

KBB/TOX – Toxikologie

(pro navazující studium)

Přednáška č.2 – toxikokinetika

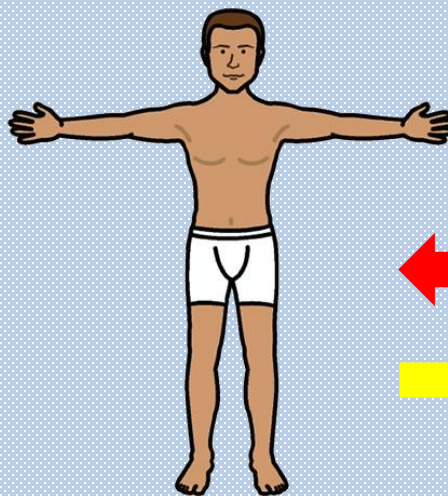
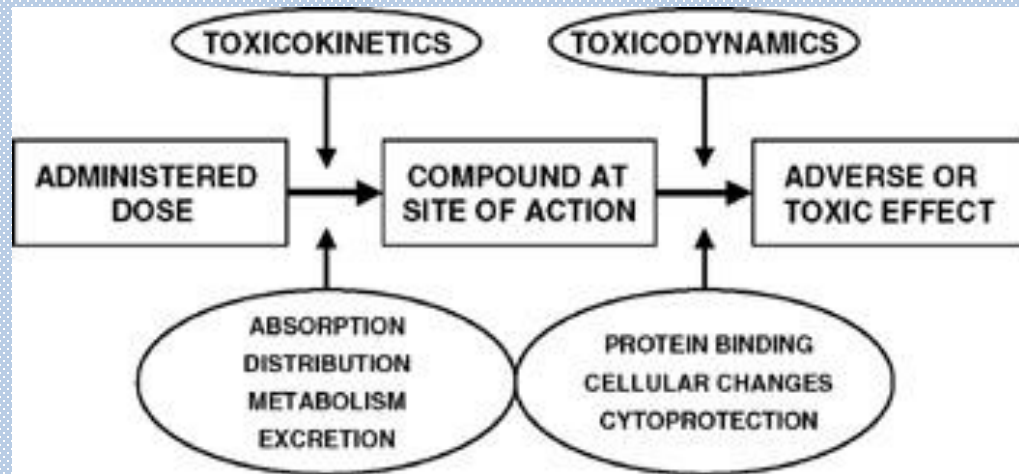
Radim Vrzal

Katedra buněčné biologie a genetiky

Úvod

Toxikokinetika – kvantitativní studium pohybu exogenních látek od jejich vstupu do těla, přes distribuci, biotransformaci a eliminaci

- rozšíření kinetických principů (z farmakologie) na studium toxikologie a pokrývá aplikace od studia nežádoucích účinků léků až po vyšetřování jak dispoziční kinetika exogenních látek určuje nežádoucí účinky na organismy.
- závisí na matematickém popisu či modelování časového průběhu dispozice toxikantu v celém těle



Toxikodynamika

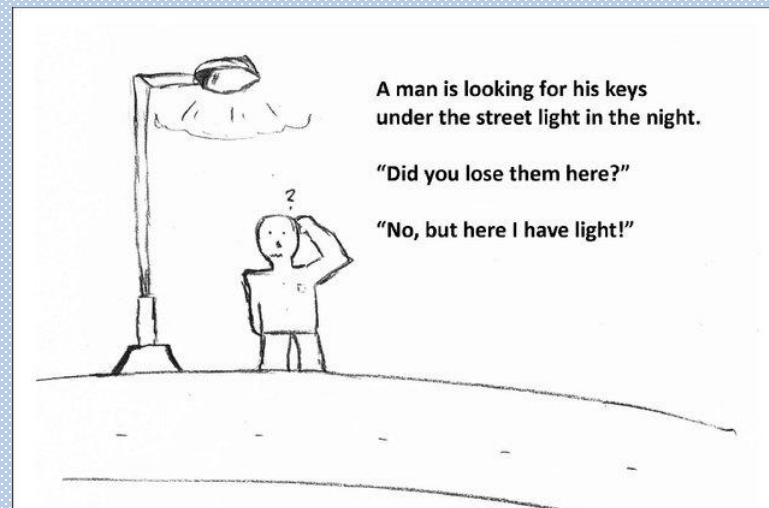


Toxikokinetika



Úvod

- **Klasický přístup (Kompartmentový model)** – 1 či 2-kompartmentový model – nemusí odpovídat tkáním/orgánům
 - popis kinetiky ve snadno dostupných tekutinách (krev) či výkalech (moč, stolice) = vhodné pro studie na lidech – vyžaduje předpoklady, které limitují použití
- **Alternativní přístup (Na fyziologii založený model - PB)**
 - popisuje tělo jako propracovaný systém tkání a orgánů, který je propojen oběhovým systémem – umožňuje predikovat vliv změn ve fyziologických procesech na kinetiku škodliviny – lze predikovat tkáňové koncentrace, vyžaduje mnohem více dat, hodnoty parametrů jsou nepřesné
- Neexistuje rozpor mezi modely – volba dána daty, aplikací, zamýšlené užitečnosti

