

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

Katarzyna Kosicka-Noworzyń, Dorota Danielak, Michał Romański

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 jednokompartimentowym, objętość dystrybucji, klirens, współczynnik ekstrakcji, biologiczny okres półtrwania.

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 (szybkiej iniekcji, 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 tkanek organizmu. Po wchłonięciu z miejsca podania lek krąży we krwi, ale nie jest rozprowadzany równomiernie do wszystkich części organizmu. Różne leki penetrują tkanki z różną szybkością, która jest zależna m.in. 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. atenolol) będą pozostawały głównie we krwi i w płynie zewnątrzkomórkowym, ponieważ ich hydrofilowe właściwości utrudniają przechodzenie przez lipidowe błony komórkowe. Leki lipofilowe (np. klorazepan) będą łatwiej ulegały kumulacji w tkance tłuszczowej. Pewne 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 największą zdolność do przenikania przez błony biologiczne mają cząsteczki, których wypadkowy ładunek jest obojętny (czyli np. cząsteczki niezdysocjowane).

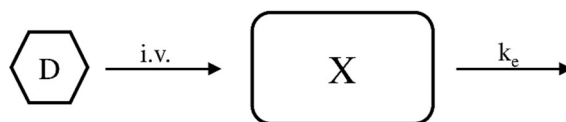
Wszystkie procesy prowadzące do zmniejszenia ilości leku w organizmie określa się mianem eliminacji. Co ważne, eliminacja nie jest tożsama z wydalaniem. Jest to bowiem pojęcie bardziej rozległe, obejmujące zarówno metabolizm, jak i wydalanie. Te dwa procesy są integralnymi częściami procesu eliminacji. 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 wydalanie z organizmu. W tym miejscu należy również wspomnieć o prolekach, dla których metabolizm jest niezbędny do uzyskania efektu terapeutycznego. Prolek to cząsteczka nieaktywna biologicznie, a za efekt farmakologiczny odpowiadają metabolity. Przykładem często stosowanego proleku jest kłopidogrel, który sam nie wykazuje aktywności biologicznej, a 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 wydalone. 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 i dalej 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 jednokompartментowy, w którym zakładamy, że cały organizm stanowi jeden kompartment, a dystrybucja zachodzi w bardzo krótkim czasie od chwili podania leku. Schemat blokowy dla tego modelu przedstawiony został na **rycinie 1.1**.



Rycina 1.1. Schemat blokowy modelu jednokompartментowego
(Źródło: opracowanie własne)

W powyższym przypadku dawka leku (D) została podana jednorazowo w szybkiej iniekcji dożylniej ($i.v.$). Lek, którego ilość oznaczono jako X , natychmiastowo rozprzestrzenił się w całym organizmie. Następnie lek uległ 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):

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

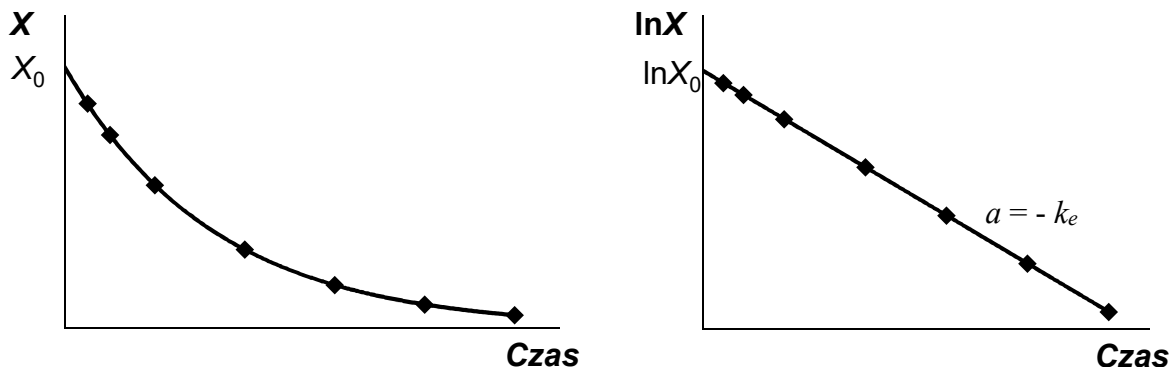
Po jego scałkowaniu otrzymujemy równania opisujące ilość leku w organizmie w funkcji czasu (1.2, 1.3):

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

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

gdzie: X to ilość leku w danym czasie t ,
 X_0 oznacza ilość leku w czasie 0.

