

## Zależności pomiędzy podstawowymi parametrami farmakokinetycznymi: objętością dystrybucji, klirensem oraz biologicznym okresem półtrwania

**Cel ćwiczenia:** Zbadanie zależności pomiędzy objętością dystrybucji, klirensem i biologicznym okresem półtrwania przy zastosowaniu modelu hydraulicznego.

**Wymagane zagadnienia:** Farmakokinetyka leku po jednorazowym podaniu dożylnym w modelu jednokompartamentowym, dostępność biologiczna, objętość dystrybucji, klirens, współczynnik ekstrakcji, biologiczny okres półtrwania, wpływ czynników fizjologicznych i patologicznych na podstawowe parametry farmakokinetyczne

**Opracowanie:** dr Dorota Danielak, dr Katarzyna Kosicka

### 1. Wprowadzenie

Obserwowane zmiany stężenia leku we krwi są wynikiem zachodzenia procesów wchłaniania, dystrybucji, metabolizmu i wydalania (*ADME – Absorption, Distribution, Metabolism, Excretion*).

Proces **absorpcji** (wchłaniania) definiuje się jako przechodzenie leku z miejsca jego podania (np. z przewodu pokarmowego przy podaniu doustnym, z mięśnia przy iniekcji domięśniowej) do krwi. W przypadku podania dożylnego (jednorazowego – tzw. bolusa lub wlewu – tzw. infuzji) nie będziemy obserwować fazy wchłaniania, gdyż lek jest podawany bezpośrednio do naczynia krwionośnego.

Po wchłonięciu lek ulega **dyspozycji**. Dyspozycja to procesy obejmujące rozmieszczenie leku w organizmie (dystrybucja) oraz usunięcie leku z organizmu (eliminacja).

Mianem **dystrybucji** określa się odwracalny proces przechodzenia leku z krwi do narządów czy innych tkanek organizmu. Po wchłonięciu do organizmu lek krąży we krwi, ale nie jest rozprowadzany równomiernie do wszystkich części organizmu. Różne leki penetrują tkanki z różną szybkością, która jest zależna między innymi od zdolności danej cząsteczki leku do przechodzenia przez błony biologiczne. W dużym stopniu zależy to od właściwości hydro- lub lipofilowych leku. Leki o właściwościach hydrofilowych (np. jeden z leków hipotensyjnych - atenolol) będą pozostawały we krwi i płynie zewnątrzkomórkowym (bo ich hydrofilowe właściwości utrudniają przechodzenie przez lipidowe błony komórkowe). Leki lipofilowe (np. klorazepan o działaniu przeciwlękowym, uspokajającym) będą łatwiej ulegały kumulacji w tkance tłuszczowej. Inne leki będą ulegały kumulacji w niewielkiej, wybranej strukturze czy przestrzeni organizmu ze względu na wysokie powinowactwo danej tkanki do leku (np. jodki będą wychwytywane przez tarczycę). Należy także pamiętać, że zdolność do przenikania przez błony biologiczne posiadają cząsteczki, których wypadkowy ładunek jest obojętny (czyli np. cząsteczki niezdysocjowane).

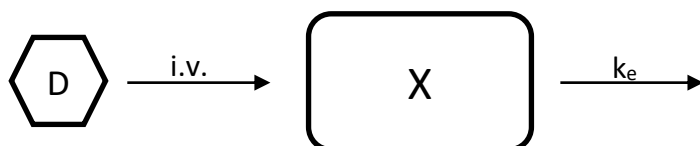
Wszystkie procesy prowadzące do zmniejszenia ilości leku w organizmie określa się mianem **eliminacji**. Co ważne, eliminacja nie jest tożsama z wydalaniem. Jest to bowiem pojęcie bardziej rozległe, obejmujące zarówno metabolizm, jak i wydalanie. Te dwa procesy są integralnymi częściami procesu eliminacji. U człowieka kluczowymi narządami biorącymi udział w eliminacji są nerki i wątroba.

W procesie **metabolizmu** cząsteczka leku ulega chemicznemu przekształceniu do metabolitów. Metabolizm leku zachodzi najczęściej w wątrobie (głównie przy udziale enzymów cytochromu P450).

Celem metabolizmu (w przebiegu którego można wyróżnić dwie fazy) jest taka chemiczna modyfikacja cząsteczki, która ułatwi jej wydalenie z organizmu. W tym miejscu należy również wspomnieć o prolekach, dla których metabolizm jest niezbędny do uzyskania efektu terapeutycznego. Prolek to cząsteczka nieaktywna chemicznie, a za efekt farmakologiczny odpowiadają metabolity. Przykładem często stosowanego proleku jest klopidogrel, który sam nie wykazuje aktywności biologicznej, a za działanie przeciwzakrzepowe wywiera jego tiolowy metabolit. Innymi przykładami mogą być inhibitory konwertazy angiotensynowej (np. enalapryl) lub niektóre statyny (np. simwastatyna). Niewiele leków jest usuwanych z organizmu prawie wyłącznie poprzez wydalanie w postaci niezmienionej. Przykładem może być antybiotyk aminoglikozydowy – gentamycyna, bądź sole litu.

Większość leków jest metabolizowana, a powstałe metabolity, oraz niewielka część leku w postaci niezmienionej, są wydalane. Jako **wydalanie** określa się nieodwracalne usuwanie z organizmu leku w postaci niezmienionej. Wydalanie może zachodzić różnymi drogami: przez nerki z moczem, przez wątrobę z żółcią, przez przewód pokarmowy z kałem, przez płuca z wydychanym powietrzem (np. alkohol czy anestetyki wziewne), przez skórę z potem, z mlekiem matki, do włosów (we włosach noworodków można np. oznaczyć benzodiazepiny przyjmowane przez matkę w trakcie ciąży) bądź do paznokci.

Do opisu powyższych zależności stosowane są w farmakokinetyce odpowiednie równania różniczkowe. Dużym ułatwieniem jest traktowanie organizmu jako systemu połączonych ze sobą **kompartmentów**, czyli hipotetycznych przestrzeni, w których lek zachowuje się podobnie pod względem kinetycznym. Najprostszy stosowany w farmakokinetyce model to **model jednokompartmentowy**, w którym zakładamy, że dystrybucja zachodzi w bardzo krótkim czasie od chwili podania leku. Schemat blokowy dla tego modelu, przedstawiony został na Rysunku 1.



Rysunek 1. Schemat blokowy modelu jednokompartmentowego.

W powyższym przypadku dawka leku (D) została podana jednorazowo dożylnie (i.v.). Lek natychmiastowo rozprzestrzenił się w całym organizmie, a jego ilość oznaczono jako X. Następnie, lek ulega procesowi eliminacji, który zachodzi zgodnie z kinetyką pierwszego rzędu. Stała szybkości tego procesu, oznaczona symbolem  $k_e$ , nazywana jest **stałą szybkości eliminacji**.