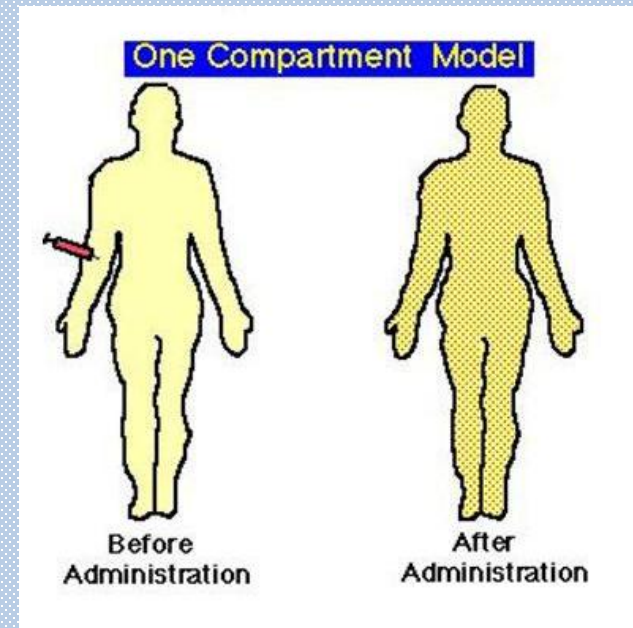
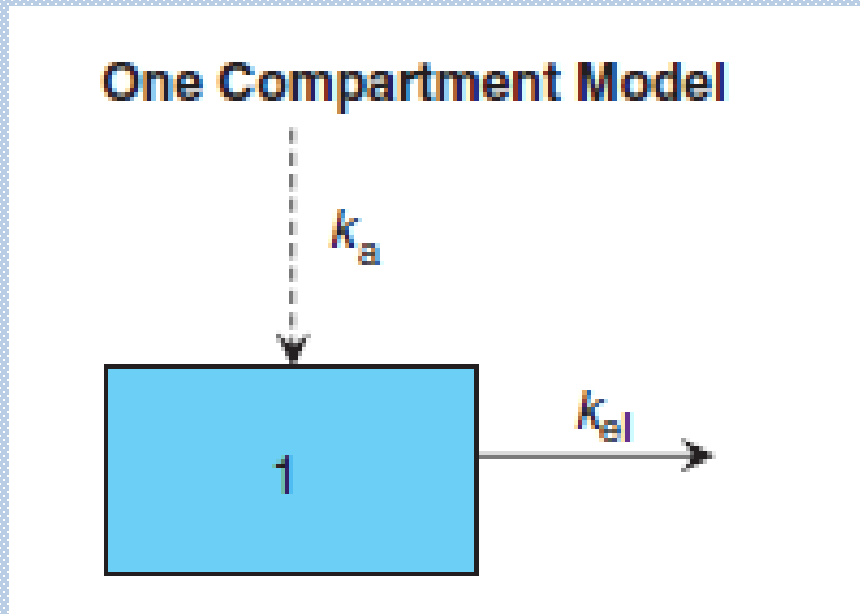


Klasický přístup

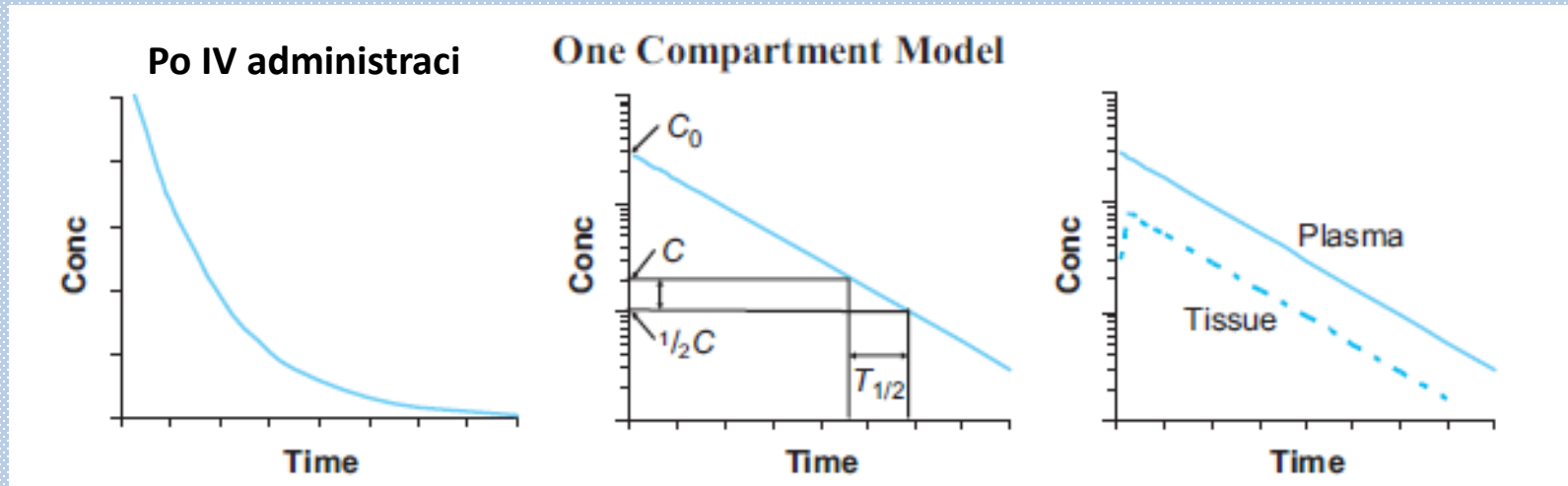
- Nabízí náhled do základních kinetických pojmů **A**bsorpce, **D**istribuce, **E**liminace
- Nejjednodušší přístup k informacím o absorpci, distribuci, biotransformaci a eliminaci je vyšetření **časového průběhu koncentrace škodliviny v krvi** či plazmě
 - a) předpoklad dynamické rovnováhy mezi krví a koncentrací v tkáních !!!
 - b) zahrnuje centrální kompartment (krev a tkáně), ve kterém je **okamžitě po vstupu látky dosaženo rovnováhy**
 - c) eliminace (biotransformace/exkrece) – se děje z centrálního kompartmentu (zahrnuje rychle promývané orgány schopné eliminace – játra, ledviny, plíce)
 - d) nevyžaduje informaci o tkáňové fyziologii a anatomických strukturách

