

Ćwiczenie 5

Zastosowanie modelu Michaelisa-Menten do interpretacji farmakokinetycznej zmian stężenia fenytoiny w osoczu krwi

Celem ćwiczenia jest wyznaczenie podstawowych parametrów charakteryzujących kinetykę nieliniową procesu eliminacji fenytoiny, a mianowicie szybkość maksymalną V_m oraz stałą Michaelisa K_M , stosując różne metody obliczeń. Drugim celem jest obliczenie dawki leku o farmakokinetyce nieliniowej dla indywidualnego pacjenta.

Wprowadzenie. W przypadku większości leków ich stężenie w osoczu (lub krwi), jak również ilość wydalona z moczem wzrasta proporcjonalnie do dawki. Podstawowe parametry farmakokinetyczne obliczone dla tych leków nie będą się zmieniały, u tych samych osobników, wraz z dawką, zgodnie z farmakokinetyką liniową. Z odmienną sytuacją mamy do czynienia w przypadku, gdy farmakokinetyka leku zależy od podanej dawki, a procesy kinetyczne w ustroju przebiegają nieliniowo. Przyczyny nieliniowości procesów farmakokinetycznych są różne, na ogół wiąże się to z udziałem enzymu lub układu o tzw. ograniczonej pojemności, często specyficznego dla danego leku. Kinetykę nieliniową można obserwować zarówno w procesach wchłaniania, dystrybucji, eliminacji oraz metabolizmu leku. Przyczyną nieliniowości procesów wchłaniania może być ograniczona rozpuszczalność doustnie podanego leku, wysycony transport aktywny leku przez błony przewodu pokarmowego jak również wysycony metabolizm leku w procesie pierwszego przejścia leku przez ścianę przewodu pokarmowego i wątrobę.

Nieliniowość procesu biotransformacji jest związana z, ograniczonym pojemnością, metabolizmem leku charakterystycznym dla reakcji enzymatycznych. Przykładem takiego procesu jest metabolizm alkoholu etylowego do aldehydu octowego pod wpływem działania dehydrogenazy alkoholowej. Przy dużych stężeniach alkoholu we krwi szybkość metabolizmu osiąga wartość stałą, stąd proces jego eliminacji przebiega zgodnie z kinetyką zerowego rzędu, a klirens znacząco się obniża, zgodnie z zależnością:

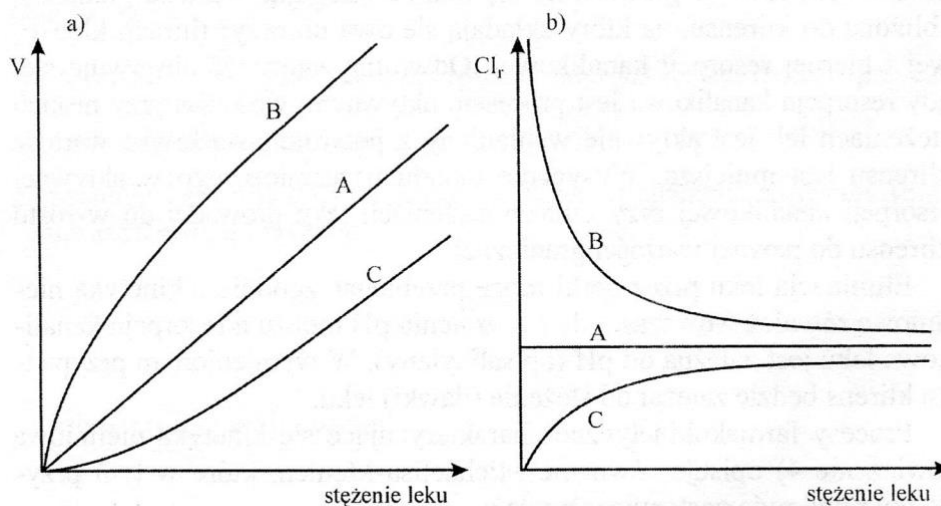
$$Cl = \frac{v}{C} \quad (3.1)$$

gdzie: v jest szybkością eliminacji.

Konsekwencje tego zjawiska mogą być dramatyczne wskutek kumulacji alkoholu w organizmie.

Ważną przyczyną nieliniowości procesu dystrybucji leku, a w pewnym stopniu również biotransformacji, jest wiązanie leku z białkami osocza i tkanek. Proces ten jest ograniczony liczbą miejsc wiążących w cząsteczce białka. Jeśli dany lek wiąże się z białkami osocza w sposób wysycony, jego objętość dystrybucji wzrasta wraz ze wzrostem stężenia. Z odwrotną sytuacją mamy do czynienia, gdy lek w sposób wysycony wiąże się z tkankami, objętość dystrybucji leku obniża się wraz ze wzrostem jego stężenia w osoczu.