Aby matematycznie przedstawić zmiany ilości leku w tym modelu, można posłużyć się prostym równaniem różniczkowym (1.1):

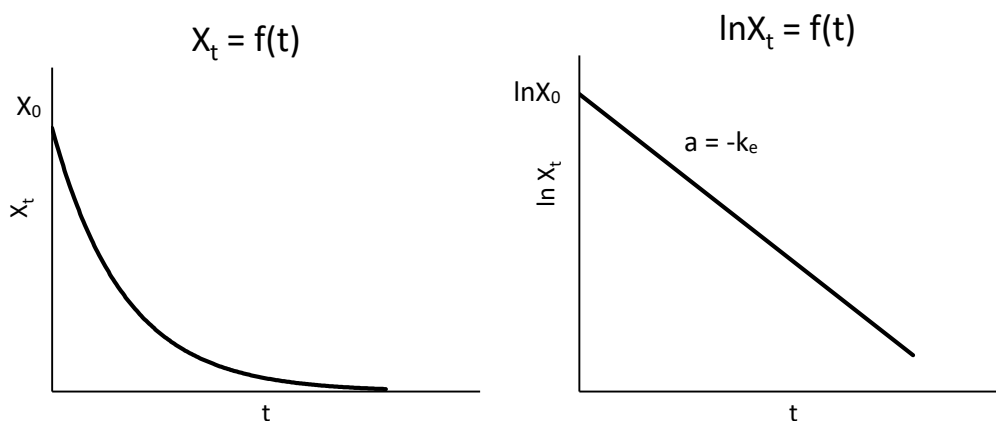
$$\frac{dX}{dt} = -k_e \cdot X \quad (1.1)$$

Po jego scałkowaniu, otrzymujemy równania opisujące ilość leku w organizmie w funkcji czasu (1.2, 1.3),

$$X_t = X_0 \cdot e^{-k_e t} \quad (1.2)$$

$$\ln X_t = \ln X_0 - k_e t \quad (1.3)$$

gdzie  $X_t$  to ilość leku w danym czasie  $t$ , natomiast  $X_0$  oznacza ilość leku w czasie 0. Równania te można zobrazować przy pomocy wykresów przedstawionych na Rysunku 2.



Rysunek 2. Wykresy zależności ilości leku ( $X_t$ ) oraz logarytmu naturalnego ilości leku ( $\ln X_t$ ) w czasie.

## 2. Dostępność biologiczna

Dostępność biologiczną leku można określić jako **ułamek dawki leku**, który dociera do krążenia leku po podaniu pozanaczyniowym oraz **szybkość**, z jaką ten proces zachodzi. Jeśli lek został podany dożylnie, to, z założenia, całkowita jego ilość (100% dawki) znalazła się w krążeniu ogólnym. Można zatem powiedzieć, że **dostępność biologiczna (F)** w tym przypadku wynosi 100%. **Bezwzględna dostępność biologiczna**, czyli odniesiona do podania dożylnego, może przyjmować wartości od zera do jedności. Obliczyć ją można na podstawie poniższego równania (1.4):

$$F = \frac{AUC_{0 \rightarrow \infty, extr} \cdot D_{i.v.}}{AUC_{0 \rightarrow \infty, i.v.} \cdot D_{extr}} \quad (1.4)$$

gdzie  $AUC_{0 \rightarrow \infty}$  oznacza pole powierzchni pod krzywą stężenia względem czasu dla podania pozanaczyniowego (extr) lub dożylnego (i.v.) ekstrapolowane do nieskończoności, a  $D$  oznacza dawki podane odpowiednimi sposobami.

Jeżeli lek został podany pacjentowi pozanaczyniowo, a  $F$  wynosi 0,2, to oznaczać to będzie, że zaledwie 20% dawki podanej tą drogą zostało wchłonięte do krwi. W farmacji można również spotkać się z określeniem **względnej dostępności biologicznej**. W tym przypadku punktem odniesienia nie jest podanie dożylnie (bo nie każdy lek może być podany dożylnie), lecz preparat referencyjny. Dostępność biologiczna ma bardzo duże znaczenie dla wyznaczania dawki leku dla pacjenta oraz w badaniach biorównoważności, niezbędnych do rejestracji leków generycznych.

Dostępność biologiczna danego leku zależy od wielu czynników. Istotną rolę **odgrywają czynniki fizykochemiczne**, wśród których wymienić można m.in. rozpuszczalność leku,  $pK_a$ , współczynnik podziału, czy też formę krystaliczną. Należy pamiętać, że efekt farmakologiczny wywierać może

jedynie lek w postaci rozpuszczonej, a przez błony biologiczne lepiej przenikają cząsteczki niezdysocjowane. Innym aspektem są czynniki związane z **fizjologią i metabolizmem**. Przykładowo, dostępność biologiczna niektórych leków jest znacząco niższa gdy przyjmowane są razem z pokarmem (np. alendroniany stosowane w leczeniu osteoporozy). Można jednak spotkać się z sytuacją, gdy wskazane jest przyjmowanie leku podczas lub po posiłku (np. biodostępność przeciwgrzybiczej gryzeofulwiny wzrasta po podaniu z tłustym posiłkiem). Niezwykle istotnym aspektem związanym z biodostępnością leków jest tzw. **efekt pierwszego przejścia**. Dochodzi do niego wskutek metabolizowania leku w przewodzie pokarmowym, komórkach nabłonka jelitowego oraz w wątrobie, zanim osiągnie on krążenie ogólne. Jeśli efekt pierwszego przejścia jest bardzo nasilony, to jedynie niewielki ułamek podanej dawki może trafiać do krążenia ogólnego. Przykładowo, bardzo niska dostępność biologiczna nitrogliceryny po podaniu doustnym (nawet poniżej 1%), wyklucza podawanie tego preparatu w postaci klasycznej tabletki. Obecnie nitrogliceryna podawana jest najczęściej jako aerozol podjęzykowy lub maść. Dzięki temu lek przenika bezpośrednio do krążenia ogólnego, omijając wątrobę. Innym preparatem, którego nie podaje się doustnie, jest insulina oraz leki peptydowe (np. oksytocyna), ponieważ są bardzo łatwo rozkładane przez proteazy znajdujące się w przewodzie pokarmowym. Niewątpliwym wpływem na obserwowany efekt pierwszego przejścia ma też **indukcja lub inhibicja** enzymów wątrobowych.