Klasický přístup – Jednokompartmentový model

- Nejprůmějšší vyhodnocení zahrnuje **kvantifikaci koncentrace škodliviny v krvi či plazmě v několika časových bodech po IV injekci**
- Data se často dají vyložit jako přímka po převedení hodnot koncentrace na logaritmus jako funkce času



Klasický přístup – Jednokompartmentový model



$$C = C_0 \times e^{-k_{el} \times t}$$

$$\text{Log } C = \text{Log } C_0 - \frac{k_{el} \times t}{2.303}$$

C- koncentrace v čase t
C₀ - koncentrace na počátku
k_{el} - eliminační konstanta

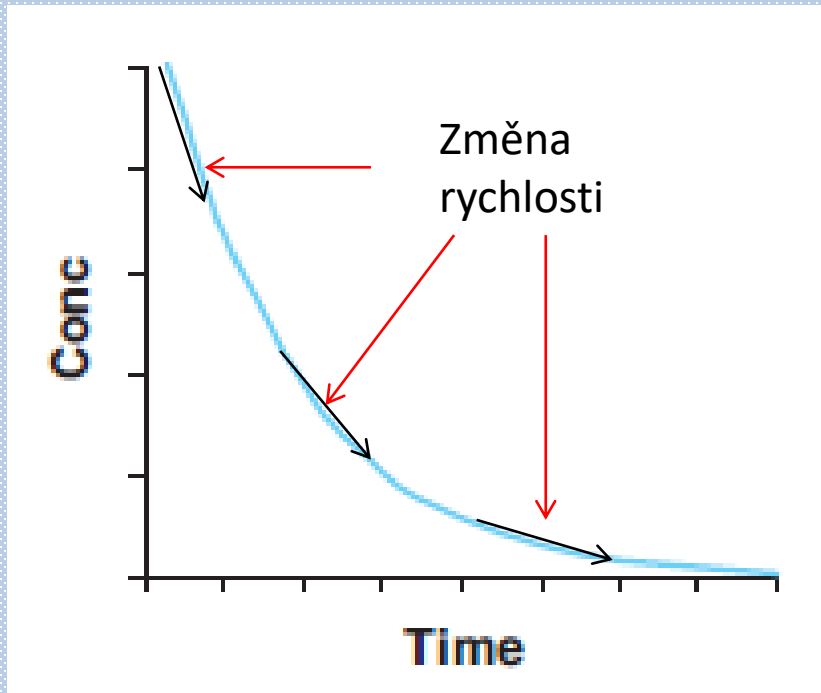
k_{el} – zahrnuje všechny eliminační procesy – biotransformaci, exhalaci, exkreci

Klasický přístup – Jednokompartmentový model

- Pokud se eliminace děje po exponenciále → **proces / kinetika prvního řádu !!!**

Rychlost eliminace v jakémkoliv čase je úměrná množství škodliviny zůstávající v těle !!!

→ **absolutní rychlost eliminace se mění s časem**



$$\frac{dA}{dt} = KA^n$$



Kinetika 1.řádu

$$\frac{dA}{dt} = KA^1 = KA$$

$$\frac{dC}{dt} = KC$$

Kinetika prvního řádu se vyskytuje u procesů které nejsou saturevané !!!!!

Klasický přístup – Jednokompartmentový model

k_{el} = konstantní **frakční** rychlost eliminace

Např. $k_{el} = 0.3h^{-1}$ → po 1 hodině = 74% zůstává v těle a 26 % je eliminováno

$$(C/C_0 \times 100) \quad 1 - (C/C_0 \times 100)$$

Elimination of a Toxicant that Follows First-Order Kinetics ($k_{el} = 0.3 h^{-1}$) by 1 Hour After IV Administration at Four Different Dose Levels

DOSE (mg)	TOXICANT REMAINING (mg)	TOXICANT ELIMINATED (mg)	TOXICANT ELIMINATED (% of dose)
10	7.4	2.6	26
30	22	8	26
90	67	23	26
250	185	65	26