Równania te można zobrazować za pomocą wykresów przedstawionych na **rycinie 1.2**.



Rycina 1.2. Wykresy zależności ilości leku (X) oraz logarytmu naturalnego ilości leku ($\ln X$) w czasie
(Źródło: opracowanie własne)

Wyznaczenie ilości leku w ustroju jest niemożliwe, należy więc zamienić ilość leku na jego stężenie we krwi. Umożliwia to objętość dystrybucji (V_d), która jest współczynnikiem proporcjonalności pozwalającym dokonać tej transformacji:

$$X = V_d \cdot C, \text{ a więc } C = \frac{X}{V_d} \quad (1.4)$$

Po podzieleniu ilości leku przez objętość dystrybucji w równaniu 1.2 otrzymujemy zależność wykładniczą, na podstawie której możemy śledzić zmiany stężenia leku we krwi (**rycina 1.3**):

$$C = C_0 e^{-k_e t} \quad (1.5)$$

Natomiast równanie liniowe przyjmie następującą postać:

$$\ln C = \ln C_0 - k_e t \quad (1.6)$$

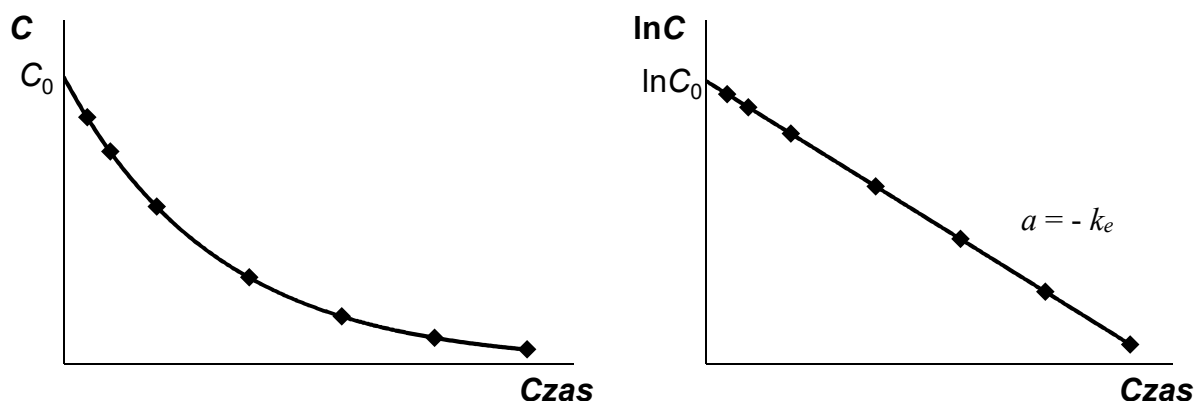
Wartość C_0 jest to stężenie leku we krwi w czasie $t = 0$. Wartości tej nie można wyznaczyć doświadczalnie, gdyż nie możemy wiarygodnie zmierzyć stężenia leku we krwi w czasie $t = 0$, czyli w momencie podania leku. Dokonuje się tego poprzez ekstrapolację wykresu $\ln C = f(t)$ do czasu $t = 0$. Wartość $\ln C_0$ odpowiada wyrazowi wolnemu (b) w równaniu liniowym. Po odlogarytmowaniu powyższej wartości otrzymujemy wartość C_0 .

Po podaniu iniekcji dożylnnej (bolus) w modelu jednokompartamentowym na wykresie stężenia leku we krwi jako funkcji czasu obserwowana jest jedynie faza eliminacji. Z równania 1.6 można również wyznaczyć stałą szybkości eliminacji leku:

$$k_e = \frac{\ln C_0 - \ln C}{\Delta t} \quad (1.7)$$

Znając jej wartość, możemy następnie obliczyć biologiczny okres półtrwania leku.

