

## ĆWICZENIE 2

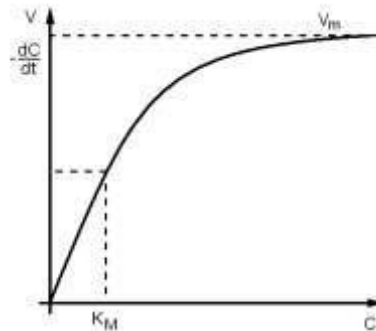
### Farmakokinetyka nieliniowa i jej konsekwencje terapeutyczne na podstawie zmian stężenia fenytoiny w osoczu krwi

Celem ćwiczenia jest wyznaczenie podstawowych parametrów charakteryzujących kinetykę nieliniową procesu eliminacji fenytoiny (szybkość maksymalna  $V_m$  i stała Michaelisa  $K_M$ ) stosując różne metody obliczeń oraz zastosowanie tych parametrów w zadaniach dotyczących optymalizacji farmakoterapii leków o farmakokinetyce nieliniowej.

**Wprowadzenie.** W przypadku większości leków ich stężenie w osoczu (krwi), jak również ilość wydalona z moczem wzrasta proporcjonalnie do dawki. Zgodnie z farmakokinetyką liniową podstawowe parametry farmakokinetyczne obliczone dla tych leków nie zmieniają się u tych samych osobników wraz z dawką. W przypadku gdy farmakokinetyka leku zależy od podanej dawki procesy kinetyczne w organizmie przebiegają nieliniowo. Przyczyny nieliniowości wiążą się najczęściej 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.

Procesy farmakokinetyczne charakteryzujące się kinetyką nieliniową opisuje równanie Michaelisa-Menten (1):

$$V = -\frac{dC}{dt} = \frac{V_m \cdot C}{K_M + C}$$



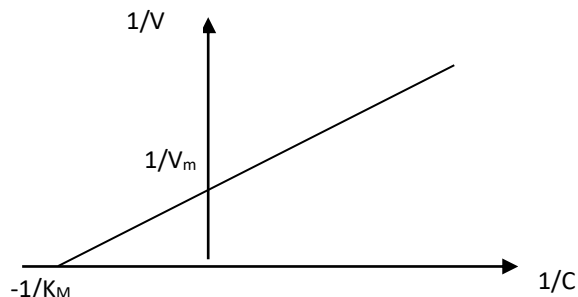
gdzie:

$V$  – szybkość procesu wyrażona jako zmiana stężenia leku w czasie,

$V_m$  – 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  $V_m$  i  $K_M$  jest równanie Lineweavera-Burka:

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



Graficzną ilustracją powyższego równania jest linia prosta o nachyleniu równym  $K_M/V_m$  i współczynniku przesunięcia równym  $1/V_m$ .

Istnieją dwa przypadki ograniczające równanie Michaelisa-Menten:

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

$$V = -\frac{dC}{dt} = \frac{V_m}{K_M} \cdot C$$

która w postaci scałkowanej przedstawia się następująco:

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

Równanie to opisuje zmianę stężenia leku zgodnie z kinetyką pierwszego rzędu a stosunek

$$\frac{V_m}{K_M} = K$$

jest równy stałej szybkości danego procesu np. stałej szybkości eliminacji.

2. Stężenie leku jest dużo większe od stałej Michaelisa, równanie Michaelisa-Menten upraszcza się do postaci:

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

lub w postaci scałkowanej:

$$C = C_0 - V_m \cdot t$$

Dla takich stężeń leku szybkość danego procesu (wchłaniania, dystrybucji, eliminacji) 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.

### ***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:

$$D_2 = D_1 \cdot \frac{C_2^{ss}}{C_1^{ss}}$$

W przypadku farmakokinetyki nieliniowej, indywidualizację dawkowania można przeprowadzić na podstawie pomiaru co najmniej dwóch stężeń leku w stanie stacjonarnym uzyskanych po dwóch różnych jego dawkach. Na podstawie tych danych wyznacza się  $V_m$  i  $K_M$ , a następnie można obliczyć dawkę, potrzebną do uzyskania określonego stężenia leku w osoczu, korzystając z następujących zależności:

$$D_2 = D_1 \cdot \frac{(K_M + C_1^{ss}) \cdot C_2^{ss}}{(K_M + C_2^{ss}) \cdot C_1^{ss}}$$

$$V_m = \frac{D_2(K_M + C_{ss}^2)}{C_{ss}^2}$$

$$D_3 = \frac{V_m \cdot C_3^{ss}}{K_M + C_3^{ss}}$$

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

$$DR = \frac{V_m \cdot C_{ss}}{K_M + C_{ss}}$$

gdzie, DR (dosing rate) jest szybkością podawania leku równą szybkości wlewu dożylnego lub w przypadku wielokrotnego podawania leku doustnie, równą  $FD/\tau$ , gdzie  $\tau$ -przedział dawkowania, D - dawka leku, F – ułamek dawki wchłoniętej.