### 3. Objętość dystrybucji

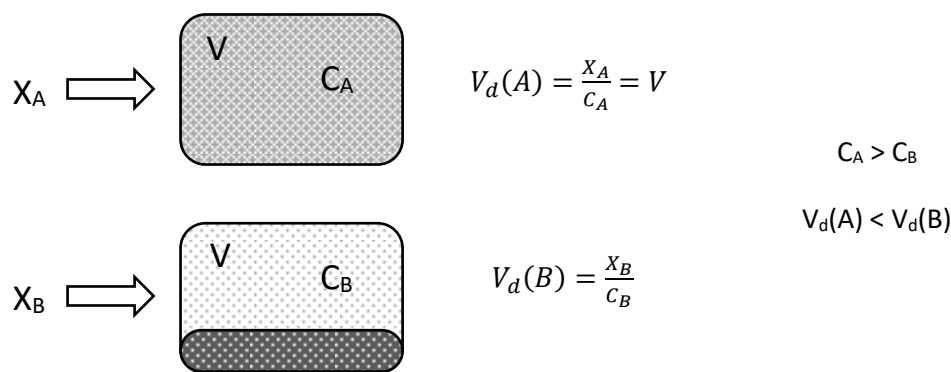
#### Pojęcie objętości dystrybucji

W poprzednim rozdziale przedstawiono równania obrazujące zmiany ilości leku w funkcji czasu (1.1-1.3). Jednak znacznie dogodniejsze, z analitycznego punktu widzenia, jest posługiwanie się stężeniem leku. Aby móc łatwo przeliczyć ilość leku na jego stężenie, wprowadzono pojęcie **objętości dystrybucji ( $V_d$ )**. Z matematycznego punktu widzenia, objętość dystrybucji można zdefiniować jako współczynnik proporcjonalności pomiędzy zmierzonym stężeniem leku we krwi (osoczu, surowicy) (C), a całkowitą ilością leku w organizmie (X). Zależność tę można przedstawić w poniższym równaniu:

$$V_d = \frac{X}{C} \quad (1.5)$$

Objętość dystrybucji pomaga opisać, jak zachodzi ilościowe rozmieszczenie leku w organizmie. Należy pamiętać, że jest to proces złożony i uwzględnia przenikanie leku z krwi do przestrzeni międzykomórkowych i transport przez błony biologiczne. Ważną rolę odgrywają też bariery fizjologiczne, takie jak krew-mózg lub krew-łożysko. Istotne znaczenie ma również przepływ krwi przez dany narząd, a także wiązanie leku z białkami krwi oraz strukturami tkankowymi.

Aby lepiej zrozumieć pojęcie objętości dystrybucji, można posłużyć się następującym przykładem, który schematycznie przedstawiono na Rysunku 3. Temu samemu pacjentowi podano dożylnie dwa różne preparaty lecznicze: A i B. Dawki leków były identyczne ( $X_A=X_B$ ), a całkowita objętość płynów fizjologicznych u tego pacjenta wynosi V. Lek A nie wiąże się z białkami tkankowymi, natomiast lek B jest w dużym stopniu przez nie związany (czyli „kumuluje się” w tkankach, ma duże powinowactwo do białek tkankowych – co za tym idzie mniej leku zostaje we krwi). Zmierzono stężenie obu leków we krwi pacjenta i wynosiły one odpowiednio  $C_A$  i  $C_B$ , przy czym stwierdzono, że stężenie leku A było znacznie wyższe.



Rysunek 3. Schematyczne przedstawienie objętości dystrybucji.

Łącząc te obserwacje z podstawowym równaniem na objętość dystrybucji (równanie 4), stwierdzono, że w przypadku leku A –  $V_d$  przyjmuje wartość przybliżoną do objętości płynów ustrojowych. Natomiast lek B charakteryzuje się wartością objętości dystrybucji znacznie przekraczającą całkowitą objętość płynów fizjologicznych (wynika to z faktu związania leku w tkankach, przez co oznaczone we krwi stężenie jest niskie). Z tego względu  $V_d$  określana jest jako **pozorna objętość dystrybucji**, definiowaną jako hipotetyczna objętość, w której po homogenym rozmieszczeniu dawki dożylniej lek miałby takie samo stężenie, jak we krwi. Można stwierdzić, że im lek jest silniej wiązany przez różne struktury tkanek (np. białka), to jego stężenie we krwi jest niższe, a  $V_d$  – większa.

Objętość dystrybucji jest najczęściej wyrażana w litrach. Jeżeli parametr ten, u dorosłego człowieka, wynosi 3,5 – 7 l (jest to w przybliżeniu objętość krwi w organizmie dorosłego człowieka), to lek pozostaje w łożysku naczyniowym i nie przenika do płynów pozanaczyniowych. Należy zwrócić uwagę na to, że lek może pozostawać w naczyniach w wyniku wiązania z białkami osocza, takimi jak albuminy czy  $\alpha_1$ -kwaśna glikoproteina. Wyobraźmy sobie sytuację, kiedy lek wiąże się w 99% z albuminami. Oczywiście, w takim przypadku większość leku pozostaje w łożysku naczyniowym. W takim razie, po oznaczeniu całkowitego stężenia leku (najczęściej mierzymy właśnie stężenie całkowite), wyznaczona pozorna objętość dystrybucji wynosić może kilka l.

Jeśli lek przenika do przestrzeni pozanaczyniowej, to jego objętość dystrybucji wynosi 10 – 20 l (objętość płynu zewnątrzkomórkowego, ECFV). Wartości dochodzące do 40 l świadczą o przenikaniu leku również do płynu wewnątrzkomórkowego (ICFV). Natomiast, gdy lek silnie ulega silnemu związaniu i kumulacji w tkankach, to wartości objętości dystrybucji przekraczają całkowitą masę ciała, osiągając wartości rzędu kilkuset litrów. Przykładowo, ibuprofen, który jest silnie wiązany przez białka osocza, znajduje się w wysokim stężeniu we krwi, a jego objętość dystrybucji jest niewielka (ok. 10 l). Lek o charakterze lipofilowym, takie jak diazepam, będą łatwiej przenikać przez błony komórkowe i mają większą objętość dystrybucji (ok. 70 l). Natomiast digoksyna, która ma bardzo wysokie powinowactwo do miejsc wiążących w tkankach obwodowych, wykazuje bardzo dużą objętość dystrybucji (ok. 500 l). Przykładem skrajnie wysokiej wartości pozornej objętości dystrybucji (ok. 2000 l) jest azytromycyna, przedstawiciel antybiotyków makrolidowych, która kumuluje się w wewnątrzkomórkowych lizosomach.

Objętość dystrybucji zależy w dużym stopniu od masy ciała, stąd w literaturze często można spotkać się z tzw. **względna objętością dystrybucji**,  $\Delta'$ :

$$\Delta' = \frac{V_d}{BW} \quad (1.6),$$

gdzie BW oznacza masę ciała. Jednostką względnej objętości dystrybucji są l/kg.

Jednak masa ciała nie jest jedynym czynnikiem, który wpływa na objętość dystrybucji. Należy wziąć pod uwagę również m.in. otyłość pacjenta, wiek, stężenie białek we krwi lub równoczesne podawanie leków silnie wiążących się z białkami.

#### Metody obliczania objętości dystrybucji w modelu jednokompartmentowym:

- a. przez ekstrapolację zmierzonych stężeń leku we krwi do czasu  $t = 0$  (tylko dla podania dożylnego)

$$V_d = \frac{D}{C_0} \quad (1.7)$$

gdzie D to podana dawka, a  $C_0$  to stężenie początkowe.

- b. Z wykorzystaniem pola powierzchni pod krzywą stężenia leku w czasie (AUC) i stałej szybkości eliminacji ( $k_e$ )

$$V_d = \frac{D}{AUC \cdot k_e} \quad (1.8)$$

W przypadku podania pozanaczyniowego, niezbędne jest uwzględnienie biodostępności leku (F)

$$V_d = \frac{F \cdot D}{AUC \cdot k_e} \quad (1.9)$$

- c. Przy długotrwałych wlewach dożylnych, możliwe jest ustalenie  $V_d$ , jeśli zmierzono stężenie w stanie stacjonarnym ( $C_{ss}$ )

$$V_d = \frac{k_0}{C_{ss} \cdot k_e} \quad (1.10)$$

gdzie  $k_0$  oznacza szybkość wlewu.