Stałą szybkości eliminacji leku (k_e) wyznaczamy na podstawie nachylenia prostej (współczynnik kierunkowy) dla funkcji liniowej $\ln C = f(t)$, wiedząc, że $a = -k_e$.



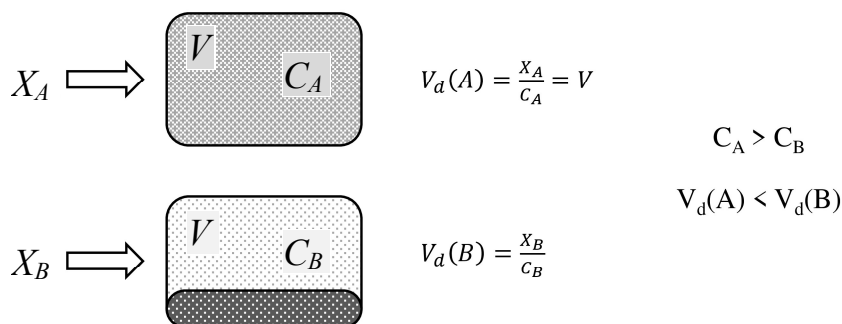
Rycina 1.3. Wykresy zależności stężeniu leku we krwi (C) oraz logarytmu naturalnego stężenia leku we krwi ($\ln C$) w czasie
(Źródło: opracowanie własne)

Objętość dystrybucji

Pojęcie objętości dystrybucji

Powyżej wprowadzono pojęcie objętości dystrybucji (V_d). Z matematycznego punktu widzenia objętość dystrybucji to współczynnik proporcjonalności pomiędzy zmierzonym stężeniem leku we krwi (w osoczu, surowicy) (C) a całkowitą ilością leku w organizmie (X) (równanie 1.4). Objętość dystrybucji pomaga opisać, jak zachodzi ilościowe rozmieszczenie leku w organizmie. Należy pamiętać, że dystrybucja to proces złożony i uwzględnia przenikanie leku z krwi do przestrzeni międzykomórkowych i transport przez błony biologiczne. Ważną rolę odgrywają też specyficzne 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 **rycinie 1.4**. 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, a co za tym idzie – mniej leku zostaje we krwi). Zmierzono stężenia obu leków we krwi pacjenta i wynosiły one odpowiednio C_A i C_B , przy czym stwierdzono, że stężenie leku A było znacznie wyższe.



Rycina 1.4. Schematyczne przedstawienie objętości dystrybucji
(Źródło: opracowanie własne)

Łącząc te obserwacje z podstawowym równaniem na objętość dystrybucji, stwierdzono, że w przypadku leku A V_d przyjmuje wartość zbliżoną 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 i definiowana jako hipotetyczna objętość, w której po homogenym rozmieszczeniu dawki dożylny lek miałby takie samo stężenie jak we krwi. Można stwierdzić, że im lek jest silniej wiązany przez różne struktury tkanek (np. białka), tym 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 kwaśna α_1 -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 litrów.

Jeśli lek przenika do przestrzeni pozanaczyniowej, to jego objętość dystrybucji wynosi 10–20 l (objętość płynu zewnątrzkomórkowego, *ECFV*, *extracellular fluid volume*). Wartości dochodzące do 40 l świadczą o przenikaniu leku również do płynu wewnątrzkomórkowego (*ICFV*, *intracellular fluid volume*). Natomiast gdy lek 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). Leki 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 przedstawiciel antybiotyków makrolidowych – azytromycyna, która kumuluje się w wewnątrzkomórkowych lizosomach.

Objętość dystrybucji zależy w dużym stopniu od masy ciała, stąd w literaturze często można spotkać się z tzw. względną objętością dystrybucji, Δ' :

$$\Delta' = \frac{V_d}{BW} \quad (1.8)$$

gdzie BW (*body weight*) 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 jednokompartamentowym

a) Przez ekstrapolację zmierzonych stężeń leku we krwi do czasu $t = 0$ (tylko dla bolusa dożylnego):

$$V_d = \frac{D}{C_0} \quad (1.9)$$

gdzie: D to podana dawka,

C_0 to stężenie początkowe wyznaczone przez ekstrapolację wykresu $\ln C = f(t)$.