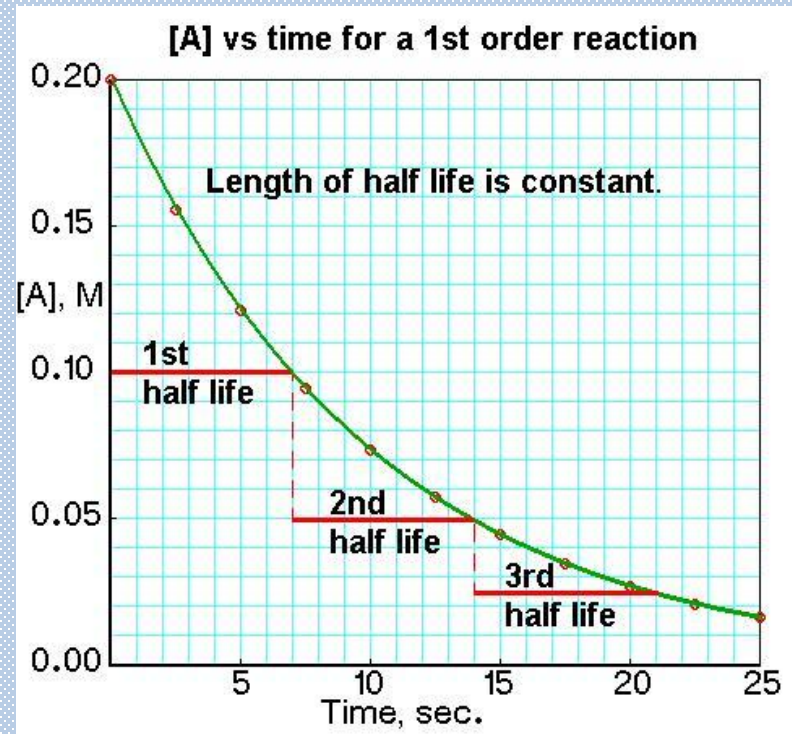
% eliminované dávky je nezávislé na dávce !!!!

Klasický přístup – Jednokompartmentový model

Procento eliminované dávky je
nezávislé na počáteční dávce (C_0) →
je pohodlnější se odkazovat na **poločas**
eliminace $T_{1/2}$ = čas kdy koncentrace
klesne na polovinu původní dávky

1 poločas eliminace = 50%
eliminováno a 50% zbývá
2 poločasy eliminace = 75%
eliminováno a 25% zbývá
3 poločasy eliminace = 87.5%
eliminováno a 12.5% zbývá
4

$$T_{1/2} = \frac{0.693}{k_{el}}$$



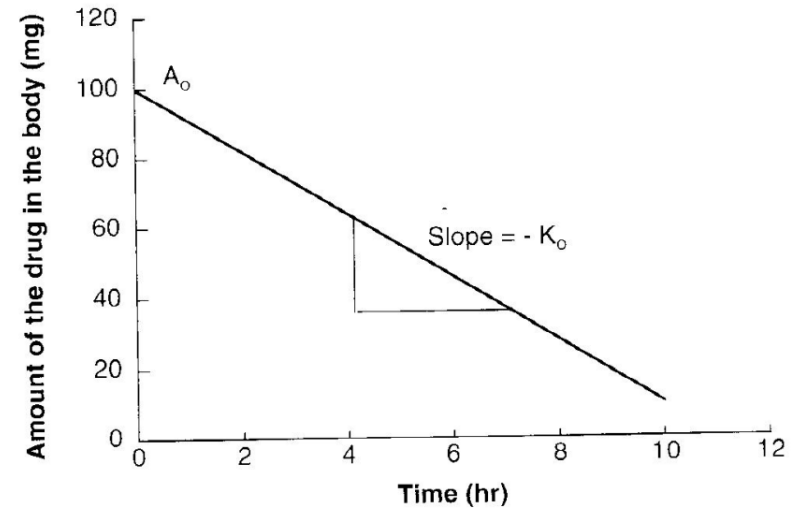
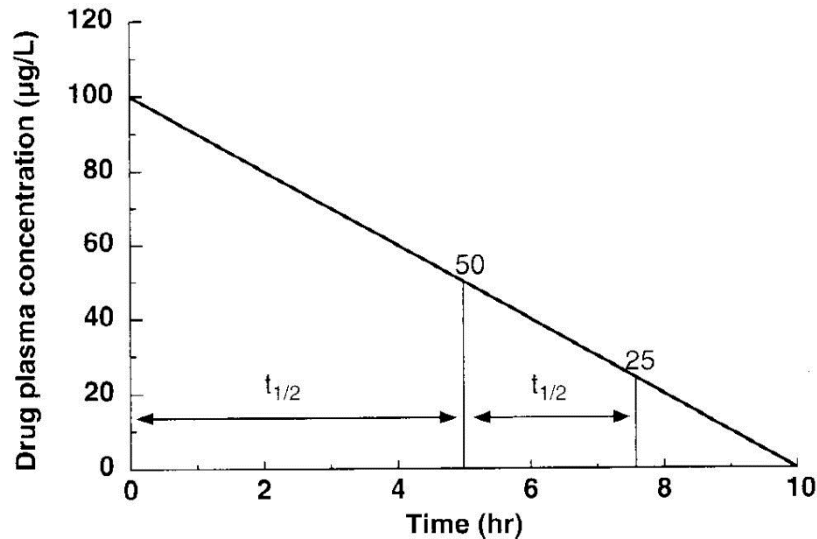
Klasický přístup – Jednokompartmentový model

!!! Kinetika nultého řádu !!!!

Např. pro alkohol

$$\frac{dA}{dt} = -K_0$$

$$A = A_0 - K_0 t$$

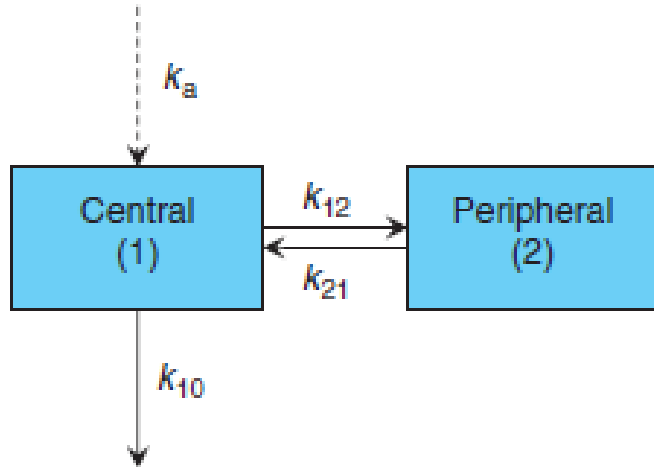


Poločas eliminace závisí na dávce a vstupním množství !!!

