежнато исфрлање, настанува обструкција на дишните патишта со последователна инфекција, деструкција на ткивото и формирање на бронхиектазии. Најчести патогени кај хроничната обструкција на дишните патишта се: *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Haemophilus influenzae* и *Burkholderia cepacia* (24). Во напредната фаза се јавуваат бронхиектазии, белодробна хипертензија и *cor pulmonale*.

Гастроинтестинални симптоми се манифестираат како меконијален илеус, опстипација, дистален интестинален обструктивен синдром, гастроезофагеална рефлексна болест. Кај 85 % од пациентите со цистична фиброза се јавува панкреасна инсуфициенција уште во првите две години од животот што претставува ризик фактор за рекурентен панкреатитис. Кај 20- 40 % од пациентите се јавува хепатална инсуфициенција. Поради панкреасната инсуфициенција се јавува нарушување на абсорпција на липидите и липосолубилните витамини со консекутивна хиповитаминоза (А,Д, Е и К).

Дијабетес кај цистичната фиброза настанува како последица на панкреасната инсуфициенција и деструкција на панкреасните островца.

Други екстрапулмонални симптоми кај цистична фиброза се : рекурентна венска тромбоза, анемија, остеопенија и остеопороза, инфертилитет.

Дијагнозата кај пациентите со цистична фиброза се поставува со : тест со кој се докажува нивото на хлориди во пот и претставува златен стандард,тестот за имунореактивен трипсиноген,генетско тестирање и назална потенцијална разлика.

Белодробната болест кај цистичната фиброза се карактеризира со прогресивен пад на белодробната функција (FEV 1) и епизоди на акутно влошување на симптомите означено како пулмонална егзацербација (25). Пациентите со цистична фиброза развиваат рекурентни инфекции во текот на својот живот предизвикани од патогени кои се разликуваат зависно од нивната возраст:

#### **Бактериски инфекции:**

а) *Staphylococcus aureus* претставува грам-позитивна бактерија која се развива во аеробни услови но може да расте и како факултативен анаероб. Се наоѓа на човековата кожа но може да се најде и во изолат од носот. Претставува најраспространет микроорганизам кај деца со цистична фиброза со највисока

преваленца од 11 до 17-годишна возраст. Фактор на вирулентност кај *Staphylococcus aureus* претставува создавањето на леукоцитолитички токсин, Пантон-Валентин леукоцидин кој е асоциран со некротизирачки белодробни инфекции. Создавањето на биофилм од самата бактерија како и варијанти на колониите придонесуваат за резистенцијата кон антимикробните средства. Метицилин резистентниот *Staphylococcus aureus* (MRSA) се јавува почесто кај млади возрасни лица отколку кај деца. Резистентноста се должи на изменетиот пеницилин врзувачки протеин кодиран од генот *mecA*. (26). Хроничните инфекции со MRSA покажале поголем пад на белодробната функција, зголемен број на хоспитализации и рана смртност на пациентите со цистична фиброза во споредба со инфекциите со MSSA (Метицилин сензитивниот *Staphylococcus aureus*). Пациентите со цистична фиброза кои имаат инфекција со MRSA имаат зголемен број на хоспитализации и зголемена примена на орални, инхалаторни и интравенски антибиотици (27).

b) *Pseudomonas aeruginosa* е грам-негативна бактерија која е најчест патоген кај пациентите со цистична фиброза. Нејзината вирулентност се должи на повеќе фактори: флагела која е одговорна за нејзината подвижност, пили со кои се прикачува за епителните клетки на респираторниот тракт и производство на ектополисахариди како што се алгинат, Pel и Psl кои што се важни за формирање и одржување на биофилмот (28). Хроничната инфекција со *Pseudomonas aeruginosa* на почеток е моноклонална се додека не настане адаптација и создавање на клонални варијанти кои се одговорни за забрзано влошување на белодробната функција и ран морталитет. Затоа новонастанатите инфекции со оваа бактерија се третираат агресивно до нивна ерадикација од респираторниот тракт. Неуспехот во ерадикацијата на *Pseudomonas aeruginosa* кај пациентите со цистична фиброза се должи на хроничниот фенотип на изолатот како што е мукоидниот сој.

c) *Burkholderia cepacia complex* вклучува над 20 видови грам-негативни бацили кои растат во аеробни услови и може да се стекнат од околината или со трансмисија од човек на човек. Овој комплекс на бактерии се смета за силно вирулентен со различен тип на механизми: пили за прикачување на респираторниот епител, екстрацелуларни протеази кои ги оштетуваат ткивата, гени кои го олеснуваат формирањето на биофилмот и систем кој ја олеснува клеточната инвазија. Се јавува резистентност кон повеќе видови антибиотици особено кон аминокликозидите поради присуството на ефлуксни пумпи како и према  $\beta$ -

лактамите со продуцирање на  $\beta$ -лактамази. *Burkholderia cenocepacia* е одговорна за неколку епидемии ширум светот и била најчест причинител на инфекции од овој комплекс на бактерии кај пациентите со цистична фиброза. Од исклучителна важност е поради лошиот клинички исход и зголемена смртност пред и после трансплантација на бели дробови кај овие пациенти. Во тек на последните децении *Burkholderia multivorans* стана почест причинител на инфекции. Всс се карактеризира со некротизирачка пневмонија и сепса, голема стапка на морталитет затоа е од голема важност за проучување и загриженост кај популацијата со цистична фиброза (29).

d) *Stenotrophomonas maltophilia* е грам-негативен бацил кој е застапен кај околу 30 % од пациентите со цистична фиброза, најчесто постари пациенти со пониска базална функција на белите дробови. Постојат четири видови на *Stenotrophomonas*, но *Stenotrophomonas maltophilia* е единствен кој е пронајден кај човекот како домаќин. Оваа бактерија има способност да формира биофилмови, да продуцира протеази и липополисахариди кои ја карактеризираат нејзината вируленција (30). Антимикробната резистенција се должи на ефлуксните пумпи и  $\beta$ -лактамазите, па резистентност ќе се јави на аминогликозиди и  $\beta$ -лактами (31). Ризик за стекнување на *S. maltophilia* се смета дека е претходно третирање на пациентите со антипсеудомонална терапија. Пациентите со хроничната инфекција со *S. maltophilia* имаат трипати поголем ризик од смртност и потреба за трансплантација на бели дробови од оние кај кои не е изолирана.

e) *Achromobacter species* се грам-негативни бацили, околу 23 познати видови од кои *Achromobacter xyloxidans* е најчест причинител на инфекции кај пациентите со цистична фиброза. Факторите на вируленција се должат на флагелите кои ги прават подвижни овие видови, фактори на врзување на муцин, колаген и фибронектин што ја зголемуваат инвазијата на респираторниот тракт (32). Резистентноста кон антимикробните агенси се должи на присутноста на ефлуксните пумпи и  $\beta$ -лактамазите. Ризикот за хронична инфекција со *Achromobacter* вклучува постара возраст и хронична инфекција со *P. aeruginosa*.

### **Габични инфекции**

Габите од видовите *Aspergillus* се едни од најчесто изолираните од дишните патишта кај пациентите со цистична фиброза. Присуството на *Aspergillus* кај пациентите со цистична фиброза може да варира од асимптоматска колонизација до

алергиска бронхопулмонална аспергилоза (АВРА) која се карактеризира со симптоми слични на астма, со позитивен кожен тест за *Aspergillus* и покачени серумски нивоа на IgE (26,33). Се третира со системски кортикостероиди. Повремено може да предизвика бронхитис.

Инфекцијата со *Aspergillus fumigatus* претставува ризик за пулмонална егзацербација, но ризикот е поголем ако има интеракција со *P.aeruginosa*. Третманот со итраконазол не покажал поголеми бенефиции од пациентите третирани со плацебо.

Видовите *Scedosporium* и *Exophiala (Wangiella) dermatitidis* поретко се изолираат од спутум но предизвикуваат сериозно клиничко влошување.

*Candida species* се најчесто изолираните габи од спутум со преваленца од 80%, поради тоа што се нормални колонизатори на орофарингсот (34). Студиите покажуваат дека хроничната инфекција со *Candida species* има полош клинички исход, но мора да се земе во предвид и контаминацијата на примероците спутум.

### **Вирусни инфекции**

Најчести вирусни причинители кај пациентите со цистична фиброза се респираторниот синцицијален вирус (RSV), риновирусите, инфлуенца тип А и Б, вирусот на параинфлуенца. Иако поретко се јавуваат нотирано е присуство и на метапнеумовирусите, пикорнавирусите, корона вирусите, сохсакле/echo вируси. Се јавуваат почесто кај детската популација со цистична фиброза за разлика од возрасните со цистична фиброза. Се смета дека кај овие пациенти е намален вродениот антивирусен одговор односно намален интерферонски одговор кон вирусната инфекција (35). Вирусните инфекции го зголемуваат бројот на егзацербации а со тоа и поголемо користење на интравенска антибиотска терапија како и поголемо оштетување на функцијата на белите дробови.

Од особена важност претставува инфекцијата со RSV кај пациентите со цистична фиброза бидејќи вирусот предизвикува тешка клиничка слика која се карактеризира со риносинуситис, кашлица, треска, акутен отитис медиа, па се до бронхиолитис, пневмонија и егзацербација на хроничната инфекција во респираторните патишта. Инфекциите со RSV се поврзани со стекнување на инфекција де novo со *P. aeruginosa* како и нејзино зголемено формирање на биофилм.

Кај детската популација со цистична фиброза најчеста коинфекција вирус-бактерија е причинета од риновирусите и *S. aureus*.

Антибиотската терапија кај пациентите со цистична фиброза е од голема важност за превенција, контрола и ерадикација на инфекциите на респираторниот тракт со што значително се намалува морбидитетот и морталитетот кај оваа болест. Профилактички дози на антибиотици се препорачуваат кај секундарни бактериски инфекции кои настануваат како последица на претходна вирусна инфекција. Најчести бактериски причинители претставуваат *S. aureus*, *Haemophilus influenzae* и *Streptococcus pneumoniae* како и во зимските месеци инфекција со *P.aeruginosa* која настанува иако претходно има негативна култура.

Пациентите кои имаат инфекција со *P. aeruginosa* имаат неколкупати зголемен ризик на смртност. За ерадикација на оваа инфекција се користат комбинирани орални, инхалирачки и интравенски антибиотици, каде што 80 % од новонастанатите инфекции со *P.aeruginosa* се ерадицирани. Неуспех за ерадикација сеуште постои кај *Vcc*, додека некои центри за цистична фиброза користат орални антистафилококни антибиотици во ерадикација за секоја нова колонизација на *S. aureus*.

За контрола на инфекциите кај пациентите со цистична фиброза се користат инхалаторни и интравенски антибиотици. Акутните пилмонални егзацербации се третираат со два вида интавенски антибиотици кои имаат различен механизам на дејство. Третманот трае две недели.

За хронична инфекција со *P. aeruginosa* се советува режим од две недели на антибиотска терапија на секои три месеци. Ризиците од антибиотскиот третман како што се нефротоксичноста и ототоксичноста може да ги надминат придобивките од тримесечните третмани (36).

Големата употреба на антибиотици, посебно доживотната употреба на антибиотиците кај пациентите со цистична фиброза доведува до ризик од бактериска резистенција и хиперсензитивност кон антибиотиците.

Аминогликозидните антибиотици се едни од најчесто употребуваните кај пациентите со цистична фиброза. Се користат кај акутна пулмонална егзацербација, за контрола на хроничните инфекции и за ерадикација на инфекцијата со *P. aeruginosa*.

**Амикацино**т често се смета за поефикасен од другите аминогликозиди поради неколку причини:

- a) Отпорност на ензимска деградација: Една од главните причини за ефикасноста на амикацинолот е неговата отпорност на инактивација од бактериски ензими. Многу бактерии произведуваат ензими кои можат да ги модифицираат и инактивираат другите аминокликозиди (како гентамицин или тобрамицин), но амикацинолот е помалку подложен на овие ензими. Ова го прави ефикасен против многу бактерии кои развиле отпорност на другите аминокликозиди.
- b) Широк спектар на активност: Амикацин има широк спектар на активност, особено против грам-негативни бактерии. Тој е ефикасен против широк спектар на патогени, вклучувајќи ги *Pseudomonas aeruginosa* и *Acinetobacter* видови, кои често се отпорни на други антибиотици.
- c) Помала вкрстена отпорност: Иако бактериите можат да развијат отпорност на аминокликозиди, амикацинолот често останува ефикасен дури и кога е присутна резистенција на други аминокликозиди. Ова се должи на неговата уникатна структура, која му овозможува да избегне некои од вообичаените механизми на резистенција.
- d) Погolem афинитет за бактериските рибозоми: Амикацин се врзува поефикасно за бактерискиот рибозом во споредба со другите аминокликозиди. Ова силно врзување води до поефикасна инхибиција на синтезата на протеини, што е критично за опстанокот на бактериите.
- e) Фармакокинетика: Амикацин има поволна фармакокинетика, што му овозможува да достигне високи концентрации во ткивата и телесните течности, што ја зголемува неговата бактерицидна активност.

Поради овие фактори, амикацинолот често се избира во клинички услови, особено кога се работи за отпорни бактериски инфекции или кога другите аминокликозиди не успеале.

Режимот на дозирање за амикацин може да варира во зависност од неколку фактори, вклучувајќи го типот и сериозноста на инфекцијата, возраста и тежината на пациентот, функцијата на бубрезите, како и дали дозирањето е конвенционално или со продолжен интервал (дозирање еднаш дневно).

Режимот на дозирање со продолжен интервал (еднаш дневно) и режимот на дозирање со повеќекратни дози (конвенционален) на амикацин се разликуваат во неколку клучни аспекти, вклучувајќи ја фреквенцијата на дозирање, фармакокинетиката, ефикасноста и управувањето со токсичноста:



## **Фреквенција на дозирање**

- **Режим на дозирање со продолжен интервал (еднаш дневно):**

Вклучува администрација на поголема единечна доза на амикацин еднаш на секои 24 часа.

- **Режим на дозирање со повеќекратни дози (конвенционален):**

Вклучува администрација на помали дози на амикацин повеќе пати во тек на денот, обично на секои 8-12 часа.

- **Фармакокинетика и фармакодинамика при режим на дозирање со продолжен интервал:**

Максимални концентрации: Постигнува повисоки концентрации во крвта, што ја подобрува ефикасноста на уништување на бактериите (бактерицидност зависно од концентрацијата).

Пост-антибиотски ефект (РАЕ): Амикацин има продолжен пост-антибиотски ефект, што значи дека растот на бактериите останува супримиран дури и откако концентрацијата на лекот ќе се намали под минималната инхибиторна концентрација (MIC). Овој ефект е максимизиран со повисоки нивоа на максимални концентрации.

“Drug-free” период: Овозможува подолг период кога нивото на лекот е ниско или не се детектира, што ги намалува ризиците од токсичност, особено нефротоксичност и ототоксичност.

- **Фармакокинетика и фармакодинамика при режим на дозирање со повеќекратни дози:**

“Steady-state нивоа: Одржува порамномерни нивоа на лекот во крвта со пониски пикови и падови, што може да биде корисно за бактерицидност зависна од времето, но може да го зголеми ризикот од токсичност ако нивото на концентрациите пред наредната доза е премногу високо.

Пократок РАЕ: Пост-антибиотскиот ефект можеби не е толку изразен како кај дозирањето со продолжен интервал, што води до потреба за почесто дозирање за одржување на ефикасноста.

- **Ефикасност при режим на дозирање со продолжен интервал:**

Обично се смета за ефикасен или понекогаш дури и поефикасен од режимите со повеќекратни дози за многу инфекции, особено оние предизвикани од грам-негативни бактерии. Повисоките максимални концентрации можат да ја подобрат бактерицидната активност на лекот.

- **Ефикасност при режим на дозирање со повеќекратни дози:**

Останува ефикасен, особено за инфекции каде што се потребни постојани нивоа на лекот. Овој пристап традиционално се користи, особено во ситуации каде што дозирањето со продолжен интервал не е соодветно (пример: кај пациенти со тешко нарушена функција на бубрезите).

- **Токсичност при режим на дозирање со продолжен интервал:**

Намален ризик од токсичност: подолгиот интервал без лекови помага да се намали акумулацијата на лекот во бубрезите и внатрешното уво, што потенцијално го намалува ризикот од нефротоксичност и ототоксичност .

- **Токсичност при режим на дозирање со повеќекратни дози:**

Зголемен ризик од токсичност: Континуираната изложеност на лекот со повисоки нивоа на концентрациите измерени пред наредната доза може да го зголеми ризикот од токсичност, особено ако мониторингот не е внимателно управуван.

- **Потреба за мониторинг при режим на дозирање со продолжен интервал:**

Обично бара поретко следење на нивоата на лекот. Сепак, може да се проверат случајни нивоа на серумот за да се осигура соодветна изложеност на лекот.

- **Потреба за мониторинг при режим на дозирање со повеќекратни дози:**

Бара почесто следење на нивоата на максималните концентрација и концентрациите на амикацинот пред администрирање на наредната доза за да се осигура терапевтска ефикасност и истовремено да се минимизира токсичноста. Нивото на концентрациите пред наредната доза треба да се одржува ниско (се препорачува да бидат помали од 5  $\mu\text{g/mL}$ ) за да се избегне токсичност.

- **Популација на пациенти погодна за режим на дозирање со продолжен интервал:**

Се препорачува кај пациенти со нормална функција на бубрезите и кај критично болни пациенти, како и кај оние со инфекции кои добро реагираат на високи максимални нивоа на аминогликозиди.

- **Популација на пациенти погодна за режим на дозирање со повеќекратни дози:**

Се препорачува кај пациенти со значително нарушена функција на бубрезите, педијатриски пациенти или во специфични клинички ситуации каде што е клучно одржувањето на постојани нивоа на лекот.

- **Клинички резултати кај пациенти со режим на дозирање со продолжен интервал:**

Резултатите во клинички студии покажале споредливи или супериорни клинички резултати со намалена токсичност во споредба со конвенционалното дозирање во голем број на случаи.

- **Клинички резултати кај пациенти со режим на дозирање со повеќекратни дози:**

Сè уште е широко користен, особено во ситуации каде што дозирањето со продолжен интервал можеби не е изводливо или каде што е можно внимателно следење на нивоата на лекот.

Дозирањето со продолжен интервал често се избира поради неговиот потенцијал да ја зголеми ефикасноста преку повисоки максимални концентрации, додека го намалува ризикот од токсичност поради пониски нивоа на концентрациите на лекот пред примање на наредната доза.

Режимите со повеќекратни дози се користат кога е неопходно одржување на постојани нивоа на лекот или кога специфични фактори на пациентот (пример: нарушена функција на бубрезите) го прават дозирањето со продолжен интервал помалку соодветно.

#### **1.2.4. ПРЕТКЛИНИЧКИ ПОДАТОЦИ ЗА БЕЗБЕДНОСТА НА ЛЕКОТ**

Акутната токсичност на амикацин е испитувана кај глувци и стаорци. Леталната доза после i.p. апликација кај глувци во зависност од времето на давањето на лекот, односно времето во текот на денот, се движела од 1600 до 1900 mg/kg, при што животните егзитирале од 48% (во 14 h) до 60% во 2 часот наутро. Сезонски, животните најмалку егзитирале во пролет (37). Амикацин бил слабо токсичен и за стаорците, бидејќи ни едно животно не егзитирало ниту после i.p. апликација на амикацин во доза од 1200 mg/kg (37).

После i.m. апликација на стаорци во растечки дози од 500 до 1000 mg/kg во тек на 5 дена, амикацин не делувал летално кај ниту едно животно (38,39). Според податоците на Pettorssi и сор. (40), i.m. дозата на амикацин од 225 mg/kg мошне добро се поднесувала, не биле регистрирани општи токсични дејства и сите третирани животни преживеале, што било случај и со заморците кои биле третирани 28 дена i.m. со амикацин во дози од 200 и 400 mg/kg (41,42).

Спроведените испитувања на глувци и стаорци покажале дека амикацин не влијае на фертилитетот ниту на мажјаците ниту на женките (43,44).

Главни несакани дејства на аминокликозидните антибиотици се нефротоксичност и ототоксичност. Според податоците на Züllich и Sack (45), амикацин, аплициран на стаорци i.m. во тек на 5 дена во дози од 2.5; 5; 10; 20; 100 и 500 mg/kg два пати дневно, делува нефротоксично и тоа во помали дози на тубулите, а во поголеми дози на гломерулите. Наодите на Dorian и Cambar (37) покажале дека нефротоксичноста на сублеталните дози на амикацин зависи и од времето на апликација во текот на денот (хронобиологија) и од хронобиологијата и од годишните времиња. Покрај тоа Provoost и sor. (46) утврдиле дека амикацин е помалку нефротоксичен кај млади отколку кај стари стаорци. Меѓутоа според податоците на Gibey и sor. (47), амикацин дури и во дози од 275 mg/kg, даден i.m., кај стаорци делува нефротоксично само во комбинација со циклоспорин, додека даден сам манифестира незначителни токсични ефекти.. Во прилог на ова зборуваат и наодите на Silva и sor. (48), кои утврдиле дека амикацин аплициран кај стаорци во терапевски (анти-инфективни) дози не влијае на брзината на гломеруларната филтрација, ефективниот плазматски проток во бубрезите, односот на инулини во плазмата и урината и тоа како во нормални услови, така и во услови на ацидоза. Исто така амикацин аплициран i.m. во доза од 100 mg/kg, во тек на седум дена не влијаел значајно на креатинин во серумот и вкупниот азот во крвта на стаорците.

Влијанието на амикацинот на слухот е испитувано на стаорци и заморци:

- **Стаорци** : Во тек на 5 последователни дена амикацин бил субкутано аплициран во дози од 100 до 1000 mg/kg, при што е утврдено дека дозата од 200 mg/kg дневно не го оштетува слухот и дека првите електрофизиолошки пореметувања се јавуваат дури кај дозите од 300 до 600 mg/kg, додека потешки оштетувања се регистрираат кај дозата од 800 mg/kg (38,39).
- **Заморци** : Испитувањата на заморци покажале дека амикацин при континуирана i.v. инфузија делува ототоксично дури при осмоструко поголеми терапевски концентрации во крвта (33). Степенот на ототоксичноста на амикацин зависи не само од дозата и должината, туку и од начинот на неговата примена. Така на пр. Takumida и sor. (42) утврдиле дека амикацин кај заморци делува повеќе ототоксично ако во дозата од 200 mg/kg i.m. во тек на 28 дена се дава два пати дневно по 100 mg/kg отколку кога наведената доза (200 mg/kg) се дава еднаш дневно. Со истовремено регистрирање на слухот и вестибуларниот апарат кај заморци, Pettrossi и sor.

(40) покажале дека амикацин аплициран i.m. еднаш (150 mg/kg) или три пати дневно (по 50 mg/kg) во тек на 21 ден делува ототоксично, но не и вестибулотоксично, при што оштетувањата биле поизразити кога е лекот даван 3 пати дневно во поделени дози. Меѓутоа при примена на доза од 225 mg/kg еднаш дневно, односно истата доза поделена 3 пати по 75 mg/kg, доаѓа до оштетување на слушната и вестибуларната функција без обзир на начинот на неговата примена. Према податоците на Beaubien и сор. (49), ототоксичноста на амикацин кај заморци зависи од неговата концентрација во перилимфата, во која тој добро продира.

Кај зајаци, амикацин аплициран во доза од 20 mg/kg, два пати дневно во тек на две недели, предизвикал микрохолестаза и ултраструктурни промени на митохондриите, меѓутоа во тој поглед тој бил помалку хепатотоксичен од останатите аминокликозиди (50,51).

### **1.2.5.НЕСАКАНИ ДЕЈСТВА НА АМИКАЦИН**

Како и другите аминокликозидни антибиотици и амикацин има потенцијал да предизвикува аудиторни, вестибуларни и бубрежни токсични дејства. Овие несакани дејства се почести кај пациенти со историја на сегашни или минати заболувања на бубрезите, кај пациенти третирани со други ототоксични или нефротоксични лекови и пациенти третирани подолг временски период со дози повисоки од препорачаните терапевски дози (15).

- ***Невротоксичност - ототоксичност:***

Несаканите дејства се манифестираат на осмиот (8-от) кранијален нерв и тоа на аудиторните и вестибуларните гранки (амикацин примарно ја зафаќа аудиторната функција) и тоа посебно кај пациентите кои примаат големи дози од лекот во подолг временски период, кај оние кои претходно биле лекувани со други ототоксични лекови, како и кај дехидрираните пациенти. Механизмот на оваа токсичност вклучува неколку процеси:

- ✓ Навлегување на аминокликозидите во сензорните клетки по системска администрација: Овие антибиотици брзо навлегуваат преку механоелектричните трансдјусерски (МЕТ) канали на стереоцилијарните мембрани на влакнестите клетки (52). МЕТ каналите се неспецифични катјонски канали со висока пропустливост за калциум. Освен МЕТ каналите постојат и TRP канали од семејството транзиторни рецепторни потенцијали

кои ја зголемуваат аминокликозидната пропустливост при зголемување на оксидативниот стрес во клетката. Силната електрофоретска сила низ мембраната на влакнестите клетки веројатно ги носи катјоните, вклучувајќи ги и аминокликозидите, преку отворените катјонски канали со својства погодни за аминокликозидна пермеабилност. Аминокликозидите можат да ја поминат примарната крвно-лабиринтна бариера (BLB), која ги одвојува кохлеарните клетки и течности од крвотокот (53). Преносот на аминокликозиди во внатрешното уво е полесен преку BLB на стрија васкуларис отколку преку спиралниот лигамент (54). Иако механизмите на преминување на аминокликозидите преку BLB сè уште не се целосно разјаснети, истражувањата сугерираат дека мегалин би можел да биде кандидат-носител на аминокликозидите во стрија васкуларис (55). Аминокликозидите навлегуваат во повеќе видови клетки во кохлеата, вклучувајќи ги фиброцитите во латералниот сид, спиралните ганглионски неврони и потпорните клетки во кортиевият орган (56,57). Додека аминокликозидите се исфрлаат од не-сензорните клетки, тие можат да се задржат во преживеаните влакнести клетки подолг временски период, до шест месеци (56). Ендоцитозата е уште еден механизам преку кој навлегуваат аминокликозидите во апикалната мембрана на сензорните клетки од ендолимфата и се транспортираат до лизозомите (58,59).

- ✓ Производство на реактивни кислородни радикали (ROS): Откако ќе влезат во влакнестите клетки, аминокликозидите можат да се врзат за железо, што води до формирање на реактивни кислородни радикали (ROS) преку Фентонова реакција. Овие слободни радикали можат да ги оштетат клеточните компоненти, вклучувајќи ги липидите, протеините и ДНК, што придонесува за клеточна дисфункција.

Производството на ROS во влакнестите клетки води до митохондријална дисфункција. Митохондриите се клучни за производство на енергија во клетките и нивното нарушување може да предизвика клеточна смрт. Ова митохондријално оштетување понатаму го зголемува производството на ROS, создавајќи затворен круг на клеточно оштетување. Дополнително, аминокликозидите можат да предизвикаат риботоксичен стрес со врзување за цитозолната rRNK, инхибирајќи ја синтезата на протеини и активирајќи механизми на апоптоза предизвикани од стрес.

Аминогликозидите брзо се акумулираат во цитоплазмата, митохондриите и ендоплазматскиот ретикулум, предизвикувајќи различни клеточни стресови и предизвикувајќи формирање на програмирана клеточна смрт преку апоптоза, автофагија и фероптоза.

- ✓ Апоптоза на сензорните клетки: Акумулацијата на ROS и митохондријалното оштетување предизвикува апоптоза (програмирана клеточна смрт) во кохлеарните влакнести клетки. Бидејќи овие клетки се суштински за претворање на звучните бранови во електрични сигнали за мозокот, нивното губење води до нарушување на слухот. Овој процес се влошува преку клеточни механизми на внес што го зголемуваат задржувањето на аминогликозидите и нивната цитотоксичност во влакнестите клетки.

Постојат различни патишта на програмирана клеточна смрт кои се сложени и сеуште се проучуваат. Еден вид на апоптоза претставува апоптозата посредувана од каспази, чија активација доведува до разградба на клучни структурни протеини а со тоа последователна апоптоза на влакнестите клетки (60). Голем број на студии укажуваат на вклученост на c-jun-N-терминална киназа, нуклеарната транслокација на ендонуклеаза G (Endo G) и активација на  $\mu$ - калпаин во регулирање на апоптозата (61).

- ✓ Патишта на автофагија: во случај на ототоксичност, автофагијата може да се активира како клеточен одбранбен механизам за да ги отстрани оштетените компоненти во клетките на внатрешното уво, особено во клетките на кохлеата.
- ✓ Активирањето на протеин киназата игра клучна улога во процесот на автофагија. PK го активира ULK1 (serine/threonine kinase), кој е клучен иницијатор на автофагијата.
- ✓ mTOR сигнализација – mTOR (mammalian target of rapamycin) е негативен регулатор на автофагијата. Кај ототоксичност, намалена активност на mTOR може да резултира со зголемена автофагија.
- ✓ Нарушувањата во калциумовиот баланс претставуваат тригер за процесот на автофагија.
- ✓ Оштетувањата на ендоплазматскиот ретикулум активира автофагија преку “unfolded protein response” со што се акумулираат протеини кои се неправилно синтетизирани.

- ✓ Оксидативниот стрес на клетката со продукција на ROS го поттикнува процесот на автофагија.
- ✓ Фероптоза: фероптозата е нов тип на програмирана клеточна смрт која е зависна од железо и вклучува неколку процеси: оксидација на полинезаситени масни киселини во фосфолипидите, губење на способноста за поправка на липидните пероксидази и намалување на акумулацијата на редокс активно железо.

Железото учествува во создавањето на реактивни кислородни радикали и со тоа има важна улога во метаболизмот на клетката и оштетувањето на ткивото. Се смета дека слободните јони на железо се важни за отпочнување на процесот на фероптоза. Некои студии укажуваат дека активацијата на автофагија како процес ја активира понатаму фероптозата преку деградација на феритинот (62). Сепак, улогата на фероптозата во ототоксичноста не е проучена кај цицачи *in vivo* и сеуште не се јасни механизмите на фероптозата во регулирање на програмираната клеточна смрт при ототоксичност кај сензорните клетки на внатрешното уво.

Системското воспаление, како што е предизвикано од бактериски инфекции, може да ја зголеми пропустливоста на крвно-лабиринтната бариера, што води до зголемен внес на аминокликозиди во кохлеата и зголемена кохлеотоксичност (63). Ова сугерира дека пациентите со системски инфекции можат да бидат со повисок ризик од губење на слухот предизвикано од аминокликозиди.