- b) Z wykorzystaniem pola powierzchni pod krzywą stężenia leku w czasie (AUC , *area under the curve*) i stałej szybkości eliminacji (k_e):

$$V_d = \frac{D}{AUC \cdot k_e} \quad (1.10)$$

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

$$V_d = \frac{F \cdot D}{AUC \cdot k_e} \quad (1.11)$$

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

$$V_d = \frac{k_0}{C_{ss} \cdot k_e} \quad (1.12)$$

gdzie k_0 oznacza szybkość wlewu.

Klirens

Klirens (z ang. *clearance*) jest parametrem określającym szybkość eliminacji leku z organizmu. Klirens odpowiada 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:

$$Cl = \frac{v}{C} = \frac{\frac{dX}{dt}}{C} \quad (1.13)$$

W tym miejscu należy zaznaczyć, że klirens może być wyrażony również w przeliczeniu na masę lub powierzchnię ciała, a więc odpowiednio w [ml/min/kg] lub [ml/min/1,73 m²].

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 1.14). Zgodnie z kinetyką pierwszego rzędu:

$$v = -\frac{dX}{dt} = k_e \cdot X \quad (1.14)$$

Zgodnie z równaniem 1.4 współczynnikiem pozwalającym przeliczyć ilość leku X na stężenie C , które jesteśmy w stanie zmierzyć, jest objętość dystrybucji V_d ; stąd:

$$Cl = \frac{v}{C} = \frac{k_e \cdot V_d \cdot C}{C} \quad (1.15)$$

Ostatecznie można więc zapisać:

$$Cl = k_e \cdot V_d \quad (1.16)$$

- b) Na podstawie znanej dawki leku (D) i wyznaczonego pola powierzchni pod krzywą stężenia leku we krwi w funkcji czasu (AUC):

$$Cl = \frac{D}{AUC} \quad (1.17)$$

Równanie 1.17 jest słuszne dla podania dożylnego leku. W przypadku podania pozanaczyniowego należy uwzględnić biodostępność (F):

$$Cl = \frac{F \cdot D}{AUC} \quad (1.18)$$

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

- c) W przypadku podania leku we wlewie dożylnym:

$$Cl = \frac{k_0}{C_{ss}} \quad (1.19)$$

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

- d) W przypadku podania wielokrotnego:

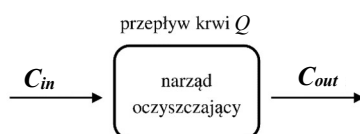
$$Cl = \frac{D}{C_{ss,ave} \cdot \tau} \quad (1.20)$$

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

Dla podania pozanaczyniowego (np. doustnego, domięśniowego itp.) należy uwzględnić biodostępność F :

$$Cl = \frac{F \cdot D}{C_{ss,ave} \cdot \tau} \quad (1.21)$$

Klirens jest parametrem farmakokinetycznym najbardziej powiązanym z anatomią i fizjologią organizmu. Oczyszczanie krwi z leku poprzez dany narząd można zobrazować na prostym schemacie (**rycina 1.5**).



Rycina 1.5. 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}
 (Źródło: opracowanie własne)

Klirens narządowy jest ściśle związany z szybkością przepływu krwi przez dany narząd (Q). Wielkość perfuzji jest również maksymalną wartością (wartością graniczną) 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}):

$$ER = \frac{C_{in} - C_{out}}{C_{in}} \quad (1.22)$$

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 szybkości przepływu krwi (Q) oraz współczynnika ekstrakcji (ER):

$$Cl = Q \cdot ER \quad (1.23)$$

Klirens wątrobowy (Cl_H)

Przepływ krwi przez wątrobę zdrowej dorosłej osoby wynosi zwykle ok. 1,5 l/min (Q_H). Stąd wiadomo, że na wartość 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 1.23). U zdrowego dorosłego człowieka powinien on zatem wynosić 1350 ml/min.