#### **4. Klirens**

**Klirens** (z ang. *clearance*) jest parametrem określającym szybkość eliminacji leku z organizmu. Odpowiada on objętości badanego płynu ustrojowego (najczęściej osocza lub krwi), która zostaje trwale i całkowicie oczyszczona z leku w jednostce czasu. Jednostka klirensu to najczęściej [l/h] lub [ml/min]. Klirens obliczyć można jako iloraz szybkości eliminacji leku ( $dX/dt$ ) oraz stężenia leku w badanym płynie ustrojowym:

$$Cl = \frac{v}{C} = \frac{dX}{dt} \cdot \frac{1}{C} \quad (1.11)$$

W tym miejscu należy również zaznaczyć, że klirens może być wyrażony również w przeliczeniu na masę lub powierzchnię ciała, a więc odpowiednio w [ $\text{ml} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{kg}^{-1}$ ] lub [ $\text{ml} \cdot \text{min}^{-1} / 1,73 \text{ m}^2$ ].

Dla każdego narządu zaangażowanego w eliminację leku można obliczyć odpowiedni klirens, np. klirens nerkowy ( $Cl_R$ ), klirens wątrobowy ( $Cl_H$ ). Sumę wszystkich klirensów narządowych określa się jako klirens ogólnoustrojowy ( $Cl$ ). Klirens ogólnoustrojowy można więc określić jako hipotetyczną objętość dystrybucji ulegającą oczyszczeniu z leku w jednostce czasu.

#### Metody obliczania klirensu ogólnoustrojowego

a. na podstawie szybkości eliminacji leku  $v$ , dla procesów pierwszego rzędu

Wiemy, że klirens, to iloraz szybkości eliminacji leku  $v$  oraz stężenia leku w płynie ustrojowym  $C$  (równanie 1.11). Zgodnie z kinetyką pierwszego rzędu:

$$v = -\frac{dX}{dt} = k_e \cdot X \quad (1.12)$$

Zgodnie z równaniem 1.5 współczynnikiem pozwalającym przeliczyć ilość leku  $X$  na stężenie  $C$ , które jesteśmy w stanie zmierzyć, jest objętość dystrybucji  $V_d$  stąd:

$$Cl = \frac{v}{C} = \frac{k_e \cdot V_d \cdot C}{C} \quad (1.13)$$

Ostatecznie można więc zapisać:

$$Cl = k_e \cdot V_d \quad (1.14)$$

b. w oparciu o znaną dawkę leku ( $D$ ) i wyznaczone pole powierzchni pod krzywą stężenia leku we krwi w funkcji czasu (AUC)

$$Cl = \frac{D}{AUC} \quad (1.15)$$

Równanie 1.15 jest słuszne dla podania dożylnego leku. W przypadku podania pozanaczyniowego należy uwzględnić ułamek dawki wchłoniętej z miejsca podania do krwi ( $F$ ):

$$Cl = \frac{F \cdot D}{AUC} \quad (1.16)$$

Warto zaznaczyć, że ta metoda wyznaczania klirensu jest odpowiednia dla modeli jedno-, dwu- oraz wielokompartментowych.

c. W przypadku podania leku we wlewie dożylnym:

$$Cl = \frac{k_0}{C_{ss}} \quad (1.17)$$

gdzie  $k_0$  to szybkość podawania wlewu dożylnego (np. mg/min), a  $C_{ss}$  to stężenie leku we krwi w stanie stacjonarnym (np. mg/ml).

d. W przypadku podania wielokrotnego

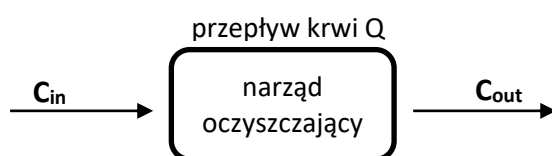
$$Cl = \frac{D}{C_{ss,ave} \cdot \tau} \quad (1.18)$$

gdzie:  $D$  to dawka leku podanego dożylnie,  $C_{ss,ave}$  to średnie stężenie leku we krwi w stanie stacjonarnym, a  $\tau$  to przedział dawkowania czyli okres upływający pomiędzy kolejnymi podaniami leku (np. 8 h, 12 h, 24 h)

Dla podania pozanaczyniowego (np. doustnego, domięśniowego itp.) należy uwzględnić ułamek dawki wchłoniętej  $F$ :

$$Cl = \frac{F \cdot D}{C_{ss,ave} \cdot \tau} \quad (1.19)$$

Klirens jest parametrem farmakokinetycznym najbardziej powiązany z anatomią i fizjologią organizmu. Oczyszczanie krwi z leku poprzez dany narząd można zobrazować na prostym schemacie



Rysunek 4. Schemat przedstawiający fizjologiczny model klirensu. Lek w stężeniu  $C_{in}$  trafia do narządu oczyszczającego (przepływ krwi przez ten narząd określamy jako  $Q$ ) i opuszcza go w stężeniu  $C_{out}$ .

(Rysunek 4).

Klirens jest ściśle związany z szybkością przepływu krwi przez dany narząd ( $Q$ ). Wielkość perfuzji jest również maksymalną wartością klirensu narządowego. Załóżmy, że przepływ krwi przez dany narząd wynosi  $Q = 1$  l/min. Jeśli lek jest w 100% usuwany z krwi przez ten narząd ( $C_{out} \approx 0$ ), to wartość klirensu osiągnie wartość maksymalną równą 1 l/min (czyli 1000 ml/min). Gdyby lek był usuwany przez dany narząd tylko z 50% wydajnością, to klirens osiągnąłby wartość 500 ml/min. Tę „wydajność oczyszczania” krwi z leku przez dany narząd określa tzw. współczynnik ekstrakcji ( $ER$ , *extraction ratio*). Oblicza się go na podstawie wartości stężenia leku we krwi napływającej do narządu ( $C_{in}$ ) i stężenia leku we krwi wypływającej z narządu ( $C_{out}$ ):

$$ER = \frac{C_{in} - C_{out}}{C_{in}} \quad (1.20)$$

Dla wyjaśnienia –  $ER$  oznacza o ile procent spadło stężenie leku we krwi na skutek przepływu przez dany narząd. Wyraża się go jednak w ułamku dziesiętnym (odpowiednio 100% to 1; 50% to 0,5; 1% to 0,01). Czyli, jeśli  $C_{out}$  stanowi 70% wartości  $C_{in}$ , będzie to oznaczało, że stężenie leku spadło o 30%, a  $ER$  wynosi 0,3.