Eliminacja leku przez nerki może również przebiegać zgodnie z kinetyką nieliniową, a klirens nerkowy będzie wówczas zmieniał się wraz ze zmianą stężenia leku w osoczu. Wiadomo, że lek eliminowany jest przez nerki drogą filtracji kłębkowej, sekrecji kanalikowej oraz resorpcji kanalikowej (ćwicz. 2). Proces filtracji kłębkowej, a w przeważającym stopniu również proces resorpcji kanalikowej są procesami biernymi, a ich szybkość zależy od stężenia leku w osoczu i wzrasta wprost proporcjonalnie wraz ze wzrostem stężenia (Ryc. 3.1).



Ryc. 3.1. Zależność szybkości eliminacji leku (a) oraz klirensu nerkowego (b) od stężenia leku w osoczu. Krzywe A – zachodzi wyłącznie proces filtracji kłębkowej; B – procesowi filtracji towarzyszy sekrecja kanalikowa; krzywe C – w eliminacji leku uczestniczą procesy filtracji i aktywnej resorpcji kanalikowej.

Procesy sekrecji kanalikowej, a niekiedy również proces resorpcji kanalikowej, są natomiast procesami aktywnymi o ograniczonej pojemności. Oznacza to, że w miarę wzrostu stężenia leku w osoczu szybkość sekrecji kanalikowej wzrasta i przy pewnych stężeniach osiąga wartość maksymalną. Równocześnie klirens związany z sekrecją kanalikową obniża się wraz ze wzrostem stężenia leku.

Ze wzoru 3.1. wynika, że klirens nerkowy jest wyrażony szybkością wydalania leku przez nerki podzieloną przez jego stężenie w osoczu. Stąd leki eliminowane przez nerki wyłącznie w procesie filtracji kłębkowej i niewiążące się z białkami osocza mają ten sam klirens nerkowy niezależnie od stężenia (dawki leku, ryc. 3.1 b).

W przypadku, gdy lek eliminowany jest w wyniku filtracji kłębkowej i sekrecji kanalikowej, przy małych stężeniach leku, gdy proces aktywnej sekrecji nie jest wysycony, klirens osiąga wartości najwyższe i zmiany stężenia leku w niewielkim stopniu wpływają na jego wartość. Na ogół stężenia terapeutyczne większości aktywnie wydalanych przez nerki leków leżą w tym obszarze. Natomiast przy dużych dawkach leku, gdy znacząco wzrasta jego stężenie w osoczu (aktywna sekrecja jest wysyciona), wartość klirensu nerkowego gwałtownie się obniża osiągając wartość graniczną zbliżoną do klirensu, na który składają się dwa procesy: filtracji kłębkowej i biernej resorpcji kanalikowej. Odwrotną zależność obserwuje się, gdy resorpcja kanalikowa jest procesem aktywnym, wówczas przy niskich stężeniach lek jest aktywnie wchłaniany z powrotem do krwi i wartość klirensu jest mniejsza. Wysycenie układu uczestniczącego w aktywnej resorpcji kanalikowej przy dużych stężeniach leku prowadzi do wzrostu klirensu do pewnej wartości granicznej.

Eliminacja leku przez nerki może przebiegać zgodnie z kinetyką nieliniową również wówczas, gdy lek zmienia pH moczu a resorpcja kanalikowa leku jest zależna od pH (np. salicylany). W wymienionym przypadku klirens będzie zależał od stężenia (dawki) leku.

Procesy farmakokinetyczne charakteryzujące się kinetyką nieliniową opisuje równanie Michaelisa-Menten, które w tym przypadku przyjmuje następującą postać:

$$v = -\frac{dC}{dt} = \frac{V_m \cdot C}{K_m + C} \quad (3.2)$$

gdzie: v - jest szybkością procesu wyrażoną jako zmiana stężenia leku w czasie, V_m - teoretyczna maksymalna szybkość procesu, K_M - stała Michaelisa, równa stężeniu leku, przy którym szybkość danego procesu (np. eliminacji leku) jest równa połowie teoretycznej szybkości maksymalnej. Liniową postacią tego równania pozwalającą na wyznaczenie wartości V_m i K_M jest równanie Lineaweavera-Burka:

$$\frac{1}{V} = \frac{K_M}{V_m} \cdot \frac{1}{C_m} + \frac{1}{V_m}$$

gdzie C_m -

(3.3)

Istnieją dwa przypadki ograniczające równanie Michaelisa-Menten.