W aspekcie klirensu wątrobowego ważne jest pojęcie 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 i lek nie wiązałby się wcale z białkami krwi). Wartość klirensu wewnętrznego można wyznaczyć, korzystając ze stałych równania Michaelisa-Menten: V_{max} oraz K_m (dla przypomnienia: V_{max} – szybkość maksymalna metabolizmu leku, K_m – stała Michaelisa równa stężeniu leku, gdy szybkość jego metabolizmu jest równa $1/2 \cdot V_{max}$):

$$Cl_{int} = \frac{V_{max}}{K_m} \quad (1.24)$$

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 α_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 Wilkinsona-Shanda:

$$Cl_H = Q_H \cdot ER_H = \frac{Q_H \cdot f_u \cdot Cl_{int}}{Q_H + f_u \cdot Cl_{int}} \quad (1.25)$$

Możliwe są dwie skrajne sytuacje:

- a) 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 $f_u \cdot Cl_{int}$:

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

Równanie 1.25 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 warfaryna czy 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. Rosnąć wtedy będzie f_u , a co za tym idzie – rosnąć 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.

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

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

Równanie 1.25 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 w wypadku leków o wysokim współczynniku ekstrakcji ($ER > 0,7-0,8$). Wtedy 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: lidokaina, propranolol, większość trójcyklicznych leków przeciwdepresyjnych, morfina czy petydyna.

Bardzo duży wpływ na eliminację takich leków będą miały sytuacje kliniczne, gdy u pacjenta zmienia się przepływ krwi przez wątrobę (np. niewydolność serca). Mniejsze

znaczenie 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:

- a) filtracja kłębuszkowa – proces bierny, którego szybkość zależy liniowo od ułamka leku wolnego we krwi ($Cl_f = f_u \cdot GFR$);
- b) sekrecja kanalikowa – proces aktywny, o ograniczonej pojemności; może to być również proces bierny;
- c) resorpcja zwrotna – może być procesem zarówno biernym, jak i aktywnym.

U zdrowego dorosłego człowieka do nerek dociera ok. 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, iż jedynie cząsteczki leku wolnego (niezwiązanego z białkami) są na tyle małe, że mogą 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 nerkowego 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 odbywającego się w kanalikach nerkowych wchłaniania zwrotnego wody 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 niezjonizowanej. Zatem ważne jest pH moczu oraz *pK_a* (charakter kwasowo-zasadowy) substancji leczniczej.

Biologiczny okres półtrwania

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

W farmakokinetyce liniowej, opisywanej za pomocą równań kinetyki pierwszego rzędu, biologiczny okres półtrwania (*t*_{0,5}) jest wartością stałą, niezależną od dawki leku i odwrotnie proporcjonalną do stałej szybkości eliminacji:

$$t_{0,5} = \frac{\ln 2}{k_e} = \frac{0,693}{k_e} \quad (1.26)$$

Biologiczny okres półtrwania jest cechą charakterystyczną danego leku, czyli u wszystkich osób powinien mieć porównywalne wartości. Zależy on jednak od: płci, rasy, wieku, stanu zdrowia (funkcji narządów), stanu fizjologicznego (np. ciąży), 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 1.16 i 1.26:

$$t_{0,5} = \frac{0,693 \cdot V_d}{Cl} \quad (1.27)$$

Stany chorobowe jako czynniki wpływające na podstawowe parametry farmakokinetyczne

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 α_1 -glikoproteina, we krwi może doprowadzić do zmniejszenia ilości leku związanego z tym białkiem. Gdy u chorego leczonego lekiem silnie wiążącym się z białkami osocza dojdzie do spadku stężenia albumin, to obniży się wiązanie leku z białkami krwi. Wtedy lek łatwiej przechodzi przez błony komórkowe, a co za tym idzie – wzrasta objętość dystrybucji. Wzrasta również szybkość eliminacji, zatem w konsekwencji zmniejszy się całkowite stężenie leku oznaczane we krwi.

Choroby nerek w znaczącym stopniu wpływają na wydłużenie biologicznego okresu półtrwania leków eliminowanych drogą nerkową. W im większym stopniu lek wydalany jest drogą nerkową, tym bardziej dysfunkcja nerek wpływa na wydłużenie tego czasu. Do substancji leczniczych wydalanых głównie nerkowo zalicza się m.in. penicyliny, cefalosporyny czy aminoglikozydy. 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 leki przeciwdepresyjne.

