

ĆWICZENIE 7. Wyznaczenie parametrów farmakokinetycznych salicylanów tworzących się z kwasu acetylosalicylowego w moczu

Cele ćwiczenia

Wyznaczenie parametrów farmakokinetycznych salicylanów tworzących się z kwasu acetylosalicylowego po jednorazowej dawce doustnej 600 mg i porównanie ich z parametrami farmakokinetycznymi obliczonymi dla dawek 385 mg, 770 mg i 1155 mg w celu zbadania wpływu dawki kwasu acetylosalicylowego na farmakokinetykę salicylanów.

Wymagane zagadnienia

Eliminacja leku z moczem: filtracja kłębuszkowa, sekrecja kanalikowa, resorpcja zwrotna. Definicja klirensu nerkowego i metody jego wyznaczania. Przebieg zmian kumulowanej ilości leku w moczu po jednorazowej dawce dożylniej i pozanaczyniowej (równania, wykresy). Zależność szybkości eliminacji leku oraz klirensu nerkowego od stężenia leku w osoczu (wykresy i ich interpretacja).

Równanie Michaelisa-Menten i jego interpretacja w zależności od stężenia leku i wartości stałej Michaelisa. Półlogarytmiczna zależność ilości leku (X) podanego w trzech różnych dawkach od czasu (t) w przypadku eliminacji leku na drodze jednego procesu według Michaelisa-Menten, po przyjęciu modelu jednokompartimentowego. Zależność między stężeniem leku w stanie stacjonarnym przeliczonym na dawkę (C_{ss}/D) a wielkością tej dawki (D) dla leków eliminowanych zgodnie z procesem pierwszego rzędu, jednocześnie przez proces pierwszego rzędu i proces Michaelisa-Menten oraz zgodnie z procesem Michaelisa-Menten..

1. Eliminacja leku z moczem po podaniu dożylnym

Eliminacja leku z moczem. Wyznaczanie parametrów farmakokinetycznych na podstawie oznaczeń leku w krwi jest metodą inwazyjną, uciążliwą dla chorego, związaną z koniecznością wielokrotnego pobierania próbki krwi chorego. Metodą prostszą, mniej kłopotliwą dla pacjenta, jest wyznaczanie parametrów farmakokinetycznych na podstawie oznaczeń ilości leku w moczu. Metodę tę można zastosować pod warunkiem, że przynajmniej część leku, najlepiej jak największa, wydalana jest przez nerki w postaci niezmienionej.

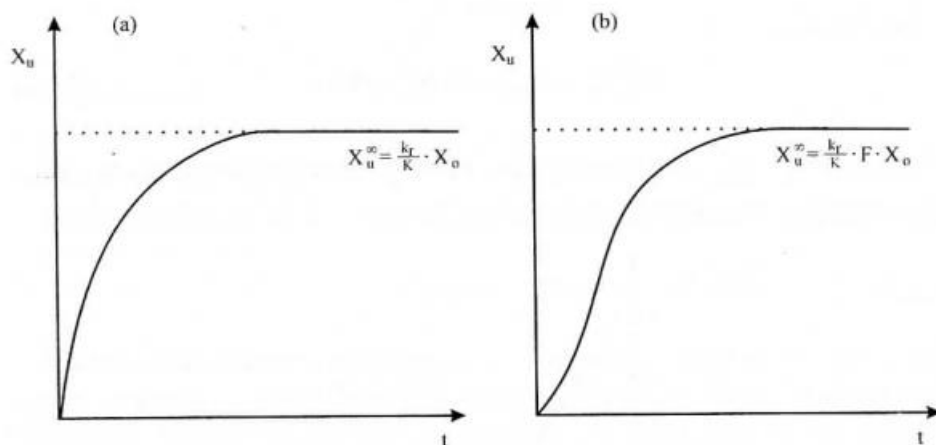
Szybkość wydalania leku przez nerki można określić równaniem:

$$-\frac{dX}{dt} = \frac{dX_u}{dt} = k_r \cdot X \quad (1.9)$$

gdzie, X_u – jest ilością leku w moczu w czasie t ; k_r – stałą szybkości eliminacji leku z moczem. Podstawiając do powyższej zależności równanie 1.3 otrzymujemy:

$$\frac{dX_u}{dt} = k_r \cdot X_0 \cdot e^{-Kt} \quad (1.10)$$

Całkowita ilość leku w moczu rośnie wraz z czasem i po nieskończenie długim czasie osiąga wartość X_u^∞ (Ryc. 1.2, (a)).