Zgodnie z powyższym, można powiedzieć, że klirens dla danego narządu można wyrazić iloczynem prędkości przepływu krwi  $Q$  oraz współczynnika ekstrakcji  $ER$ :

$$Cl = Q \cdot ER \quad (1.21)$$

Klirens wątrobowy ( $Cl_H$ )



Przepływ krwi przez wątrobę zdrowej dorosłej osoby wynosi zwykle około 1,5 l/min ( $Q_H$ ). Zgodnie z powyższym wiadomo, że na wartość klirensu wątrobowego  $Cl_H$  będą miały wpływ wartości przepływu krwi  $Q_H$  oraz współczynnika oczyszczania krwi z leku przez wątrobę ( $ER_H$ ). Rola wątroby w eliminacji leków polega oczywiście na metabolizmie enzymatycznym, a zatem  $ER_H$  będzie wyznacznikiem aktywności enzymów wątrobowych u danego człowieka.

Przykład: Dla werapamilu określono wartość  $ER$  u dorosłego zdrowego człowieka, która wynosi średnio 0,9. Przy założeniu, że przepływ krwi przez wątrobę wynosi 1,5 l/min, łatwo obliczyć klirens wątrobowy werapamilu (równanie 1.21). U zdrowego dorosłego człowieka powinien on zatem wynosić 1350 ml/min.

Innym sposobem rozważania na temat klirensu wątrobowego jest wprowadzenie pojęcia **klirensu wewnętrznego** ( $Cl_{int}$ , *intrinsic clearance*). Klirens wewnętrzny oznacza maksymalną wydajność eliminacji leku przez wątrobę przy jego nieograniczonej podaży oraz założeniu braku wiązania leku z białkiem. Znana jest wartość maksymalna klirensu wątrobowego – jest ona równa wartości przepływu krwi przez wątrobę. Klirens wewnętrzny można zatem rozumieć jako wartość klirensu wątrobowego, którą miałby lek, gdyby przepływ krwi przez dany narząd był nieograniczony (nieograniczona byłaby podaż leku). Wartość klirensu wewnętrznego można wyznaczyć korzystając ze stałych równania Michaelisa-Menten:  $V_m$  oraz  $K_m$  (dla przypomnienia:  $V_m$  – szybkość maksymalna metabolizmu leku,  $K_m$  – stała Michaelisa równa stężeniu leku, gdy szybkość jego metabolizmu jest równa  $1/2 \cdot V_m$ ):

$$Cl_{int} = \frac{V_m}{K_m} \quad (1.22)$$

Biorąc pod uwagę powyższe informacje, stwierdzić można, że klirens wątrobowy jest funkcją klirensu wewnętrznego, ponieważ zależy od jego wielkości.

Klirens wątrobowy zależy również od wielkości frakcji wolnej leku  $f_u$ . Przez frakcję wolną rozumiemy lek niezwiązany z białkami osocza – albuminami i kwaśną  $\alpha_1$ -glikoproteiną, czy lipoproteinami. Wiązanie leku z białkami ma znaczenie, ponieważ metabolizowane mogą być tylko wolne cząsteczki leku.

Wszystkie te założenia zostały przedstawione w równaniu Wilkinsons-Shanda:

$$Cl_H = Q_H \cdot ER_H = \frac{Q_H \cdot f_u \cdot Cl_{int}}{Q_H + f_u \cdot Cl_{int}} \quad (1.23)$$

Możliwe są dwie skrajne sytuacje:

- Lek jest słabo metabolizowany, więc jego klirens wewnętrzny ( $Cl_{int}$ ) jest mały. Wówczas przepływ krwi przez wątrobę  $Q_H$  jest o wiele większy niż iloczyn  $f_u \cdot Cl_{int}$ :

$$Q_H \gg f_u \cdot Cl_{int}$$

wtedy  $Q_H + f_u \cdot Cl_{int} \approx Q_H$

Równanie 1.23 uprości się:

$$Cl_H = \frac{Q_H \cdot f_u \cdot Cl_{int}}{Q_H} \quad \text{i ostatecznie} \quad Cl_H \approx f_u \cdot Cl_{int}$$

Ta sytuacja ma miejsce w przypadku metabolizmu leków o niskim współczynniku ekstrakcji ( $ER < 0,2 - 0,3$ ). Ich klirens wątrobowy zależy przede wszystkim od aktywności enzymów

wątrobowych i od stopnia wiązania leku z białkami. Przepływ krwi przez wątrobę ma w tym przypadku mniejszy wpływ na wartość klirensu wątrobowego. Przykładami takich leków mogą być: przeciwzakrzepowa warfaryna, czy stosowane w terapii padaczki fenytoina i kwas walproinowy.

W przypadku leków o niskim współczynniku ekstrakcji duży wpływ na eliminację leku będą miały interakcje polegające na wypieraniu cząsteczek leku z połączeń z białkami. Rosnąc wtedy będzie  $f_u$ , a co za tym idzie rosnąc będzie również  $Cl_H$ , czyli lek będzie szybciej eliminowany. Podobnie inhibicja lub indukcja enzymów wątrobowych (odpowiednio: zmniejszenie lub zwiększenie  $Cl_{int}$ ) przez inne leki będzie osłabiać lub nasilać eliminację leku.

- Lek jest bardzo aktywnie metabolizowany (duża wartość  $Cl_{int}$ ). Wtedy iloczyn  $f_u \cdot Cl_{int}$  jest znacznie większy niż przepływ krwi  $Q_H$ :

$$f_u \cdot Cl_{int} \gg Q_H$$

wtedy  $Q_H + f_u \cdot Cl_{int} \approx f_u \cdot Cl_{int}$

Równanie 1.23 uprości się:

$$Cl_H = \frac{Q_H \cdot f_u \cdot Cl_{int}}{f_u \cdot Cl_{int}} \quad \text{i ostatecznie} \quad Cl_H \approx Q_H$$

Tego typu sytuacje będą miały miejsce dla leków o wysokim współczynniku ekstrakcji ( $ER > 0,7 - 0,8$ ). W takim przypadku klirens wątrobowy zależy w największym stopniu od przepływu krwi przez wątrobę (czynnikiem limitującym szybkość eliminacji leku jest szybkość jego dostarczania do wątroby, gdyż wydajność metabolizmu jest bardzo duża). Przykładami takich leków mogą być: przeciwartymiczna lidokaina, hipotensyjny propranolol, większość trójcyklicznych leków przeciwdepresyjnych, przeciwbólowe morfina czy petydyna.

W przypadku takich leków, bardzo duży wpływ na eliminację leku będą miały sytuacje kliniczne, gdy u pacjenta zmienia się przepływ krwi przez wątrobę (np. niewydolność serca). Mniejsze znaczenia będą miały tu interakcje polegające na wypieraniu z połączeń z białkami, czy inhibicji bądź indukcji enzymatycznej.

### Klirens nerkowy ( $Cl_R$ )

Wydalanie leku przez nerki jest złożonym procesem, w skład którego wchodzi:

- Filtracja kłębuszkowa – proces bierny, którego szybkość zależy od stężenia leku we krwi
- Sekrecja kanalikowa – proces aktywny, wysycalny, o ograniczonej pojemności
- Resorpcja zwrotna – może być zarówno procesem biernym, jak i aktywnym

U zdrowego dorosłego człowieka do nerek dociera około 25% rzutu serca, a więc przepływ krwi przez nerki wynosi ok. 1,2 – 1,5 l/min. Około 10% tej objętości ulega przesączaniu kłębuszkowemu (120 – 150 ml/min). Należy przypomnieć, że jedynie cząsteczki leku wolnego (niezwiązanego z białkami) są na tyle małe, aby mogły ulec filtracji kłębuszkowej.