W przebiegu *chorób wątroby* również może zmniejszać się klirens leków. Jednakże nie jest to zależność tak oczywista, jak w przypadku chorób nerek. W marskości wątroby może obniżać się klirens zydowudyny, teofiliny bądź diazepamu. 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.

Przepływ krwi przez narządy odgrywa decydującą rolę w przypadku dystrybucji i eliminacji leków (patrz fragment dotyczący współczynnika ekstrakcji), choroby zmieniające objętość wyrzutową serca wpływają na farmakokinetykę leków. Przykładowo, lidokaina, która ma wąski zakres terapeutyczny (1,5–5 mg/l), 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, których serce ma zmniejszoną wydolność. Podobne obserwacje dotyczą m.in. β -blokerów czy teofiliny.

W trakcie wstrząsu i posocznicy istotnie zwiększa się objętość dystrybucji. W konsekwencji, aby zapewnić odpowiednie stężenia terapeutyczne, konieczne może być zwiększenie dawek.

Piśmiennictwo

1. Bauer LA. Applied clinical pharmacokinetics. The McGraw-Hill Companies Inc. 2008.
2. Derendorf H, Gramatté T, Schäfer HG, Staab A. Farmakokinetyka. Podstawy i znaczenie praktyczne. Wyska E (red. wyd. pol.). Medpharm Polska, Wrocław 2013.
3. Hermann TW. Farmakokinetyka. Teoria i praktyka. PZWL, Warszawa 2002.
4. Jambhekar SS, Breen PJ. Basic pharmacokinetics. Pharmaceutical Press, London 2009.
5. Orzechowska-Juzwenko K (red.) Farmakologia kliniczna. Znaczenie w praktyce medycznej. Górnicki Wydawnictwo Medyczne, Wrocław 2006.
6. Skibińska Ł, Hermann TW. Ćwiczenia z farmakokinetyki. Wydawnictwo Naukowe Akademii Medycznej im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu, Poznań 2003.

CZĘŚĆ PRAKTYCZNA

Aparatura i materiały

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

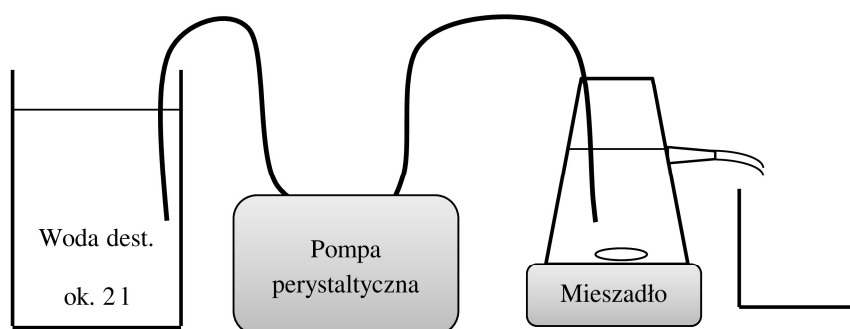
Wykonanie

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 [ml/min]
1	250	ok. 30
2	250	ok. 60
3	500	ok. 60

1. Przygotowanie stanowiska

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



Uwaga! Węże pompy perystaltycznej powinny być głęboko zanurzone w zlewce oraz w kolbie.

- Wykalibrować spektrofotometr przy $\lambda = 580 \text{ nm}$, stosując wodę jako próbkę ślepą.

2. Pomiar szybkości przepływu

- Uruchomić mieszadło magnetyczne, ustawiając pokrętkę na odpowiednią szybkość (ustawienia podaje asystent).
- Uruchomić pompę perystaltyczną, ustawiając odpowiedni przepływ (ustawienia podaje asystent).
- Upewnić się, że woda jednostajnie wypływa z kolby stożkowej.
- Zmierzyć cylindrem miarowym objętość wody wypływającej z kolby przez 1 min (czas odmierzać stoperem).
- 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 mieszało i pompę, wylać zlewki i przygotować kolejny układ pomiarowy.
4. Obliczenia parametrów farmakokinetycznych
 - a) Uruchomić w programie Microsoft Excel przygotowany skoroszyt.
 - b) Podać 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?