Аминокликозидите имаат синергистички ефекти со бучавата. Гласни звуци можат да ја потенцираат ототоксичноста на аминокликозидите преку зголемување на производството на ROS, кршење на врските меѓу стереоцилите и хиперполаризација на влакнестите клетки, што го олеснува поголемиот внес на аминокликозиди (64). Дури и претходната изложеност на гласни звуци може да ја зголеми чувствителноста на губење на слухот предизвикано од аминокликозиди.

Аминокликозидите предизвикуваат кохлеарна токсичност преку комбинација на директно клеточно внесување, производство на ROS, митохондријална дисфункција и програмирана клеточна смрт предизвикана преку различни механизми. Степенот на губење на слухот е под влијание на различни фактори, вклучувајќи ја дозата, времетраењето на третманот и индивидуалната чувствителност.



- ***Невротоксичност - невромускуларна блокада***

Во текот на третманот со аминокгликозидни антибиотици може да дојде до појава на акутна мускулна парализа и апнеа. Амикацин го попречува ослободувањето на ацетилхолин (ACh) од пресинаптичките нервни завршетоци на нервно-мускулната врска. Ацетилхолинот е од суштинско значење за започнување на мускулната контракција. Со инхибиција на неговото ослободување, амикацин го намалува количеството на невротрансмитер што е достапен за стимулирање на мускулот, што доведува до ослабени мускулни контракции.

Амикацин може директно да влијае и на постсинаптичките ацетилхолински рецептори на мускулната мембрана. Тој ја намалува чувствителноста на овие рецептори на ацетилхолин, што ја нарушува способноста на мускулот да одговори на нервните сигнали, дополнително придонесувајќи за мускулна слабост и парализа.

Калциумовите јони играат клучна улога во ослободувањето на ацетилхолин на нервно-мускулната врска. Амикацин го нарушува дотокот на калциум во нервниот завршеток, што е од суштинско значење за фузијата на везикулите и ослободувањето на ацетилхолин. Со нарушување на овој процес, амикацин ја намалува ефикасноста на нервно-мускулната трансмисија.

Пациентите со ренално оштетување се изложени на поголем ризик затоа што аминокгликозидите, како амикацин, се излачуваат првенствено преку бубрезите. Намалениот клиренс на лекот може да доведе до акумулација, што ја влошува нервно-мускулната блокада поради продолжена изложеност на високи концентрации на лекот.

Најсериозната последица на нервно-мускулната блокада е респираторната депресија, при што мускулите одговорни за дишењето, вклучително и дијафрагмата, стануваат ослабени. Ова може да доведе до респираторна инсуфициенција, што бара механичка вентилација и интензивна нега.

Ризикот од нервно-мускулна блокада се зголемува кога амикацин се користи во комбинација со други агенси кои влијаат на нервно-мускулната трансмисија, како што се анестетици или нервно-мускулни блокатори. Овие лекови може синергистички да ја влошат блокадата, што доведува до длабока мускулна слабост.

Нервно-мускулната блокада предизвикана од амикацин понекогаш може да се врати со администрација на калциум или антихолинестеразни агенси, кои ја зголемуваат достапноста на ацетилхолин на нервно-мускулната врска. Сепак,

одговорот на овие интервенции може да биде непредвидлив, што ја прави превенцијата и внимателното следење клучни.

- **Нефротоксичност**

Промени на бубрежните функции (зголемување на серумските концентрации на креатинин, албуминурија, хематурија, леукоцитурија, азотемија, олигурија) се опишани посебно кај пациенти со веќе постоечки промени на бубрежната функција, кои се лекувани подолг временски период со аминокликозиди или со дози поголеми од препорачаните. Промените најчесто се од реверзибилен карактер и исчезнуваат со прекинувањето на терапијата.

Аминокликозидите можат да предизвикаат оштетување на бубрезите, што се манифестира како постепено зголемување на нивото на креатинин во крвта и намалена концентрација на урината. Ова оштетување се јавува затоа што мал дел од лекот се задржува во клетките на проксималните бубрежните тубули, што предизвикува акумулација на метаболити и оштетување на клетките.

Кога аминокликозидите се користат во клинички дози кај луѓето или во пониски дози кај животните, тие предизвикуваат значајни промени во клетките на бубрежните тубули, како што се акумулација на поларни липиди (миелоидни тела). Овие промени се придружени со знаци на дисфункција на бубрезите, како што се губење на електролити ( $K^+$ ,  $Mg^{2+}$ ,  $Ca^{2+}$ ), глукоза и протеини во урината (65,66). Кај луѓето, овие промени понекогаш доведуваат до бубрежна инсуфициенција, но во повеќето случаи промените се реверзибилни по прекин на терапијата.

Кај животните, ако се применат многу високи дози, аминокликозидите можат брзо да предизвикаат сериозно оштетување на бубрезите, вклучувајќи некроза на тубуларните клетки и значителни промени во нивната структура и функција. Овие оштетувања се должат на директен ефект на лекот врз клетките, како и на промени во синтезата на протеини и функцијата на митохондриите, што на крајот доведува до клеточна смрт или дисфункција.

Се смета дека главниот фактор за функционална токсичност претставува тубуларната некроза и процеси слични на неа кои се силно поддржани со хистопатолошки испитувања. Сепак, точниот механизам на оваа некроза сè уште не е разјаснет и не може да се поврзе со една специфична причина, туку тубуларните клетки умираат поради комбинираното дејство на повеќе промени.

Постојат три можни хипотези за нефротоксичноста на аминокликозидните антивиотици. Првата сугерира дека аминокликозидите ја предизвикуваат токсичноста во зависност од нивната локална концентрација. Ова значи дека лизозомите се клучното место на токсичност, бидејќи тука е складиран најголемиот дел од лекот. Сепак, молекуларните и цитолошките врски помеѓу лизозомалните промени и клеточната некроза сè уште не се откриени.

Втората хипотеза тврди дека аминокликозидите стануваат токсични кога се ослободуваат од лизозомите, што се случува при достигнување на критичен праг на лизозомални промени или акумулација на лекот. Ако се ослободат нагло, аминокликозидите од лизозомите би можеле да предизвикаат повеќе метаболички промени, кои би довеле до клеточна смрт. Тука предизвик е да се разликуваат вистинските токсични настани од неважните или секундарни ефекти. Пример за ова е инхибицијата на митохондријалното дишење и липидната пероксидација, кои се сметаат за причини за неповратно оштетување на клетките, но деталните студии покажуваат дека тие се случуваат по клеточната смрт. Покрај тоа, ослободените аминокликозиди од лизозомите можат индиректно да дејствуваат како нефротоксини. Во овој контекст, се покажало дека гентамициноот се врзува со митохондријалното железо, формирајќи оксидативен Fe(II)-гентамицин комплекс, кој може да предизвика смрт на клетките.

Третата хипотеза сугерира дека аминокликозидите складирани во лизозомите не се сами по себе токсични, но мала количина од лекот може да достигне до други структури во клетката што не се наоѓаат во лизозомите и да предизвика токсичност. Лизозомите можат дури и да ја заштитат клетката, задржувајќи го лекот од овие чувствителни места. Апикалните и базолатералните мембрани се можни главни цели, бидејќи се лесно достапни за екстрацелуларната течност и промени во нив можат да предизвикаат сериозни последици за клетката. Иако овие ефекти често бараат повеќе од само контакт на лекот со надворешниот дел на мембраната – како што е случајот со инхибиција на Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> АТФазата, што се случува само ако лекот влезе во цитоплазмата – ова отвора прашања за тоа како лекот достигнува интрацелуларни структури надвор од лизозомите. Студиите кај животни покажуваат дека аминокликозидите се задржуваат во лизозомите, но некои истражувања сугерираат дека лекот може кратко време да биде присутен и во цитозолот на клетките. Врската помеѓу оваа не-лизозомална присутност на

аминогликозидите и токсичноста останува предмет на понатамошни истражувања (66).

Иако не се целосно разјаснети сите фактори кои доведуваат до оштетување на клетките, механизмите кои резултираат во нарушување на бубрежната функција се подобро разбрани. Се смета дека активирањето на ренин-ангиотензин системот и последователната локална вазоконстрикција се главни причини за намалување на гломеруларната филтрација. Ова објаснува зошто нестероидните антиинфламаторни лекови ја влошуваат токсичноста на аминогликозидите, бидејќи го спречуваат создавањето на простагландин PGE<sub>2</sub>, кој има вазодилаторно дејство (67). Исто така, е забележано зголемување на притисокот на проток во проксималните интратубуларни делови на поединечни нефрони, веројатно поради некротична обструкција, што укажува дека намалувањето на гломеруларната филтрација има повеќе причини, вклучувајќи и тубуларни и не-тубуларни фактори. Хипоосмотичната полиурија, која е карактеристична за токсичноста на аминогликозидите, е последица на намалена реапсорпција на течности од проксималните тубули, како резултат на нарушената реапсорпција на растворени супстанции, што води до губење на јони.

Бубрезите имаат значителна способност да се прилагодат на оштетувањата на тубулите, така што клеточната смрт може да остане незабележана при рутинските тестови. Откритието дека тубуларните клетки покажуваат значителна пролиферација дури и по ниски дози на аминогликозиди укажува дека т.н. нетоксични промени имаат поголемо значење отколку што се мислело. Важноста на регенерацијата за заштита од бубрежна дисфункција се потврдува со фактот дека лабораториските стаорци преживуваат повторени високи дози на аминогликозиди. По првата епизода на акутна тубуларна некроза, која се јавува во рок од 8 до 10 дена и е поврзана со зголемена азотемија, функцијата на бубрезите речиси целосно се враќа, како да станале отпорни на лекот (68).

- *Други несакани дејства*

Поретко може да дојде до појава на исип на кожа, треска, главоболка, парестезии, тремор, гадење и повраќање, еозинофилија, артралгии, анемија и хипотензија.

### **1.2.6.ФАРМАКОКИНЕТИКА НА АМИКАЦИН**

Амикацин брзо се ресорбира после интрамукуларна инјекција. Максималните концентрации во плазмата од околу 20  $\mu\text{g/ml}$  и се постигнуваат 1 h по давањето на доза од 500 mg, интрамукуларно(15,21,69). Концентрацијата на амикацин во плазмата се намалува на 2  $\mu\text{g/ml}$  по 10 h од давањето на дозата на лекот.Концентрациите на лекот во плазмата се во бактерициден опсег во период од 10-12 часа по давањето на дозата на лекот интрамукуларно (15,70,71,72).

После давање на доза од 500 mg интравенски во форма на интравенска инфузија во времетраење од 30 минути се добиваат концентрации во плазмата од околу 38  $\mu\text{g/ml}$ . При повторувани инфузии не се јавува акумулација на лекот кај возрасни кои немаат намалување на бубрежната функција.

Најдобри бактерицидни ефекти се постигнуваат со дози кои доведуваат до максимални концентрации на амикацин во плазмата или серумот кои се 8-10 пати повисоки од минималните инхибиторни концентрации (MIC) за бактериите.

Околу 20% од амикациноот во плазмата се наоѓа врзан за протеините. Полуживотот на елиминација на амикацин кај пациенти со нормална бубрежна функција е околу 2-3 часа и за временски период од 24 часа се елиминира како непроменет околу 94-98% од дадената доза на амикацин еднократно. Воглавно се елиминира со процес на гломеруларна филтрација.

Амикацин лесно поминува во екстрацелуларната течност (15,69). Бактерицидни концентрации на лекот се најдени во плеуралната течност, амнионската течност и перитонеалната празнина после парентерална администрација на лекот. При повеќекратна администрација на амикацин кај деца се утврдени концентрации на амикацин кои се 10 до 20% од серумските концентрации, а кај деца со менингитис до 50% од серумските концентрации.

### **1.2.7.ТЕРАПЕВТСКО МОНИТОРИРАЊЕ НА АМИКАЦИН**

Терапевтско мониторирање на амикацин (TDM ) претставува мерење на концентрациите на амикацин и нивна соодветна интерпретација од страна на доктор со соодветна едукација. TDM е значајно за индивидуализација на терапевтскиот режим кај пациентот со цел да се постигне оптимален сооднос корист/ризик при примената на лекот. Препорачливо е да се следат концентрациите на амикацин во плазма или серум со цел да се намали ризикот од субдозирање или токсични ефекти на лекот. Не треба да се постигнуваат максимални концентрации

во серумот поголеми од 35  $\mu\text{g/ml}$  и концентрации поголеми од 10  $\mu\text{g/ml}$  пред давање на наредната доза на лекот.

Потребата од следењето на концентрациите на амикацин во серум или плазма произлегува од фактот дека сите аминокликозидни антибиотици (вклучително и амикацин) имаат мал терапевски индекс и мала терапевска ширина. Со цел да се постигнат оптимални ефекти на терапијата со амикацин, односно да се одбегне опасноста од субдозирање на лекот (давање на помала доза на лекот од потребната) и да се спречи појава на токсичност посебно врз бубрезите и ототоксичност се препорачува следење на концентрациите на амикацин за време на терапијата со овој лек (14,39,69,72,73,74).

Фармакокинетски параметри кои се вклучени во одредувањето на индивидуална антиминокробна терапија со амикацин се  $\text{C}_{\text{max}}$ , односно максималната концентрација на антибиотикот која е постигната на местото на активност на антибиотикот,  $\text{T}_{\text{max}}$ , т.е. времето за кое е постигната  $\text{C}_{\text{max}}$ -концентрацијата и AUC, која претставува површина под кривата на плазматски/серумски концентрации на антибиотикот добиени во различни временски точки во интервалот од неговата апликација до елиминацијата надвор од организмот. Фармакодинамските параметри кои се вклучени при терапевтското мониторирање на амикацин ја утврдуваат врска меѓу серумската концентрација на лекот и терапевските и токсичните ефекти кои тој ги предизвикува врз организмот на пациентот. При одредување на антиминокробната терапија важно е да се знае осетливоста на микроорганизмот кон антибиотикот. Како параметри за одредување на активноста на амикацин врз микроорганизмот предизвикувач на инфекцијата, при индивидуализација на терапијата со лекот се користат параметрите MIC (минимални инхибиторни концентрации) и MBC (минимални бактерицидни концентрации).

При индивидуалното одредување на дозата и режимот на дозирање на антибиотиците покрај фармакокинетичките и фармакодинамските параметри треба да се земат во обзир индивидуалните особини на пациентот (висина, тежина, возраст, функцијата на бубрезите и други витални органи). Главен недостаток на секоја група од претходно опишаните параметри е тоа што секоја група сама за себе овозможува податоци за антиминокробната терапија во една временска точка, односно состојба на пациентот во точно одредено време. Меѓутоа, инфекциите претставуваат динамички состојби за кои е потребно следење на менувањето на

состојбата на пациентот со тек на времето. За да се постигне соодветна процена на активноста на антимикуробната терапија, во употреба се воведени т.н. параметри на оптимална антимикуробна терапија. Бидејќи тие се добиени со комбинирање на фармакокинетските параметри, добиени од фармакокинетиката на антибиотикот кој се применува ( $C_{max}$ ,  $T_{max}$ , AUC) и фармакодинамските параметри, добиени од активноста на микроорганизмот (MIC) тие се наречени PK/PD параметри. Во рутинската пракса се употребуваат три вида на PK/PD параметри-  $C_{max}/MIC$ ,  $T_{max}/MIC$  и  $AUC/MIC$ .

Параметарот  $C_{max}/MIC$  е најсоодветен за употреба за индивидуализација на терапијата со амикацин и други аминогликозидни антибиотици (гентамицин, тобрамицин, канамицин, нетилмицин) и флуорокинолоните. Овие антибиотици покажуваат подолг пост-антибиотски ефект и заради тоа се смета дека постигнување на повисока максимална концентрација на антибиотикот ќе овозможи постигнување на оптимален клинички ефект на терапијата (75). Од спроведените студии, заклучено е дека за постигнување на клинички ефикасна терапија максималната концентрација на аминогликозидите треба да биде 8-10 пати поголема од минималната инхибиторна концентрација на микроорганизмот кај пациенти со грам-негативни инфекции. За индивидуализација на терапијата со амикацин и другите аминогликозидни антибиотици соодветна е и примената на параметарот  $AUC/MIC$  при што се зема во предвид  $AUC_{0-24}$  (површина под крива на плазматските концентрации на амикацин во временскиот период од 0-24 часа). Односот  $C_{max}/MIC$  е зависи пред се од големината на волуменот на дистрибуција на лекот, а односот  $AUC_{0-24}/MIC$  зависи од волуменот на дистрибуција и клиренсот на лекот.

Мониторирање на терапијата со амикацин се врши по постигнување на steady-state состојба на концентрациите на лекот во крвта на пациентот. Тоа обично се постигнува по 4-5 полуживоти на елиминација на антибиотикот. Бидејќи интервалот на дозирање се препорачува да биде продолжен кај пациенти со намалена елиминација на амикацин од организмот (бубрежна инсуфициенција), вообичаено е прво мерење на серумските концентрации пред и по давање на третата доза од терапијата (76). Во овој период веќе може да се изврши проценка за клиничката ефикасност на аплицираната терапија. Концентрацијата на амикацин во плазма/серум во steady-state состојба, и клиничкиот одговор на пациентот кон терапијата, се применуваат за прилагодување и корекција на дозата на лекот.

При терапевтското мониторирање на амикацин најдобро е да се следат најниската и највисоката концентрација на антибиотикот и врз основа на овие резултати индивидуално да се прилагодува дозата на лекот (1,2,14,39,75,77,78). Најниските концентрации кои се постигнати при апликација на амикацин се поврзани и имаат влијание врз успешноста на аплицираната терапија. Овие концентрации се препорачува да се мерат во период од најмногу 30 минути пред апликацијата на следната доза. Мониторирањето на највисоката концентрација во крв во steady-state состојба е важно не само поради обезбедување на ефикасност на лекот, туку и заради тоа што појавата на токсични ефекти при терапијата со амикацин зависи од големината на постигнатите концентрации (ототоксичност).

Во литературата има голем број на клинички студии во кои се следени концентрациите на амикацин после администрација на дневната доза еднаш на ден и поделена во две или три поединечни дози со цел да се одреди оптималниот режим на дозирање на лекот, како и клинички студии во кои е модифицирана дозата на лекот врз основа на најдените концентрации на амикацин во серумот со цел коригираната доза да постигне оптимален ефект и да се минимизира токсичноста на амикацин. Како и другите аминогликозидни антибиотици и амикацин најчесто покажува токсичност врз бубрезите (нефротоксичност) и ототоксичност (вестибуларна и аудиотоксичност).

Во клиничките студии токсичноста врз бубрезите е посебно изразена при третман со амикацин во времетраење подолго од 10 дена. Како и другите аминогликозидни антибиотици и амикацин покажува бактерициден ефект врз осетливите соеви на бактерии кој е дозно, односно концентрациски зависен. Во однос на токсичноста врз бубрезите утврдено е дека таа не е поврзана со големината на максималните концентрации на амикацин во плазмата (серумот) туку со одржување на повисоки концентрации на лекот во подолг временски период, при повторувана терапија со лекот, како и кај пациенти со претходно оштетена бубрежна функција. Докажано е дека соодветна хидратација на пациентите за време на терапијата со лекот ги намалува токсичните ефекти врз бубрезите. Во некои студии со модифицирање на дозата (нејзино намалување) после одредувањето на концентрациите на амикацин утврдени се помали токсични ефекти врз бубрезите. Најчесто функцијата на бубрезите била одредувана пред почетокот на терапијата со амикацин, а потоа на дневна основа се следени присуството на еритроцити и леукоцити во урина, албуминурија, клиренс на



креатинин, специфична тежина на урината, нивото на уреа и креатинин во серум. Утврдено е дека истовремената употреба на нефротоксични и неуротоксични супстанции како што се бацитрацин, цисплатин, амфотерицин В, цефалоридин, паромомицин, виомицин, полимиксин В, колистин, ванкомицин или други аминокгликозидни антибиотици може да ја зголеми токсичноста на амикацин. Од тие причини треба да се одбегнува нивната истовремена употреба.

Невртоксичноста на амикацин се манифестира како аудиторна и вестибуларна токсичност која во клиничките студии е најчесто билатерална. Ризикот од ототоксичност бил поголем кај пациентите кои имале нарушена бубрежна функција и кај кои времетраењето на терапијата со амикацин било подолго од 7 дена. Покрај со пролонгирано одржување на повисоки концентрации на амикацин, ототоксичноста е поврзана и со големината на максималните концентрации на амикацин во плазма (серум).

Не е утврдена сигнификантна разлика во однос на ототоксичноста предизвикана при давање на дневната доза еднаш на ден и во повеќе поединечни дози. Констатирано е дека ототоксичноста предизвикана со амикацин е најчесто реверзибилна. Ототоксичноста најчесто се забележува како тинитус, вртоглавица или губење на слухот при високи фреквенции (>4000Hz) (79,80,81). Губењето на слухот при високи фреквенции тешко може да биде забележано, освен во случаи кога аудиометриски преглед е спроведен пред настапувањето на оштетувањето. Меѓутоа, аудиометрија тешко се спроведува кај тешко болни пациенти. Затоа, клиничарите дијагностицираат оштетување на слухот преку детекција на знаци и симптоми кои наведуваат на ототоксичност или тестот со шепот. Аудиометриски симптоми се тинитус, чувство на притисок во ушите, а вестибуларни симптоми се губење на рамнотежа, главоболка, гадење (наузеа), повраќање, вртоглавица, нистагмус, атаксија. Ототоксичноста може да остане трајна доколку не се направи промена во дозирањето со амикацин.

Во однос на терапевтските ефекти на амикацин подобри резултати во смирување на симптомите на инфекцијата и ерадикација на бактерискиот причинител било постигнато кај пациентите кај кои биле следени концентрациите на лекот во плазма (серум) и врз основа на најдените концентрации била извршена корекција на дозата на лекот.

Максималните концентрации на амикацин во плазмата во различни клинички студии биле од 15 до 40  $\mu\text{g/ml}$  и биле постигнати после 20-30 минути од

давањето на интрамускуларна инјекција или 20-30 минути од почнувањето на интравенска инфузија. Кај некои пациенти биле измерени ниски максимални плазматски концентрации на амикацин (Stax) од 12  $\mu\text{g/ml}$ , а кај некои пациенти биле измерени и максимални плазматски концентрации на амикацин од 127  $\mu\text{g/ml}$ . Утврдено е дека ниските концентрации на амикацин се последица на субдозирање на лекот поради што се јавува негова недоволна терапевтска ефикасност и се зголемува можноста за брзо јавување на резистенција. Кај пациентите со високи концентрации на амикацин, посебно во колку тие се одржуваат подолг временски период се зголемува опасноста од појава на токсичност на амикацин.

Концентрациите на амикацин во плазма или серум во клиничките студии биле одредувани со користење на затворен аналитички систем и комерцијални реагенси, а во литературата се опишани и други методи за одредување на концентрациите на амикацин во плазма/серум (3). Прецизното мерење на плазма концентрациите на амикацин е од суштинско значење за терапевтско следење на лековите за да се осигура ефикасноста и да се избегне токсичноста. Главни методи кои се користат за оваа цел се:

### **1. Високо-Ефикасна Течна Хроматографија (HPLC):**

Хроматографска техника која се користи во аналитичката хемија за раздвојување, идентификација и квантитативна анализа на соединенија од одредена смеса. Течната хроматографија користи помали колони, помали медиуми во колоната и повисок притисок на мобилната фаза. Пумпата за течна хроматографија користи притисок од 400 атмосфери за да ја води мобилната фаза низ густо пакуваната колона. Зголемената густина на колоната овозможува раздвојување на најмалите честички од анализираната смеса.

**Предности:** Висока сензитивност и специфичност, може да се користи за различни примероци.

**Ограничувања:** Бара комплексна и скапа опрема и обучени техничари.

### **2. Течна Хроматографија-Тандем Мас Спектрометрија (LC-MS/MS):**

**Опис:** Методот претставува комбинација на две техники: течна хроматографија и мас спектрометрија. По раздвојувањето преку колоната за течна хроматографија, молекулите од анализираниот примерок се конвертираат во јонизирана состојба. Фрагментираниите јони се разделуваат врз основа на односот маса-полнеж.

**Предности:** Многу висока сензитивност, способна за детекција на ниски концентрации и многу специфична.

**Ограничувања:** Скапа опрема и бара техничка експертиза.

### **3. Гасна Хроматографија-Мас Спектрометрија (GC-MS):**

**Опис:** Метод кој комбинира гасна хроматографија и мас спектрометрија. Со загревање на течниот примерок се произведува пареа која се движи низ колоната за гасна хроматографија и се раздвојува на помали честички. Овие честички потоа се јонизираат и се диференцираат од спектрофотометарот врз основа на нивниот полнеж и маса.

**Предности:** Висока сензитивност и специфичност.

**Ограничувања:** Не се користи типично за амикацин поради потребата од дериватизација и неговата поларна природа.

### **4. ЕЛИСА (ELISA- Enzyme Linked Immunosorbent Assay) :**

**Опис:** Метод кој претставува аналитичка биохемиска проба каде анализираниот примерок е имобилизиран на цврста фаза заедно со врзувачки реагенс, формирајќи антиген-антителен комплекс. Потоа на овој комплекс му се додава ензим, кој генерира сигнал што може прецизно да се квантифицира.

**Предности:** Висока сензитивност и специфичност, може да се користи во различни средини.

**Ограничувања:** Бара подготовка на специфични антитела и може да биде времетраен процес.

### **5. Радиоимуноанализа (RIA):**

**Опис:** Метод кој се базира на конкуренција помеѓу антигенот од примерокот и радиоактивно обележаниот антиген за врзувачките места на антителото. RIA комбинира специфичноста на антиген-антитело реакција со сензитивноста на мерење радиоактивност.

**Предности:** Многу сензитивен и специфичен.

**Ограничувања:** Бара ракување со радиоактивни материјали, што носи здравствени и безбедносни ризици.

### **6. Флуоресцентна Поларизациона Имуноанализа (FPIA):**

**Опис:** Метод кој се базира на конкуренција помеѓу флуоресцеин-обележан антиген и необележан антиген за врзување на антитело. Во постапката, поларизирана

светлина го ексцитира примерокот и флуоресцеинот емитува поларизирана светлина, која се детектира. Комплексот антиген-флуоресцеин што не е врзан емитува повеќе светлина од врзаната верзија на комплексот. Колку е поголема количината на антиген во примерокот, толку помалку флуоресцеин-обележан антиген ќе се врзе на антителото, што резултира со зголемување на емисијата на поларизирана светлина.

**Предности:** Брзо и лесно за изведување, соодветно за рутинска клиничка употреба.

**Ограничувања:** Може да има вкрстена реактивност со други соединенија, помалку сензитивно споредено со LC-MS/MS.

### 7. Капиларна Електрофореза (CE):

**Опис:** Капиларната електрофореза (CE) ги раздвојува јонските видови врз основа на односот големина-полнеж под влијание на електрично поле.

**Предности:** Висока резолуција и ефикасност, бара мали волумени на примерок.

**Ограничувања:** Помалку се користи во рутинска клиничка практика, бара специјализирана опрема.

Најчесто пресметување на потребната доза на амикацин во клиничките студии е врз основа на добиените плазматски (серумски) концентрации на амикацин и тоа минималната и максималната серумска концентрација на амикацин. Минималната серумска концентрација се одредува во примерок на крв земен 30 минути пред давање на наредната доза на лекот, а максималната концентрација се одредува во примерок на крв земен 30 минути по започнување на инфузијата со амикацин.

Пресметувањето на потребната доза најдобро е да се изведе со внесување на податоците за добиените концентрации на амикацин во посебен компјутерски програм кој пресметува која доза да се примени кај пациентот. Во колку не располагаме со компјутерски програм тогаш потребната доза може да се добие како количник од производот на дадената доза и теоретски посакуваната концентрација со добиената концентрација на лекот. Треба да се земе предвид и големината на максималните концентрации за постигнување на посакуваниот однос  $St_{max}/MIC$ , односно  $AUC_{0-24}/MIC$  кој се прилагодува во зависност од  $MIC$  за соевите на бактерии врз кои сакаме амикацинот да делува.

## 2. ЦЕЛ НА ИСПИТУВАЊЕТО

Главна цел на нашето истражување беше да се одговори на основната хипотеза дека терапевтското мониторирање на амикацин и индивидуализацијата на дозирањето ја подобрува терапевтската ефикасност и безбедност кај пациентите со цистична фиброза лекувани со амикацин.

Во нашето истражување, од вклучените пациенти, кај ниту еден пациент не беше потребно да се изврши корекција на дадената доза врз основа на резултатите добиени за концентрациите на амикацин во серум и претходно зададените критеријуми. Поради тоа не бевме во можност да формираме две групи испитаници кај кои би ги компарирале постигнатите резултати во однос на терапевтската ефикасност и безбедност и да извршиме проценка на индивидуализација на дозата на амикацин и нејзиното значење за подобрување на терапевтската ефикасност и безбедност на лекот.

Во тек на истражувањето ја сменивме главната цел на истражувањето во проценка на терапевтската ефикасност и безбедност на амикацин даден во форма на интравенска инфузија во доза од 30 mg/kg, но не повеќе од 1.5g, во времетраење од 30 минути, секој ден, најмалку во период од 7 дена и одредување на потребата од индивидуализација на дозата на амикацин кај пациенти со цистична фиброза.

Евалуацијата беше извршена врз основа на клинички и лабораториски (хематолошки, биохемиски и микробиолошки) параметри за проценка на терапевтската ефикасност и безбедност на амикацин.

Цели кои произлегоа од основната хипотеза:

- евалуација на нивото на амикацин во серум при емпириско дозирање на лекот во доза од 30 mg/kg еднаш на ден, но не повеќе од 1.5g, најмалку во период од 7 дена;
- евалуација на фармакокинетските параметри на амикацин при давање на лекот во форма на интравенска инфузија во доза од 30 mg/kg еднаш на ден, но не повеќе од 1.5g, најмалку во период од 7 дена;
- евалуација на нарушувањето на бубрежната функција, ототоксичноста и вестибуларната токсичност кај пациентите со цистична фиброза кои се долго време на терапија со амикацин.

## **3.МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДИ**

### **3.1.Субјекти во истражувањето**

Беше предвидено во студијата да бидат вклучени најмногу 50 пациенти со цистична фиброза кои подолг временски период примаат терапија со амикацин според претходно утврден протокол на ЈЗУ УК Клиника за детски болести, Медицински факултет, УКИМ, Скопје.