Ryc. 1.2. Ilość leku eliminowanego z moczem po podaniu jednorazowej dawki dożylniej (a) i doustnej (b) w modelu jednokompartamentowym jako funkcja czasu. Jeśli ułamek dawki wchłoniętej $F = 1$ i nie przebiegają procesy metaboliczne podczas pierwszego przejścia, to wartości X_u^∞ są sobie równe (a i b).

Całkując równanie 1.10 w granicach od zera do czasu t otrzymujemy zależność pozwalającą obliczyć stałą szybkości eliminacji leku z moczem oraz całkowitą ilość leku wydaloną z moczem X_u^∞ :

$$X_u = \frac{k_r \cdot X_0}{K} (1 - e^{-K \cdot t}) \quad (1.11)$$

gdzie:

$$X_u^\infty = \frac{k_r \cdot X_0}{K} \quad (1.12)$$

Z powyższego równania wynika, że stosunek $X_u^\infty / X_0 = k_r / K$. Zależność ta jest powszechnie wykorzystywana do oznaczania stałej k_r na podstawie oznaczeń ilości leku wydalonego z moczem.

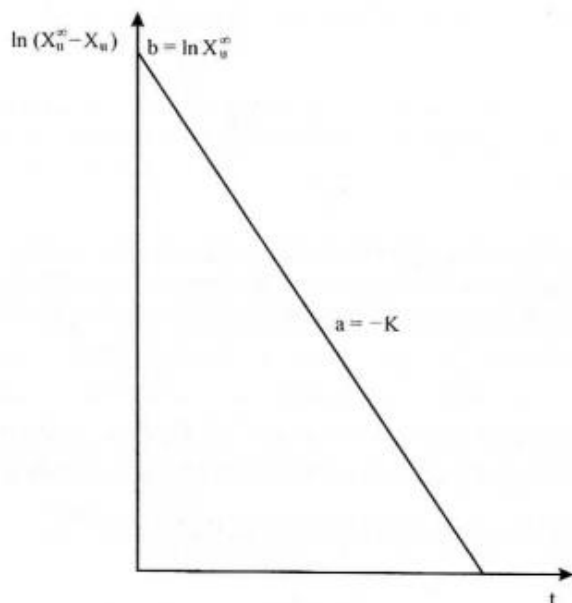
W przypadku, gdy jedyną drogą eliminacji leku są nerki i lek nie ulega metabolizmowi, po nieskończeniu długim czasie wartość X_u^∞ będzie równa wartości X_0 , czyli dawce leku ($k_r = K$). Równanie 1.11 przyjmie postać wykładniczą:

$$X_u = X_u^\infty (1 - e^{-K \cdot t}) \quad (1.13)$$

lub liniową:

$$\ln(X_u^\infty - X_u) = \ln X_u^\infty - K \cdot t \quad (1.14)$$

gdzie: $X_u^\infty - X_u$ jest ilością leku, która pozostała jeszcze do wydalenia z ustroju z moczem (Ryc. 1.3).



Ryc. 1.3. Ilość leku, która pozostała do wydalenia z moczem po jednorazowej dawce dożylniej, w skali półlogarytmicznej, jako funkcja czasu; $X_u^\infty = \frac{k_r \cdot X_0}{K}$; gdy jedyną drogą eliminacji leku są nerki, to $X_u^\infty = \text{dawce}$.

Powyższa logarytmiczna zależność służy do wyznaczania stałej szybkości eliminacji leku na podstawie oznaczeń ilości leku w próbkach moczu oraz do wyznaczenia biologicznego okresu półtrwania i klirensu nerkowego. Zgodnie z definicją (ćwiczenie 2), klirens nerkowy leku jest równy:

$$Cl_r = \frac{dX_u / dt}{C} \quad (1.15)$$

Ponieważ:

$$\frac{dX_u}{dt} = k_r \cdot X$$

stąd klirens:

$$Cl_r = \frac{k_r \cdot X}{C} \quad (1.16)$$

Podstawiając za X/C objętość dystrybucji, ostatecznie otrzymujemy:

$$Cl_r = k_r \cdot V_d \quad (1.17)$$

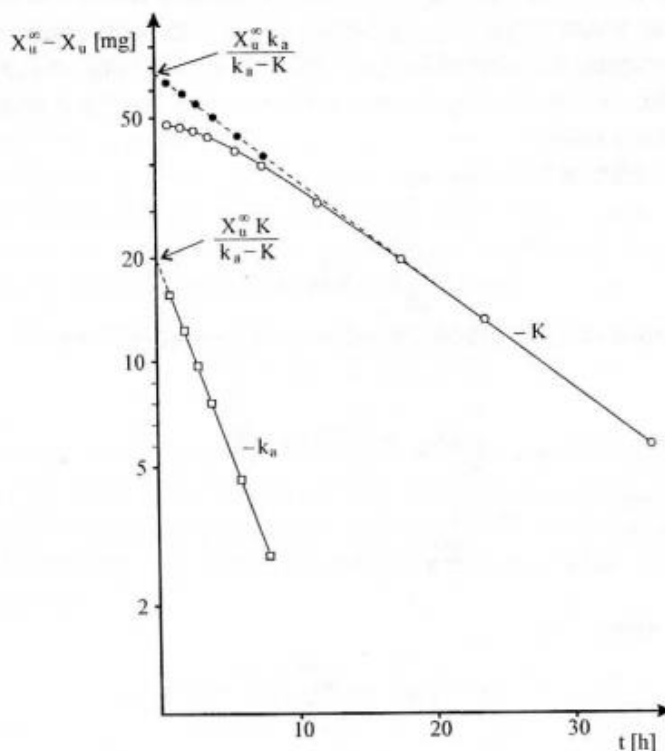
Oznaczanie klirensu nerkowego na podstawie jednorazowego oznaczenia stężenia leku we krwi i w moczu (patrz ćwiczenie 2) może być obciążone znacznym błędem ze względu na dużą zmienność fizjologiczną w wydalaniu moczu, stąd lepiej wyznaczyć klirens stosując metodę najmniejszych kwadratów do rozwiązania równania prostej dX_u / dt jako funkcję stężenia (rów. 1.15), której współczynnik kierunkowy będzie równy klirensowi.

2. Eliminacja leku z moczem po podaniu pozanaczyniowym

Eliminacja leku z moczem. Po podaniu doustnym leku, w modelu jednokompartmetywnym, zmiany ilości leku w moczu opisuje równanie:

$$X_u^\infty - X_u = \frac{X_u^\infty}{k_a - K} (k_a \cdot e^{-K \cdot t} - K \cdot e^{-k_a \cdot t}), \quad (1.31)$$

wskazujące na wykładniczy przebieg krzywej. Jeśli próbki moczu pobierane są często w małych odstępach czasowych można, oprócz fazy eliminacji, uchwycić fazę wchłaniania leku (Ryc. 1.7) i stosując metodę odejmowania wyznaczyć stałe szybkości obu procesów. Jest to na ogół trudne, chyba że lek wchłania się wolno.



Ryc. 1.7. Wyznaczanie stałych k_a i K (po doustnym podaniu leku) metodą odejmowania na podstawie oznaczeń ilości leku w moczu (o) – ilości doświadczalne X_u , (•) – ilości teoretyczne wyznaczone z ekstrapolowanej krzywej X_u^∞ , (◦) – różnica $X_u^\infty - X_u$ w skali półlogarytmicznej jako funkcja czasu (wg [5]).

Na ogół jednak proces absorpcji jest dużo szybszy niż proces eliminacji i wyrażenie $K \cdot e^{-k_a \cdot t} \rightarrow 0$, stąd równanie 1.31 upraszcza się do postaci:

$$X_u^\infty - X_u = \frac{X_u^\infty \cdot k_a}{k_a - K} \cdot e^{-K \cdot t} \quad (1.32)$$

a

$$X_u^\infty = \frac{F \cdot D \cdot k_r}{K} \quad (\text{ryc. 1.2 b}).$$

Po logarytmowaniu otrzymujemy liniową postać równania, którego rozwiązanie pozwala nam wyznaczyć wartość K i stałą k_a .

Powyższe równanie wskazuje, że korzystając z oznaczeń ilości leku w moczu można wyznaczyć również stałą szybkości wchłaniania. Należy jednakże pamiętać, że aby obliczyć objętość dystrybucji nie wystarczy znać ilość leku eliminowanego z moczem, musimy również znać zmiany stężenia leku we krwi.

Z definicji klirensu wiemy, że:

$$\frac{dX_u}{dt} = Cl_r \cdot C$$

Po obliczeniu całki w granicach od zera do nieskończoności:

$$\int_0^{\infty} dX_u = \int_0^{\infty} Cl_r \cdot C \cdot dt$$

otrzymujemy:

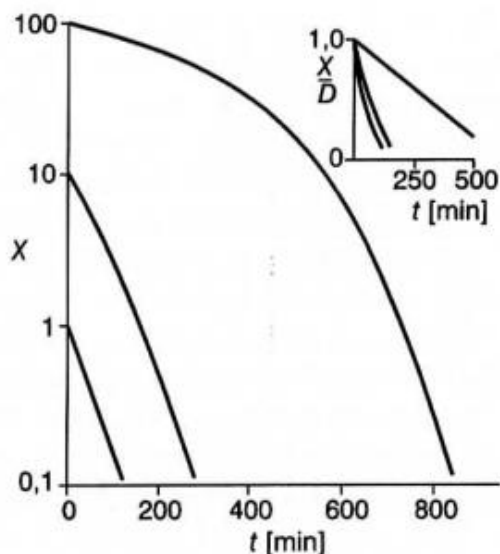
$$X_u^{\infty} = Cl_r \cdot AUC \quad (1.33)$$

oraz

$$Cl_r = \frac{X_u^{\infty}}{AUC} \quad (1.34)$$

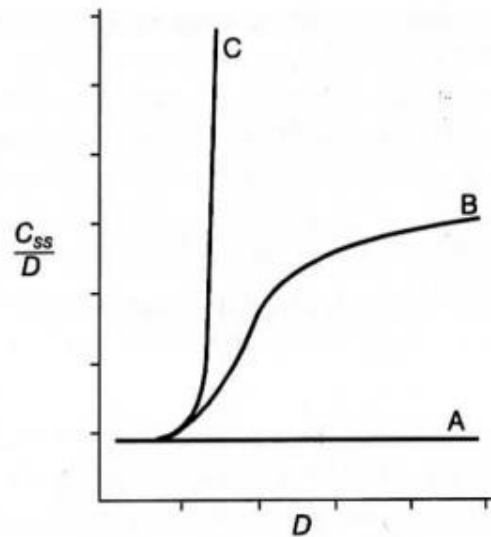
Wartość AUC (pole powierzchni pod krzywą stężenie-czas) możemy obliczyć jedynie na podstawie oznaczeń stężeń leku we krwi (ćwiczenie 3). Znając klirens nerkowy leku można w prosty sposób obliczyć V_d korzystając z równania 1.17.

3. Eliminacja leku w zależności od udziału procesów I rzędu i procesów Michaelisa-Menten



Ryc. 6.2. Półlogarytmiczna zależność ilości leku podanego dożylnie (X) we krwi od czasu (t), w 3 różnych dawkach (1, 10 i 100 mg) w przypadku eliminacji na drodze jednego procesu według równania Michaelisa-Menten, po przyjęciu modelu jednokompartamentowego ($K_M = 10$ mg, $V_m = 0,2$ mg/min). Wykres wewnętrzny stanowi zależność ilości leku we krwi podzielonej przez dawkę (X/D) od czasu (t) dla uzasadnienia, że zasada superpozycji nie ma tutaj zastosowania (wykresy dla różnych dawek nie nakrywają się) [10].

Najmniejsza dawka na ryc. 6.2 (1 mg) dotyczy sytuacji, w której $K_M \gg C$. W tym przypadku proces jest pierwszego rzędu, a współczynnik kierunkowy równa się ($-V_m/K_M$) zgodnie z równaniem (6.5). Natomiast największa dawka powoduje stężenie dużo większe od K_M , co sprawia, że zmniejszanie stężenia leku we krwi w czasie jest stałe (zerowy rząd – patrz prosta na rycinie wewnętrznej). Krzywe te dowodzą, że $t_{0,5}$ nie jest stały, lecz zwiększa się wraz z dawką. Podobne krzywe uzyskuje się w przypadku fenytoiny i salicylanów. Chcąc wykazać nieliniowy charakter farmakokinetyki, należy badania te przeprowadzić po podaniu różnych dawek. Jeżeli wykresy stężeń w osoczu podzielonych przez wprowadzoną dawkę nakładają się na siebie, to badany lek zachowuje się liniowo w danym zakresie stężeń. Jeżeli otrzymane krzywe nie nakładają się (ryc. 6.2 – wewnętrzny), to lek zachowuje się nieliniowo, a więc zasada superpozycji nie jest spełniona.



Ryc. 6.3. Zależność między stężeniem leku w stanie stacjonarnym przeliczonym na dawkę (C_{ss}/D) a wielkością tej dawki (D) dla leków eliminowanych: zgodnie z procesem pierwszego rzędu (A), jednocześnie przez proces pierwszego rzędu i proces Michaelisa-Menten (B) i zgodnie z procesem Michaelisa-Menten (C) [10].

Im większy jest udział procesu o ograniczonej pojemności (Michaelisa-Menten) w eliminacji leku, tym bardziej gwałtownie zwiększa się C_{ss} wraz ze zwiększeniem dawki (ryc. 6.3, krzywe B i C). Istnieje wtedy niebezpieczeństwo przedawkowania leku o nieliniowej farmakokinetyce. Odnosi się to np. do lekceważonych salicylanów, których 2-krotne zwiększenie dawki z 500 mg do 1 g, przy podaniu w przedziale 8 h, zwiększa 6-krotnie C_{ss} . Zwiększa się również czas potrzebny do osiągnięcia C_{ss} , w tym przypadku z 2 do 7 dni.