1. Stężenie leku jest dużo mniejsze niż wartość stałej Michaelisa, wówczas równanie 3.2 upraszcza się do zależności:

$$v = -\frac{dC}{dt} = \frac{V_m}{K_m} \cdot C$$

lub w postaci scałkowanej:

$$\ln C = \ln C_0 - \frac{V_m}{K_m} \cdot t$$

Równanie to opisuje zmianę stężenia leku zgodnie z kinetyką pierwszego rzędu a stosunek $\frac{V_m}{K_m}$ jest wówczas równy stałej szybkości danego procesu np. stałej szybkości eliminacji.

2. Stężenie leku jest dużo większe od stałej Michaelisa, równanie (3.2) upraszcza się do postaci:

$$v = -\frac{dC}{dt} = V_m$$

lub w postaci scałkowanej

$$C = C_0 - V_m \cdot t \quad (3.7)$$

Dla takich stężeń leku szybkość danego procesu (eliminacji, wchłaniania itp.) jest niezależna od stężenia, proces przebiega ze stałą szybkością V_m , czyli jest to proces zerowego rzędu.

Z powyższych założeń wynika, że przy stosunkowo małych stężeniach leku, kiedy specyficzny układ lub enzym biorący udział w procesie farmakokinetycznym nie zostanie wysycony, mamy do czynienia z kinetyką pierwszego rzędu. Zjawisko to dotyczy większości leków występujących w organizmie w stężeniach terapeutycznych.

Nieliniowość procesów kinetycznych zachodzących w ustroju może mieć jednakże miejsce podczas kolejnych podań nawet niezbyt dużych dawek leku, np. gdy dany lek działa diuretycznie (teofilina) i klirens nerkowy leku wzrasta wraz ze wzrostem szybkości tworzenia się moczu. Innym przykładem tego rodzaju zjawiska jest eliminacja metotreksatu. Metabolit

leku 7-hydroksymetotreksat strąca się w kanalikach nerkowych i jest przyczyną występujących, wraz z upływem czasu, objawów nefrotoksycznych i obniżenia się klirensu nerkowego metotreksatu.

Przykłady tego rodzaju farmakokinetyki nieliniowej można obserwować również w procesach metabolizmu leku. Działanie hepatotoksyczne niektórych leków, np. paracetamolu, powoduje wraz z upływem czasu obniżenie się klirensu wątrobowego leku. Niektóre leki (metotreksat, karbamazepina) działają autoindukcyjnie na swój metabolizm, stąd ich klirens wątrobowy może zwiększać się z czasem po kolejnych podaniach leku wpływając na obniżenie się stężenia leku we krwi. Odwrotne działanie wykazuje lidokaina, jej metabolit wpływa hamująco na biotransformację leku zmniejszając klirens wątrobowy leku.

Terapeutyczne konsekwencje farmakokinetyki nieliniowej

Cechą charakterystyczną farmakokinetyki liniowej jest wprost proporcjonalna zależność pomiędzy stężeniem leku we krwi a podaną jego dawką. Zależności takiej nie obserwuje się w przypadku farmakokinetyki nieliniowej, co może być przyczyną braku odpowiedzi klinicznej na lek u niektórych chorych.

W przypadku farmakokinetyki liniowej dobór indywidualnej dawki leku u chorego można obliczyć na podstawie pomiaru stężenia leku we krwi po podaniu jednorazowej dawki leku, jak również na podstawie jednego stężenia leku oznaczonego w stanie stacjonarnym, korzystając z wzoru:

$$D_1 = D_2 \frac{C_{SS}^2}{C_{SS}^1} \quad (3.8)$$

gdzie: D_2 oznacza nową skorygowaną dawkę leku, która ma zapewnić pożądane stężenie leku we krwi w stanie stacjonarnym, C_{SS}^2 , C_{SS}^1 jest stężeniem leku w stanie stacjonarnym uzyskanym po wcześniej podawanej dawce leku D_1 .