$$T_{1/2} = \frac{A_0}{2 \times k_{el}}$$

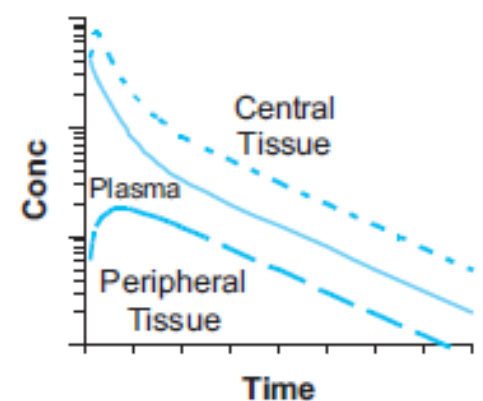
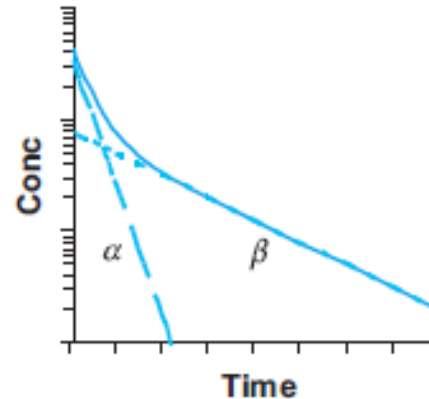
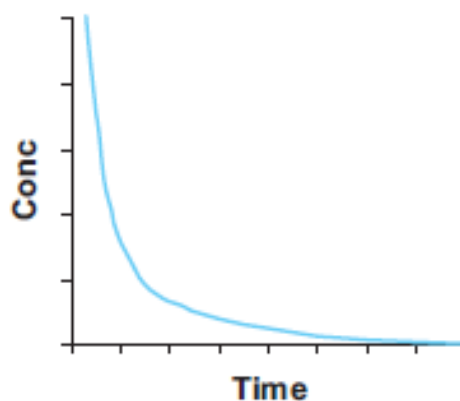
Klasický přístup – Dvoukompartmentový model

Two Compartment Model



- logaritmus koncentrace vs. čas nevede k přímce !!!
- určitý čas zabere škodlivině aby byla absorbována do určitých tkání a dosáhla rovnováhy s plazmou !!!
- Uplatnění zejména u látek rozpustných v tucích !!!

Two-Compartment Model

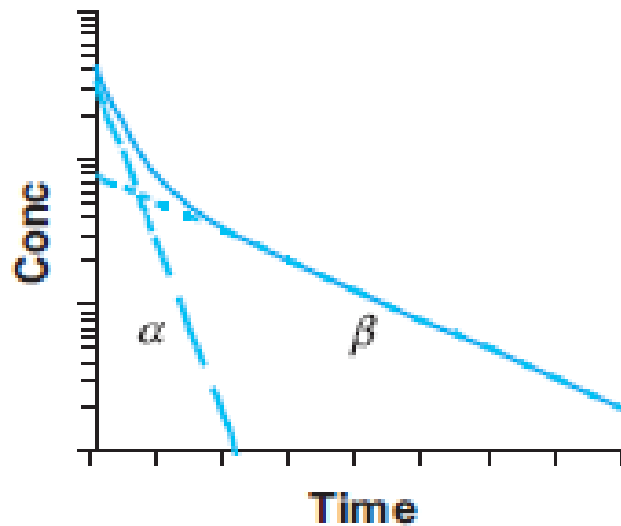


Klasický přístup – Dvoukompartmentový model

$$C = A \times e^{-\alpha \times t} + B \times e^{-\beta \times t}$$

A, B – koeficienty v jednotkách koncentrace
 α , β – exponenciální konstanty pro vstupní a výstupní fázi v jednotkách recipročních času