Przykład: Załóżmy, że wartość przesączania kłębuszkowego (GFR, *glomerular filtration rate*) wynosi 125 ml/min, a lek wiąże się z białkami osocza w 80%. Wtedy, w sytuacji gdy lek jest eliminowany wyłącznie przez filtrację kłębuszkową, to jego klirens nerkowy będzie równy 25 ml/min. Przypomnieć

należy również, że GFR (a co za tym idzie – czynność nerek) określa się na podstawie klirensu kreatyniny.

Jeżeli lek, oprócz filtracji kłębuszkowej, podlega również sekrecji kanalikowej, to wartość jego klirensu może być o wiele wyższa od wartości GFR. Zazwyczaj, gdy klirens nerkowy danej substancji przekracza 120-150 ml/min, oznacza to, że jest ona aktywnie wydzielana w kanalikach nerkowych. Jeżeli natomiast, po uwzględnieniu wiązania z białkami, wartość klirensu jest niższa niż GFR, oznacza to, że lek jest zwrotnie wchłaniany w kanalikach nerkowych. Na reabsorpcję duży wpływ ma charakter kwasowo-zasadowy leku. W trakcie wchłaniania zwrotnego wody w kanalikach nerkowych, wytwarzany jest gradient stężeń dla leku, który to będzie napędzał wchłanianie zwrotne na zasadzie dyfuzji biernej. Należy jednak pamiętać, że dyfuzji biernej będą ulegały cząsteczki w formie niejonizowanej. Zatem ważne jest pH moczu oraz  $pK_a$  (charakter kwasowo-zasadowy) substancji leczniczej.

## 5. Biologiczny okres półtrwania

Jest drugim, obok klirensu, ważnym parametrem farmakokinetycznym określającym szybkość eliminacji leku z ustroju. Jest to czas (wyrażony np. w min, h, dniach itd.), po upływie którego stężenie substancji w terminalnej fazie eliminacji leku, czyli po zakończeniu procesów wchłaniania i dystrybucji, zmniejsza się o połowę.

W farmakokinetyce liniowej, opisywanej przy pomocy równań kinetyki pierwszego rzędu, biologiczny okres półtrwania ( $t_{0,5}$ ) jest wartością stałą, niezależną od dawki leku i odwrotnie proporcjonalną do stałej szybkości eliminacji:

$$t_{0,5} = \frac{\ln 2}{k_e} = \frac{0,693}{k_e} \quad (1.24)$$

Wartość  $t_{0,5}$  jest cechą charakterystyczną danego leku, czyli u wszystkich osób powinien mieć zbliżone wartości. Zależy on jednak od: płci, rasy, wieku, stanu zdrowia (funkcji narządów), aktywności procesów enzymatycznych (w tym interakcji z innymi lekami).

Biologiczny okres półtrwania jest jednym z najczęściej używanych parametrów farmakokinetycznych. Pamiętać jednak należy, że jest parametrem pochodnym, wynikającym z podstawowych parametrów farmakokinetycznych – klirensu i objętości dystrybucji. Klirens i objętość dystrybucji są parametrami całkowicie odrębnymi, mogą zmieniać się w sposób niezależny. Natomiast jeśli zmienia się  $t_{0,5}$ , to jest to skutek zmiany  $V_d$  lub  $Cl$ . Zależność tę opisuje równanie, powstałe poprzez połączenie równań 1.14 i 1.24:

$$t_{0,5} = \frac{0,693 \cdot V_d}{Cl} \quad (1.25)$$

## 6. Czynniki wpływające na podstawowe parametry farmakokinetyczne:

### Stany chorobowe

W stanach chorobowych, a szczególnie w przypadku chorób wątroby i nerek, może dochodzić do zmiany syntezy białka. Mniejsza ilość białek takich jak albuminy lub kwaśna  $\alpha_1$ -glikoproteina, może doprowadzić do zmniejszenia ilości leku związanego z tym białkiem. Gdy u chorego leczonego lekiem silnie wiążącym się białkami osocza dojdzie do spadku poziomu albumin, to wiązanie leku z białkami krwi spadnie. Wtedy cząsteczki leku wolnego ulegną łatwiejszej dystrybucji (przejdą łatwiej przez błony komórkowe) oraz szybszej eliminacji. W konsekwencji spadnie całkowite stężenie leku oznaczane we krwi, a co za tym idzie wzrośnie objętość dystrybucji.

**Choroby nerek** będą w znaczącym stopniu wpływać na wydłużenie biologicznego okresu półtrwania leków. Co ważne, w im większym stopniu lek wydalany jest drogą nerkową, tym bardziej dysfunkcja nerek wpływa na wydłużenie tego czasu. Do substancji leczniczych wydalanych głównie nerkowo zalicza się m.in. penicyliny, cefalosporyny czy aminoglikozydy (np. wspomniana wcześniej gentamycyna). Jeśli lek jest wydalany jedynie w niewielkim stopniu drogą nerkową, to nawet przy ciężkiej niewydolności nerek  $t_{0,5}$  wydłuży się nieznacznie. Do tej grupy zaliczane są np. neuroleptyki czy antydepresanty.

W przebiegu **chorób wątroby**, również może zmniejszać się klirens leków. Jednakże nie jest to zależność tak oczywista, jak w przypadku chorób nerek. Przykładowo, w przypadku marskości wątroby może obniżyć się klirens zydowudyny (lek stosowany w zwalczaniu wirusa HIV), teofiliny bądź diazepam. Z drugiej strony, oksazepam bądź lorazepam nie mają zmienionej farmakokinetyki w przebiegu tej choroby. Może to wynikać w fakcie, że choroby wątroby mogą nie dotyczyć w tym samym stopniu wszystkich układów enzymatycznych.

Ponieważ przepływ krwi przez narządy odgrywa decydującą rolę w przypadku dystrybucji i eliminacji leków (patrz rozdział dot. współczynnika ekstrakcji), choroby zmieniające objętość wyrzutową serca wpływają na farmakokinetykę leków. Przykładowo, lidokaina, która posiada wąski indeks terapeutyczny, jest dawkowana w sposób zindywidualizowany, zgodnie z tym, jaką pojemność minutową serca zmierzono u pacjenta. Stwierdzono bowiem, że klirens tego leku zmniejsza się u pacjentów, u których serce ma zmniejszoną wydolność. Podobne obserwacje dotyczą m.in. beta-blokerów czy teofiliny.

Z kolei w trakcie wstrząsu i posocznicy istotnie zwiększa się objętość dystrybucji. W konsekwencji, aby zapewnić odpowiednie stężenia terapeutyczne, konieczne jest zwiększenie dawek.