Po przekształceniu tego równania można obliczyć stężenie leku w stanie stacjonarnym, jakie ustali się przy odpowiednim schemacie podawania leku.

$$C_{ss} = \frac{K_M \cdot DR}{V_m - DR}$$

Innym sposobem obliczeń jest korzystanie z zależności:

$$DR = V_m - \left(\frac{DR}{C_{ss}} \cdot K_M\right)$$

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.

Tak ważne parametry farmakokinetyczne jak klirens i biologiczny okres półtrwania nie odgrywają w farmakokinetyce nieliniowej istotnej roli. Przyczyną jest ich zależność od stężenia. C:

$$Cl = \frac{V_m \cdot V_d}{K_M + C}$$

$$t_{0.5} = \frac{0.693}{V_m} (K_M + C)$$

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 ograniczonym 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 międzyosobniczych różnic w stężeniu stacjonarnym danego leku, a tym samym w odpowiedzi klinicznej na lek. 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

### **Wykonanie ćwiczenia**

Przykładem farmakokinetyki nieliniowej jest proces eliminacji fenytoiny. Główną i prawie jedyną drogą eliminacji leku jest ograniczony pojemnością metabolizm fenytoiny w wątrobie. Fenytoina w postaci niezmienionej jest eliminowana przez nerki w niewielkim stopniu (1-5% podanej dawki leku).

- a) Pacjent, po 5 godzinach od zażycia fenytoiny w jednorazowej dawce doustnej, z objawami nietolerancji leku został przyjęty do szpitala. Oznaczono stężenie fenytoiny w próbkach krwi pacjenta uzyskując wyniki zamieszczone w tabeli 1. Początkowo, gdy stężenie leku jest duże, proces eliminacji (metabolizmu leku) jest wysycony i przebiega zgodnie z kinetyką zerowego rzędu. Gdy stężenie leku we krwi spada do względnie małych stężeń, eliminacja leku przebiega zgodnie z procesem pierwszego rzędu.

Tabela 1. Stężenie fenytoiny w próbkach krwi pacjenta

Czas od przyjęcia leku [h]	Stężenie fenytoiny [mg/l]
5	29,7
15	27,1
25	24,5
35	21,9
45	19,4
55	17,0
75	12,5
85	10,5
105	7,4
115	5,3
125	4,0
135	3,0

- Wykreśl zależności zmian stężenia fenytoiny od czasu  $C=f(t)$  i  $\ln C=f(t)$  (program Excel).

Metodą najmniejszych kwadratów wyznacz równania prostych dla stężeń obejmujących:

- początkową fazę eliminacji leku zgodnie z równaniem zerowego rzędu
- końcową fazę eliminacji zgodnie z procesem pierwszego rzędu.

Wyznacz wartości  $V_m$  i  $K_M$ .

- Na podstawie wyników zamieszczonych w tabeli 1 oblicz szybkość eliminacji fenytoiny  $V$  dla poszczególnych przedziałów czasowych według podanego przykładu:

$$V = \frac{29,7 - 24,5}{25 - 5} = 0,26 \quad \text{dla } C_1 = 27,1$$

$$V = \frac{27,1 - 21,9}{35 - 15} = 0,26 \quad \text{dla } C_2 = 24,5$$

itd.

- Korzystając z zależności Lineweavera-Burka, metodą najmniejszych kwadratów (program Excel) wyznacz stałą Michaelisa oraz wartość  $V_m$ .
- Zastosuj program komputerowy TopFit 2.0 do obliczenia  $V_m$  i  $K_M$  na podstawie stężeń fenytoiny z tabeli 1. Porównaj wartości  $V_m$  i  $K_M$  uzyskane różnymi metodami: z równań 0 i I rzędu, z równania Lineweavera-Burka i z programu TopFit 2.0. Przedyskutuj z asystentem otrzymane wyniki.

**c) Rozwiązywanie zadań i przedyskutowanie wyników z asystentem.**

**Zagadnienia do przygotowania:**

Farmakokinetyka nieliniowa i jej konsekwencje terapeutyczne