Two-Compartment Model

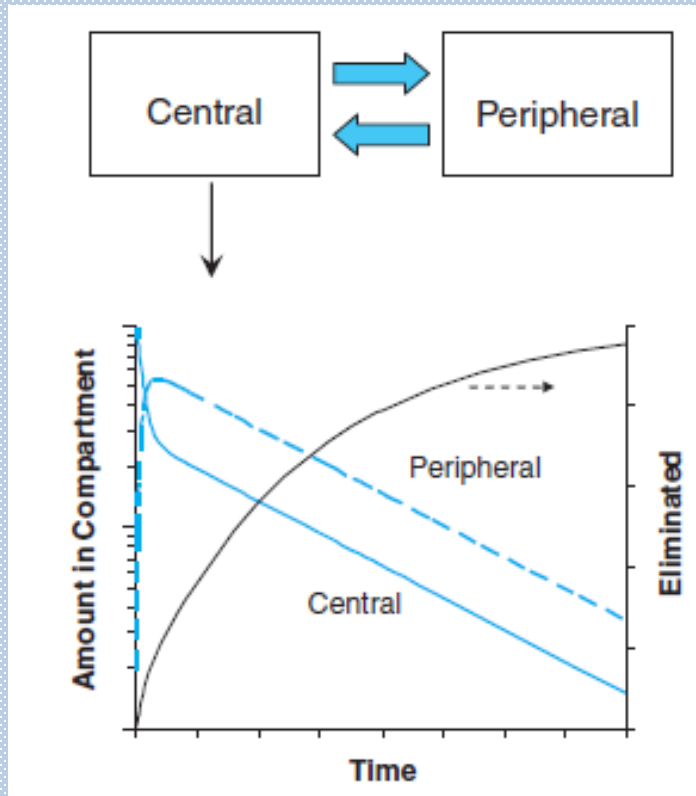


α - distribuční fáze

β - post-distribuční/eliminační fáze

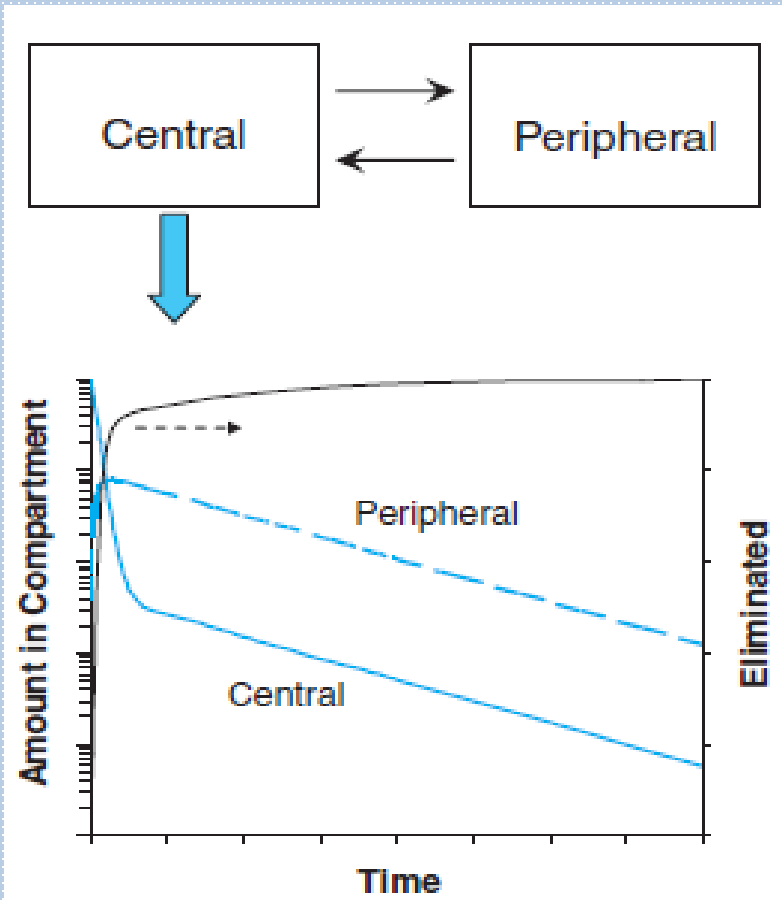
Klasický přístup – Dvoukompartmentový model

Dynamika vícekompartmentového modelu - **závisí na relativní velikosti rychlostních konstant** pro mezikompartmentovou výměnu a eliminaci

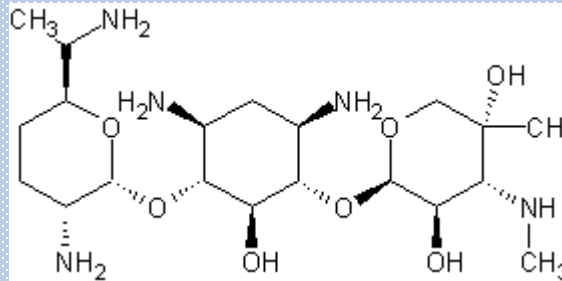


Rychlá distribuce, pomalá eliminace – počáteční rychlá fáze odráží distribuci, pozdější odráží eliminaci po dosažení rovnováhy = častější scénář !!

Klasický přístup – Dvoukompartimentový model



Pomalá distribuce, rychlá eliminace



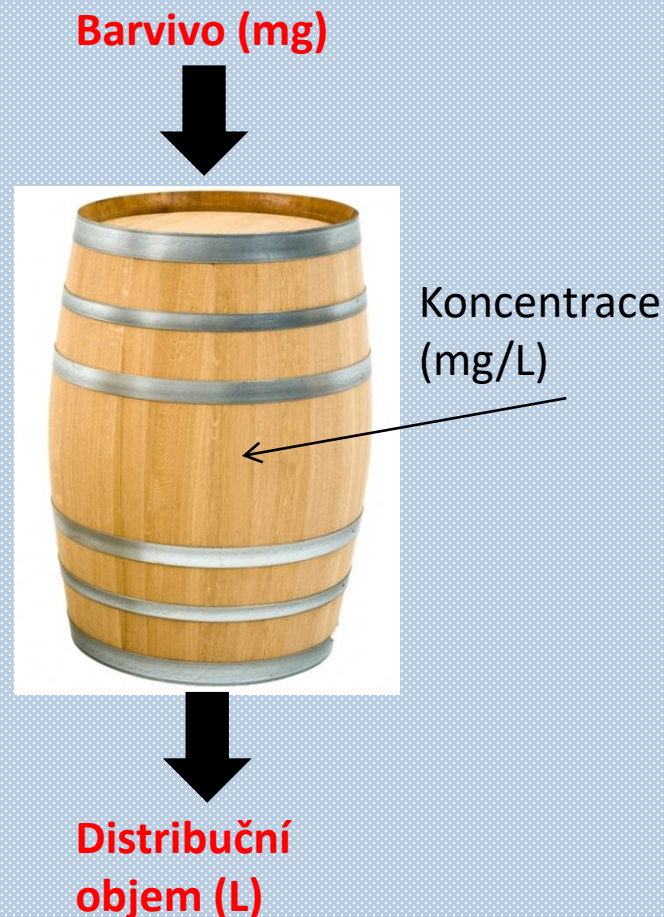
Gentamicin - po IV injekci koncentrace klesne velice rychle s poločasem eliminace cca 2h. Při poklesu na 10% počáteční hodnoty – terminální fáze s poločasem eliminace 4-7dní = odráží pomalý pohyb gentamicinu v ledvinách !!! → opakovaná dávka → Nefrotoxicita