### Wiek dziecięcy

W przewodzie pokarmowym noworodka i niemowlęcia panują odmienne niż u dorosłych warunki wchłaniania różnych substancji. Mała jest powierzchnia przewodu pokarmowego, mniejsze jest wytwarzanie kwasu solnego, pepsynogenu, żółci, mniejsza jest aktywność enzymów trzustkowych. Wolniejsza jest perystaltyka żołądka i jelit, a jednocześnie błona śluzowa przewodu pokarmowego ma większą przepuszczalność. Enzymy jelitowe (np. CYP3A4), które biorą udział w metabolizmie pierwszego przejścia, są niedojrzałe. Konsekwencją tych zmian może być różna dostępność biologiczna leków, dla części leków (np. fenobarbital, paracetamol) będzie ona zmniejszona, dla innych (np. ampicyliny) – zwiększona. Należy również pamiętać o znacznie większym wchłanianiu substancji podawanych na skórę, której przepuszczalność u małych dzieci jest znacznie większa niż u

dorostych (obserwowano zatrucia po stosowaniu kwasu borowego do płukania pieluszek, stąd maści z kwasem borowym nie stosuje się u dzieci poniżej 3 roku życia).

U niemowląt zarówno stężenie albumin, jak i stopień wiązania leku z białkiem są mniejsze. U dzieci obserwuje się też większy odsetek całkowitej wody ustrojowej i zewnątrzkomórkowej (ok. 75% masy ciała, w porównaniu do 55 – 60% u osoby dorosłej). W konsekwencji stężenie leków hydrofilowych w osoczu u dzieci może być niższe w porównaniu do stężeń u osób dorosłych po podaniu tych samych dawek na kg masy ciała. Dlatego też, przy ustalaniu dawkowania u dzieci, często przelicza się dawkę leku na powierzchnię ciała, która lepiej koreluje z objętością płynu pozakomórkowego. U dzieci obserwuje się również znacznie większą przepuszczalność barier tkankowych, zwłaszcza bariery krew-mózg. W konsekwencji dzieci są bardziej wrażliwe na leki wpływające na OUN oraz na alkohol.

Odmienne przebiega również proces eliminacji. U noworodków i małych dzieci mniejsza jest sprawność enzymów wątrobowych, szybkość eliminacji leków jest więc zmniejszona, a  $t_{0,5}$  ulega wydłużeniu. Natomiast u dzieci (1 – 10 lat) eliminacja leków przebiega zazwyczaj szybciej niż u dorosłych. Stąd często w pediatrii stosowane są dawki, które w przeliczeniu na kg m.c. są wyższe niż u dorosłych.

### Wiek podeszły

Postępujące w wieku podeszłym zmiany fizjologiczne obejmują między innymi zmniejszenie objętości wody tkankowej, przy jednoczesnym zwiększeniu ilości tkanki tłuszczowej. Z związku z tym leki hydrofilne mogą osiągać wyższe stężenie w osoczu, natomiast leki lipofilne – niższe. Maleje również stężenie albumin. W konsekwencji może dochodzić do zwiększenia frakcji leku wolnego, a przez to działanie farmakologiczne może być silniejsze. Rośnie przy tym ryzyko wystąpienia działań niepożądanych.

Jeżeli rozważamy klirens metaboliczny, to dla większości leków jest on zmniejszony w wieku podeszłym. Jednak dla niektórych leków, metabolizowanych głównie na drodze sprzęgania (np. paracetamol), pozostaje on niezmienny. Natomiast klirens nerkowy wyraźnie zmniejsza się, ponieważ wraz z wiekiem osłabieniu ulega funkcja nerek. Co ważne, ze względu na to, że osoby starsze często stosują jednocześnie kilka leków z różnych grup terapeutycznych, znacząco wzrasta ryzyko wystąpienia interakcji farmakokinetycznych na każdym etapie ADME.

### Ciąża

U kobiet w ciąży zmniejsza się motoryka przewodu pokarmowego – czas opróżniania żołądka i jelit wydłuża się o ok. 30 – 50%. Przedłużone przebywanie w przewodzie pokarmowym leków, które ulegają efektowi pierwszego przejścia w jelicie, może zmniejszać ich dostępność biologiczną. Wchłanianie leków podanych doustnie może być również zaburzone ze względu na występujące u wielu kobiet ciężarnych nudności i wymioty. W czasie ciąży wzrasta objętość dystrybucji. Zwiększa się objętość krwi oraz objętość wody zewnątrzkomórkowej, jak również dochodzi do przyrostu tkanki tłuszczowej, a więc zwiększa się objętość dystrybucji leków i hydrofilowych, i lipofilowych. Jednocześnie stężenie białka w osoczu może maleć – rośnie frakcja wolna leku. Zwiększona jest szybkość przesączania kłębuszkowego, stąd wydalanie leków z moczem następuje szybciej.

### Polimorfizm genetyczny

W obrębie populacji ludzkiej obserwuje się różnicowany poziom aktywności układów enzymatycznych, biorących udział w metabolizowaniu ksenobiotyków. Różne mutacje, często zależne od występowania zmiany nukleotydu w pojedynczym *locus*, wpływają na obniżenie aktywności danego układu enzymatycznego. Takie osoby określane są często jako odpowiednio „wolni metabolizerzy” (ang. *poor metabolizers*). W rzadkich przypadkach dana mutacja może zwiększać aktywność enzymu u osób będących jej nosicielami. W porównaniu do większości populacji, u wolnych metabolizerów klirens leku będzie niższy, a w konsekwencji stężenie - wyższe. W poniższej tabeli zamieszczono przykłady układów enzymatycznych dla których polimorfizmy genetyczne odgrywają znaczącą rolę, wraz z lekami przez nie przekształcanymi.

Tabela 1: Przykłady wpływu polimorfizmu genetycznego na układy enzymatyczne biorące udział w metabolizmie leków.

<b>Enzym</b>	<b>Mutacja</b>	<b>Lek</b>
Cytochrom P450, 2D6	PM – poor metabolizers	Kodeina, leki p.depresyjne, beta-blokery
Cytochrom P450, 2C9	*2, *3 – obniżona aktywność	Warfaryna
Cytochrom P450, 2C19	*2, *3 – obniżona aktywność	Klopidogrel
TMTTP (S-metylotransferaza tiopuryny)	*2, *3 – obniżona aktywność	Merkaptopuryna

**Pytania:**

1. Czy w modelu jednokompartimentowym stężenie leku jest w danym czasie identyczne we wszystkich tkankach organizmu?
2. Czy względna dostępność biologiczna może przekraczać 100%?
3. Substancja X jest lekiem, który ulega inaktywacji przez enzymy wątrobowe. Czy jeśli pacjent będzie spożywać duże ilości soku grejpfrutowego, którego składnik – naryngenina jest inhibitorem enzymów z rodziny CYP450, to biodostępność podanego doustnie leku X wzrośnie czy zmaleje?
4. Digoksyna u osób otyłych w niewielkim stopniu ulega dystrybucji do nadmiarowej tkanki tłuszczowej. Czy w takim razie zarekomendujesz podanie jej w takiej samej dawce, jak osobie szczupłej, czy przeliczysz dawkę proporcjonalnie do masy ciała?
5. Gentamycyna jest lekiem prawie w 100% eliminowanym przez nerki (jej klirens jest ściśle skorelowany z klirensiem kreatyniny). Czy zarekomendujesz odmienne dawkowanie gentamycyny u osoby w podeszłym wieku?
6. Dlaczego noworodkowi nie powinno podawać się preparatów zawierających sulfonamidy np. Bactrim?
7. Kiedy konieczne będzie podwyższenie dawki leku u chorego z niewydolnością wątroby lub u wolnego metabolizera?
8. Lek X jest w większości eliminowany z organizmu na drodze metabolizmu wątrobowego. Czy u chorego z niewydolnością nerek konieczna będzie redukcja dawki leku X?