#### **3.1.1.Критериуми за влучување во истражувањето**

- a) пациенти на возраст од 4-65 години ( $\geq 4-\leq 65$  години);
- b) новодијагностицирани пациенти со цистична фиброза кај кои е потребна терапија со амикацин во времетраење од најмалку 7 дена и пациенти кои претходно примиле најмалку еден циклус на терапија со амикацин во времетраење од 7 или повеќе денови;
- c) пациенти кои се согласуваат да учествуваат во истражувањето и ќе потпишат информирана согласност, а за пациенти на возраст помала од 18 години информирана согласност ќе потпише нивниот родител или старател.

#### **3.1.2.Критериуми за невклучување во истражувањето**

- a) позитивна анамнеза на алергиска реакција кон амикацин, други аминогликозидни антибиотици и/или кон која било од составните компоненти на лекот;
- b) пациенти кои имаат миастенија гравис;
- c) пациенти со клиренс на креатинин  $\leq 30$  ml/min;
- d) пациенти со анамнеза на злоупотреба на дроги и/или алкохол во изминатите 12 месеци;
- e) учество во други клинички студии во претходните два месеци.

#### **3.1.3.Критериуми за исклучување од истражувањето**

- a) пациенти кај кои беше потребна хемодијализа за време на истражувањето;
- b) пациенти кај кои беше потребно да се примени терапија со лекови кои интерферираат со клиренсот на креатинин и доведуваат до зголемување на концентрациите на амикацин (пример: индометацин);
- c) пациенти кај кои беше потребно да се примени терапија со лекови кои имаат нефротоксично, невротоксично и ототоксично дејство (бацитрацин, цисплатин, амфотерицин В, циклоспорин, такролимус, цефалоридин,

паромомицин, виомицин, полимиксин В, колистин, ванкомицин, други аминокгликозидни антибиотици).

- d) при значајно клиничко влошување на состојбата кај пациентот;
- e) појава на заболување кое не беше присутно во моментот на потпишување на информираната согласност, а кое може да влијае врз оценката на терапевтската ефикасност и безбедност на амикацин;
- f) пациенти кои не соработуваа за време на испитувањето.

### **3.2. Третман за време на истражувањето**

За време на клиничкото испитување пациентите примаа терапија со Амикацин во доза од 30 mg/kg, дадена еднаш на ден, во форма на интравенска инфузија (најмногу 1.5 g/ден) во времетраење од 30 минути. Пациентите за време на студијата го примаа лекот Амикацин кој беше обезбеден преку јавна набавка од страна на ЈЗУ УК Клиника за детски болести, Медицински факултет, Скопје.

### **3.3. Методи на истражувањето**

#### **3.3.1. Анамнеза и клинички преглед**

- a) Анамнестички податоци (фармаколошка анамнеза, фамилијарна анамнеза, минати заболувања и т.н.);
- a) Мерење на витални знаци (температура, крвен притисок и пулс)
- b) Физикален преглед по системи со одредување на парцијалниот притисок на кислород во крвта, правење на тест со шепот (Whispered-voice тест).
- c) Други испитувања ако е потребно според проценка на истражувачот (одредување на респираторни волумени, рендгенски испитувања, аудиометрија и друго).

Испитувањата беа направени од страна на одговорниот истражувач во ЈЗУ УК Клиника за детски болести, Медицински факултет, Скопје и од страна на главниот истражувач во проектот.

Начинот на изведување на тестот со шепот (Whispered-voice тест) е прикажан на слика 1.

Слика 2. Тест со шепот

## *The Whisper Test*

1. Пациентот седи на испитната маса или стол, испитувачот стои на растојание од должина на испружена рака (0,6m) зад пациентот.
2. Кажете му на пациентот: „За време на тестот за слух, ќе Ве замолам да го покриете увото кое не го тестираме додека јас ги кажувам буквите и броевите на глас. Ќе го покриете увото така што ќе го ставите прстот врз трагусот.“
3. Пациентот го покрива увото кое НЕ се тестира, со еден прст врз трагусот. Пациентот полека го движи прстот во кружно движење.
4. Испитувачот зема длабоко здив и максимално издишува пред да ја изговори комбинацијата од број-буква-број.
5. Комбинацијата број-буква-број треба да биде различна за секое уво.
6. Пациентот повторува што слушал.
7. Ако пациентот успешно повтори се продолжува со тестирање на другото уво.
8. Ако пациентот погрешно одговори во одговорот се шепоти друга комбинација на број-буква-број. Ако пациентот точно одговори по вториот обид, тестот се смета за успешен.



8-J-3	5-M-4
6-U-7	2-S-1



### **3.3.2.Лабораториски методи**

#### **3.3.2.1.Методи за одредувањето на лабораториските (хематолошки и биохемиски анализи )**

Бројот на еритроцити, леукоцити и тромбоцити е одреден со потполно автоматизирана метода на инструмент - хематолошки бројач. Апаратот при секој циклус автоматски извршува аспирирање, растворање и мешање на примерокот и ги извршува потребните мерења за сите параметри. Вкупниот број на леукоцитите, еритроцитите и тромбоцитите се определува со примена на методата на волуметриска импеданса.

Хемоглобинот е определен спектрофотометриски како цијанметхемоглобин на бранова должина од 540 nm.

Биохемискиот статус е работен со потполно автоматизирана метода на инструмент - биохемиски анализатор. Принципите на методите користени за изработка на пооделни биохемиски параметри се следните:

- албумини: колориметриска End-point метода со бромкрезол зелено;
- билирубин вкупен: диазо метода; апсорбанцијата се мери на бранова должина од 552 nm;
- холестерол: ензимска колориметриска метода (CHOD-PAP);
- креатинин: кинетичка метода според Jaffe без депротеинизација, компензирана;
- глукоза: референтна ензиматска метода со хексокиназа;
- HDL холестерол: хромогена ензиматска колориметриска метода;
- LDL Холестерол: хромогена ензиматска колориметриска метода;
- протеини, вкупни: биурет реакција;
- триглицериди: ензимска колориметриска метода со глицерол фосфат оксидаза и 4-аминофеназон.
- уреа: кинетичка метода со уреаза и глутамат дехидрогеназа;
- мочна киселина: ензимска колориметриска метода.

#### **3.3.2.2.Метод за одредување на концентрацијата на амикацин во серум**

Флуоресцентниот поларизационен имуноесеј (FPIA) е моќна аналитичка техника која се базира на флуоресценција и на физичкиот феномен на поларизација на светлината, за откривање и квантитативно мерење на мали молекули. FPIA е широко користена во клиничката биохемија за анализи на мали молекули, како што се лекови, токсини и хормони, поради нејзината прецизност, брзина и едноставност.

## Основен концепт на FPIA

**Флуоресценција:** Кога молекулот е осветлен со светлина на специфична бранова должина, тој апсорбира енергија (фотон) и се ексцитира. По краток временски период, молекулот се враќа во својата основна состојба, при што ослободува флуоресцентна светлина. Флуоресцентната светлина има подолга бранова должина од ексцитирачката светлина.

**Поларизација на светлина:** Флуоресцентните молекули можат да емитуваат светлина со специфична ориентација или поларизација. Степенот на поларизација зависи од брзината со која молекулите ротираат во растворот. Помали молекули ротираат побрзо, што предизвикува намалување на поларизацијата на емитираната светлина. Големите комплекси, пак, ротираат побавно, што го задржува степенот на поларизација.

### 1. Подготовка на реакцијата:

Во примерокот се додава флуоресцентно обележан антиген (мал молекул од интерес, кој е обележан со флуоресцентен маркер). Се додава и специфично антители, кое има способност да се врзе за антигенот (и испитуваниот од примерокот и обележаниот). Во системот се случува конкуритивна врзувачка реакција, каде антигенот (присутен во примерокот од пациентот) и флуоресцентниот антиген се натпреваруваат за врзување со антителото. Концентрацијата на антителото е фиксна, додека концентрацијата на испитуваниот антиген варира во зависност од состојбата на пациентот.

### 2. Конкурентно врзување:

Ако има поголема количина од испитуваниот антиген во примерокот, повеќето антители ќе се врзат за него. Ова значи дека помалку флуоресцентно обележани антигени ќе бидат врзани за антителата.

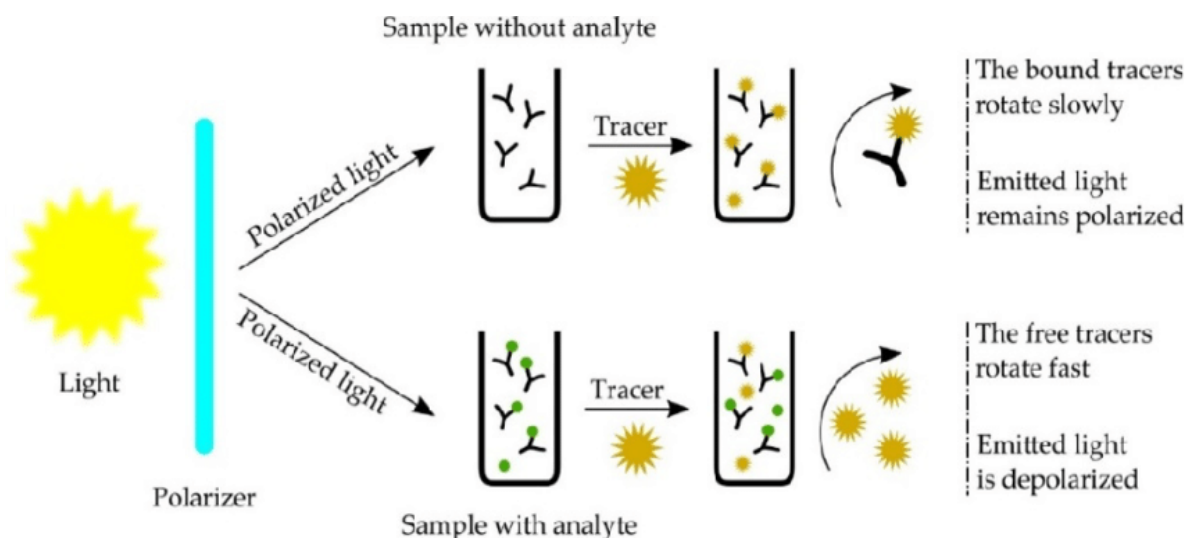
Ако има помала количина од испитуваниот антиген, тогаш повеќе флуоресцентно обележани антигени ќе се врзат за антителата, бидејќи се ослободуваат повеќе места на антителата.

### 3. Мерење на флуоресцентна поларизација:

Системот користи поларизирана светлина за да ги ексцитира флуоресцентно обележаните антигени. При оваа ексцитација молекулите емитуваат флуоресцентна светлина.

Врз основа на степенот на поларизација на емитираната светлина, системот може да ја измери концентрацијата на антигенот:

- слободни флуоресцентно обележани антигени ротираат брзо во растворот, предизвикувајќи намалување на поларизацијата на емитираната светлина.
- флуоресцентни антигени врзани за антитела ротираат побавно, одржувајќи ја поларизацијата на емитираната светлина.



#### 4. Интерпретација на резултатите:

Мерењата на поларизацијата имаат инверзна корелација со концентрацијата на испитуваниот антиген:

- висока концентрација на антиген во примерокот доведува до ниска поларизација, бидејќи поголемиот дел од флуоресцентно обележаните антигени остануваат слободни и брзо ротираат.
- ниска концентрација на испитуваниот антиген доведува до висока поларизација, бидејќи поголем дел од флуоресцентно обележаните антигени ќе бидат врзани за антителата и ќе ротираат побавно.

#### 5. Квантитативна анализа:

Системот користи стандарди и калибрациони криви за да ги интерпретира мерењата на поларизацијата и да ја пресмета точната концентрација на антигенот во примерокот.

Овој процес овозможува брза и прецизна анализа на мали молекули, што е од голема важност за клиничката дијагностика, како на пример за следење на концентрации на лекови, мониторинг на терапија или дијагностика на токсини.

#### Придобивки од FPIA:

- нема потреба од разделување или перење на примерокот кој се испитува. Оваа метода е директна, што го скратува времето на анализа и го прави процесот поедноставен во споредба со други имуноесеј методи.
- брзина и ефикасност: резултатите може да се добијат за многу кратко време, што е корисно во клиничките лаборатории каде брзината на анализа е клучна.
- прецизност и осетливост: FPIA е многу осетлив за мали молекули и може точно да детектира ниски концентрации на аналити во сложени биолошки матрици.

Флуоресцентниот поларизационен имуноесеј (FPIA) е напредна техника која се базира на промени во флуоресцентната поларизација за прецизно мерење на концентрациите на мали молекули. Оваа метода нуди висока чувствителност, брзина и ефикасност, што ја прави идеална за клинички апликации како следење на терапија, детекција на токсини или хормонски анализи.

#### **Земање на примероци крв за анализа**

Примероците на крв во кои беше одредувана концентрацијата на амикацин во серум беа земани од пациенти со цистична фиброза кои примаа интравенска инфузија со амикацин во времетраење од 30 минути, во доза од 30 mg/kg, но не повеќе од 1500 mg, еднаш на ден. Во клиничкото испитување крв за одредување на концентрациите на амикацин во серум беше земена од 40 пациенти со цистична фиброза на возраст од 4-65 години ( $\geq 4 \leq 65$  години) кај кои беше потребна терапија со амикацин во наведените дози, а концентрациите на амикацин беа одредени кај 34 пациенти. Кај 6 пациенти не беа одредени концентрациите на амикацин поради хемолиза во примерокот.

Од сите пациенти беа земени примероци на крв во максимална количина од 1.0 ml и тоа на 1 час пред давање на третата доза на лекот и 30 минути, 6 часа и околу 23 часа по завршување на инфузијата. Примероците на крв беа земани и 0-30 минути пред давање на четвртата и петтата доза на лекот. Примероците на крв беа земени во серумски епрувети. После центрифугирање (6000rpm, 10 min.) беше одвоен серум кој беше чуван во фрижидер на температура од  $-20^{\circ}\text{C}$  до одредувањето на концентрацијата на амикацин. Одвојувањето на серум и

одредување на концентрациите на амикацин во серум беше направено од страна на Институтот за судска медицина и криминалистика, Медицински факултет, Скопје.

### **Инструменти и опрема**

Примероците на серум од клиничкото испитување беа анализирани на анализатор ARCHITECT C4000 од ABBOTT.

**Слика 3.**Анализатор ARCHITECT C4000 од ABBOTT.



За одредување на концентрацијата на амикацин во серум беше користен реагенс Amikacin произведен од Abbott и наменет за Architect C4000. Реагенсот е во течна форма, не е потребна претходна подготовка и претставува кит од комплет на два реагенси кои содржат:

- R1- Анти-амикацин моноклонално антителио (глувче) < 1,0%
- R2 – Амикацин - обложени микрочестички  $\leq 0.5\%$

Пред отчитување на примероците на серум беше изработена калибрација во 6 нивоа користејќи сет за калибратори TDM Multiconstituent Calibrator (TDM MCC). Калибрацијата е стабилна 54 дена. Линеарноста на анализата е од 2 до 50  $\mu\text{g/mL}$ . Концентрациите на калибраторите беа следни: 0,00; 2,99; 9,75; 19,37; 34,38; 50,00  $\mu\text{g/mL}$ . За потврда на калибрационата крива, пред секое одредување на

концентрациите на амикацин во серум беа отчитувани контроли за Амикацин. При примената на методот беа користени контроли Multichem S plus, Technopath во три нивоа:

- Контрола 1 со средна концентрација 4,76  $\mu\text{g/ml}$  и опсег 3,81 - 5,72  $\mu\text{g/ml}$ ;
- Контрола 2 со средна концентрација 12,35  $\mu\text{g/ml}$  и опсег 9,90 – 14,80  $\mu\text{g/ml}$ ;
- Контрола 3 со средна концентрација 33,05  $\mu\text{g/ml}$  и опсег 26,40 – 39,70  $\mu\text{g/ml}$ .

Пред одредување на непознатата концентрација на амикацин во серум беа анализирани три контролни примероци и во колку истите беа во предвидените граници за отстапки, односно отстапувања од концентрацијата во примерокот  $\pm 2$  SD се пристапуваше кон мерење на непознатата концентрација на амикацин во серумот од пациентите. Доколку примероците го надминуваат мерниот ранг за амикацин ( $>50 \mu\text{g/mL}$ ), истите беа разредувани со физиолошки раствор и факторот на дилуција беше внесен во системот при запишување на пациентот за автоматска корекција. За одредување на концентрацијата на амикацин во серум кај третираниите пациенти беше потребен серум во количина од 150  $\mu\text{l}$ .

### 3.3.3.Пресметување на фармакокинетските параметри

За целите на истражувањето беа пресметани следните фармакокинетски параметри:

- **Минимални концентрации на амикацин во серум во steady/state ( $C_{ssmin}$ )** е концентрација на амикацин во примерокот на крв земен 60 минути (1 h) пред администрација на третата доза на амикацин. Беше пресметан во  $\mu\text{g/ml}$ .
- **Максимални концентрации на амикацин во плазма/серум во steady/state ( $C_{ssmax}$ )** е концентрација на амикацин во примерокот на крв земен 30 минути по започнување на администрација на третата доза на амикацин (односно по завршување на инфузијата). Беше пресметан во  $\mu\text{g/ml}$ .
- **Константа на брзина на елиминација ( $K_{el}$ )** е вкупната константа на брзина од прв ред за еден или повеќе процеси со кои лекот се одстранува од централниот простор (крв) со излучување како непромент или со една

или повеќе метаболни реакции. Константата на брзина на елиминација на амикацин е пресметана од делот на кривата во кој лекот покажува моноекспоненцијален пад на серумските концентрации со користење на следната формула Беше пресметан во  $1/h$ , односно  $h^{-1}$  според следната формула:

$$K_{el} = \frac{\ln C_1 - \ln C_2}{t_2 - t_1}$$

при што  $C_1$  се повисоките концентрации, а  $C_2$  пониските концентрации на амикацин во серум во делот на делот на кривата во кој лекот покажува моноекспоненцијален пад на серумските концентрации, а  $t_2$  и  $t_1$  се соодветните временски точки во кој се постигнуваат овие концентрации.

- **Биолошки полуживот на елиминација ( $T/2_{el}$ )** е временски интервал за кој концентрацијата на лекот во централниот простор се намалува на половина од своите почетни вредности со процес на елиминација од прв ред. Беше пресметан во часови ( h ) според следната формула:

$$T/2_{el} = \frac{0.693}{K_{el}}$$

- **Волумен на дистрибуција ( $V_d$ )** е хипотетички волумен на телесните течности кој би бил потребен да ја раствори вкупната количина на лек во организмот за да се постигне истата концентрација како во серумот. Беше пресметан во литри ( L ) според следната формула:

$$V_d = \frac{R}{C_p \times K} \times (1 - e^{-kb}) \times e^{-K-(t-b)}$$

Во оваа формула се користат следните елементи:

$R$  = брзина на инфузија во часови ( h );

$K$  = константа на елиминација во  $h^{-1}$  ;

$b$  = времетраење на инфузијата;

$C_p$  = концентрација на амикацин во серум;

$t$  = вкупно време ( инфузија и постинфузија) во кое е постигната концентрацијата на амикацин во серум (Цп);

$t-b$  = време од запирање на инфузијата.

- **Вкупен клиренс ( $CL_{tot}$ )** е параметар кој го одразува одстранувањето на лекот од хипотетички волумен на плазма во единица време и тоа преку сите патишта на излучување (бубрези, црн дроб, бели дробови, кожа, фецес). Беше пресметан во  $L/h$  според следната формула:

$$Cl_{tot} = V_d \times K_{el}$$

Пресметувањето на фармакокинетските параметри на амикацин беше направено на Институтот за претклиничка и клиничка фармакологија со токсикологија при Медицинскиот факултет, УКИМ, Скопје со користење на линеарен, отворен еднокомпармански модел (82).

#### **3.3.4. Статистички методи**

Статистичката анализа на податоците добиени од истражувањето беше направена во статистичкиот програм SPSS for Window 23.0. Shapiro Wilk's тест беше користен за тестирање на нормалноста на дистрибуцијата на податоците. Добиените податоци се прикажани табеларно и графички.

Категориските (атрибутивни) варијабли се прикажани со апсолутни и релативни броеви. Нумеричките (квантитативни) варијабли се прикажани со просек, стандардна девијација, минимални и максимални вредности, медијана и интерквartilни рангови.

За тестирање на разликите во промените на анализираните параметри меѓу временските точки беа користени параматарски и непараметрарски тестови за зависни примероци (Student t-test for dependent samples, Wilcoxon Matched pairs test и ANOVA Repeated measures test).

Статистичката сигнификантност беше дефинирана на ниво на  $p < 0.05$ .



## 4. ЕКСПЕРИМЕНТАЛЕН ПРОТОКОЛ

Истражувањето беше планирано да се одвива како отворена клиничка студија изведена на 2 паралелно третирани групи на испитаници. Испитаниците беа пациенти со цистична фиброза кои примаат Амикацин во форма на интравенска инфузија во доза од 30 mg/kg на ден (најмногу 1.5 g/ден) во времетраење од 30 минути, дадена еднаш на ден во период од најмалку 7 дена. Селекцијата на пациентите според критериумите за вклучување во испитувањето и нивниот третман со амикацин беше изведена од страна на истражувачи вработени во ЈЗУ УК Клиника за детски болести, Медицински факултет, Скопје.

Беше предвидено пациентите да бидат поделени во 2 групи врз основа на концентрациите на амикацин добиени пред давањето на третата доза на лекот:

- a) Првата група пациенти која примаше третман со Амикацин во доза од 30 mg/kg на ден (најмногу 1.5 g/ден), дадени еднаш на ден во форма на интравенска инфузија, во период од најмалку 7 дена продолжуваше со истата доза на лекот до крајот на третманот, независно од концентрацијата на амикацин во серум пред давање на третата доза на лекот.
- b) Кај втората група пациенти која примаше третман со Амикацин во доза од 30 mg/kg на ден (најмногу 1.5 g/ден), дадени еднаш на ден во форма на интравенска инфузија, во период од најмалку 7 дена беше предвидено да се изврши корекција на дадената доза во зависност од постигнатите концентрации на амикацин во серум пред давање на третата доза на лекот и тоа на следниот начин:
  - ✓ Ако концентрацијата на амикацин добиена 23 h по давањето на втората доза на лекот (1h пред давање на наредната доза на лекот) е  $< 3 \mu\text{g/ml}$ , да се продолжи со давање на истата доза на лекот и да се земе крв за наредна контрола на концентрацијата на амикацин по 7 дена (или 1h пред давањето на последната доза на амикацин, во колку испитувањето трае пократко од 10 дена).
  - ✓ Ако концентрацијата на амикацин добиена 23 h по давањето на втората доза на лекот (1 h пред давање на наредната доза на лекот) е  $> 3 \mu\text{g/ml}$ , да се пропушти наредната доза на лекот и да се земе крв за наредна контрола на концентрацијата на амикацин на 1 h пред давање на наредната доза на лекот идниот ден. Ако концентрацијата на амикацин во овој примерок на крв е  $< 3$

$\mu\text{g/ml}$ , да се намали дозата на амикацин за 20% и да се земе крв за одредување за наредна контрола на концентрацијата на амикацин на 1 h пред давање на наредната доза на лекот идниот ден. Ако концентрацијата на амикацин во овој примерок на крв е  $< 3 \mu\text{g/ml}$ , да се продолжи со давање на намалената доза на амикацин.

- ✓ Кај пациентите кај кои најдени повисоки концентрации и извршено е намалување на дозата на лекот за 20%, наредното следење на концентрациите на лекот зависи од клиничката состојба, реналната функција и иницијалното ниво на зголемена концентрација на  $C_{\text{ssmin}}$ :
  - Кај пациенти со значајно повисоки иницијални концентрации на амикацин и значајна корекција на дозата на лекот, пациенти кои имаат промени во функцијата на бубрезите и состојбата со телесните течности, контрола на концентрациите на амикацин треба да се прави на секои 2-3 дена. За контрола на концентрациите на амикацин се зема крв 1 h пред давање на наредната доза на лекот и концентрацијата на амикацин во примерокот треба да биде  $< 3 \mu\text{g/ml}$ . Во колку концентрацијата е поголема, треба да се изврши корекција на наредната доза на лекот и понатаму да се контролира концентрацијата како што е наведено претходно.
  - Кај стабилни пациенти кај кои е извршено мало намалување на дозата на амикацин и кои немаат промени во функцијата на бубрезите и состојбата на телесните течности, контрола на концентрациите на амикацин треба да се прави на секои 3-5 дена. За контрола на концентрациите на амикацин се зема крв 1 h пред давање на наредната доза на лекот и концентрацијата на амикацин во примерокот треба да биде  $< 3 \mu\text{g/ml}$ . Во колку е концентрацијата поголема, треба да се изврши корекција на наредната доза на лекот и понатаму да се контролира концентрацијата како што е наведено претходно.

Вкупната количина на крв која дополнително се зема од пациентот за потребите на оваа клиничка студија со цел одредување на концентрациите на Амикацин во сите предвидени временски точки требаше да изнесува 10-20 ml (во зависност во колку временски точки се одредени концентрациите на Амикацин според наведеното во претходниот текст).

Од пациентите кои беа вклучени во истражувањето, само 1 пациент имаше концентрација на амикацин во серум повисоки од  $3 \mu\text{g/ml}$  ( $3.7 \mu\text{g/ml}$ ) пред давање на третата доза на лекот, но и кај овој пациент пред давање на четвртата доза на лекот беа утврдени концентрации пониски од  $3 \mu\text{g/ml}$  ( $< 2 \mu\text{g/ml}$ ). Од наведената причина испитувањето се одвиваше во една група пациенти кај кои интензивно беше посебно следена терапевтската ефикасност и безбедност на лекот (појава на несакани дејства, нарушување на лабораториските параметри, знаци на аудиолошка и вестибуларна токсичност и нефротоксичност), како и евентуалната појава на несакани дејства при високи концентрации на амикацин во серум.

Во табела 1 се прикажани сите активности превземени за време на истражувањето.

Табела 1. Временски распоред на активности за време на истражувањето

Активност	ДЕН ВО СТУДИЈАТА														
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
Информирана согласност	X														
Анамнеза <sup>1</sup>	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Клинички преглед <sup>1</sup>	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Витални знаци <sup>1</sup>	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Хематолошки и биох.анализи <sup>2</sup>	X														X
Анализа на урина <sup>3</sup>	X			X			X			X			X		
Микробиолошки анализи <sup>4</sup>	X			X											X
Други испитувања <sup>5</sup>	X														X
Давање на доза на амикацин <sup>1</sup>	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Креатинин во серум <sup>3</sup>	X			X			X			X			X		
Уреа во серум <sup>3</sup>	X			X			X			X			X		
Клиренс на креатинин <sup>3</sup>	X			X			X			X			X		
Симптоми на ототоксичност <sup>1</sup>	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Симптоми на вестибуларна токсичност <sup>1</sup>	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Тест со шепот <sup>6</sup>	X			X			X			X			X		X
Концентрации на амикацин <sup>7</sup>			X												

<sup>1</sup> = Анамнеза, клинички преглед, витални знаци, симптоми на ототоксичност и вестибуларна токсичност беа следени секој ден за време на терапијата со амикацин. Во истражувањето беше предвидено максималното времетраење на терапијата со амикацин да биде 14 дена. Кај пациентите кои имаа пократко времетраење на терапијата со амикацин, овие параметри беа следени секој ден до последниот ден на земање на дозата на амикацин.

<sup>2</sup> = Целосни хематолошки и биохемиски анализи беа направени на почетокот ( нулти ден ) и на денот на давање на последната доза на амикацин или еден ден после тоа.

<sup>3</sup> = Анализи на урина, креатинин во серум, уреа во серум и клиренс на креатинин беа направени на секои 3 дена за време на истражувањето.

<sup>4</sup> = Микробиолошки анализи беа направени пред давање на дозата на амикацин, пред примање на четвртата доза на амикацин и по примање на последната доза на амикацин.

<sup>5</sup> = Други испитувања ( во колку се потребни според проценка на истражувачот ) беа направени пред почетокот на примање на амикацин и по примање на последната доза на амикацин, а во колку беше проценето дека се неопходни и за време на терапијата.

<sup>6</sup> = Тест со шепот беше изведуван на секои 3 дена од испитувањето, а во случај да се констатира намалување на слухот според овој тест, беше предвидено да се изведува секој ден по примање на дозата на амикацин.

<sup>7</sup> = Во табелата е прикажано само првото земање на примерок на крв за одредување на концентрацијата на амикацин. Другите примероци беа земани во зависност од добиените концентрации на амикацин.

## 5.РЕЗУЛТАТИ

Параметри кои во нашето истражување беа користени за евалуација на безбедноста на лекувањето со амикацин и неговата терапевтска ефикасност беа:

- серумски концентрации на амикацин;
- фармакокинетските параметри на амикацин пресметани од добиените серумски концентрации на амикацин во серум и тоа: минимални концентрации на амикацин во серум во состојба на динамичка рамнотежа-“steady-state”(C<sub>min</sub> ), максимални концентрации на амикацин во серум во состојба на динамичка рамнотежа-“steady-state” (C<sub>max</sub>), константа на елиминација на амикацин (K<sub>el</sub>), полуживот на елиминација на амикацин (T/2<sub>el</sub>), волумен на дистрибуција на амикацин (V<sub>d</sub>) и вкупен клиренс на амикацин (Cl<sub>tot</sub>).
- евалуација на нефротоксичност на лекот преку анамнестички податоци, физикален преглед, лабораториски анализи ( креатинин во серум, клиренс на креатинин, уреа во серум, наод во урина ) и други прегледи и анализи кои беа направени кај третираните пациенти;
- евалуација на ототоксичност на лекот преку анамнестички податоци, „тест на шепот“ и други прегледи и анализи кои беа направени кај третираните пациенти;
- евалуација на вестибуларна токсичност на лекот преку анамнестички податоци и други прегледи и анализи кои беа направени кај третираните пациенти.
- терапевтската ефикасност на лекот беше евалуирана врз основа на анамнестичките симптоми за присуство на болеста, резултатите од клиничкиот преглед и резултатите од микробиолошки и други испитувања кои беа направени кај третираните пациенти.

### 5.1.КАРАКТЕРИСТИКИ НА ИСПИТАНИЦИТЕ

Целосни податоци се добиени од 34 испитаници, пациенти со цистична фиброза кај кои беше дадена терапија со амикацин во форма на интравенска инфузија во доза од 30 mg/kg, но не повеќе од 1.5 g/ден, еднаш на ден, со времетраење од 30 минути во период од најмалку 7 дена.

Половата структура на испитаниците ја сочинуваа 25 (73.53%) машки пациенти и 9 (26.47%) пациенти од женски пол (табела 2).

Пациентите беа на возраст од 6 до 37 години, просечната возраст беше  $17.3 \pm 5.4$  години (табела 2).