Zdánlivý Distribuční objem

Škodlivina se okamžitě ekvilibruje mezi plazmu a tkáně → existence vztahu mezi koncentrací a množstvím !!!

Zdánlivý distribuční objem je konstanta dávající dohromady plazmatickou koncentraci a celkové množství škodliviny (litry; litr/kg tělesné váhy !!)

- Představuje zdánlivý objem, do kterého se škodlivina distribuuje, aby měla stejnou koncentraci jako v plazmě.
- Objem nádoby lze nepřímo spočítat z počátečního množství (mg) a koncentrace (mg/L) po dosažení rovnoměrné distribuce !!!



Zdánlivý Distribuční objem

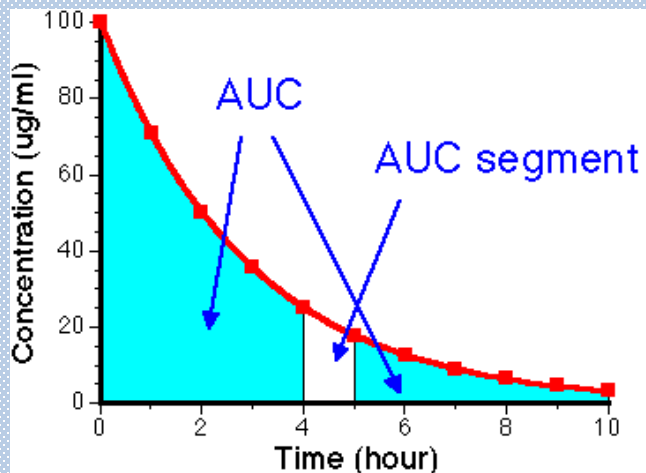
Distribuční objem škodliviny v těle pro IV administrace je podíl množství škodliviny a plazmatické koncentrace

$$V_d = \frac{Dose_{iv}}{\beta \times AUC_0^{\infty}}$$

$Dose_{iv}$ – intravenosní dávka

β – eliminační rychlostní konstanta

AUC – oblast pod křivkou od času 0 do nekonečna !!!



Pro 1-kompartmentový model:

$$V_d = \frac{Dose_{iv}}{C_0}$$

Zdánlivý Distribuční objem

Zdánlivý – **ne**koresponduje s žádnou anatomickou strukturou

- Závisí na škodlivině
- Představuje rozsah distribuce škodliviny mezi plazmu a extravaskulárními místy

$$V_d = V_p + \sum P_{t,i} \times V_{t,i}$$

V_p – objem plazmy

Σ – součet zdánlivých objemů každé tkáně

$P_{t,i}$ – poměr koncentrací v tkáni ku plazmě

$V_{t,i}$ – anatomický objem tkání

$$V_d = V_p + \sum \left(\frac{f_{up}}{f_{ut,i}} \right) \times V_{t,i}$$

1) Škodlivina v plazmě = **nízký** V_d

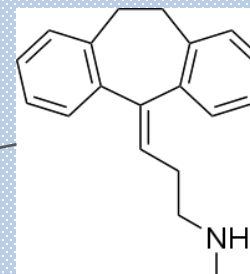
2) Škodlivina se distribuuje do
extravaskulárních tkání → **vyšší** V_d

f_{up} - **volná frakce v plazmě**

$f_{ut,i}$ - volná frakce v tkáni

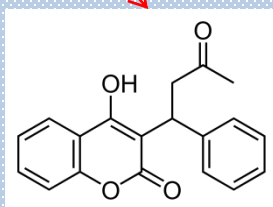
Zdánlivý Distribuční objem

CHEMICAL	V_d (L/kg)	f_{up}
Chloroquine	~200	~0.45
<u>Nortriptyline</u>	18	0.080
Oxycodone	2.0	0.55
	Body size = 1.0	
Acetaminophen	0.95	<0.20
	Total body water = 0.60	
Phenytoin	0.64	0.11
	Extracellular fluid = 0.27	
<u>Warfarin</u>	0.14	0.005
Epoetin alfa	0.05	—
	Plasma volume = 0.045	



Vazba na plazmatické
proteiny = 92%

V_d = 18x objem těla !!!