W przypadku farmakokinetyki nieliniowej, indywidualizację dawkowania można przeprowadzić na podstawie pomiaru co najmniej dwóch stężeń leku w stanach stacjonarnych uzyskanych po dwóch różnych jego dawkach, korzystając z zależności:

$$D_2 = D_1 \frac{(K_m + C_{SS}^1) C_{SS}^2}{(K_m + C_{SS}^2) C_{SS}^1} \quad (3.9)$$

gdzie: C_{SS}^2 i C_{SS}^1 jest stężeniem stacjonarnym uzyskanym po podaniu dwóch różnych dawek leku D_1 i D_2 . Przekształcając powyższą zależność można wyznaczyć wartość K_M , a następnie V_m korzystając z zależności:

$$V_m = \frac{D_2(K_M + C_{SS}^2)}{C_{SS}^2} \quad (3.10)$$

Wielkość dawki fenytoiny potrzebnej do uzyskania żądanego stężenia w stanie stacjonarnym można następnie wyliczyć z wzoru:

$$D_3 = \frac{V_m \cdot C_{SS}^3}{K_M + C_{SS}^3} \quad (3.11)$$

W stanie stacjonarnym ustala się stan równowagi między szybkością podawania leku i szybkością jego eliminacji stad, równanie Michaelisa-Menten można zapisać:

$$DR = \frac{V_m \cdot C_{SS}}{K_M + C_{SS}} \quad (3.12)$$

gdzie: DR (dosing rate) jest szybkością podawania leku (szybkość dawkowania v) równa szybkości wlewu dożylnego lub w przypadku wielokrotnego podawania leku doustnie, równą $\frac{FD}{\tau}$, gdzie τ - przedział dawkowania, D - dawka leku, F – ułamek dawki wchłoniętej. Po przekształceniu równania (3.12) można obliczyć stężenie leku w stanie stacjonarnym, jakie ustali się przy odpowiednim schemacie podawania leku.

$$C_{SS} = \frac{K_M \cdot DR}{V_m - DR} \quad (3.13)$$

Innym sposobem obliczeń jest korzystanie z zależności:

$$DR = V_m - \left(\frac{DR}{C_{SS}} \cdot K_M\right), \quad (3.14)$$

która jest prostym przekształceniem równania (3.13).

Znając stężenia stacjonarne, uzyskane po dwóch różnych szybkościach dawkowania DR, można obliczyć wartość V_m i K_M , a następnie dawkę, niezbędną do zapewnienia wymaganego stężenia leku we krwi chorego.

W przypadku, gdy znamy stężenia stacjonarne uzyskane po trzech lub więcej różnych dawkach leku do obliczenia wartości V_m i K_M , można zastosować metodę graficzną, wykreślając wartości DR jako funkcję $\frac{DR}{C_{SS}}$.

Rozwiązując powyższą zależność metodą najmniejszych kwadratów obliczamy wartość przecięcia z osią y równą V_m oraz nachylenie prostej $a = -K_M$ (równanie 3.14).

Tak ważne parametry farmakokinetyczne jak klirens i biologiczny okres półtrwania nie odgrywają w farmakokinetyce nieliniowej istotnej roli. Przyczyną jest ich zależność od stężenia. Podstawiając do równania (3.1, równanie Michaelisa-Menten, otrzymujemy:

$$Cl = \frac{V_m \cdot V_d}{K_M + C} \quad (3.15)$$

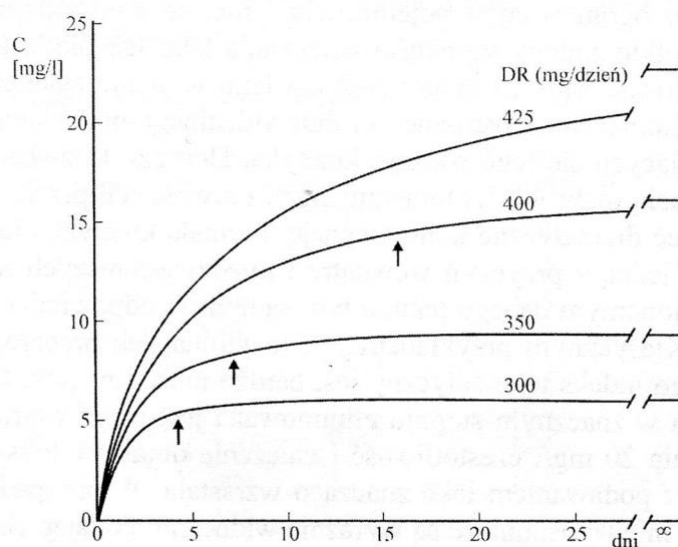
Podobnie jest z biologicznym okresem półtrwania. Wiedząc, że $t_{0,5} = 0,693 \cdot V_d / Cl$ (równanie 2.22) i podstawiając za klirens zależność (3.15) otrzymujemy:

$$t_{0,5} = \frac{0,693}{V_m} (K_M + C) \quad (3.16)$$

Z równań (3.15) i (3.16) wynika, że oba parametry farmakokinetyczne (Cl i $t_{0,5}$) zależą od stężenia. W farmakokinetyce nieliniowej parametrami użytecznymi będą: stała Michaelisa i wartość V_m .