Просечната телесна тежина на пациентите беше  $50.6 \pm 14.9$  kg и се движеше во ранг од 20 до 96 kg. Просечната телесна висина на пациентите беше  $156.8 \pm 22.5$  см и се движеше во ранг од 71 до 176 см (табела 2).

Индексот на телесна маса имаше просечна вредност од  $19.5 \pm 3.9$  kg/m<sup>2</sup>, со минимална вредност од 14.8 kg/m<sup>2</sup> и максимална од 33.2 kg/m<sup>2</sup> (табела 2).

**Табела 2. Карактеристики на пациентите кои целосно го завршиле истражувањето**

<b>Варијабла</b>	
<b>Пол</b> n (%)	
машки	25 (73.53)
женски	9 (26.47)
<b>Возраст/години</b> (mean $\pm$ SD)( min- max)	(17.3 $\pm$ 5.4)(6 – 37)
<b>Телесна тежина/kg</b> (mean $\pm$ SD)( min- max)	(50.61 $\pm$ 14.9)(20 – 96)
<b>Телесна висина/см</b> (mean $\pm$ SD)( min- max)	(156.82 $\pm$ 22.5)(71 – 176)
<b>ВМІ(kg/m<sup>2</sup>)</b> (mean $\pm$ SD)( min- max)	(19.54 $\pm$ 3.9)(14.8 – 33.2)

## **5.2. СЕРУМСКИ КОНЦЕНТРАЦИИ И ФАРМАКОКИНЕТСКИ ПАРАМЕТРИ НА АМИКАЦИН**

Во табела 3 се прикажани вредностите на серумските концентрации на амикацин добиени во примероците на серум земени пред давање на третата доза на лекот, 30 минути, 6 часа и 23 часа по завршување на инфузијата (примерок земен 1 час пред давање на четвртата доза на лекот ) и пред давање на петтата доза на лекот. Серумските концентрации на амикацин веднаш по завршувањето на инфузијата се добиени со екстраполирање од елиминациониот дел на кривата на амикацин.

**Табела 3. Серумски концентрации на амикацин во  $\mu\text{g/ml}$**

	Пред давање на трета доза	Веднаш по завршување на инфузија	30 минути по инфузија	6 часа по инфузија	Пред давање на четврта доза	Пред давање на петта доза
<b>X</b>	/	102.5772216	82.90323	10.47879	/	/
<b>± SD</b>	/	47.84466824	35.28111	5.488839	/	/
<b>min.</b>	< 2	32.46871937	29.6	2.2	< 2	< 2
<b>max.</b>	< 2	263.456646	197.7	23	< 2	< 2

Фармакокинетските параметри на амикацин пресметани од серумските концентрации на лекот се прикажани во табела 4.

**Табела 4. Фармакокинетски параметри на амикацин**

	Cssmin ( $\mu\text{g/ml}$ )	Cssmax ( $\mu\text{g/ml}$ )	Kel ( $\text{h}^{-1}$ )	T/2 el (h)	Vd (L)	Cl <sub>tot</sub> (L/h)
<b>X</b>	/	102.5772216	0.396138651	1.99106	15.02456269	5.676186251
<b>± SD</b>	/	47.84466824	0.133022845	0.81569	6.285168732	2.541960903
<b>min.</b>	< 2	32.46871937	0.147441857	1.097793	7.100711069	2.713532534
<b>max.</b>	< 2	263.456646	0.631266628	4.700158	35.32379117	13.35750173

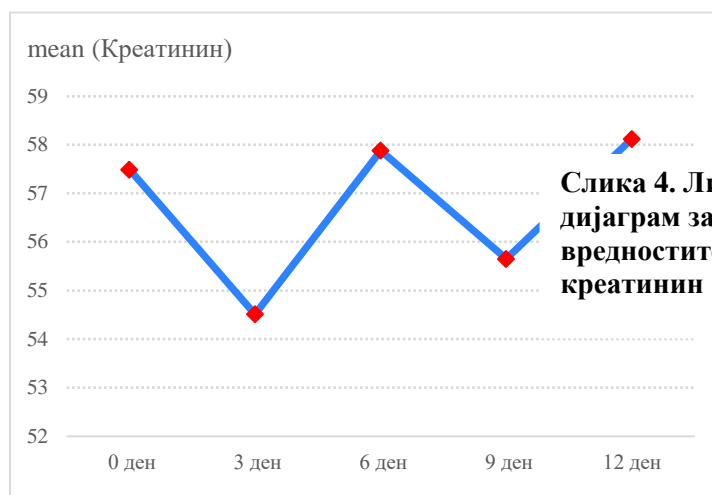
### 5.3. КОНЦЕНТРАЦИИ НА КРЕАТИНИН ВО СЕРУМ, КЛИРЕНС НА КРЕАТИНИН И УРЕА ВО СЕРУМ

Концентрациите на креатинин во серум се прикажани во табела 5.

Просечните вредности на креатинин изнесуваа  $57.5 \pm 10.5 \mu\text{mol/L}$  пред почеток на давање амикацин,  $54.51 \pm 9.5 \mu\text{mol/L}$ ,  $57.88 \pm 13.5 \mu\text{mol/L}$ ,  $55.65 \pm 10.7 \mu\text{mol/L}$  и  $58.12 \pm 11.1 \mu\text{mol/L}$ , соодветно по 3,6,9 и 12 дена терапија со амикацин. (табела 5, слика 4).

**Табела 5. Вредности на креатинин во серум ( $\mu\text{mol/L}$ )**

Креатинин	статистички параметри	
	mean $\pm$ SD	min- max
0 ден	$57.49 \pm 10.5$	41 – 78.5
3 ден	$54.51 \pm 9.5$	40.8 – 72
6 ден	$57.88 \pm 13.5$	41 – 116
9 ден	$55.65 \pm 10.7$	39 – 82.2
12 ден	$58.12 \pm 11.1$	41 – 80.4



Слика 4. Линиски дијаграм за вредностите на креатинин

Разликите во вредностите на креатинин во серум во анализираниот временски период беа споредувани и тестирани со Repeated Measures ANOVA анализата. Добиените резултати покажаа дека вредностите на креатинин не се разликуваа сигнификантно во анализираниот период (пред третман, трети, шести, девети и дванаесети ден од почетокот на терапијата [ $F(4,104)=1.28, p=0.28$ ] (табела 6).

Табела 6. Repeated Measures ANOVA – креатинин

Креатинин						
Tests of Within-Subjects Effects						
Source		Type III Sum of Squares	df	Mean square	F	Sig.
time 1	Sphericity Assumed	150.588	4	37.647	1.284	0.281
	Greenhouse-Geisser	150.588	3.179	47.364	1.284	0.285
	Huynh-Feldt	150.588	3.674	40.988	1.284	0.283
	Lower-bound	150.588	1.000	150.588	1.284	0.267
Error (time 1)	Sphericity Assumed	3048.424	104	29.312		
	Greenhouse-Geisser	3048.424	82.663	36.878		
	Huynh-Feldt	3048.424	95.523	31.913		
	Lower-bound	3048.424	26.000	117.247		

Клиренсот на креатинин во серум просечно изнесуваше  $126.15 \pm 28.1$  ml/min. пред антибиотскиот третман,  $132.15 \pm 25.3$  ml/min. по 3 дена терапија,  $126.73 \pm 31.10$  ml/min. по 6 дена терапија,  $132.85 \pm 29.7$  ml/min. по 9 дена терапија и  $130.56 \pm 28.6$  по 12 дена терапија (табела 7, слика 5),



**Табела 7. Вредности на клиренсот на креатинин (ml/min.)**

Клиренс на креатинин	статистички параметри	
	mean $\pm$ SD	min- max
пред третман	126.15 $\pm$ 28.1	68 – 208
3 ден	132.15 $\pm$ 25.3	65 – 202
6 ден	126.73 $\pm$ 31.1	57 – 218
9 ден	132.85 $\pm$ 29.7	67 – 202
12 ден	130.56 $\pm$ 28.6	68 – 208



**Слика 5. Линиски дијаграм за вредностите на клиренсот на креатинин**

Резултатите од Repeated Measures ANOVA анализата покажаа дека просечните вредности на клиренсот на креатинин не беа сигнификантно различни во анализираниот период меѓу анализираните временски точки [F (4,104)=1.037, p=0.39] (табела 8).

**Табела 8. Repeated Measures ANOVA – клиренс на креатинин**

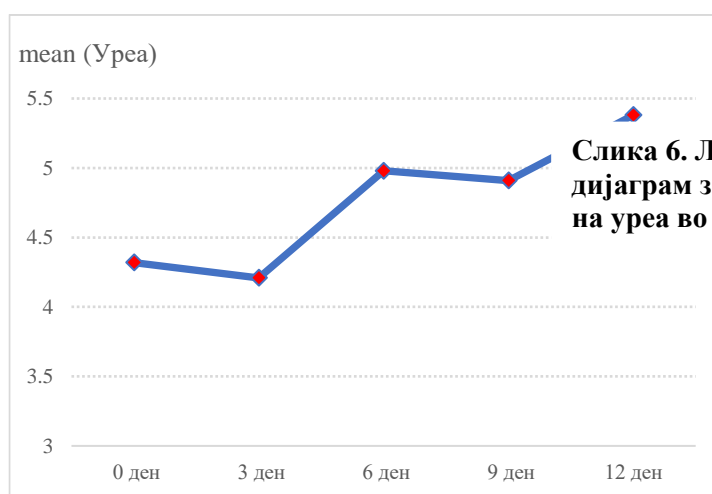
Клиренс на креатинин						
Tests of Within-Subjects Effects						
Source		Type III Sum of Squares	df	Mean square	F	Sig.
factor 1	Sphericity Assumed	701,304	4	175,326	1,037	,392
	Greenhouse-Geisser	701,304	3,636	192,887	1,037	,388
	Huynh-Feldt	701,304	4,000	175,326	1,037	,392
	Lower-bound	701,304	1,000	701,304	1,037	,318
Error (factor 1)	Sphericity Assumed	17579,496	104	169,034		
	Greenhouse-Geisser	17579,496	94,531	185,965		
	Huynh-Feldt	17579,496	104,000	169,034		
	Lower-bound	17579,496	26,000	676,134		

Пред почеток на терапија со амикацин серумските вредности на уреа просечно изнесуваа 4.32  $\pm$  1.3 mmol/L, додека во текот на третманот (3,6, 9 и 12

дена) беа измерени просечни вредности од  $4.21 \pm 1.2$  mmol/L,  $4.98 \pm 1.5$  mmol/L,  $4.91 \pm 1.0$  mmol/L и  $5.38 \pm 1.2$  mmol/L, соодветно (табела 9, слика 6)

**Табела 9. Вредности на уреа во серум (mmol/L)**

Уреа	статистички параметри	
	mean $\pm$ SD	min- max
пред третман	$4.32 \pm 1.3$	2 – 7
3 ден	$4.21 \pm 1.2$	2.1 – 6.6
6 ден	$4.98 \pm 1.5$	1.2 – 9.3
9 ден	$4.91 \pm 1.0$	2.5 – 6.5
12 ден	$5.38 \pm 1.2$	2.7 – 7.2



**Слика 6. Линиски дијаграм за вредностите на уреа во серум**

Резултатите од Repeated Measures ANOVA анализата покажаа дека просечните серумски вредности на уреа беа сигнификантно различни во анализираниот период меѓу анализираните временски точки [F (2.549,66.279)=7.196,  $p < 0.0001$ ]. Post-hoc анализата со Bonferroni корекција покажа дека оваа вкупна сигнификантна разлика се должи на зголемување на уреа во серум по третиот ден терапија, односно на сигнификантна разлика помеѓу временските точки 0 точка vs 12 дена ( $p=0.016$ ), 3 vs 9 дена ( $p=0.038$ ), 3 vs 12 дена ( $p=0.038$ ). Серумските вредности на уреа значајно се намалиле за просечни  $1.067$  mmol/L меѓу базичните вредности и по 12 дена терапија со амикацин ( $p=0.016$ ), значајно се намалиле за  $0.711$  mmol/L меѓу 3 и 9 дена терапија ( $p=0.038$ ) и значајно се намалиле за просечни  $1.189$  mmol/L меѓу 3 и 12 дена третман со амикацин (табела 10,11).

**Табела 10. Repeated Measures ANOVA – ypea**

Ypea						
Tests of Within-Subjects Effects						
Source		Type III Sum of Squares	df	Mean square	F	Sig.
factor 1	Sphericity Assumed	25.701	4	6.425	7.196	0.000
	Greenhouse-Geisser	25.701	2.549	10.082	7.196	0.001
	Huynh-Feldt	25.701	2.850	9.019	7.196	0.000
	Lower-bound	25.701	1.000	25.701	7.196	0.013
Error (factor 1)	Sphericity Assumed	92.859	104	0.893		
	Greenhouse-Geisser	92.859	66.277	1.401		
	Huynh-Feldt	92.859	74.090	1.253		
	Lower-bound	92.859	26.000	3.571		

**Табела 11.**

Ypea						
Pairwise Comparisons						
(I) factor1	(J) factor1	Mean Difference	Std. Error	Sig. <sup>b</sup>	95% Confidence Interval for Difference <sup>b</sup>	
					Lower Bound	Upper Bound
1	2	0.122	0.177	1.000	-0.422	0.666
	3	-0.607	0.218	0.098	-1.276	0.061
	4	-0.589	0.256	0.297	-1.374	0.196
	5	-1,067	0.303	*0.016	-1.996	-0.137
2	3	-0.730	0.257	0.086	-1.517	0.057
	4	-0.711	0.224	*0.038	-1.398	-0.024
	5	-1.189	0.271	*0.002	-2.020	-0.358
3	4	0.019	0.315	1.000	-0.947	0.984
	5	-0.459	0.325	1.000	-1.457	0.539
4	5	-0.478	0.175	0.112	-1.014	0.059

\*sig p<0.05

## 5.4. ХЕМАТОЛОШКИ ПАРАМЕТРИ

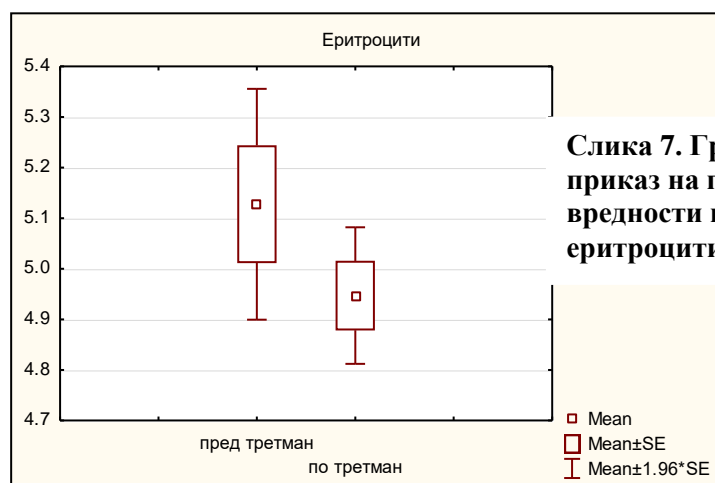
Терапијата со амикацин немаше значајно влијание на хематолошките параметри како што се број на еритроцити, хемоглобин и хематокрит ( $p > 0.05$ ).

Бројот на еритроцити просечно изнесуваше  $5.13 \pm 0.7$  пред терапија,  $4.95 \pm 0.4$  по 14 дена терапија со амикацин, без статистичка сигнификантна разлика ( $p = 0.1$ ). Намалувањето на еритроцитите не беше статистички значајно (табела 12, слика 7,8).

**Табела 12. Вредности на бројот на еритроцити ( $\times 10^{12}/L$ )**

Еритроцити	статистички параметри		p-level
	mean $\pm$ SD	min- max	
пред третман	$5.13 \pm 0.7$	4.29 – 8.23	t=1.69 p=0.1
по третман	$4.95 \pm 0.4$	4.25 – 5.94	

t(Student t-test for dependent samples)

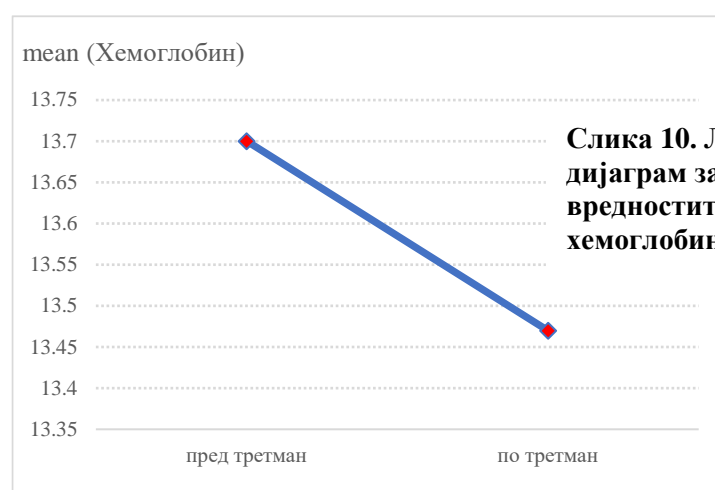
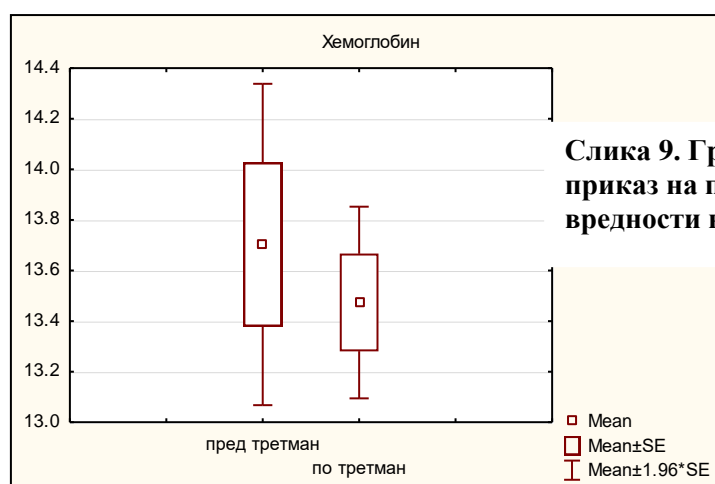


Хемоглобинот имаше слични вредности пред и по антибиотскиот третман, односно статистичка несигнификантна беше разликата меѓу овие две временски точки ( $13.70 \pm 1.9$  vs  $13.47 \pm 1.1$ ,  $p=0.39$ ) (табела 13, слика 9,10).

**Табела 13. Вредности на хемоглобин во g/L**

Хемоглобин	статистички параметри		p-level
	mean $\pm$ SD	min- max	
пред третман	$13.70 \pm 1.9$	10.9 – 21.1	t=0.88 p=0.39
по третман	$13.47 \pm 1.1$	11 – 15.8	

t(Student t-test for dependent samples)

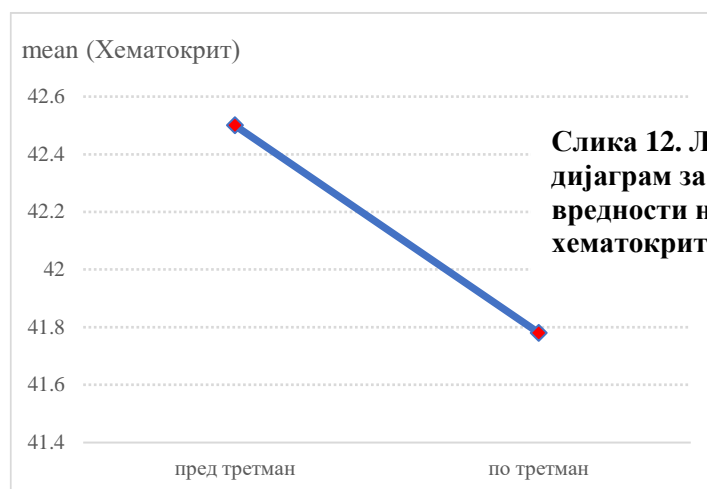
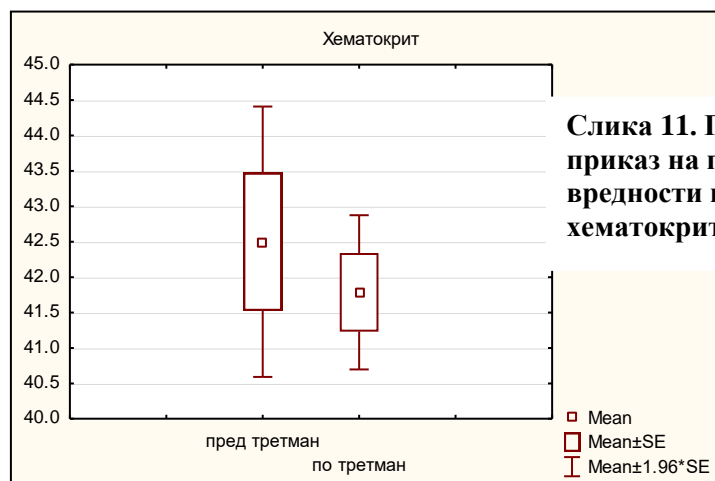


Хематокритот имаше просечни вредности од  $42.50 \pm 5.7$  пред почетокот на терапија со амикацин и несигнификантно пониски по 14 дена терапија ( $41.78 \pm 3.2$ ),  $p=0.41$  (табела 14, слика 11,12).

**Табела 14. Вредности на хематокрит во %**

Хематокрит	статистички параметри		p-level
	mean $\pm$ SD	min- max	
пред третман	42.50 $\pm$ 5.7	34 – 67.2	t=0.84 p=0.41
по третман	41.78 $\pm$ 3.2	34.3 – 48.4	

t(Student t-test for dependent samples)



За време на терапијата со амикацин значајно се намалил бројот на леукоцитите ( $p=0.0021$ ) (табела 15).

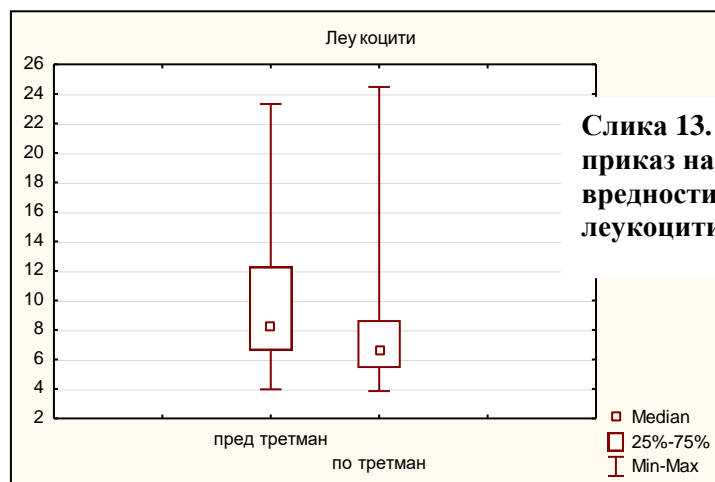
Просечните вредности на бројот на леукоцити беа  $9.48 \pm 4.1$  и  $7.65 \pm 3.8$ , соодветно пред и по терапија; медијаната на бројот на леукоцитите изнесуваше 8.18 и 6.61, соодветно пред и по терапија (табела 15, слика 13,14)

**Табела 15. Вредности на бројот на леукоцити ( x 10<sup>3</sup>/μL)**

Леукоцити	статистички параметри		p-level
	mean ± SD	median (IQR)	
пред третман	9.48 ± 4.1	8.18(6.61 – 12.3)	Z=3.1 **p=0.0021
по третман	7.65 ± 3.8	6.61(5.42 – 8.67)	

Z(Mann Whitney test)

\*\*sig p<0.01



За  $p=0.0011$  се потврди статистичка сигнификантна разлика во вредностите на бројот на неутрофили пред и по третман ( $p=0.0011$ ). Бројот на неутрофилите по терапија со амикацин беше значајно помал (табела 16).

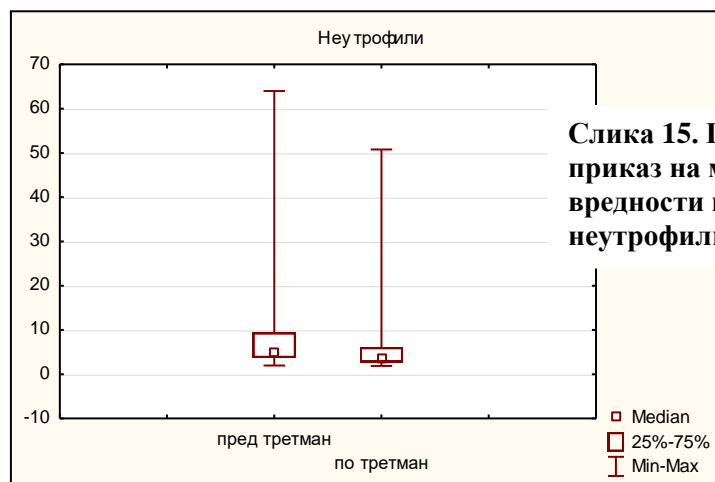
Просечните и медијални вредности на неутрофили беа  $8.28 \pm 10.6$  и  $5.05$ , соодветно пред почеток на терапија со амикацин;  $6.22 \pm 8.5$  и  $3.79$ , соодветно по 2-неделна терапија (табела 16, слика 15,16).

**Табела 16. Вредности на неутрофили во %**

Неутрофили	статистички параметри		p-level
	mean $\pm$ SD	median (IQR)	
пред третман	8.28 $\pm$ 10.6	5.05(3.73 – 9.4)	Z=3.3 **p=0.0011
по третман	6.22 $\pm$ 8.5	3.79(2.78 – 6.1)	

Z(Mann Whitney test)

\*\*sig p<0.01



**Слика 15. Графички приказ на медијалните вредности на неутрофилите**



**Слика 16. Линиски дијаграм за просечните вредности на неутрофилите**

Бројот на лимфоцити имаше слични вредности пред и по терапија со амикацин.

Пред почеток на терапијата, лимфоцитите имаа просечни и медијални вредности од  $2.85 \pm 4.7$  и  $2.07$ , соодветно; по терапија просечните и медијални вредности на лимфоцитите беа  $2.96 \pm 3.7$  и  $2.19$ , соодветно (табела 17, слика 17, 18).

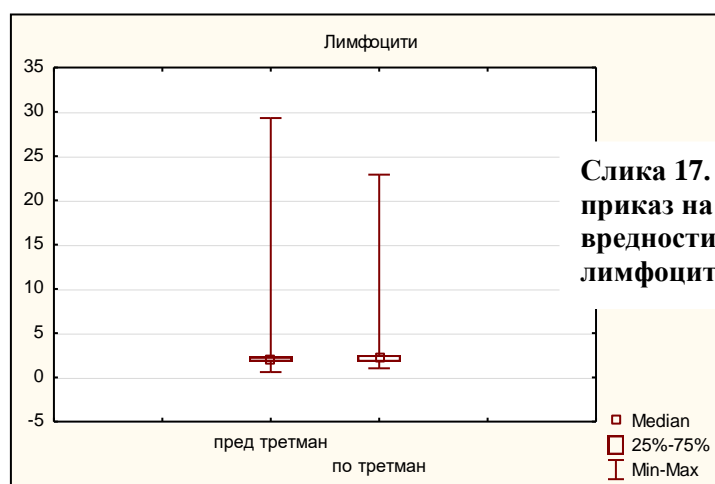
Не беше најдена статистичка сигнификантна разлика во вредностите на лимфоцити по терапија со амикацин ( $p=0.94$ ) (табела 17).



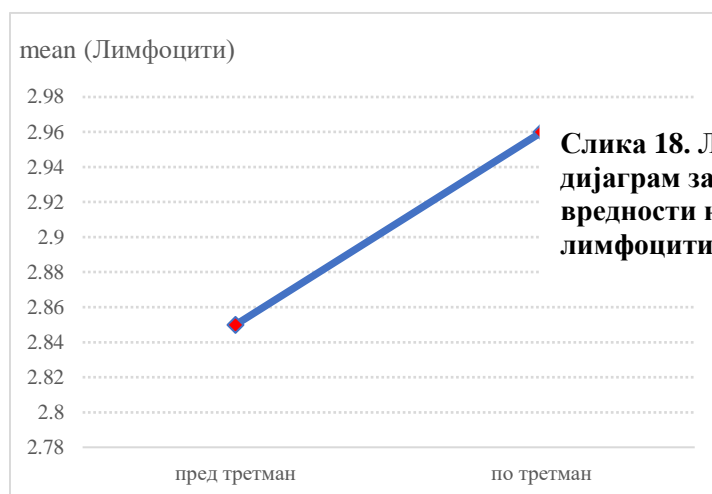
**Табела 17. Вредности на лимфоцити во %**

Лимфоцити	статистички параметри		p-level
	mean $\pm$ SD	median (IQR)	
пред третман	2.85 $\pm$ 4.7	2.07(1.78 – 2.33)	Z=0.08 p=0.94
по третман	2.96 $\pm$ 3.7	2.19(1.77 – 2.54)	

Z(Mann Whitney test)



**Слика 17. Графички приказ на медијалните вредности на лимфоцитите**



**Слика 18. Линиски дијаграм за просечните вредности на лимфоцитите**

Терапијата со амикацин имаше сигнификантно влијание на моноцитите кај пациентите, нивните вредности по 14 дена третман беа значајно зголемени ( $p=0.044$ ) (табела 18).

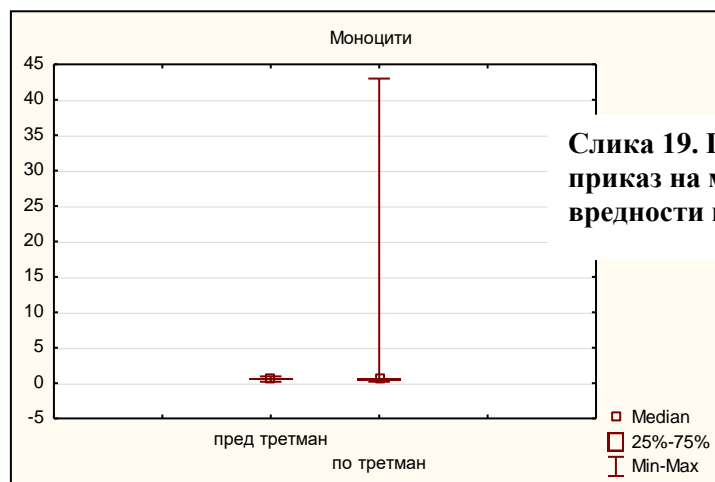
Просечните и медијални базични вредности на моноцитите изнесуваа  $0.62 \pm 0.2$  и  $0.62$ , соодветно; крајните просечни и медијални вредности изнесуваа  $1.83 \pm 7.3$  и  $0.55$ , соодветно (табела 18, слика 19,20).