**Piśmiennictwo:**

1. Hermann T.W. *Farmakokinetyka. Teoria i Praktyka*. Wydawnictwo Lekarskie PZWL, Warszawa 2002
2. Derendorf H., Gramatté T., Schäfer H.G., Staab A. (aut). Wyska E. (red). *Farmakokinetyka. Podstawy i znaczenie praktyczne*. MedPharm Polska, Wrocław 2013
3. Skibińska Ł., Hermann T.W. *Ćwiczenia z farmakokinetyki*. Wydawnictwa Akademii Medycznej im. Karola Marcinkowskiego, Poznań 2003
4. Orzechowska-Juzwenko K. (red). *Farmakologia Kliniczna. Znaczenie w praktyce medycznej*. Górnicki Wydawnictwo Medyczne, Wrocław 2006
5. Jambhekar S.S., Breen P.J. *Basic Pharmacokinetics*. Pharmaceutical Press 2009
6. Bauer L.A. *Applied Clinical Pharmacokinetics*. The McGraw-Hill Companies Inc. 2008

## CZĘŚĆ PRAKTYCZNA

### Aparatura i materiały:

Kolby próżniowe o pojemności 250 ml i 500 ml, mieszadło magnetyczne wraz z dipolem, pompa perystaltyczna z regulacją szybkości przepływu zaopatrzona w gumowe węże odprowadzające, zlewki o pojemności 0,8 l i 2 l, kuwety spektrofotometryczne, spektrofotometr umożliwiający pomiar absorbancji w zakresie VIS, pipety automatyczne o pojemności 1 ml oraz 5 ml wraz z odpowiednimi końcówkami, cylinder miarowy, stoper, roztwór wodno-metanolowy (1:1) błękitu brylantowego o stężeniu 6 mg/ml, woda destylowana

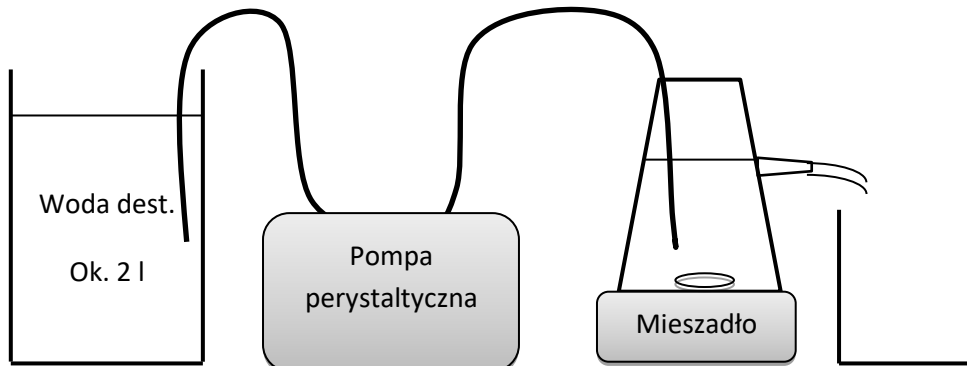
### Wykonanie:

W ćwiczeniu zostaną wykonane pomiary w oparciu o trzy modele hydrauliczne, różniące się objętościami kolb stożkowych oraz szybkościami przepływu wody, zgodnie z następującym schematem:

Nr	Objętość kolby [ml]	Szybkość przepływu
1	250	ok. 30 ml/min
2	250	ok. 60 ml/min
3	500	ok. 60 ml/min

#### 1. Przygotowanie stanowiska:

- a. Skonstruować zestaw do wykonania ćwiczenia zgodnie z następującym schematem:



- b. Uwaga - węże pompy perystaltycznej powinny być głęboko zanurzone w zlewce oraz w kolbie.
  - c. Wykalibrować spektrofotometr przy  $\lambda = 580 \text{ nm}$ , stosując wodę jako próbkę ślepą.
- #### 2. Pomiar szybkości przepływu:
- a. U uruchomić mieszadło magnetyczne, ustawiając pokrętkę na szybkość „5”.
  - b. U uruchomić pompę perystaltyczną, ustawiając odpowiedni przepływ (ustawienia podaje asystent).
  - c. Upewnić się, że woda jednostajnie wypływa z kolby stożkowej.
  - d. Zmierzyć cylindrem miarowym objętość wody wypływającej z kolby przez 1 min (czas odmierzać stoperem).



- e. Nie wyłączając, ani nie zmieniając ustawień pompy przystąpić do wykonania dalszej części ćwiczenia.
3. Pomiar kinetyki zmian stężenia błękitu brylantowego w czasie:
    - a. Odmierzyć 1 ml roztworu błękitu brylantowego i dodać do kolby stożkowej, jednocześnie uruchamiając stoper.
    - b. Pobierać próbki o objętości 3 ml (do probówek) w następujących punktach czasowych: 1, 2, 3, 4, 6, 8 i 10 min od momentu dodania błękitu.
    - c. Zmierzyć absorbancję próbek przy  $\lambda = 580 \text{ nm}$ .
    - d. Po ostatnim pomiarze wyłączyć mieszadło i pompę, wylać zlewki i przygotować kolejny układ pomiarowy.
  4. Obliczenia parametrów farmakokinetycznych:
    - a. Uruchomić w programie Microsoft Excel przygotowany skoroszyt.
    - b. Podaj warunki pomiarowe: pojemność kolby, szybkość przepływu wody, dawkę błękitu.
    - c. Wprowadzić uzyskane pomiary absorbancji.
    - d. Na podstawie podanego współczynnika kierunkowego krzywej wzorcowej przeliczyć absorbancję na stężenie błękitu brylantowego wyrażone w  $\mu\text{g/ml}$  oraz sporządzić wykresy zależności  $C = f(t)$  oraz  $\ln C = f(t)$ .
    - e. Obliczyć podstawowe parametry farmakokinetyczne:  $C_0$ ,  $k_e$ ,  $V_d$ ,  $Cl$ ,  $t_{0,5}$ .
  5. Podsumowanie ćwiczenia:
    - a. Jaki wpływ na  $t_{0,5}$  ma zmiana  $Cl$ , gdy  $V_d$  jest stała?
    - b. Jaki wpływ na  $t_{0,5}$  ma zmiana  $V_d$ , gdy  $Cl$  jest stały?
    - c. Jak niniejszy model hydrauliczny można odnieść do warunków klinicznych oraz jakie konsekwencje terapeutyczne mogą nieść za sobą obserwowane zmiany parametrów farmakokinetycznych?