Wzrost lub obniżenie wartości V_m , podobnie zmiana wartości K_M w dramatyczny sposób mogą wpłynąć na poziom leku w stanie stacjonarnym. Z równania (3.13) wynika, że stężenie leku w stanie stacjonarnym jest wprost proporcjonalne do stałej Michaelisa a odwrotnie proporcjonalne do wartości V_m . Stąd, w farmakokinetyce nieliniowej niezwykle ważną rolę odgrywa czas niezbędny do ustalenia się plateau (stanu równowagi); jego wartość

zależy od szybkości podawania leku i wraz ze wzrostem szybkości czas, w którym ustala się stan stacjonarny, wydłuża się (Ryc. 3.2).



Ryc. 3.2. Ustalanie się stanu równowagi (plateau); stężenie leku jako funkcja czasu w zależności od szybkości dawkowania, DR (wg [1]).

Czas ten w istotny sposób zależy również od wartości V_m i K_M . Obserwuje się odwrotnie proporcjonalną zależność między czasem, w którym stężenie leku osiąga wartość stacjonarną a stałą Michaelisa. U chorych leczonych fenytoiną, charakteryzujących się małą wartością K_M (2 mg/l lub mniej) poziom stacjonarny leku obserwuje się dopiero po kilku tygodniach terapii.

Chorzy, u których wartość $K_M = 12$ mg/l, czas ten nie przekraczał 1 tygodnia. Te nieproporcjonalne zmiany, dotyczące stężenia stacjonarnego i czasu niezbędnego do jego osiągnięcia, stanowią największy problem w interpretacji stężeń leku charakteryzującego się farmakokinetyką nieliniową.

W stanie stacjonarnym zmiana dawki w niewielkim stopniu wpływa na stałą szybkości wchłaniania, natomiast istotne znaczenie będzie miał wpływ dawki na biodostępność leku. Zmiany dostępności biologicznej leku z kolei spowodują, że stężenie leku oraz ilość leku w organizmie będą zmieniały się nieproporcjonalnie do wzrastającej dawki leku. Wysycenie nośników biorących udział w wchłanianiu aktywnym leku spowoduje, że wraz ze wzrostem dawki dostępność biologiczna leku będzie malała. Z odwrotną sytuacją będziemy mieli do czynienia, gdy wysycony zostanie układ (enzym) biorący udział w metabolizmie leku (w ścianie jelita lub w wątrobie) podczas efektu pierwszego przejścia. Biodostępność leku wzrośnie wraz ze wzrostem dawki.

Najbardziej istotne kliniczne konsekwencje związane są z kinetyką nieliniową, w ograniczonej pojemnością, procesie metabolizmu leku. Nawet niewielkie zmiany szybkości podawania leku lub biodostępności mogą powodować istotne zmiany stężenia leku w stanie stacjonarnym; stąd wynika konieczność ostrożnego i indywidualnego podawania leków charakteryzujących się tego rodzaju kinetyką. Dotyczy to zwłaszcza leków, które mają mały indeks terapeutyczny. Łatwość ich przedawkowania może mieć dramatyczne konsekwencje. Farmakokinetyka nieliniowa jest ponadto jedną z przyczyn wewnątrz i międzypersonalnych różnic w stężeniu stacjonarnym danego leku, a tym samym w odpowiedzi klinicznej na lek. Klasycznym przykładem jest fenytoina, lek przeciwpadaczkowy, którego indeks terapeutyczny jest bardzo mały i wynosi 10 do 20 mg/l, a która w znacznym stopniu eliminowana jest przez wątrobę. Powyżej stężenia 20 mg/l częstotliwość i natężenie objawów toksycznych związanych z podawaniem leku znacząco wzrastają. W przypadku tego leku różnice międzypersonalne są wyraźnie widoczne. Podając chorym tę samą dzienną dawkę leku 5 mg/kg masy ciała obserwuje się stężenie fenytoiny w osoczu, w stanie stacjonarnym, zmieniające się od 3 do 30 mg/l. Biorąc pod uwagę powyższe zależności, jeśli w stosowanej terapii mamy do czynienia z dwoma lekami równoważnymi pod wszystkimi względami, a różniącymi się jedynie tym, że farmakokinetyka jednego z nich jest nieliniowa, zawsze lekiem z wyboru powinien być lek, którego procesy farmakokinetyczne przebiegają zgodnie z kinetyką pierwszego rzędu.