**Табела 18. Вредности на моноцити во %**

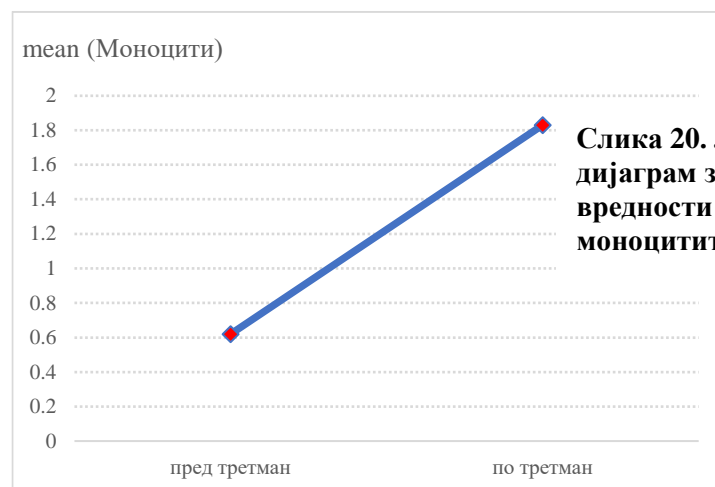
Моноцити	статистички параметри		p-level
	mean $\pm$ SD	median (IQR)	
пред третман	0.62 $\pm$ 0.2	0.62(0.49 – 0.71)	Z=2.01 *p=0.044
по третман	1.83 $\pm$ 7.3	0.55(0.44 – 0.65)	

Z(Mann Whitney test)

\*sig p<0.05



**Слика 19. Графички приказ на медијалните вредности на моноцитите**



**Слика 20. Линиски дијаграм за пресечните вредности на моноцитите**

Статистичка сигнификантна беше разликата во бројот на еозинофили пред и по антибиотската терапија ( $p=0.0064$ ). По 14-дневна терапија бројот на еозинофили беше значајно поголем (табела 19).

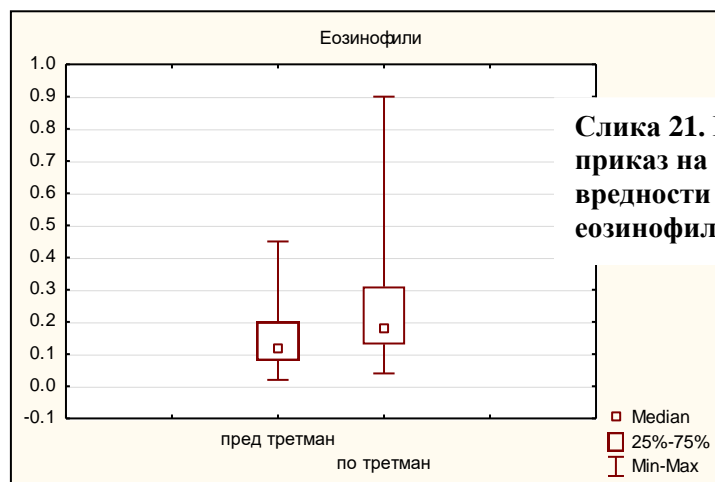
Еозинофилите имаа просечна вредност од  $0.16 \pm 0.1$  и  $0.24 \pm 0.2$ , соодветно пред и по третман; медијаната на бројот на еозинофили изнесуваше 0.12 и 0.18, соодветно пред и по третман. (табела 19, слика 21,22)

**Табела 19. Вредности на еозинофили во %**

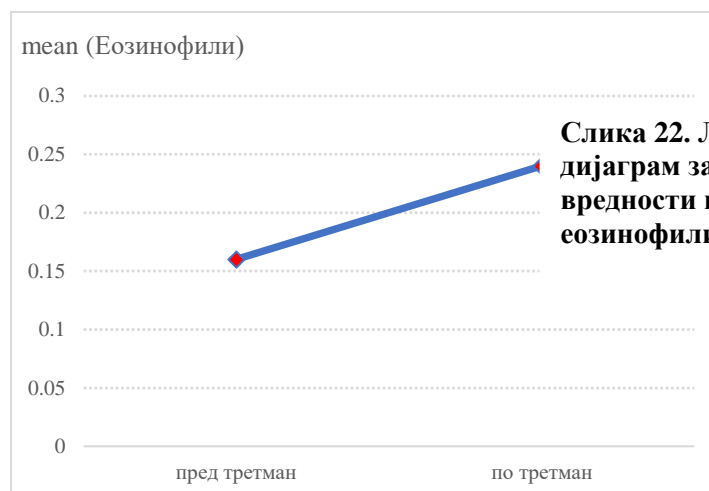
Еозинофили	статистички параметри		p-level
	mean $\pm$ SD	median (IQR)	
пред третман	0.16 $\pm$ 0.1	0.12(0.08 – 0.2)	Z=2.7 **p=0.0064
по третман	0.24 $\pm$ 0.2	0.18(0.13 – 0.31)	

Z(Mann Whitney test)

\*\*sig p<0.01



**Слика 21. Графички приказ на медијалните вредности на еозинофилите**



**Слика 22. Линиски дијаграм за просечните вредности на еозинофилите**

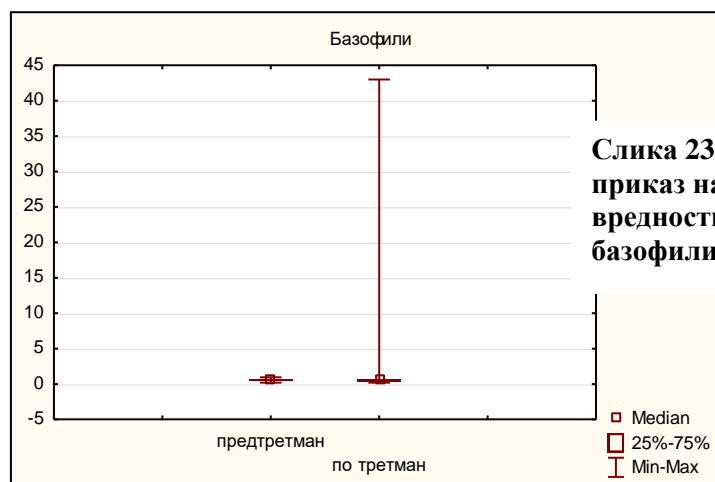
Базофилите имаа просечна вредност од  $0.09 \pm 0.2$  пред почеток на терапија,  $0.05 \pm 0.1$  по завршена терапија. Медијаната имаше иста вредност пред и по терапија (0.03) (табела 20, слика 23,24).

Не беше потврдена статистичка сигнификантна разлика во вредностите на базофилите по 14-дневна терапија со амикацин споредено со вредностите пред терапија (p=0.42) (табела 20).

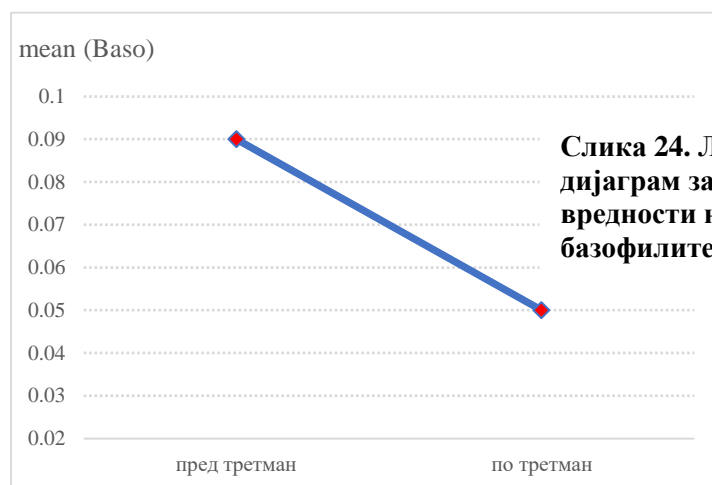
**Табела 20. Вредности на базофили во %**

Базофили	статистички параметри		p-level
	mean $\pm$ SD	median (IQR)	
пред третман	0.09 $\pm$ 0.2	0.03(0.03 – 0.05)	Z=0.81 p=0.42
по третман	0.05 $\pm$ 0.1	0.03(0.02 – 0.05)	

Z(Mann Whitney test)



**Слика 23. Графички приказ на медијалните вредности на базофилите**



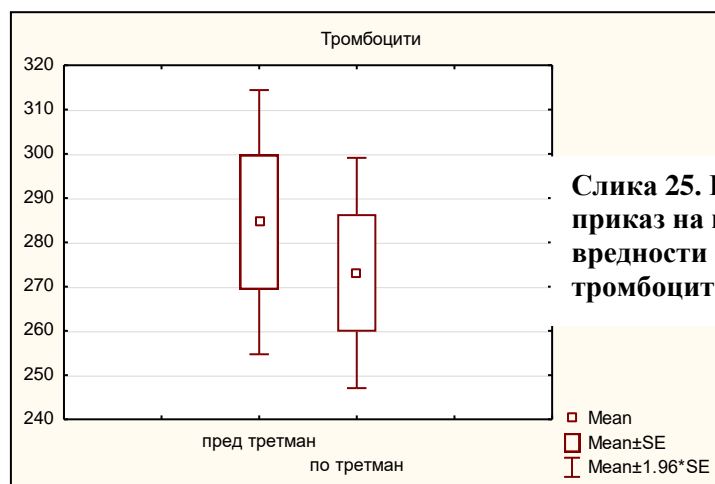
**Слика 24. Линиски дијаграм за просечните вредности на базофилите**

Пред и по терапија со амикацин не беше потврдена статистичка сигнификантна разлика во бројот на тромбоцити ( $p=0.31$ ). Пред терапија просечната вредност на тромбоцитите беше  $284.56 \pm 88.8$ , по терапија незначајно пониска ( $273.09 \pm 77.4$ ) (табела 21, слика 25,26).

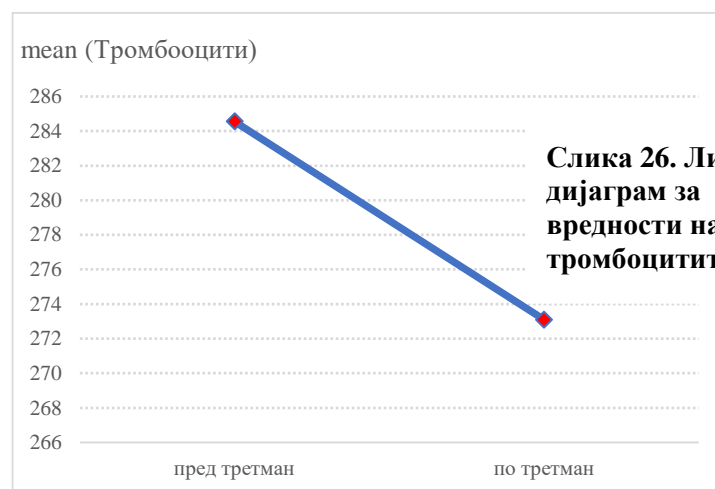
**Табела 21. Вредности на тромбоцити (  $\times 10^3/\mu\text{L}$ )**

Тромбоцити	статистички параметри		p-level
	mean $\pm$ SD	min- max	
пред третман	284.56 $\pm$ 88.8	141 – 491	t=1.03 p=0.31
по третман	273.09 $\pm$ 77.4	139 – 460	

t(Student t-test for dependent samples)



**Слика 25. Графички приказ на просечните вредности на тромбоцитите**



**Слика 26. Линиски дијаграм за просечните вредности на тромбоцитите**

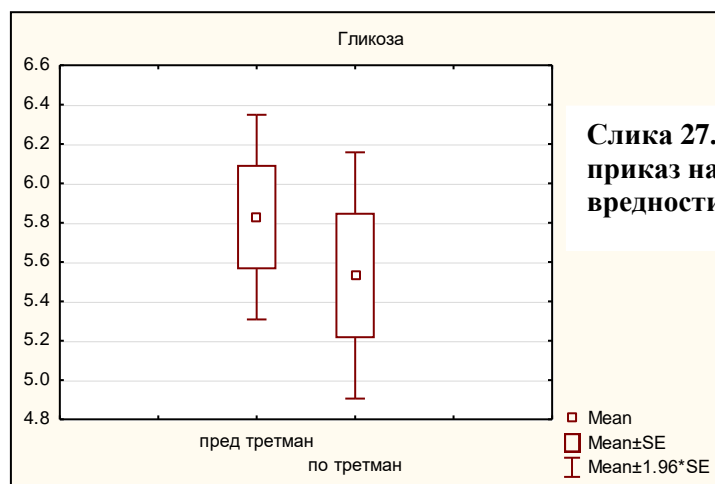
## 5.5.БИОХЕМИСКИ ПАРАМЕТРИ

Просечната вредност на гликемија беше  $5.83 \pm 1.5$  пред третман,  $5.53 \pm 1.9$  по третман, без статистичка сигнификантна разлика меѓу двете временски точки ( $p=0.51$ ) (табела 22, слика 27,28).

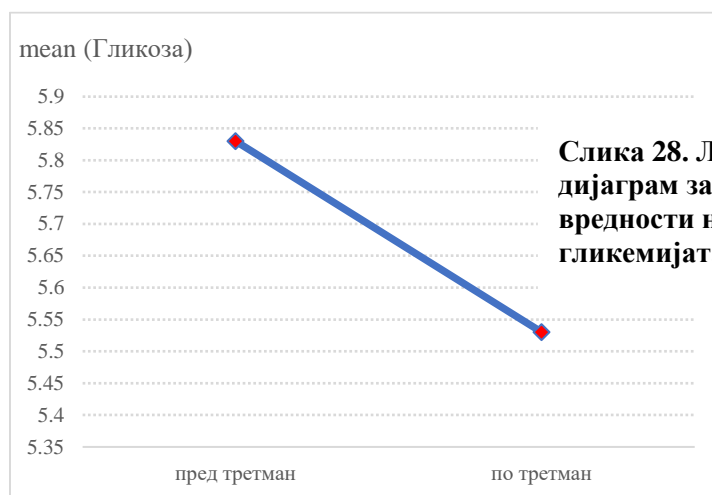
**Табела 22. Вредности на гликоза во серум во mmol/L**

Гликоза	статистички параметри		p-level
	mean $\pm$ SD	min- max	
пред третман	$5.83 \pm 1.5$	3.65 – 10.42	t=0.67 p=0.51
по третман	$5.53 \pm 1.9$	3.92 – 14.51	

t(Student t-test for dependent samples)



**Слика 27. Графички приказ на просечните вредности на гликоза**



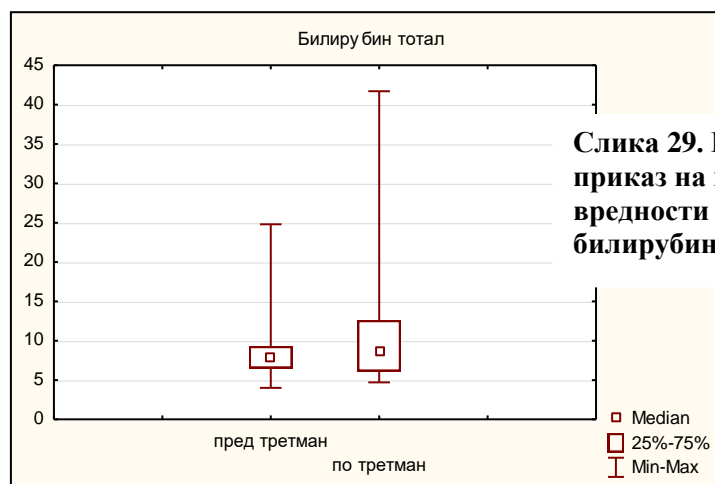
**Слика 28. Линиски дијаграм за просечните вредности на гликемијата**

Пред третман вкупниот билирубин имаше просечна и медијална вредност од  $9.33 \pm 4.9$  и  $7.9$ , соодветно; по третман  $10.72 \pm 7.2$  и  $8.75$ , соодветно. Зголемените вредности на тотален билирубин по терапија со амикацин не беа статистички сигнификантни ( $p=0.073$ ) (табела 23, слика 29,30)

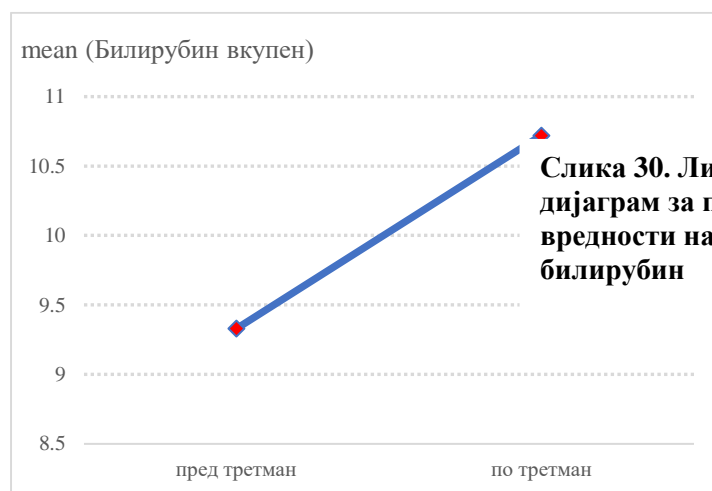
**Табела 23. Вредности на вкупен билирубин во  $\mu\text{mol/L}$**

Билирубин вкупен	статистички параметри		p-level
	mean $\pm$ SD	median (IQR)	
пред третман	$9.33 \pm 4.9$	$7.9(6.5 - 9.3)$	Z=1.8 p=0.073
по третман	$10.72 \pm 7.2$	$8.75(6.1 - 12.6)$	

Z(Mann Whitney test)



Слика 29. Графички приказ на медијалните вредности на вкупниот билирубин



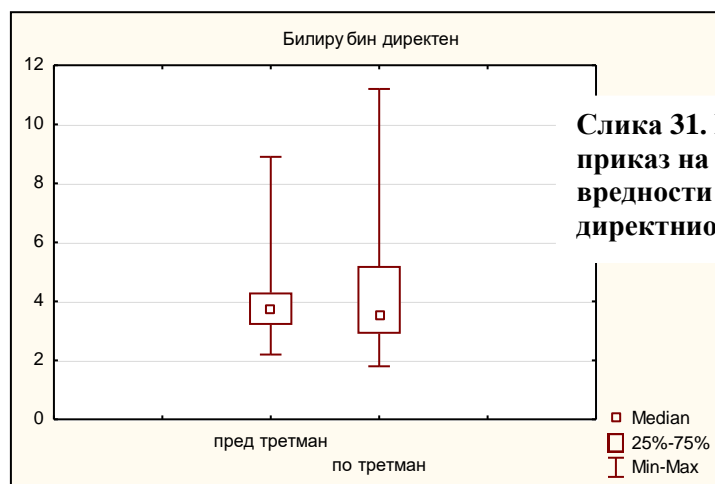
Слика 30. Линиски дијаграм за просечните вредности на вкупниот билирубин

Директниот билирубин имаше просечна вредност од  $4.14 \pm 1.7$  и  $4.18 \pm 2.01$ , соодветно пред и по третман; и медијална вредност од 3.75 и 3.55, соодветно пред и по третман. Статистичка несигнификантна беше разликата во вредностите на директен билирубин по терапија со амикацин споредено со почетните вредности ( $p=0.89$ ) (табела 24, слика 31,32)

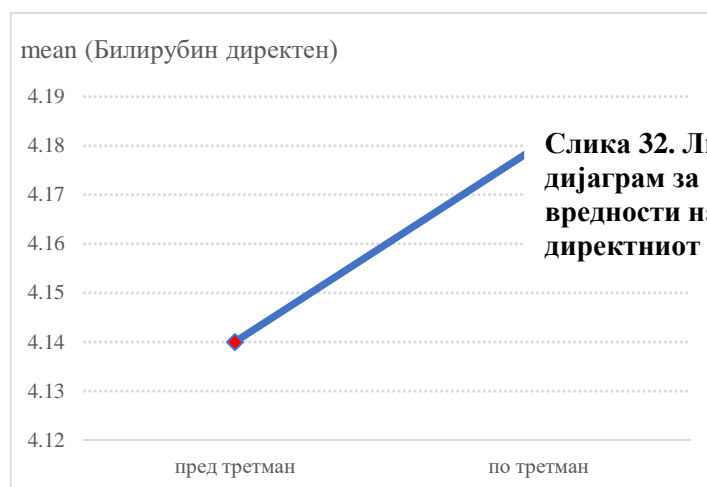
Табела 24. Вредности на директен билирубин во  $\mu\text{mol/L}$

Билирубин директен	статистички параметри		p-level
	mean $\pm$ SD	median (IQR)	
пред третман	$4.14 \pm 1.7$	3.75(3.2 – 4.3)	Z=0.14 p=0.89
по третман	$4.18 \pm 2.01$	3.55(2.9 – 5.2)	

Z(Mann Whitney test)



**Слика 31. Графички приказ на медијалните вредности на директниот билирубин**



**Слика 32. Линиски дијаграм за просечните вредности на директниот билирубин**

Терапијата со амикацин сигнификантно ги зголеми вредностите на индиректниот билирубин ( $p=0.029$ ), од почетни просечни вредности  $5.19 \pm 3.3$  на  $6.55 \pm 5.3$ , и од почетни медијални вредности 4.3 на 5.3 (табела 25, слика 33,34).

**Табела 25. Вредности на индиректен билирубин во  $\mu\text{mol/L}$**

Bill	статистички параметри		p-level
	mean $\pm$ SD	median (IQR)	
пред третман	$5.19 \pm 3.3$	4.3(3.3 – 5.5)	Z=2.19 *p=0.029
по третман	$6.55 \pm 5.3$	5.3(3.2 – 7.5)	

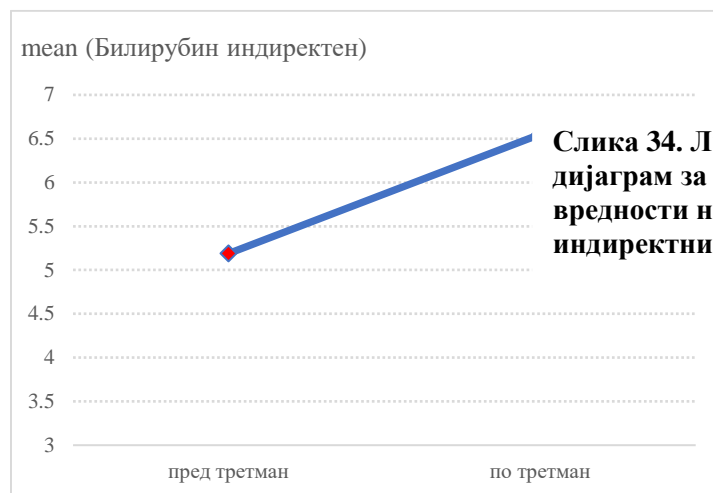
Z(Mann Whitney test)

\*sig  $p<0.05$





**Слика 33. Графички приказ на медијалните вредности на индиректниот билирубин**



**Слика 34. Линиски дијаграм за просечните вредности на индиректниот билирубин**

Терапијата со амикацин сигнификантно ги зголеми вредностите на хепаталните ензими ALT и AST ( $p=0.0011$  и  $p=0.012$ , соодветно).

Пред почеток на терапија просечните концентрации на ALT изнесуваа  $25.59 \pm 19.5$ , медијалните 20.5; по 14-дневна терапија просечните концентрации на ALT изнесуваа  $33.85 \pm 19.5$ , медијалните 30 (табела 26, слика 35,36)

**Табела 26. Вредности на аланин трансаминаза во U/L**

ALT	статистички параметри		p-level
	mean $\pm$ SD	median (IQR)	
пред третман	$25.59 \pm 19.197$	20.5(16 – 26)	Z=3.27 **p=0.0011
по третман	$33.85 \pm 19.245$	30(24 – 38)	

Z(Mann Whitney test)

\*\*sig  $p<0.01$



Пред почеток на терапија просечните концентрации на AST изнесуваа  $31.50 \pm 46.8$  медијалните 24; по 14-дневна терапија просечните концентрации на AST изнесуваа  $33.44 \pm 15.9$ , медијалните 28.5. (табела 27, слика 37,38)

**Табела 27. Вредности на аспаргат трансаминаза во U/L**

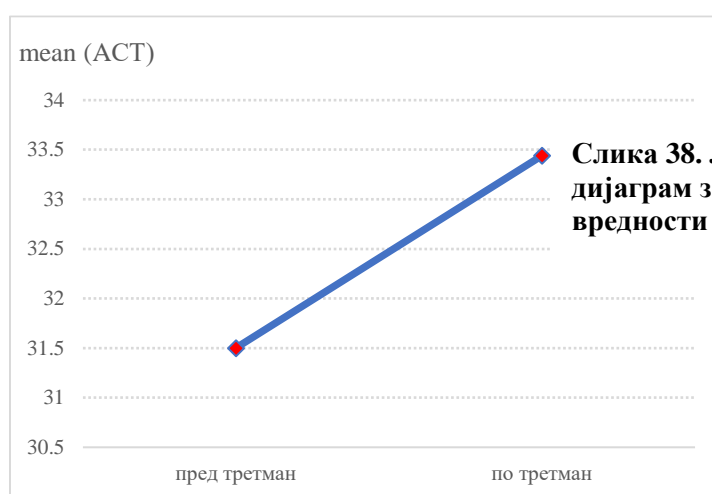
AST	статистички параметри		p-level
	mean $\pm$ SD	median (IQR)	
пред третман	$31.50 \pm 46.8$	24(18 – 28)	Z=2.52 *p=0.012
по третман	$33.44 \pm 15.9$	28.5(22 – 35)	

Z(Mann Whitney test)

\*sig p<0.05



Слика 37. Графички приказ на медијалните вредности на AST



Слика 38. Линиски дијаграм за просечните вредности на AST

Терапијата со амикацин во траење од 2 недели сигнификантно ги намали вредностите на CRP ( $p=0.000033$ ).

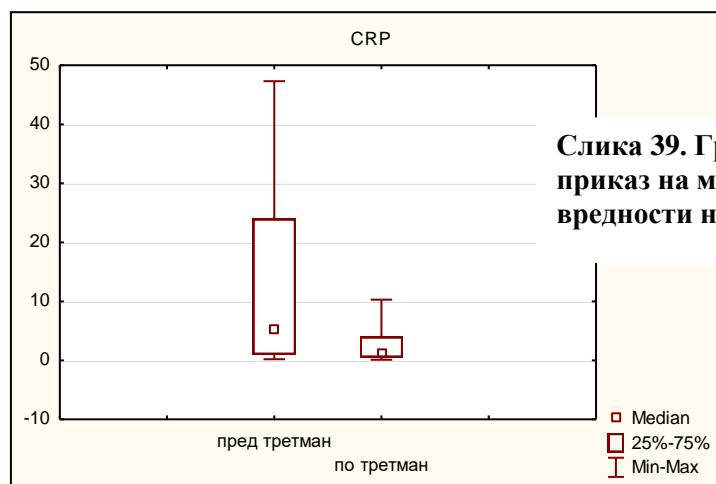
Пред терапија беа регистрирани просечни и медијални концентрации од соодветно  $12.69 \pm 15.3$  и  $5.25$ , по терапија просечни и медијални концентрации од соодветно  $2.51 \pm 2.8$  и  $1.25$  (табела 28, слика 39,40).

Табела 28. Вредности на С-реактивен протеин во mg/L

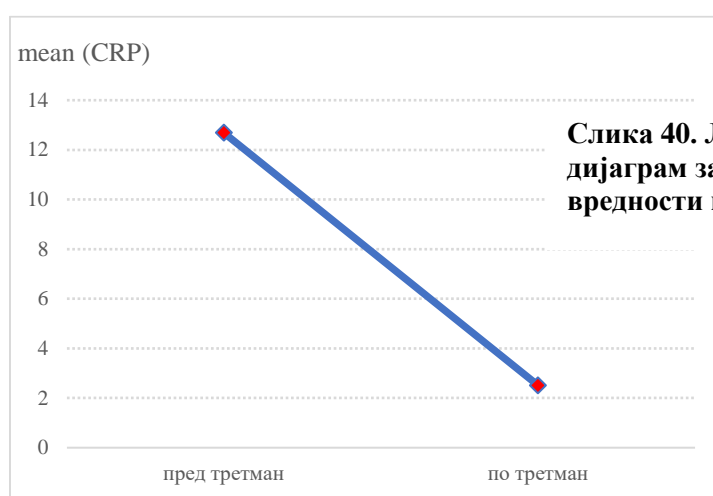
CRP	статистички параметри		p-level
	mean $\pm$ SD	median (IQR)	
пред третман	$12.69 \pm 15.3$	5.25(1 – 24)	Z=4.15 ***p=0.000033
по третман	$2.51 \pm 2.8$	1.25(0.5 – 4)	

Z(Mann Whitney test)

\*\*\*sig  $p < 0.0001$



**Слика 39. Графички приказ на медијалните вредности на CRP**



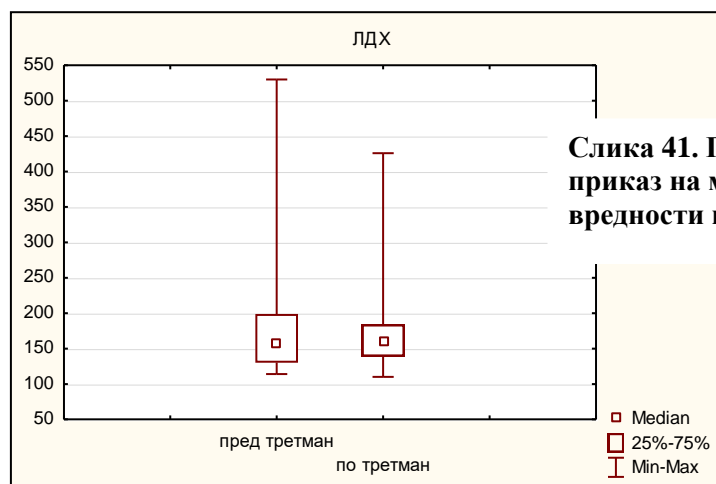
**Слика 40. Линиски дијаграм за просечните вредности на CRP**

Статистички несигнификантна беше разликата во концентрациите на LDH пред и по антибиотскиот третман (median 157 vs 160,  $p=0.44$ ). Просечните вредности на LDH беа  $178.47 \pm 76.9$  пред третман,  $173.38 \pm 59.9$  по третман (табела 29, слика 41,42).

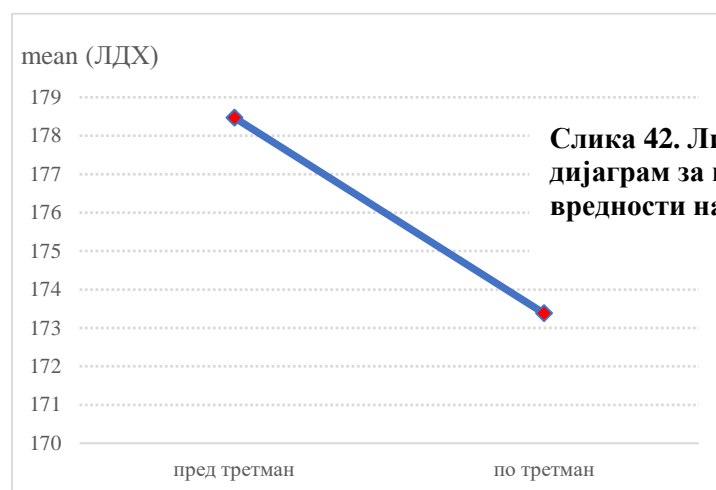
**Табела 29. Вредности на лактат дехидрогеназа во U/L**

LDH	статистички параметри		p-level
	mean $\pm$ SD	median (IQR)	
пред третман	$178.47 \pm 76.9$	157(130 – 199)	Z=0.8 p=0.44
по третман	$173.38 \pm 59.9$	160(139 – 184)	

Z(Mann Whitney test)



Слика 41. Графички приказ на медијалните вредности на LDH



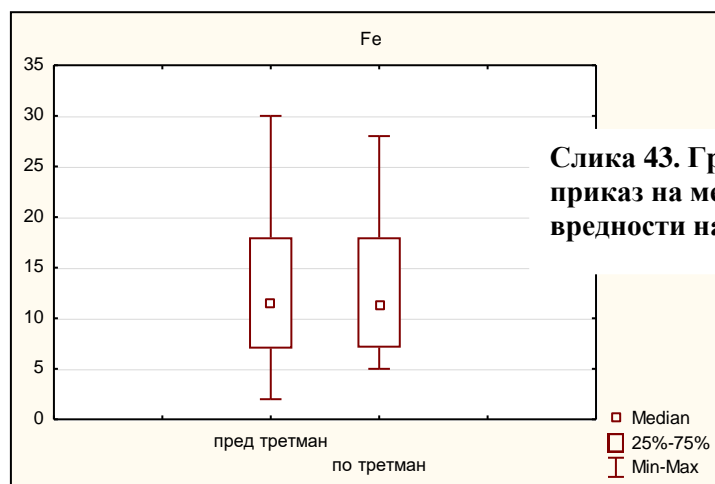
Слика 42. Линиски дијаграм за просечните вредности на LDH

Серумското железо имаше слични вредности пред и по третман ( $p=0.53$ );  $13.18 \pm 7.9$  и  $13.37 \pm 6.9$  беа просечните вредности пред почетокот на лекувањето и по завршеното лекување, 11.5 и 11.2 беше медијаната на серумското железо пред почетокот на лекувањето и по завршеното лекување (табела 30, слика 43,44).

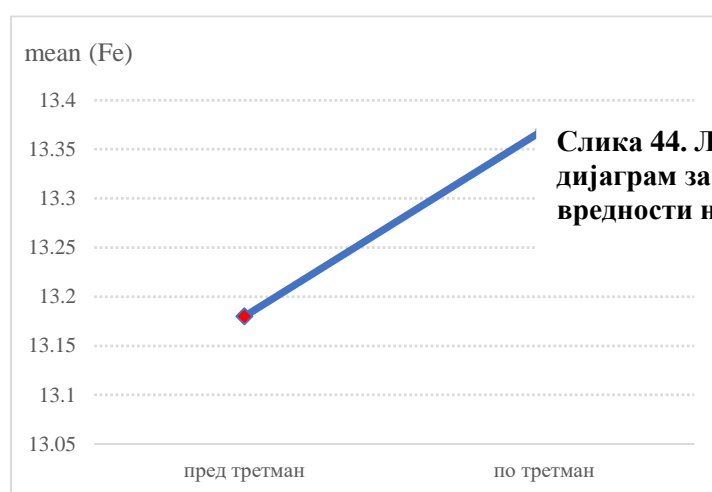
**Табела 30. Вредности на серумско железо во  $\mu\text{mol/L}$**

Fe	статистички параметри		p-level
	mean $\pm$ SD	median (IQR)	
пред третман	$13.18 \pm 7.9$	11.5(7 – 18)	Z=0.62 p=0.53
по третман	$13.37 \pm 6.9$	11.2(7.1 – 18)	

Z(Mann Whitney test)



Слика 43. Графички приказ на медијалните вредности на Fe



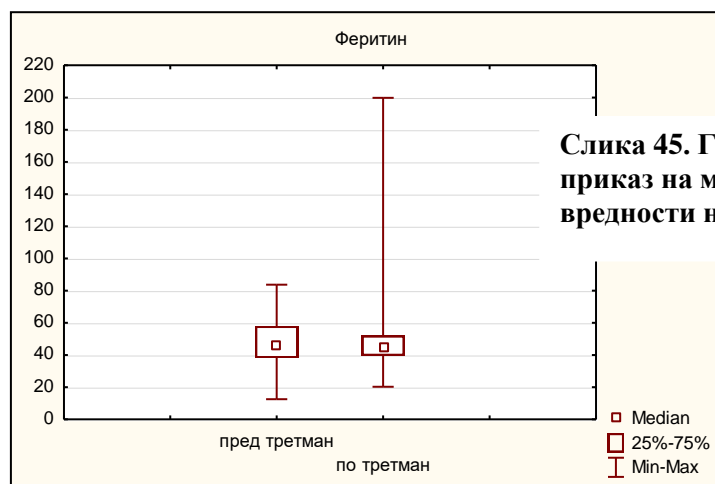
Слика 44. Линиски дијаграм за просечните вредности на Fe

Не беше најдена статистичка сигнификантна разлика во вредностите на феритин по третманот во споредба со вредностите пред третман ( $p=0.43$ ). Просечните и медијални вредности пред третман беа  $47.48 \pm 17.3$  и  $46.2$ , соодветно; по третманот феритинот имаше просечни и медијални вредности од  $49.19 \pm 29.2$  и  $44.95$ , соодветно. (табела 31, слика 45,46).

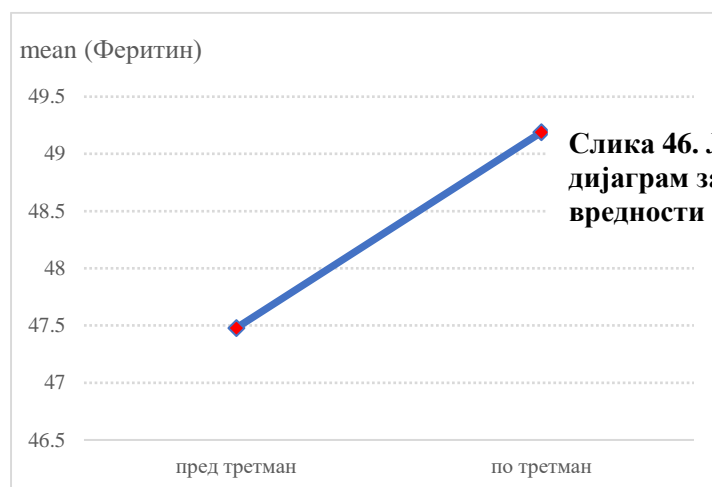
Табела 31. Вредности на феритин во  $\mu\text{g/L}$

Феритин	статистички параметри		p-level
	mean $\pm$ SD	median (IQR)	
пред третман	$47.48 \pm 17.3$	46.2(38.2 – 58)	Z=0.8 p=0.43
по третман	$49.19 \pm 29.2$	44.95(39.6 – 52)	

Z(Mann Whitney test)



**Слика 45. Графички приказ на медијалните вредности на феритин**



**Слика 46. Линиски дијаграм за просечните вредности на феритин**

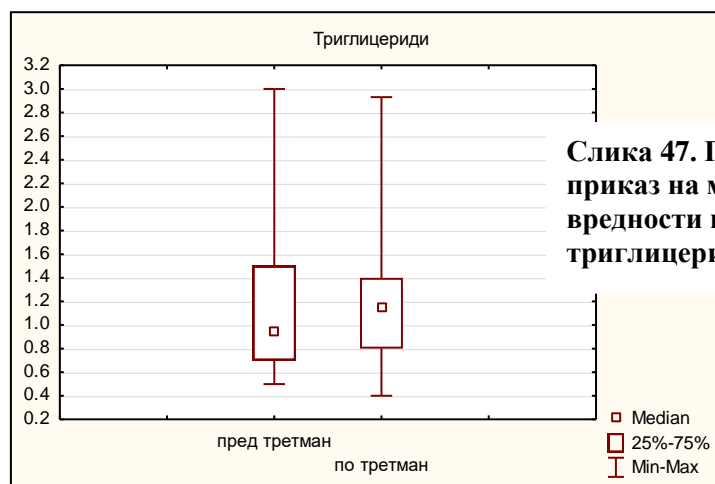
Липидниот статус на пациентите беше анализиран преку одредување на нивото на триглицериди.

Пред почетокот на терапија со амикацин триглицеридите имаа просечна вредност од  $1.21 \pm 0.7$ , на крајот на терапијата  $1.23 \pm 0.7$ ; медијаната на вредноста на триглицеридите беше 0.94 и 1.15, соодветно пред и по терапија (табела 32, слика 47,48).

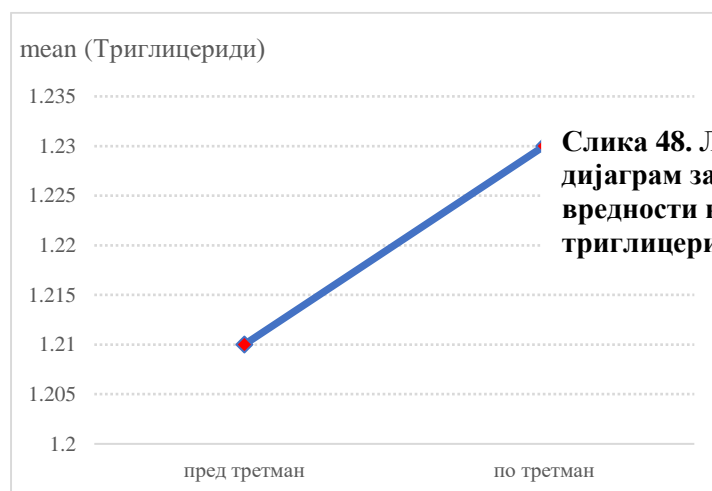
**Табела 32. Вредности на триглицериди во mmol/L**

Триглицериди	статистички параметри		p-level
	mean $\pm$ SD	median (IQR)	
пред третман	$1.21 \pm 0.7$	0.94(0.7 – 1.5)	Z=0.59 p=0.55
по третман	$1.23 \pm 0.7$	1.15(0.8 – 1.4)	

Z(Mann Whitney test)



Слика 47. Графички приказ на медијалните вредности на триглицеридите



Слика 48. Линиски дијаграм за просечните вредности на триглицеридите

Терапијата со амикацин имаше сигнификантно влијание на нивото на креатин киназа, по 14 дневно давање на амикацин беше регистрирано значајно намалување на вредностите на креатин киназа ( $p=0.000063$ ).

Просечните вредности беа намалени од  $129.18 \pm 223.7$  пред терапија на  $72.79 \pm 38.6$  по терапија; медијалните вредности беа намалени од 78 пред терапија на 65 по терапија (табела 33, слика 49,50).

Табела 33. Вредности на креатин киназа во U/L

СК	статистички параметри		p-level
	mean $\pm$ SD	median (IQR)	
пред третман	$129.18 \pm 223.7$	78(57 – 110)	Z=4.0 ***p=0.000063
по третман	$72.79 \pm 38.6$	65(49 – 84)	

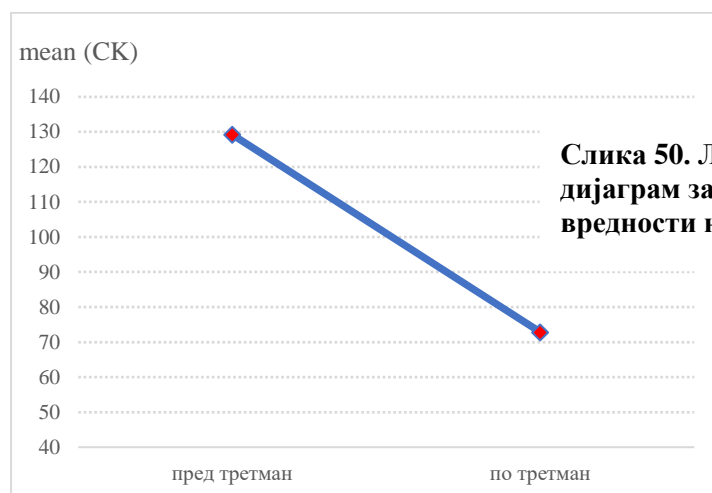
Z(Mann Whitney test)

\*\*\* sig  $p < 0.0001$





**Слика 49. Графички приказ на медијалните вредности на СК**



**Слика 50. Линиски дијаграм за просечните вредности на СК**

## 5.6.ТЕСТ НА ШЕПОТ

“Тестот на шепот” со кој се тестира ототоксичноста на лекот беше направен при приемот на пациентот и четвртиот, седмиот, десетиот, тринаесетиот ден по приемот на пациентот и при неговото напуштање на клиниката. Успешно поминување на тестот се смета кога при изговарање на комбинација број-буква-број со тивок глас од страна на истражувачот, пациентот ќе ја повтори истата комбинација во целост. Исто така, тестот се смета за успешно поминат ако пациентот погреша при повторување на првата комбинација број-буква-број, но во целост ја повтори втората зададена комбинација од страна на истражувачот. Сите пациенти кои беа вклучени во истражувањето успешно го поминаа “тестот на шепот” и тоа во сите контролни точки. Само 4 пациенти (10%) од вкупно 40 кои беа тестирани го поминаа тестот од втор пат.

## 5.7. ТЕРАПЕВТСКА ЕФИКАСНОСТ

Терапевтската ефикасност на амикацин беше евалуирана врз основа на анамнестичките симптоми за присуство на болеста, резултатите од клиничкиот преглед и резултатите од микробиолошки и други испитувања кои беа направени кај третираните пациенти. Дистрибуцијата на пациенти според присуството на одредени симптоми, резултати од клиничкиот преглед и микробиолошкиот наод е прикажана во наредните табели.

**Табела 34. Дистрибуција на пациентите според присуството на одредени симптоми пред почеток на третманот**

Симптом	Број на пациенти кај кои е присутен симптомот
Главоболка	3
Течење на нос	1
Кашлица	22
Запушен нос	1
Малаксаност	3
Температура	7
Болка на притисок во максиларни синуси	1

Пред почеток на третманот со амикацин во форма на интравенска инфузија, еднаш на ден во доза од 30 mg/kg, но не повеќе од 1.5 g и времетраење од 30 минути, кај сите пациенти кои беа вклучени во истражувањето беше присутен најмалку 1 од наведените симптоми. Присутните симптоми имаа влијание на општата состојба на пациентот која беше градирана во три степени: општата состојба не е пореметена, општата состојба е благо пореметена и општата состојба е тешко пореметена. Дистрибуцијата на пациенти според степенот на пореметување е прикажана во табела број 35. Во табела број 36, 37 и 38 е прикажана дистрибуцијата на пациенти според присуството на одредени симптоми на болеста ( температура, главоболка, малаксаност).

**Табела 35 . Дистрибуција на пациенти според параметарот “ општа состојба ” на пациентите со цистична фиброза, пред почеток и за време на терапијата со интравенска инфузија на Амикацин во доза од 30 mg/kg**

	Не е пореметена (број на пациенти)	Благо пореметена (број на пациенти)	Тешко пореметена (број на пациенти)
Пред почеток на третман	2	29	3
После 1 ден терапија	2	29	3
После 2 дена терапија	2	29	3
После 3 дена терапија	2	29	3
После 4 дена терапија	3	28	3
После 5 дена терапија	7	25	2
После 6 дена терапија	21	12	1
После 7 дена терапија	28	5	1
После 8 дена терапија	29	4	1
После 9 дена терапија	32	1	1
После 10 дена терапија	33	1	0
После 11 дена терапија	31	1	0
После 12 дена терапија	26	0	0
После 13 дена терапија	20	0	0
После 14 дена терапија	7	0	0
После 15 дена терапија	1	0	0

**Табела 36. Дистрибуција на пациенти со параметарот “ температура “ на пациентите со цистична фиброза, пред почеток и за време на терапијата со интравенска инфузија на Амикацин во доза од 30 mg/kg**

	До 37° C	Од 37.1°-38 °C	Поголема од 38 °C
Пред почеток на третман	27	3	4
После 3 дена терапија	0	0	0
После 7 дена терапија	0	0	0

**Табела 37. Дистрибуција на пациенти според симптомот “главоболка” на пациентите со цистична фиброза, пред почеток и за време на терапијата со интравенска инфузија на Амикацин во доза од 30 mg/kg**

	Нема главоболка	Има главоболка	Има главоболка и таа значајно влијае на влошување на општата состојба
Пред почеток на третман	31	3	1
После 3 дена терапија	31	3	1
После 7 дена терапија	34	0	0

**Табела 38. Дистрибуција на пациенти според симптомот “малаксалост” на пациентите со цистична фиброза, пред почеток и за време на терапијата со интравенска инфузија на Амикацин во доза од 30 mg/kg**

	Нема малаксалост	Има малаксалост	Има малаксалост и таа значајно влијае на општата состојба
Пред почеток на третман	31	3	3
После 3 дена терапија	31	3	1
После 7 дена терапија	33	1	0

Во табела број 39 е прикажана дистрибуцијата на пациенти според микробиолошкиот наод во спутум добиен пред почеток и за време на лекувањето со амикацин.

**Табела 39. Дистрибуција на пациенти според микробиолошки наод од спутум на пациентите со цистична фиброза, пред почеток и за време на терапијата со интравенска инфузија на Амикацин во доза од 30 mg/kg**

	Позитивен микробиолошки наод (број на пациенти)		Негативен микробиолошки наод (број на пациенти)
Пред почеток на третман	34		0
После завршување на третман	0		34
Микробиолошки наод кај третираните пациенти	<b>Микробиолошки наод</b>	<b>Број на пациенти</b>	0
	<i>P.aeruginosa</i>	12	
	MRSA	6	
	<i>S.aureus</i>	7	
	<i>S.pyogenes</i>	1	
	<i>P.mirabilis</i>	1	
	<i>E coli (ESWL+)</i>	1	
	<i>S.maltophila</i>	1	
	<i>P.oleovorans</i>	1	
	<i>Aspergillus flavus</i>	2	
	<i>Candida albicans</i>	14	
	<i>Candida species</i>	5	

## **6.ДИСКУСИЈА**

### **6.1. СЕРУМСКИ КОНЦЕНТРАЦИИ НА АМИКАЦИН И ФАРМАКОКИНЕТСКИ ПАРАМЕТРИ**

Концентрациите на амикацин во серум по давање на лекот во доза од 30 mg/kg во форма на инфузија со времетраење од 30 минути покажуваат дека пред давање на третата, четвртата и петтата доза на амикацин се постигнуваат концентрации во серум кои се пониски од лимитот на квантификација на аналитичката метода со која се одредувани, односно се помали од 2 µg/ml. Од сите пациенти кои беа вклучени во истражувањето, само кај 1 пациент пред давање на третата доза на амикацин беше најдена концентрација од 3.5 µg/ml. Концентрација на амикацин во серум поголема од 3 µg/ml пред давање на третата доза на лекот беше услов за прилагодување, односно намалување на дозата на лекот. Меѓутоа со оглед на тоа што само кај 1 пациент добивме ваква концентрација и тоа само за 16.7% поголема од 3 µg/ml и кај овој пациент продолживме со давање на амикацин во доза од 30 mg/kg. Одлуката се покажа како исправна бидејќи концентрацијата на амикацин во примероците на серум земени пред давање на четвртата и петтата доза на лекот беше помала од 2 µg/ml, односно дека не е потребно намалување на дозата ниту кај овој пациент.

Концентрациите на амикацин во серум кои се добиени во нашето истражување 30 минути и 6 часа по администрацијата на амикацин како интравенска инфузија во доза од 30 mg/kg во времетраење од 30 минути се  $82.90 \pm 35.28$  µg/ml, односно  $10.48 \pm 5.49$  µg/ml кореспондираат со објавени податоци во литература за добиени концентрации на амикацин (15,29,69,70,71,72, 83,84,85,86). Максималните концентрации на амикацин во плазмата во различни клинички студии биле од 15 до 40 µg/ml и биле постигнати после 20-30 минути од давањето на интрамускуларна инјекција или 20-30 минути од почнувањето на интравенска инфузија. Кај некои пациенти биле измерени ниски максимални плазматски концентрации на амикацин (Cmax) од 12 µg/ml, но кај некои пациенти биле измерени и максимални плазматски концентрации на амикацин од 127 µg/ml. Во друго истражување по давање на амикацин во доза од 7.5 mg/kg како интравенска инфузија, веднаш по завршувањето на инфузијата се најдени серумски концентрации на амикацин од 38 µg/ml, по 30 минути од завршување на инфузијата тие изнесувале 24 µg/ml, по 1 час 18 µg/ml, а по 10 часа 0.75 µg/ml (87,88,89,90,91). При давање на амикацин како интравенска инфузија во доза од 15 mg/kg,

серумските концентрации на амикацин изнесувале 77  $\mu\text{g/ml}$  веднаш по завршување на инфузијата, односно 47  $\mu\text{g/ml}$  по 30 минути од завршување на инфузијата. Врз основа на резултатите од повеќе клинички студии е констатирано дека добро се поднесува и нема акумулација на лекот при давање на амикацин во дози од 7.5 mg/kg до 15 mg/kg како интравенска инфузија на секои 12 часа.

Пониски максимални концентрации на амикацин во серум се добиени по интрамускуларна апликација на лекот во однос на концентрациите добиени при давање на истите дози како интравенска инфузија. По давање на амикацин интрамускуларно во дози од 3.7 mg/kg, 5 mg/kg и 7.5 mg/kg се добиени максимални концентрации на амикацин во серум од 12, 16 и 21  $\mu\text{g/ml}$  по 1 час од интрамускуларната администрација и концентрации од 0.3, 1.2 и 2.1  $\mu\text{g/ml}$  по 10 часа од интрамускуларната администрација.

Во нашето истражување со екстраполирање од елиминациониот дел на кривата е утврдено дека серумските концентрации на амикацин веднаш по завршување на инфузијата изнесувале  $102.58 \pm 47.84 \mu\text{g/ml}$ . Со оглед на тоа што во *ин vitro* испитувања е докажано дека минималните инхибиторни концентрации на амикацин кои ги инхибираат осетливите микроорганизми се движат од 0.3 до 2.1  $\mu\text{g/ml}$ , врз основа на добиените концентрации на амикацин во серум во нашето истражување, може да се заклучи дека по 6 часа од завршувањето на инфузијата концентрациите на амикацин во серум се поголеми од минималните инхибиторни концентрации. Во наведените концентрации амикацин делува бактерицидно и на бактериски соеви кои се резистентни на останатите аминокликозидни антибиотици.

Стандардната девијација на постигнатите серумски концентрации на амикацин изнесува 46.64%, 42.56% и 52.38% од средната вредност во временските точки по завршување на инфузијата, по 30 минути и по 6 часа од завршување на инфузијата. Големите интериндивидуални разлики помеѓу испитаниците се рефлектираат и на максималните концентрации на амикацин во серум (Стах во состојба на динамичка рамнотежа на концентрациите-“stady-state”) кои се добиени со екстраполација од елиминациониот дел на кривата на амикацин. Тие изнесуваат од 32.47 до 263.46  $\mu\text{g/ml}$ . Вредностите на концентрациите на амикацин во серум по 30 минути од завршување на инфузијата, исто така покажуваат големи интериндивидуални варијации и изнесуваат од 29.60 до 197.7  $\mu\text{g/ml}$ . Опасноста од токсичност на лекот (нефротоксичност и невротоксичност) е поголема кај пациентите кои покажуваат повисоки концентрации на амикацин во серум. Во

литература е утврдено дека ниските концентрации на амикацин се последица на субдозирање на лекот поради што се јавува негова недоволна терапевтска ефикасност и се зголемува можноста за брзо јавување на резистенција. Исто така, кај пациенти кои имаат високи концентрации на амикацин, посебно во колку тие се одржуваат подолг временски период се зголемува опасноста од појава на токсичност на амикацин.

За осетливи бактериски соеви кон амикацин се сметаат соевите за кои минималните инхибиторни концентрации ( МІС ) се  $\leq 2 \mu\text{g/ml}$ . Најдобри ефекти на амикацин во инхибицијата на растот на бактериите се постигнуваат со дози на лекот кои доведуваат до максимални концентрации на амикацин во серумот кои се 8-10 пати повисоки од минималните инхибиторни концентрации (МІС) за бактериските соеви.

Во табела 40 е прикажана осетливоста кон амикацин на соеви од различни клинички значајни бактериски соеви добиени во повеќе клинички испитувања (92).

**Табела 40.** Осетливост на бактериски соеви кон амикацин

Бактериски специес	Вкупно тестирани изолати	Осетливи соеви кон амикацин	Резистентни соеви кон амикацин
<i>Acinetobacter</i>	10	8	2
<i>Bordetella avium</i>	10	10	0
<i>Brucella abortus</i>	3	3	0
<i>Citrobacter freundii</i>	6	4	2
<i>Enterobacter</i>	4	3	1
<i>E.coli</i>	129	98	31
<i>Moraxella</i>	2	1	1
<i>Proteus (P.mirabilis, P.penneri, P.vulgaris)</i>	14	1	13
<i>Pseudomonas</i>	26	19	7
<i>Salmonella enterica ssp.enterica</i>	12	10	2
<i>Serratia</i>	5	5	0
<i>Staphylococcus</i>	101	76	25
<i>Streptococcus</i>	49	27	22

Анализа на постигнатите серумски концентрации на амикацин во нашето истражување покажува дека односот на максималните серумски концентрации на амикацин и МІС ( $\leq 2 \mu\text{g/ml}$ ) е поголем од 10 кај сите испитаници со цистична фиброза за осетливите бактериски соеви. Параметарот Стах/МІС е најсоодветен за употреба кај аминокликозидите (амикацин, гентамицин, тобрамицин, нетилмицин) и флуорокинолоните. Овие антибиотици покажуваат подолг пост-антибиотски



ефект и заради тоа се смета дека постигнување на повисока максимална концентрација на антибиотикот ќе овозможи постигнување на оптимален клинички ефект на терапијата (75). Од спроведените студии, заклучено е дека за постигнување на клинички ефикасна терапија концентрацијата на аминокликозидите треба да биде 8-10 пати поголема од минималната инхибиторна концентрација на микроорганизмот кај пациенти со грам-негативни инфекции (75). При терапија со флуорокинолони на инфекции со грам-негативни микроорганизми, параметарот  $Stax/MIC$  треба да има вредност од 10 или повеќе за да се постигне клинички успех на терапијата.

Повисоки серумски концентрации на амикацин во однос на  $MIC$  за најмалку 8 пати се констатирани кај 5 испитаници (14.71%) од вкупно 34 испитаници по 6 часа од завршување на инфузијата. Со оглед на тоа што амикацилот е лек кој има постантибиотски ефект и покажува дејство и при пониски концентрации од  $MIC$ , бактерицидниот ефект на лекот се одржува подолг временски период, посебно поради тоа што кај испитаниците во нашето истражување се постигнати високи максимални концентрации на лекот (концентрациите добиени веднаш по завршување на инфузијата). Кај 12 испитаници (35.29%) се добиени максимални концентрации поголеми од 100  $\mu g/ml$ . Поради тоа што теоретски ваквите високи концентрации на амикацин се поврзани со зголемена токсичност на лекот (нефротоксичност и невротоксичност), посебно кај некои пациенти треба да се размисли администрацијата на дозата од 30  $mg/kg$  да се подели во две еднакви дози по 15  $mg/kg$ .

Константата на елиминација и полуживотот на елиминација на амикацин по давањето на лекот како инфузија во доза од 30  $mg/kg$ , еднаш на ден изнесуваат  $0.3961 \pm 0.1330 h^{-1}$ , односно  $1.99106 \pm 0.081569 h$  и кореспондираат со резултатите објавени во литература (83,92). И кај овие два фармакокинетски параметри се забележува голема интериндивидуална варијабилност на добиените резултати. Стандардната девијација е 33.58% за константата на елиминација и 40,97% за полуживотот на елиминација. Вредностите добиени за константата на елиминација и за полуживотот на елиминација на амикацин кај пациентите со цистична фиброза сугерираат брз клиренс на лекот, а тоа соодветствува на хиперметаболната состојба која е често видлива кај овие пациенти.

Волуменот на дистрибуција на амикацин по давањето на лекот како инфузија во доза од 30  $mg/kg$ , еднаш на ден средно изнесува  $15.0246 \pm 6.2851 L$  со варијации

помеѓу различните пациенти кои се од минимум 6.2852 до максимум 35.3238 L. Широките граници во кои се вредностите за волуменот на дистрибуција ја отсликуваат варијабилноста на композицијата на течности во организмот и дистрибуцијата во нив што е вообичаено видливо кај пациентите со цистична фиброза. Релативно големите вредности на волуменот на дистрибуција на амикацин сугерираат дека лекот екстензивно се дистрибуира во ткивата на организмот што е последица на пореметената физиологија кај пациентите со цистична фиброза вклучувајќи ги промените во телесните течности и мускулната маса.

Вкупниот клиренс на амикацин кај пациентите со цистична фиброза по давањето на лекот како инфузија во доза од 30 mg/kg, еднаш на ден средно изнесува 5.67619 L/h  $\pm$  2.54196 L/h со минимални вредности од 2.71353 L/h и максимални вредности од 13.3575 L/h. Големата интериндивидуална варијабилност е присутна и кај овој фармакокинетски параметар. Клиренсот на амикацин кај пациентите со цистична фиброза е поголем од клиренсот на општата популација. Тоа веројатно се должи на гломеруларна филтрација и општо зголемената бубрежна функција.

Резултатите добиени во нашето истражување во однос на серумските концентрации на амикацин и фармакокинетските параметри на амикацин кај пациенти со цистична фиброза сугерираат дека со лекот даден во доза од 30 mg/kg во форма на интравенска инфузија во времетраење од 30 минути, еднаш на ден, се постигнуваат посакуваните концентрации на лекот во крвта во состојба на динамичка рамнотежа (steady-state) и тоа пред давање на третата, четвртата и петтата доза на лекот (концентрации на амикацин  $\leq$  3  $\mu$ ml). Сепак, поради тоа што кај некои пациенти се постигнати многу високи максимални концентрации на амикацин во серум ( $\geq$ 100  $\mu$ ml), зголемениот клиренс во однос на општата популација и варијабилниот волумен на дистрибуција на лекот налагаат да се размисли кај некои пациенти да се дава дневната доза на амикацин поделена во две еднакви дози по 15 mg/kg со цел да се постигне максимална ефикасност на лекот и да се минимизира ризикот од токсичност.

Значењето на нашето истражување е лимитирано со релативно малиот број на пациенти вклучени во истражувањето и со големата варијабилност на физиолошките карактеристики кај пациентите со цистична фиброза. За жал, лимитираните финансиски ресурси се фактор кој негативно влијае на вклучување на поголем број на пациенти во клиничка студија во која ќе бидат анализирани и

влијанието на други варијабли како што се возраста, тежината на болеста и истовремената примена на други лекови врз фармакокинетиката на амикацин.

Истражувањето на поврзаноста помеѓу фармакокинетските параметри и клиничкиот одговор детерминиран преку повлекување на симптомите и знаците на инфекцијата и појавата на несакани дејства може да има значајна улога во целосно расветлување на улогата на амикацин во третманот на пациенти со цистична фиброза.

## **6.2. БИОХЕМИСКИ ПАРАМЕТРИ**

### **6.2.1. КОНЦЕНТРАЦИЈА НА КРЕАТИНИН ВО СЕРУМ, КЛИРЕНС НА КРЕАТИНИН И КОНЦЕНТРАЦИЈА НА УРЕА ВО СЕРУМ**

Посебно значење за следење на токсичноста на амикацин врз бубрежите (нефротоксично дејство) има концентрацијата на креатинин во серум и клиренсот на креатинин. Од тие причини, овие параметри беа одредувани пред почеток на третманот со амикацин и после 3, 6, 9 и 12 дена терапија (93,94,95,96,97).

Кај сите пациенти вклучени во истражувањето, пред почеток на третманот беа констатирани вредности на креатинин во серум во рамките на референтните вредности (45-109  $\mu\text{mol/L}$ ). Во сите контролни временски точки ( по 3, 6, 9 и 12 дена терапија ) концентрациите на креатинин во серум беа исто така во рамките на референтните вредности. Статистичката анализа ( Repeated Measures ANOVA анализа ) не покажа сигнификантни разлики помеѓу вредностите на креатинин во серум добиени пред почеток на третманот и по 3, 6, 9 и 12 дена терапија, како ни помеѓу вредностите добиени во пооделни контролни временски точки.

Клиренсот на креатинин во серум просечно изнесуваше  $126.15 \pm 28.1 \text{ ml/min}$  пред почеток на третманот и  $132.15 \pm 25.3 \text{ ml/min}$  по 3 дена,  $126.73 \pm 31.10 \text{ ml/min}$  по 6 дена,  $132.85 \pm 29.7 \text{ ml/min}$  по 9 дена и  $130.56 \pm 28.6$  по 12 дена терапија. Статистичката анализа ( Repeated Measures ANOVA анализа ) не покажа сигнификантни разлики помеѓу вредностите на клиренсот на креатинин добиени пред почеток на третманот и по 3, 6, 9 и 12 дена терапија, како ни помеѓу вредностите добиени во пооделни контролни временски точки. Овие резултати покажуваат дека за време на истражувањето нема промени во клиренсот на креатинин кои би сугерирале нефротоксичност на лекот.

Серумските вредности на уреа просечно изнесуваа  $4.32 \pm 1.3 \text{ mmol/L}$  пред почеток на третманот и  $4.21 \pm 1.2 \text{ mmol/L}$  по 3 дена,  $4.98 \pm 1.5 \text{ mmol/L}$  по 6 дена,  $4.91 \pm 1.0 \text{ mmol/L}$  по 9 дена и  $5.38 \pm 1.2 \text{ mmol/L}$  по 12 дена терапија со амикацин.

Кај сите пациенти вклучени во истражувањето, пред почеток на третманот и по 3,6,9 и 12 дена терапија беа констатирани вредности на уреа во серум во рамките на референтните вредности (3.20-7.90 mmol/L). Статистичката анализа (Repeated Measures ANOVA анализа ) покажа сигнификантни разлики помеѓу вредностите на уреа во серум добиени пред почеток на третманот и по 12 дена терапија, како и помеѓу временските точки по 3 и 9 дена и помеѓу вредностите добиени за уреа по 3 и 12 дена терапија. Оваа статистичка сигнификантност нема клиничко значење бидејќи во сите временски точки вредностите добиени за уреа во серум се во границите на референтните вредности.

Сите резултати добиени за концентрација на креатинин во серум, клиренс на креатинин и уреа во серум се во прилог на одсуство на нефротоксичност на лекот за време на терапијата во времетраење од 7-14 дена со амикацин во доза од 30 mg/kg во форма на интравенска инфузија, еднаш на ден, во времетраење од 30 минути.

Во истражувања направени со амикацин даден интрамускуларно или интравенски се добиени статистички и клинички значајни зголемувања на вредностите на креатинин и уреа во серум и намалување на клиренсот на креатинин кои се користени како маркери на оштетување на бубрежната функција (94,95,98).

### **6.2.2. ДРУГИ БИОХЕМИСКИ ПАРАМЕТРИ**

Терапијата со амикацин не доведе до значајни промени во вредноста на гликемијата во серум кај третираните пациенти ( просечна вредност од  $5.83 \pm 1.5$   $\mu\text{mol/L}$  пред третман и  $5.53 \pm 1.9$   $\text{mmol/L}$  по третман ). Со оглед на тоа што максималните вредности на гликемијата отстапуваат од референтните вредности (3.33-5.55 mmol/L), направивме анализа на гликемијата забележана кај секој пациенти поединечно. Констативме дека вредностите на гликемијата во серум по третманот со амикацин е поголема од референтните вредности само кај пациентите кои имаат вредности на гликемијата поголеми од референтните вредности и пред почеток на третманот. Може да се заклучи дека терапијата со амикацин не влијае на вредностите на гликемијата кај пациентите вклучувани во истражувањето.

Вредностите на вкупен билирубин беа од  $9.33 \pm 4.9$   $\mu\text{mol/L}$  пред почеток на третман и  $10.72 \pm 7.2$   $\mu\text{mol/L}$  по завршување на третманот. Исто така, констативме дека максималните вредности на вкупен билирубин пред почеток и по завршувањето на испитувањето не отстапуваат од референтните вредности (3.40-20.50  $\mu\text{mol/L}$ ). Врз основа на резултатите од нашето истражување заклучивме

дека терапијата со амикацин нема влијание на вредностите на вкупен билирубин во серум.

Директниот билирубин кај третираните пациенти имаше просечна вредност од  $4.14 \pm 1.7 \mu\text{mol/L}$  пред почетокот и  $4.18 \pm 2.01 \mu\text{mol/L}$  по завршување на третманот. Разликата беше статистички несигнификантна. Максималните вредности на директен билирубин пред почеток и по завршувањето на испитувањето не отстапуваа од референтните вредности ( $0-8.60 \mu\text{mol/L}$ ) и заклучивме дека терапијата со амикацин нема влијание на вредностите на директен билирубин во серум.

Индириктниот билирубин кај третираните пациенти имаше просечна вредност од  $5.19 \pm 3.3$  пред почетокот и  $6.55 \pm 5.3$  по завршување на третманот. Разликата беше статистички сигнификантна. Анализата на максималните вредности на индириктен билирубин пред почеток и по завршувањето на испитувањето покажа дека статистичката сигнификантност на разликата пред почетокот и по завршување на третманот нема клиничко значење бидејќи вредностите на индириктен билирубин кај третираните пациенти по завршување на терапијата со амикацин се наоѓаат во границите на референтните вредности за индириктен билирубин.

Главни интрацелуларни ензими во црниот дроб се ALT и AST. При нарушување на функцијата на хепатоцитите доаѓа до поминување на овие ензими од хепатоцитите во крвта и до зголемување на нивната концентрација во крвта (99). Нивото на ALP во серум е главен параметар за евалуација на хепатобилијарните патишта. AST не е специфичен параметар само за црниот дроб бидејќи се наоѓа и во еритроцитите, срцевиот мускул, скелетните мускули, бубрезите и мозочното ткиво и е зголемен во крвта и при оштетување на овие ткива. AST е биохемиски маркер и за дијагноза на акутен миокардијален инфаркт (100,101). Зголемени вредности на AST и ALT се показател за нарушена пермеабилност на хепатоцелуларната мембрана.

Во нашето истражување констатиравме дека терапијата со амикацин даден еднаш на ден во доза од  $30 \text{ mg/kg}$  како интравенска инфузија во времетраење од 30 минути доведе до сигнификантно зголемување на вредностите на ALT ( $25.59 \pm 19.5 \text{ U/L}$  пред третман и  $33.85 \pm 19.5 \text{ U/L}$ ,  $p=0.0011$ ).

Пред почеток на терапија просечните концентрации на ALT изнесуваа  $25.59 \pm 19.197 \text{ U/L}$  и  $33.85 \pm 19.245 \text{ U/L}$  по терапијата со амикацин. Анализа на

поединечните вредности кај испитаниците покажа дека само кај 2 пациенти на крајот од лекувањето се констатирани повисоки вредности на ALT од референтните вредности ( 0-55 U/L). Кај сите други пациенти, резултите за ALT по завршување на терапијата со амикацин беа во границите на референтните вредности. Статистичката сигнификантност веројатно се должи на резултатот кај 1 пациент кој по завршување на терапијата имаше вредност за ALT за повеќе од 2.5 пати од референтните вредности, а за 4 пати поголема од вредноста на ALT пред почеток на третманот.

Терапијата со амикацин даден еднаш на ден во доза од 30 mg/kg како интравенска инфузија во времетраење од 30 минути доведе до сигнификантно зголемување и на вредностите на AST (31.50 U/L±46.8 U/L пред третман и 33.44±15.5 U/L по третман,  $p=0.012$ ). Анализа на поединечните вредности кај испитаниците покажа дека кај 4 пациенти (11.76%) и кај 8 пациенти (23.52%) пред почеток, односно по завршувањето на терапијата со амикацин има поголеми вредности на AST од референтните вредности ( 5-34 U/L). Кај сите други пациенти, резултите за AST по завршување на терапијата со амикацин беа во границите на референтните вредности. Статистичката сигнификантност веројатно се должи на резултатот кај 2 пациенти кои по завршување на терапијата имаа вредност за AST за повеќе од 2.5 пати поголема од референтните вредности. Сепак со оглед на тоа што кај најголемиот број на пациенти нема промени во однос на AST пред и по завршување на терапијата со амикацин, може да се заклучи дека лекот нема клинички значајно влијание на ензимот AST кој е параметар што е показател за нарушување на функцијата на црниот дроб.

Во литературата се опишани и многу поголеми нарушувања на хепаталните ензими AST и ALT при терапија со амикацин во времетраење од 7-10 дена (98).

Кај пациентите кои примале терапија со амикацин во траење од 7-14 дена се регистрирани сигнификантно помали вредности на инфламаторниот маркер-CRP по завршување на терапијата во однос на почетокот (просечни вредности од 12.69 ± 15.3 mg/L пред третман и 2.51 ± 2.8 2.51 mg/L по завршување на третман,  $p=0.000033$ ). Овој податок укажува дека терапијата со амикацин има значајна улога во сигнификантното намалување на инфламацијата кај пациентите со цистична фиброза (102).

Статистички несигнификантна разлика е констатирана за концентрациите на LDH пред и по третманот со амикацин ( просечните вредности на LDH 178.47 ±

76.9 U/L пред третман и  $173.38 \pm 59.9$  U/L по третман ). Анализа на поединечните вредности кај испитаниците покажува дека кај 8 пациенти (23.52%) се констатирани поголеми концентрации на LDH пред почеток на третманот во однос на референтните вредности ( 125-220 U/L). По завршување на третманот повисоки концентрации на LDH во однос на референтните вредности се забележани само кај 1 пациент ( 2.94%).

Несигнификантна разлика е констатирана и за концентрациите на серумското железо кое имаше слични вредности пред и по завршување на третманот (  $13.18 \pm 7.9$   $\mu\text{mol/L}$  и  $13.37 \pm 6.9$   $\mu\text{mol/L}$  по третман,  $p=0.53$ ). Референтните вредности за серумско железо беа од 9.00 до 30.40  $\mu\text{mol/L}$ . Анализа на поединечните вредности кај испитаниците покажува дека кај 12 пациенти (35.29%) се констатирани пониски концентрации на серумско железо пред почеток на третманот во однос на референтните вредности. По завршување на третманот пониски концентрации на серумско железо во однос на референтните вредности се забележани кај 9 пациенти ( 26.47%) што е показател дека и овој параметар покажува подобрување по завршување на терапијата со амикацин.

Не е регистрирана статистичка сигнификантна разлика во вредностите на феритин по третманот во споредба со вредностите пред третман ( $47.48 \pm 17.3$   $\mu\text{g/L}$  и пред третман и  $49.19 \pm 29.2$   $\mu\text{g/L}$  по третман,  $p=0.43$ ). Референтните вредности за феритин беа од 15 до 120  $\mu\text{g/L}$ . Анализа на поединечните вредности кај испитаниците покажува дека кај само 1 пациент (2.94%) се забележани пониски концентрации на феритин и тоа пред почеток на третманот.

Анализа на липидниот статус на пациентите преку одредување на нивото на триглицериди исто така покажа статистичка несигнификантна разлика во вредностите добиени пред и по третманот ( $1.21 \pm 0.7$   $\text{mmol/L}$  пред и  $1.23 \pm 0.7$   $\text{mmol/L}$  по третман). Референтните вредности за триглицериди беа вредности  $\leq 1.7$   $\text{mmol/L}$ . Само ка 5 пациенти ( 14.71%) пред почеток и по завршување на терапијата со амикацин беа забележани вредности на амикацин кои беа поголеми од 1.7  $\text{mmol/L}$ .

Сигнификантни разлики во однос на вредностите пред почеток и на крај од третманот се констатирани за ензимот креатин киназа ( просечни вредности од  $129.18 \pm 223.7$  U/L пред  $72.79 \pm 38.6$  U/L по третман  $p=0.000063$ ). Референтните вредности за ензимот креатин киназа се од 29-168 U/L. Анализа на поединечните вредности кај пациентите покажа дека пред почеток на третманот поголеми

вредности на креатин киназа во однос на референтните вредности се регистрирани кај 4 пациенти ( 11.76%), а по завршување на третманот само кај 2 пациенти (5.88%). Овие два пациенти беа истите кои имаа поголеми вредности на креатин киназа пред почеток на третманот со тоа што по завршување на третманот со амикацин имаа значително пониски вредности од колку пред третманот, иако сеуште повисоки од референтните вредности. Сигнификантното намалувањето на вредноста на креатин киназа е уште еден показател за успехот на терапијата со амикацин и другите лекови дадени кај пациентите со цистична фиброза.

### **6.3. ХЕМАТОЛОШКИ ПАРАМЕТРИ**

Терапијата со амикацин немаше значајно влијание на хематолошките параметри како што се број на еритроцити, хемоглобин и хематокрит. Не е забележана сигнификантна разлика во вредностите на бројот на еритроцити, хемоглобин и хематокрит добиени пред почеток и по завршување на третманот ( $p>0.05$ ) (98).

Просечната вредност на бројот на еритроцити кај пациентите во нашето истражување беше  $5.13 \pm 0.7 \times 10^{12}/L$  пред терапија и  $4.95 \pm 0.4 \times 10^{12}/L$ . Референтните вредности за бројот на еритроцити беа 3.96 до  $5.03 \times 10^{12}/L$ . Поединечните резултати за бројот на еритроцити покажуваат дека кај ниту еден пациент пред почеток и по завршување на третманот не се регистрирани пониски вредности за бројот на еритроцити во однос на референтните вредности.

Просечната вредност за хемоглобин кај пациентите во нашето истражување беше  $13.70 \pm 1.9 \text{ g/L}$  пред терапија и  $13.47 \pm 1.1 \text{ g/L}$ . Референтните вредности за хемоглобин беа 107 до 134 g/L. Анализа на поединечните резултати за вредностите на хемоглобин покажува дека кај ниту еден пациент пред почеток и по завршување на третманот не се регистрирани пониски вредности од долната граница на референтните вредности ( 107 g/L ).

Просечната вредност за хематокрит кај пациентите во нашето истражување беше  $42.50 \pm 5.7\%$  пред терапија и  $41.78 \pm 3.2\%$  по терапијата. Референтните вредности за хематокрит беа 34.1 до 45%. Анализа на поединечните резултати за вредностите на хематокрит покажува дека кај ниту еден пациент пред почеток и по завршување на третманот не се регистрирани пониски вредности од долната граница на референтните вредности ( 34.1%).



За време на терапијата со амикацин има значајно намалување на бројот на леукоцити ( од  $9.48 \pm 4.1 \times 10^3/\mu\text{L}$  пред терапија на  $7.65 \pm 3.8 \times 10^3/\mu\text{L}$  по терапија,  $p=0.0021$ ). Референтните вредности за бројот на леукоцити беа од  $3.5-10 \times 10^3/\mu\text{L}$ . Сигнификантното намалување на бројот на леукоцити по терапијата веројатно се должи на намалената инфламација кај третираните пациенти. Анализа на вредностите за бројот на леукоцити кај поединечните пациенти покажа дека пред терапијата вредности на бројот на леукоцити поголеми од  $10 \times 10^3/\mu\text{L}$  беа забележани кај 12 пациенти (35.29%), а по завршување на третманот само кај 3 пациенти (8.82%). Кај ниту еден пациент пред почеток и по завршување на терапијата со амикацин не беа забележани вредности на бројот на леукоцити помали од долната граница на референтните вредности ( $3.5 \times 10^3/\mu\text{L}$ ).

Во нашето истражување во диференцијалната крвна слика, референтни вредности за бројот на неутрофилни гранулоцити беше 35-71%, за лимфоцити 15-44%, моноцити 2-10%, еозинофилни леукоцити 0.7-5% и базофилни леукоцити 0-1%.

По завршување на терапијата со амикацин има значајно намалување на бројот на неутрофилни гранулоцити ( од  $8.28 \pm 10.6 \times 10^3/\mu\text{L}$  пред терапија на  $6.22 \pm 8.5 \times 10^3/\mu\text{L}$  по терапија,  $p=0.0011$ ). Овие податоци за бројот на неутрофилни гранулоцити се во позитивна корелација со микробиолошкиот наод пред започнување на терапијата и по нејзиното завршување.

Не се забележани сигнификантни разлики во бројот на лимфоцити пред и по завршување на третманот со амикацин (просечна вредност на бројот на лимфоцити беше  $2.85 \pm 4.7 \times 10^3/\mu\text{L}$  пред третманот и  $2.96 \pm 3.7 \times 10^3/\mu\text{L}$  по третманот).

По завршувањето на терапијата со амикацин имаше сигнификантно поголем број на моноцити во однос на нивниот број пред почеток на третманот ( $0.62 \pm 0.2 \times 10^3/\mu\text{L}$  пред третманот и  $1.83 \pm 7.3 \times 10^3/\mu\text{L}$  по третманот).

Статистичка сигнификантна разлика е констатирана и за бројот на еозинофили пред и по антибиотската терапија ( $0.16 \pm 0.1 \times 10^3/\mu\text{L}$  пред третманот и  $0.24 \pm 0.2 \times 10^3/\mu\text{L}$  по третманот, ( $p=0.0064$ ). По завршување на третманот со амикацин, бројот на еозинофили беше значајно поголем.

Базофилите имаа просечна вредност од  $0.09 \pm 0.2 \times 10^3/\mu\text{L}$  пред почеток на терапија и  $0.05 \pm 0.1 \times 10^3/\mu\text{L}$  по завршување на терапијата. Разликата беше статистички несигнификантна.

Анализата на диференцијалната крвна слика покажува дека нема значајни поместувања во однос на процентуалната застапеност на неутрофилни гранулоцити, лимфоцити, моноцити, еозинофилни леукоцити и базофилни леукоцити пред почеток и по завршување на терапијата со амикацин.

Пред и по завршување на терапијата со амикацин не се најдени сигнификантни разлики во однос на бројот на тромбоцити ( $284.56 \pm 88.8 \times 10^3/\mu\text{L}$  пред терапија и  $273.09 \pm 77.4 \times 10^3/\mu\text{L}$  по терапија,  $p=0.31$ ). Референтни вредности за бројот на тромбоцити во нашето истражување беа  $158-424 \times 10^3/\mu\text{L}$ . Анализа на вредностите за бројот на тромбоцити кај поединечните пациенти покажа дека пред терапијата само кај 1 пациент (2.94%) се регистрирани вредности на тромбоцитите под долната граница на референтните вредности и тоа пред почетокот и по завршување на третманот со амикацин. Овие податоци се во прилог на тврдењето дека терапијата со амикацин нема никакво влијание врз бројот на тромбоцитите во нашето истражување.

#### **6.4. БЕЗБЕДНОСТ НА ТЕРАПИЈАТА СО АМИКАЦИН**

Проценка на безбедноста на терапијата со амикацин е оценета врз основа на регистрираните несакани дејства, лабораториските резултати (биохемиски и хематолошки параметри) и “тестот на шепот”.

Несаканите дејства беа бележени секој ден. И покрај тоа што пациентите секојдневно беа препрашувани за појава на несакани дејства, за време на терапијата со амикацин не беа забележани никакви несакани дејства.

Вредностите на креатинин и уреа во серум и клиренсот на креатинин кои беа одредувани при приемот на пациентот и четвртиот, седмиот, десетиот, тринаесетиот ден по приемот на пациентот и при неговото напуштање на клиниката беа во прилог на одсуство на нефротоксичност на терапијата со амикацин. Не беа забележани значајни разлики во нивото на креатинин и уреа во серум, како ни во клиренсот на креатинин за време на лекувањето.

Анализа на другите лабораториски резултати (биохемиски и хематолошки параметри) покажува дека не се забележани промени кои би сугерирале токсичност на терапијата со амикацин.

“Тестот на шепот” со кој се тестира ототоксичноста на лекот беше направен при приемот на пациентот и четвртиот, седмиот, десетиот, тринаесетиот ден по приемот на пациентот и при неговото напуштање на клиниката. Резултатите од овој тест покажуваат дека сите пациенти кои беа вклучени во истражувањето успешно

го поминаа “тестот на шепот” и тоа во сите контролни точки. Само 4 пациенти (10%) од вкупно 40 кои беа тестирани го поминаа тестот од втор пат.

Врз основа на овие резултати може да се заклучи дека амикацин покажал одлична безбедност на терапијата во нашето истражување.

## **6.5. ТЕРАПЕВТСКА ЕФИКАСНОСТ**

Терапевтската ефикасност на амикацин во нашето истражување беше евалуирана врз основа на анамнестичките симптоми за присуство на болеста, резултатите од клиничкиот преглед и резултатите од микробиолошки и други испитувања кои беа направени кај третираните пациенти.

Пред почеток на третманот со амикацин во форма на интравенска инфузија, еднаш на ден во доза од 30 mg/kg, но не повеќе од 1.5 g и времетраење од 30 минути, кај сите пациенти кои беа вклучени во истражувањето беше присутен најмалку 1 симптом. На крајот од третманот е забележана значајна редукција на бројот на симптоми кај третираните пациенти.

Оценката на општата состојба на пациентите вклучени во истражувањето беше изведена со 3 степени: не е пореметена, благо пореметување на општата состојба и тешко пореметување на општата состојба. Од пациентите вклучени во истражувањето, сите 34 пациенти примаа терапија со амикацин во времетраење од најмалку 10 дена. Пред почеток на лекувањето со амикацин само кај 2 пациенти (5.88%) општата состојба е оценета дека не е пореметена, кај 29 пациенти (85.30%) како благо пореметена и кај 3 пациенти (8.82%) како тешко пореметена. Општата состојба кај пациентите вклучени во истражувањето беше оценувана секој ден. Во првите 5 дена на лекувањето не е забележана значајна промена на општата состојба кај пациентите кои беа на терапија со амикацин. Сигнификантна разлика во подобрување на општата состојба е констатирана по 6 дена примање на амикацин (Хи-квадрат тест,  $p < 0.05$ ). По 6 дена терапија, оценето е дека општата состојба не е пореметена кај 21 пациент (61.76%), благо пореметена беше кај 12 пациенти (35.30%) и тешко пореметена кај 1 пациент (2.94%). Подобрување на општата состојба е констатирано во сите наредни денови на лекувањето и после 10 дена терапија со амикацин кај ниту еден пациент не е забележано тешко пореметување на општата состојба. Од 9-тиот до 11-тиот ден на лекувањето со амикацин, благо пореметување на општата состојба беше присутно кај 1 пациент (2.94%), а од 12-тиот ден на лекувањето кај ниту еден пациент кој беше вклучен во истражувањето.

Зголемена температура (повисока од 37.1°C) беше присутна кај 7 пациенти (20,59%) вклучени во истражувањето. После 3 дена терапија со амикацин, кај ниту еден пациент не беше констатирана зголемена температура и состојбата се задржа до крајот на лекувањето.

Слични резултати се добиените и за симптомот главоболка. Пред почеток на лекувањето главоболката како симптом беше присутна кај 4 пациенти (11.76%) со тоа што кај 1 пациент (2.94%) имаше значајно влијание на неговата општа состојба. По 7 дена терапија со амикацин, главоболката не беше присутна кај ниту еден пациент вклучен во истражувањето.

Симптомот малаксалост беше присутен кај 6 пациенти (17.64%) пред почеток на терапијата со амикацин. Од нив кај 3 пациенти ( 8.82%) имаше значајно влијание на општата состојба на пациентот. По 7 дена терапија со амикацин, малаксалоста како симптом не беше присутна кај ниту еден пациент вклучен во истражувањето.

Микробиолошкиот наод од спутум направен пред почеток на лекувањето со амикацин покажува дека кај сите пациенти е присутен најмалку 1 бактериски сој. На крајот од лекувањето со амикацин, кај ниту еден пациент не беше утврден позитивен микробиолошки наод. Одличните антимикуробни резултати добиени во нашето истражување не може да бидат припишани само на амикацин бидејќи кај сите пациенти вклучени во истражувањето покрај амикацин применет во доза од 30 mg/kg но не повеќе од 1.5 g како интравенска инфузија во времетраење од 30 минути, еднаш на ден, беа давани и други антимикуробни лекови. Во табела број 41 се прикажани другите антимикуробни лекови кои се давани истовремено со терапијата со амикацин кај пациентите со цистична фиброза.

**Табела 41: Друга антибиотска терапија давана заедно со амикацин кај пациентите со цистична фиброза:**

<b>Антимикробна терапија</b>	<b>Број на пациенти</b>
Ceftazidime + Vancomycin	7
Ceftazidime	6
Cefepime	4
Meropenem	4
Imipenem	3
Piperacillin	2
Meropenem + Vancomycin	1
Meropenem + Bactrim	1
Cefepime + Teicoplanin	1
Imipenem + Teicoplanin	1
Piperacillin/Tazobactam	1
Teicoplanin	1
Vancomycin + Cefepime	1
Vancomycin + Ciprofloxacin	1

За постигнување на одлични антимикробни резултати, кај пациентите со цистична фиброза, терапијата со амикацин е најчесто комбинирана со антибиотици од групата на цефалоспорини ( 3-та и 4-та генерација), ванкомицин и монобактами (имипенем и карбапенем).

**Табела 42.** Дистрибуција на пациенти според микробиолошки наод од спутум на пациентите со цистична фиброза, пред почеток и за време на терапијата со интравенска инфузија на Амикацин во доза од 30 mg/kg

	Позитивен микробиолошки наод (број на пациенти)		Негативен микробиолошки наод (број на пациенти)
Пред почеток на третман	34		0
После завршување на третман	0		34
Микробиолошки наод кај третираните пациенти	<b>Микробиолошки наод</b>	<b>Број на пациенти</b>	0
	<i>P.aeruginosa</i>	12	
	MRSA	6	
	<i>S.aureus</i>	7	
	<i>S.pyogenes</i>	1	
	<i>P.mirabilis</i>	1	
	<i>E coli (ESWL+)</i>	1	
	<i>S.maltophila</i>	1	
	<i>P.oleovorans</i>	1	
	<i>Aspergillus flavus</i>	2	
	<i>Candida albicans</i>	14	
<i>Candida species</i>	5		

Одличната терапевтска ефикасност ( клиничка и микробиолошка) на амикацин и другите аминогликозидни антибиотици при дозирање на овие лекови еднаш на ден се должи на концентрациски-зависното убивање на бактериите, постантибиотскиот ефект и постантибиотското зголемување на леукоцитите, како и на намалување на развојот на резистентни соеви (103,104,105). Добиените вредности во нашето истражување за односот *S*тах/*MIC* поголеми од 10 се причина за одличните клинички и микробиолошки резултати.

Терапевтската ефикасност на амикацин со резултати кои се слични со резултатите добиени во нашето истражување е докажана во голем број на клинички студии чии резултати се опишани во мета-анализи на клинички студии (103,104). Во некои од овие студии е утврдено дека осетливоста на бактериските соеви е слична кон амикацин и гентамицин и дека бактериските соеви кои се резистентни кон карбапенеми покажуваат ресистенција и кон амикацин и гентамицин (106,107). Оксидаза позитивните бактерии биле сигнификантно поосетливи кон амикацин во однос на гентамицин.

## 7.ЗАКЛУЧОЦИ

Врз основа на добиените резултати во нашето истражување ги донесовме следните заклучоци:

- 1) Кај сите пациенти со цистична фиброза кои примаа амикацин во доза од 30 mg/kg, но не повеќе од 1.5 g на ден, еднаш на ден, во времетраење од 30 минути, пред давање на третата доза на лекот ( постигната состојба на “steady-state” ) се постигнати концентрации на амикацин во серум  $\leq 2\mu\text{g/ml}$  и поради тоа не е потребно прилагодување на дозата на лекот, односно терапијата беше продолжена со истата доза на лекот. Концентрации на амикацин во серум  $\leq 2\mu\text{g/ml}$  беа постигнати и пред давање на четвртата и петтата доза на лекот.
- 2) Врз основа на резултатите добиени за концентрациите на амикацин во серум пред давање на третата, четвртата и петтата доза на лекот заклучивме дека кај пациентите со цистична фиброза во нашата популација не треба да се врши терапевтски мониторинг на концентрациите на амикацин во серум при давање на лекот во доза од 30 mg/kg, но не повеќе од 1.5 g на ден, еднаш на ден, во времетраење од 30 минути. Овој заклучок ќе придонесе за постигнување на значајни заштеди на средства од страна на фондот за здравствено осигурување на Р.С.Македонија со оглед на тоа што само материјалните трошоци за одредување на концентрацијата на амикацин во серум се околу 20 ЕУР по примерок. Одредување на концентрацијата на амикацин во серум треба да биде направено само кај пациенти кај кои ќе бидат забележани несакани дества, посебно нефротоксичност или ототоксичност (аудитивна или вестибуларна токсичност)
- 3) Кај сите пациенти со цистична фиброза кои примаа амикацин во дози и на начин кој е претходно опишан, беа постигнати максимални концентрации на амикацин во серум по постигнување на “steady-state” на серумските концентрации ( $C_{\text{max}}$ ) кои беа за повеќе од 10 пати поголеми во однос на минималните инхибиторни концентрации за осетливите бактериски соеви (MIC). Постигнувањето на овие концентрации овозможува добро антимикубно дејство на амикацин.

- 4) Просечната вредност на максималните концентрации на амикацин во серум по постигнување на “steady-state” на серумските концентрации ( $C_{max}$ ) во нашето истражување беше поголема од 100  $\mu\text{g/ml}$ . Поради тоа што при високи концентрации на амикацин се зголемува инциденцата на јавување на несакани дејства, треба да се размисли за поделба на дневната доза на амикацин во две еднакви поединечни дози по 15 mg/kg.
- 5) За време на терапијата со амикацин кај пациентите со цистична фиброза беше констатирана одлична безбедност на лекот. Кај ниту еден пациент вклучен во истражувањето не беа забележани никакви несакани дејства. Концентрацијата на креатинин и уреа во серум и клиренсот на креатинин како параметри со кои е следена нефротоксичноста на амикацин не покажаа никакви промени во контролните точки за време на истражувањето во однос на вредностите за овие параметри добиени пред третманот. За време на терапијата со амикацин не се забележани промени во контролните точки во однос на вредностите добиени пред почетокот на третманот и во однос на другите биохемиски параметри ( гликоза, вкупен билирубин, директен и индиректен билирубин, лактат дехидрогеназа, серумско железо, феритин и триглицериди). Терапијата со амикацин не покажа значајни разлики во однос на вредностите добиени пред почеток на третманот и за хематолошките параметри (број на еритроцити, хемоглобин, хематокрит, број на тромбоцити, неутрофили, лимфоцити, моноцити, базофили, неутрофили). Сигнификантното зголемување на бројот на леукоцити, ALT и AST и креатин киназа е многу помало од опишаното во литература и се должи на зголемување на вредностите за овие параметри кај мал број на пациенти.
- 6) Терапијата со амикацин кај пациентите со цистична фиброза во нашето истражување покажа одлична терапевтска ефикасност на лекот. Значајно подобрување беше констатирано во однос на сите симптоми на заболувањето кои беа присутни пред почеток на третманот, физикалниот наод и микробиолошкиот наод. Во однос на терапевтската ефикасност во нашето истражување не може прецизно да се заклучи дали таа се должи на терапијата со амикацин или на другите антимикробни лекови користени за време на истражувањето (цефалоспорини од трета и четврта генерација,



монобактами, карбапенеми, ванкомицин и теикопланин). За време на истражувањето е констатирано и значајно намалување на инфламацијата кај третираниите пациенти во однос на вредностите добиени пред третманот, измерено преку концентрацијата на инфламаторниот маркер – CRP (C-реактивен протеин).

- 7) Значењето на нашето истражување е лимитирано со релативно малиот број на пациенти вклучени во истражувањето и со големата варијабилност на физиолошките карактеристики кај пациентите со цистична фиброза. Од овие причини понатамошните истражувања за потврда на овие сознанија треба да бидат насочени кон вклучување во истражувањето на сите пациенти со цистична фиброза кои примаат амикацин при што ќе бидат анализирани и влијанието на други варијабли како што се возраста, тежината на болеста и истовремената примена на други лекови врз фармакокинетиката на амикацин. Исто така, со цел да се утврди потребата од терапевтски мониторинг на концентрацијата на амикацин кај пациенти во тешка состојба во единиците на интензивна нега, треба да се спроведе истражување и кај овие пациенти при што ќе бидат следени концентрациите на амикацин во серум според соодветен протокол. Единствен фактор кој може да спречи спроведување на вакво истражување се лимитираните финансиски ресурси.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Kang JS and Lee MH: Overview of Therapeutic Drug monitoring. Review. DOI: 10.3904/kjim.2009.24.1.1.
2. Ghiculescu RA: Therapeutic Drug monitoring: which drugs, why, when and how to do it. *Aust Prescr* 2008, 31:42-44.
3. Xu L, Cheng X, Guanhua Z, Hu J, Li Q, Fan G: Therapeutic Drug monitoring of amikacin: quantification in plasma by liquid chromatography-tandem mass spectrometry and work experience of clinical pharmacists. *Eur J Hosp Pharm* 2022, e77-e82.doi:10.1136/ejhpharm-2021-003-049.
4. Zylbersztajn B, Barraza M, Torres JP, Morales J: Therapeutic monitoring of antimicrobial agents un pediatrics. Review based on Latin American experiences. *Rev.chil.infectol.* 2018, vol 35 (1).
5. Schultz M, Schmoltdt A, Andersen-Streichert H and Iwersen-Bergmann S: Revisited: Therapeutic and toxic blood concentrations of more than 1100 drugs and other xenobiotics. *Critical Care* 2020, 24:195. <https://doi.org/10.1186/s13054-020-02915-5>.
6. Aronson JK, Hardman M: ABC of monitoring drug therapy:measuring plasma drug concentrations. *BMJ* 1992, 305:1078-1080.
7. Cristodorescu R, Deutsch G, Dragan S: Clinical utility of plasma digoxin measurement. *Med Interne* 1989, 27:25-32.
8. Pacifici GM and Marchini G: Clinical Pharmacology of amikacin in infants and children. *Clin Med Invest* 2020, 5:1-14. doi:10.15761/CMI.1000199.
9. Birkett DJ:Therapeutic Drug Monitoring. *Aust Prescr* 1997, 20:9-11.
10. Gross AS:Best practice in therapeutic drug monitoring. *Br J Clin Pharmacol* 1998, 46:95-99.
11. Bootman JL,Harrison DL: Pharmacoeconomics and therapeutic drug monitoring. *Pharm Word Sci* 1997, 19:178-181PMID:9297729.
12. Schumacher GE, Barr JT: Economic and outcome issues for therapeutic drug monitoring in medicine. *Ther Drug Monit* 1998, 20:539-542PMID:9780132.
13. Schumacher GE, Barr JT: Total testing process applied to therapeutic drug monitoring: impact on patients outcomes and economics. *Clin Chem* 1998, 44:370-374PMID:9474047.
14. Jenkins A, Thomson HA, Brown MN, Semple Y, Sluman C, MacGowanA, Lovering MA and Wiffen JP: Amikacin use and therapeutic drug monitoring in adults: do dose regimens and drug exposures affects either outcome or adverse events? A systematic review. *J.Antimicrob Chemother* 2016, 71:2754-2759.
15. Amikacin 250 mg/ml & 500 mg/ml SmPC: <https://www.medicines.org.uk/emc/product/3784/smpc#gref>.
16. Ramirez MS, Tolmasky ME. Amikacin: Uses, Resistance, and Prospects for Inhibition. *Molecules.* 2017 Dec 19;22(12):2267. doi: 10.3390/molecules22122267. PMID: 29257114; PMCID: PMC5889950.
17. ABPI. Amikin U.: Association of the British Pharmaceutical Industry-Data Sheet Compendium. Datapharm Publications Limited, London 1991-1992; p. 256-258.

18. Bennet D: Aminoglycosides: Drug Evaluations Annual 1991. American Medical Association, Milwaukee, WI 7th edition 1991; str.1307-1332.
19. Potel G : Impact of dosage schedule on the efficacy of gentamicin, tobramycin, or amikacin in an experimental model of *Serratia marcescens* endocarditis: in vitro-in vivo correlation. *Antimicrob Agents Chemother*, 1991; 35: 111-116.
20. Ramirez S.M. and Tolmasky E.M.: Amikacin: Uses, Resistance, and Prospects for Inhibition. *Molecules* 2017, 22:2267: [www.mdpi.com./journal/molecules](http://www.mdpi.com./journal/molecules).
21. Avent M.L., Rogers B.A., Cheng A.C., Paterson D.L.: Current use of aminoglycosides: indications, pharmacokinetics and monitoring for toxicity. *Internal Medicine Journal* 2011, Vol.41 (6): 441-449.
22. López-Valdez JA, Aguilar-Alonso LA, Gándara-Quezada V, Ruiz-Rico GE, Ávila-Soledad JM, Reyes AA, Pedroza-Jiménez FD. Cystic fibrosis: current concepts. *Bol Med Hosp Infant Mex*. 2021;78(6):584-596. English. doi: 10.24875/BMHIM.20000372. PMID: 34934215.
23. Accurso FJ, Sontag MK, Wagener JS. Complications associated with symptomatic diagnosis in infants with cystic fibrosis. *J Pediatr*. 2005;147:S37-41
24. Suwantarat N, Rubin M, Bryan L, Tekle T, Boyle MP, Carroll KC, et al. Frequency of small colony variants and antimicrobial susceptibility of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in patients with cystic fibrosis. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2018;90:296-99.
25. British Columbia Ministry of Health. (n.d.). Care guidelines for pulmonary exacerbations in cystic fibrosis. [https://www2.gov.bc.ca/assets/gov/health/practitioner-pro/bc-guidelines/cystic-fibrosis/care\\_guidelines\\_for\\_pulmonary\\_exacerbations.pdf](https://www2.gov.bc.ca/assets/gov/health/practitioner-pro/bc-guidelines/cystic-fibrosis/care_guidelines_for_pulmonary_exacerbations.pdf)
26. Blanchard AC, Waters VJ. Microbiology of Cystic Fibrosis Airway Disease. *Semin Respir Crit Care Med*. 2019 Dec;40(6):727-736. doi: 10.1055/s-0039-1698464. Epub 2019 Dec 30. PMID: 31887768; PMCID: PMC7117079.
27. Ren C L, Morgan W J, Konstan M W et al. Presence of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* in respiratory cultures from cystic fibrosis patients is associated with lower lung function. *Pediatr Pulmonol*. 2007;42(06):513–518. doi: 10.1002/ppul.20604. [DOI] [PubMed] [Google Scholar].
28. Bisht K, Baishya J, Wakeman CA. *Pseudomonas aeruginosa* polymicrobial interactions during lung infection. *Curr Opin Microbiol*. 2020 Feb;53:1-8. doi: 10.1016/j.mib.2020.01.014. Epub 2020 Feb 12. PMID: 32062024; PMCID: PMC7244363.
29. Goss CH, Burns JL. Exacerbations in cystic fibrosis. 1: Epidemiology and pathogenesis. *Thorax*. 2007 Apr;62(4):360-7. doi: 10.1136/thx.2006.060889. PMID: 17387214; PMCID: PMC2092469.
30. Pompilio A, Crocetta V, Confalone P et al. Adhesion to and biofilm formation on IB3-1 bronchial cells by *Stenotrophomonas maltophilia* isolates from cystic fibrosis patients. *BMC Microbiol*. 2010;10:102. doi: 10.1186/1471-2180-10-102. [DOI] [PMC free article] [PubMed] [Google Scholar]
31. Crossman L C, Gould V C, Dow J M et al. The complete genome, comparative and functional analysis of *Stenotrophomonas maltophilia* reveals an organism heavily shielded by drug resistance determinants. *Genome Biol*. 2008;9(04):R74. doi: 10.1186/gb-2008-9-4-r74. [DOI] [PMC free article] [PubMed] [Google Scholar]

32. Ridderberg W, Nielsen S M, Nørskov-Lauritsen N. Genetic adaptation of *Achromobacter* sp. during persistence in the lungs of cystic fibrosis patients. *PLoS One*. 2015;10(08):e0136790. doi: 10.1371/journal.pone.0136790. [DOI] [PMC free article] [PubMed] [Google Scholar]
33. Chavanda S, Gupta M, Dhole T.: Black hairy tongue associated with linezolid therapy in a patient with mycobacterial abscesses infection-Report from rural India. *Clinical Case Report/ International Journal of Infectious Diseases* 2021, 01(S1),159-179.
34. Valenza G, Tappe D, Turnwald D et al. Prevalence and antimicrobial susceptibility of microorganisms isolated from sputa of patients with cystic fibrosis. *J Cyst Fibros*. 2008;7(02):123–127. doi: 10.1016/j.jcf.2007.06.006. [DOI] [PubMed] [Google Scholar]
35. Schögler A, Stokes A B, Casaulta C et al. Interferon response of the cystic fibrosis bronchial epithelium to major and minor group rhinovirus infection. *J Cyst Fibros*. 2016;15(03):332–339. doi: 10.1016/j.jcf.2015.10.013. [DOI] [PMC free article] [PubMed] [Google Scholar]
36. Cystic Fibrosis Trust. Antibiotic Treatment for Cystic Fibrosis. November 2020, <https://www.cysticfibrosis.org.uk/sites/default/files/2020-11/Anitbiotic%20Treatment.pdf>.
37. Dorian C, Cambar J.: Cicadian variations of amikacin nephrotoxicity in rats. *Pathol Biol Paris*, 1987; 35:731-734.
38. Puel J.: Dose-dependent changes in the rat cochlea following aminoglycoside intoxication. I. Physiological study. *Hear Res*, 1987; 26 : 191-197.
39. Lenoir M, Puel J.: Dose dependent changes in the rat cochlea following aminoglycoside intoxication. II. Histological study : *Hear Res* 1987; 26:199-209.
40. Pettrossi V: The impact od different dosing regimens of the aminoglycosides netilmicin and amikacin on vestibulotoxicity in the guinea pig. *Eur Arch O torhinolaryngol*, 1990; 247 : 277-282.
41. Yokota M: Ototoxic effects of a pseudodisaccharide aminoglycoside antibiotic, dactimicin, on the inner ears of guinea pigs. *Chemotherapy* 1989; 35; 431-440.
42. Takumida H: Effect of dosing schedule on aminoglycoside ototoxicity: comparative cochlear ototoxicity of amikacin and isepamicin. *ORL J Othorinolaringol Relat Spec* 1990; 52 : 341-349.
43. Duffy M.: Amikacin® (amikacin).: *Physician's Desk Reference*. Medical Economics Inc., Montvale, N.J., 1992; 46th edition,602-604.
44. USP DI.: Aminoglycosides: amikacin. *Drug Information*. Drug Information for Health Care Professional. 17 th Edition, 1997; 68-73.
45. Zulich Von B, Sack K.: Amikacin und kanamycin. Vergleichede tierexperimentelle untersuchungen zur nephrotoxicitat. *Arzneim Forsch/Drug Res* 1978; 28 : 271-278.
46. Provoost A i sor.: Neprotoxicity of aminoglycoside in young and adult rats. *Pediatr Res* 1985; 19 : 1191-1198.
47. Gibey R: Nephrotoxicity of the combination of cyclosporin and aminoglycoside in rats. Comparative study of gentamicin and amikacin. *Pathol Biol (Paris)* 1990; 38:513-516.
48. Silva R: Aminoglycoside and nephrotoxicity. *Renal Physiol* 1988; 10 : 327-337.

49. Beaubien A : Evidence that amikacinotoxicity is related to total perilymph area under the concentration time curve regardless of concentration. *Antimicrob Agents Chemother* 1991; 35:1070-1074.
50. Schmitz K.: Diffusion of amikacin at the membrane of the round window. Histologic and electrophysiologic study in newborn guinea pigs. *Laryngorhinootologie* 1991; 70: 350-352.
51. Martines G : Amikacin-induced liver toxicity : correlation between biochemical indexes and ultrastructural features in an experimental model. *Rev Med Univ Navarra* 1988; 32: 41-45.
52. Marcotti W., van Netten S. M., Kros C. J. (2005). The aminoglycoside antibiotic dihydrostreptomycin rapidly enters mouse outer hair cells through the mechano-electrical transducer channels. *J. Physiol.* 567, 505–521. 10.1113/jphysiol.2005.085951 [DOI] [PMC free article] [PubMed] [Google Scholar]
53. Nyberg S, Abbott NJ, Shi X, Steyger PS, Dabdoub A. Delivery of therapeutics to the inner ear: The challenge of the blood-labyrinth barrier. *Sci Transl Med.* 2019 Mar 6;11(482):eaa0935. doi: 10.1126/scitranslmed.aao0935. PMID: 30842313; PMCID: PMC6488020.
54. Dai C. F., Mangiardi D., Cotanche D. A., Steyger P. S. (2006). Uptake of fluorescent gentamicin by vertebrate sensory cells in vivo. *Hear. Res.* 213, 64–78. 10.1016/j.heares.2005.11.011 [DOI] [PMC free article] [PubMed] [Google Scholar]
55. Kim J, Ricci AJ. In vivo real-time imaging reveals megalin as the aminoglycoside gentamicin transporter into cochlea whose inhibition is otoprotective. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2022 Mar 1;119(9):e2117946119. doi: 10.1073/pnas.2117946119. PMID: 35197290; PMCID: PMC8892513.
56. Imamura S., Adams J. C. (2003). Distribution of gentamicin in the guinea pig inner ear after local or systemic application. *J. Assoc. Res. Otolaryngol.* 4, 176–195. 10.1007/s10162-002-2036-8 [DOI] [PMC free article] [PubMed] [Google Scholar]
57. Kitahara T., Li H. S., Balaban C. D. (2005). Changes in transient receptor potential cation channel superfamily V (TRPV) mRNA expression in the mouse inner ear ganglia after kanamycin challenge. *Hear. Res.* 201, 132–144. 10.1016/j.heares.2004.09.007 [DOI] [PubMed] [Google Scholar]
58. Hashino E., Shero M., Salvi R. J. (1997). Lysosomal targeting and accumulation of aminoglycoside antibiotics in sensory hair cells. *Brain Res.* 777, 75–85. 10.1016/s0006-8993(97)00977-3 [DOI] [PubMed] [Google Scholar]
59. Hailey D. W., Esterberg R., Linbo T. H., Rubel E. W., Raible D. W. (2017). Fluorescent aminoglycosides reveal intracellular trafficking routes in mechanosensory hair cells. *J. Clin. Invest.* 127, 472–486. 10.1172/JCI85052 [DOI] [PMC free article] [PubMed] [Google Scholar]
60. McIlwain, D.R., Berger, T. and Mak, T.W. (2013) Caspase Functions in Cell Death and Disease. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 5, [ahttps://doi.org/10.1101/cshperspect.a008656](https://doi.org/10.1101/cshperspect.a008656).
61. Xie J, Talaska AE, Schacht J. New developments in aminoglycoside therapy and ototoxicity. *Hear Res.* 2011 Nov;281(1-2):28-37. doi: 10.1016/j.heares.2011.05.008. Epub 2011 May 27. PMID: 21640178; PMCID: PMC3169717.

62. Hou, W., Xie, Y., Song, X., Sun, X., Lotze, M. T., Zeh, H. J., et al. (2016). Autophagy promotes ferroptosis by degradation of ferritin. *Autophagy* 12 (8), 1425–1428. doi:10.1080/15548627.2016.1187366
63. Koo, J. W., Quintanilla-Dieck, L., Jiang, M., Liu, J., Urdang, Z. D., Allensworth, J. J., et al. (2015). Endotoxemia-mediated inflammation potentiates aminoglycoside-induced ototoxicity. *Sci. Transl. Med.* 7 (298), 298ra118. doi:10.1126/scitranslmed.aac5546
64. Li H., Kachelmeier A., Furness D. N., Steyger P. S. (2015). Local mechanisms for loud sound-enhanced aminoglycoside entry into outer hair cells. *Front. Cell. Neurosci.* 9:130. 10.3389/fncel.2015.00130 [DOI] [PMC free article] [PubMed] [Google Scholar]
65. Gilbert D N. Aminoglycosides. In: Mandell G L, Bennett J E, Dolin R, editors. *Principles and practice of infectious diseases*. 4th ed. New York, N.Y: Churchill Livingstone; 1995. pp. 279–306. [Google Scholar]
66. Mingeot-Leclercq M P, Glupczynsky Y, Tulkens P M. Aminoglycosides: activity and resistance. *Antimicrob Agents Chemother.* 1999;43:727–737. doi: 10.1128/aac.43.4.727. [DOI] [PMC free article] [PubMed] [Google Scholar]
67. Assael B M, Chiabrando C, Gagliardi L, Nosedà A, Bamonte F, Salmona M. Prostaglandins and aminoglycoside nephrotoxicity. *Toxicol Appl Pharmacol.* 1985;78:386–394. doi: 10.1016/0041-008x(85)90244-3. [DOI] [PubMed] [Google Scholar]
68. Elliott W C, Houghton D C, Gilbert D N, Baines-Hunter J, Bennett W M. Gentamicin nephrotoxicity. II. Definition of conditions necessary to induce acquired insensitivity. *J Lab Clin Med.* 1982;100:513–525. [PubMed] [Google Scholar]
69. Illamola MS, Shervin MC, Coen van Hasselt JG: Clinical Pharmacokinetics of Amikacin in Pediatric Patients : A Comprehensive Review of Population Pharmacokinetic Analyses. *Clin. Pharmacokinet*,2018: <https://doi.org/10.1007/s40262-018-0641-x>.
70. Sumpter A, Anderson BJ: Pediatric Pharmacology in the first year of life. *Curr. Opin. Anesthesiol.* 2009, 22(4):469-475.
71. Zaske D.: *Applied Pharmacokinetics. Principles of therapeutic Drug Monitoring*. 3<sup>rd</sup> ed. Vancouver: Applied Pharmacokinetics:1992.
72. Toit M, Burger JR, Rakumakoe MD and Rheeders M: Standards of aminoglycoside therapeutic drug monitoring in a South Africa private hospital: perspectives and implications. *Ghana Med J*:2019, 53(1):8-12.
73. Abdul -Aziz HM, Alffenaar Jan-Willem C, Bassetti M, Bracht H, Dimopoulos G, Marriott D, Neely NM et al: Antimicrobial therapeutic drug monitoring in critically ill adult patients: a Position Paper. *Intensive Care Med* 2020, 46:1127-1153.
74. Buclin T, Thoma Y, Widmer N, Andre P, Guidi M, Csajka C, Decosterd AL: The steps to Therapeutic Drug Monitoring: A structured Approach Illustrated with Imatinib. *Front Pharmacol* 2020, <https://doi.org/10.3389/fphar.202000177>.
75. Rodvold AK, Pharmacodynamics of anti-infective therapy: Taking What we know to the patients bedside, *Pharmacotherapy* 2001;21(11s).
76. Bauer LA. *Applied clinical Pharmacokinetics*. McGraw Hill Medical. 2008;207-210.

77. Banerjee S: Monitoring aminoglycoside level: *BMJ* 2012, 345:e6354. Doi:<https://doi.org/10.1136/bmj.e6354>.
78. Avent ML, Rogers BA, Cheng AC, Paterson DL: Current use of aminoglycosides: indications, pharmacokinetics and monitoring for toxicity. *Internal Medicine J*, 41(6):441-449.
79. Kirby WMM, Perry DM, Bauer AW. Treatment of staphylococcal septicemia with vancomycin. *N Engl J Med*. 1960;262:49-55.
80. Gump DW. Vancomycin for treatment of bacterial meningitis. *RevInfectDis*. 1981;3:S289-292.
81. Bailie GR, Neal D. Vancomycin ototoxicity and nephrotoxicity. A review. *MedToxicolAdverseDrugEsp*. 1988;3(5):376-386.
82. Ritschel A.W. : *Handbook of Basic Pharmacokinetics*. First edition, Printed in United States of America by Hamilton Press.Inc., 1976.
83. Deirdre M D'Arcy, Eoin Casey, Caitriona M Gowing, Maria B Donnelly and Owen I Corrigan: An open prospective study of amikacin pharmacokinetics in critically ill patients during treatment with continuous venovenous haemodiafiltration. *Pharmacology and Toxicology* 2012, 13:14, <http://www.biomedcentral.com/2050-6511/13/14>.
84. Duszyńska W, Taccone FS, Hurkacz M., Kowalska-Krochma B., Wiela-Hojeńska A., Kübler A: Therapeutic drug monitoring of amikacin in septic patients. *Crit. Care* 2013, **17**, R165 <https://doi.org/10.1186/cc12844>.
85. Feng CH, Lin SJ, Wu HL, Chen SH: Trace analysis of amikacin in human plasma by high-performance liquid chromatography. *Chromatographia* 2001, **53**(1), 213–217. <https://doi.org/10.1007/BF02490330>.
86. Wong LT, Beaubien A.R., Pakuts AP: Determination of amikacin in microlitre quantities of biological fluids by high-performance liquid chromatography using 1-fluoro-2, 4-dinitrobenzene derivatization. *J. Chromatogr. B: Biol. Sci. Appl*. 1982, 231, 145–154.
87. Simon N, Décaudin B, Lannoy D, Odou M, De Broucker M, Barthélémy C, Poret E, Dubreuil L, Odou P: Impact of infusion method on amikacin serum levels in humans. *Pulm Pharmacol Ther* 2010, 23 (4): 324-326. DOI: 10.1016/j.pupt.2010.03.005.
88. Satoru T, Takashi Sano, Kazuhiko S, Kimikazu S, Keiso M, Yoshio T, Yasuhito S: Assessment of Therapeutic Regimen for Amikacin Based on Clinical Pharmacokinetics. *Journal Free Access*, 1985 Volume 33, 3, 253-262. Doi: <https://doi.org/10.11250/chemotherapy1953.33.253>.
89. Boidin C, Jenck S, Bourguignon L, Torkmani S, Roussey-Jean A, Ledochowski S: Determinants of amikacin first peak concentration in critically ill patients. *Fundam Clin Pharmacol*. 2018. <https://doi.org/10.1111/fcp.12374>.
90. Roberts JA, Abdul-Aziz MH, Lipman J, Mouton JW, Vinks AA, Felton TW: Individualised antibiotic dosing for patients who are critically ill : challenges and potential solutions. *Lancet Infect Dis*. 2014;14:498–509. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(14\)70036-2](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(14)70036-2).
91. Allou N, Bouteau A, Allyn J, Snauwaert A, Valance D, Jabot J: Impact of a high loading dose of amikacin in patients with severe sepsis or septic shock. *Ann Intensive Care*. 2016. <https://doi.org/10.1186/s13613-016-0211-z>.
92. Logre E, Enser M, Tanaka S, Dubert M, Claudinon A, Grall N, Mentec H, Montravers P, Pajot O: Amikacin pharmacokinetic/pharmacodynamic in intensive care unit: a

prospective database *Ann Intensive Care*. 2020; 10: 75. Published online 2020 Jun 8. doi: 10.1186/s13613-020-00685-5.

93. Fernández EMS, Pérez-Blanco JS, Lanao JM, **Calvo VM**, Martín-Suárez A: Evaluation of renal function equations to predict amikacin clearance. *Expert Review of Clinical Pharmacology*, 2019, Vol.12 (8),805-813. <https://doi.org/10.1080/17512433.2019.1637253>.

94. Bajracharya S, Pandey K, Haque A.: To evaluate the creatinine clearance and compare nephrotoxic potential of amikacin and gentamicin, in post-operative patients with normal baseline renal function. *International Journal of Basic and Clinical Pharmacology* 2016, Vo. 5 (5) : 1942-1948. DOI: <http://dx.doi.org/10.18203/2319-2003.ijbcp20163216>.

95. Ballesteros J, Northland R, Wolff M: Gentamicin and Amikacin nephrotoxicity: comparative study in patients with initially normal renal function. *RevMedChil*.1989;117(1):10-7.10.

96. Sweileh W M: A prospective comparative study of gentamicin and Amikacin induced nephrotoxicity in patients with normal baseline renal function. *Fundam Clin Pharmacol*. 2009; 23 (4): 515-20.

97. Hadjipour N. Histopathological comparison of Gentamicin and Amikacin nephrotoxicity in rabbits. *Journal of Animal and Veterinary Advances*.2011;10(8):1003-6.

98. Upadhyay1 N, Kumar1 N, Shrivastav1 A, Singh1 S, Shrivastava N, Ahirwar MK, Shakya SK and Ranjan1 R: Haemato-Biochemical Changes associated with Intramuscular Administration of Amikacin. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 2021, Vol.10 (05):1295-202. <https://doi.org/10.20546/ijcmas.2021.1005.026>.

99. Thapa BR and Walia A: Liver function test and their interpretation. *Indian J. Pediatr.*, 2007; 74:663-671.

100. Giboney P T: Mildly elevated liver transaminase levels in the asymptomatic patient. *Am. Fam. Physician*, 2005, 71:1105-1110.

101. Gaze D C : The role of existing and novel cardiac biomarkers for cardioprotection. *Curr. Opin. Investig. Drugs* 2007, 8: 711-717.

102. von Dach E, Albrich CW, Brunel AS; Prendki V, Cuvelier C, Flury D, Gayet-Ageron A, Huttner B, Kohler P, Lemmenmeier E, McCallin S, Rossel A, Harbarth S, Kaiser L, Bochud PY, Huttner A: Effect of C-Reactive Protein–Guided Antibiotic Treatment Duration, 7-Day Treatment, or 14-Day Treatment on 30-Day Clinical Failure Rate in Patients With Uncomplicated Gram-Negative Bacteremia A Randomized Clinical Trial. *JAMA*. 2020;323(21):2160-2169. doi:10. 1001/jama.2020.6348.

103. Ali MZ, Goetz MB: A meta-analysis of the relative efficacy and toxicity of single daily dosing versus multiple daily dosing of aminoglycosides. *Clin Infect Dis* 1997, 24(5):796-809. doi: 10.1093/clinids/24.5.796.

104. Bailey TC, Little JR, Littenberg B, Reichley RM, Dunagan WC: A meta-analysis of extended interval dosing versus multiple daily dosing of aminoglycosides. *Clin Infect Dis* 1997, 24(5):786-795. doi: 10.1093/clinids/24.5.786.

105. Barclay ML, Begg EJ, Chambers ST: Adaptive resistance following single doses of gentamicin in a dynamic in vitro model. *Antimicrob Agents Chemother* 1992, 36 (9): 1951-7. doi: 10.1128/AAC.36.9.1951.

106. Singh BR, Agri H, Karthikeyan R, Jayakumar V: Comparative Antimicrobial Activity of Amikacin and Gentamicin on Clinically Important Bacteria. *Journal of Pharmacology and Clinical Toxicology*, 2023, 11(3), 1180.

107. Kristich CJ, Rice LB, Arias CA: Enterococcal infection-treatment and antibiotic resistance. In: Gillmore MS, Clewell DB, Ike Y editors. *Enterococci: from commensals to leading causes of drug resistant infection*, Boston: Massachusetts Eye and Ear Infirmary, 2014.