Vazba na plazmatické
proteiny = 99.5%



Clearance

- parametr, který dává do vztahu rychlost eliminace a koncentraci v plazmě
- poločas eliminace ($T_{1/2}$) – odráží rychlost odstranění z krve/plazmy
- Vysoké hodnoty = rychlá a účinná eliminace škodliviny z těla, jednotka rychlosti (mL/min, L/hr)
- **Objem, který je vyčištěn od škodliviny za jednotku času**

1-kompartment:

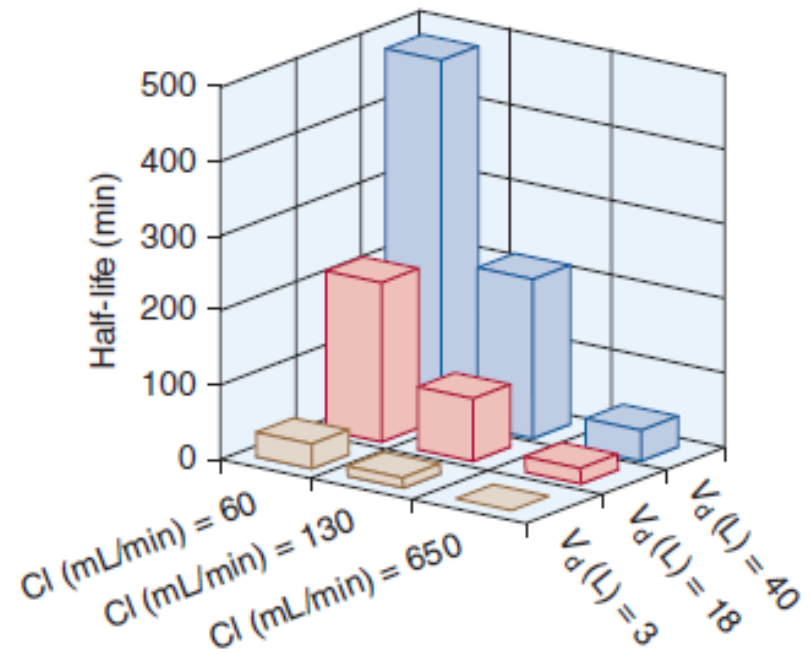
$$Cl = Vd \times kel$$

2-kompartmenty:

$$Cl = Vd \times \beta$$

$$Cl = \frac{Dose_{iv}}{AUC_0^{\infty}}$$

$$T_{1/2} = \frac{0.693 \times V_d}{Cl}$$



Absorpce a biodostupnost

Většinou je vstup škodliviny extravaskulární cestou – **perorálně, inhalačně, dermálně** → absorpce je často nekompletní !!!

- IV = 100% dosažení systémové cirkulace

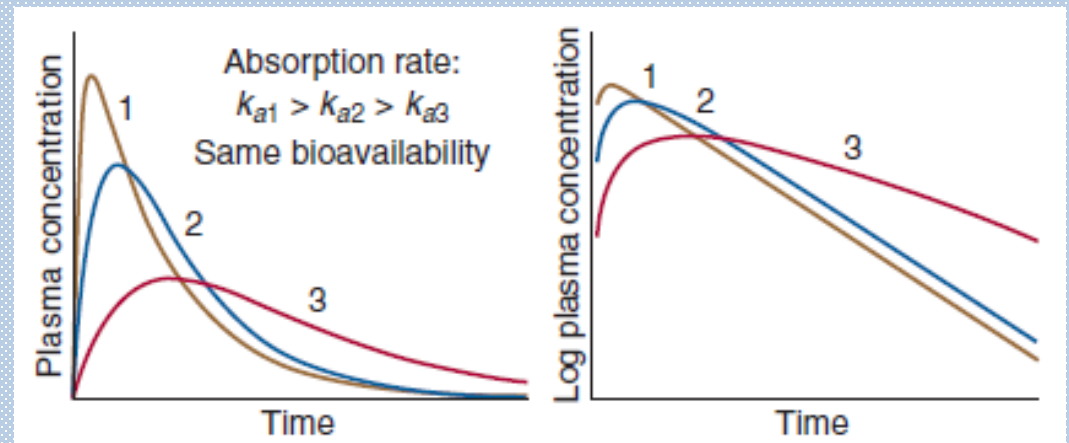
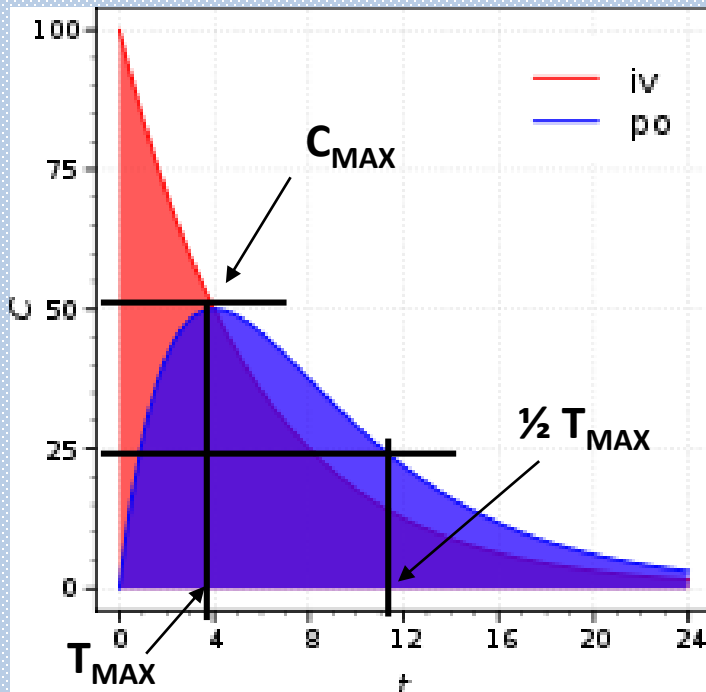
Biodostupnost (F) = frakce extravaskulární dávky, která dosáhla systémové cirkulace

$$F = \left(\frac{AUC_{\text{non-iv}}}{Dose_{\text{non-iv}}} \right) / \left(\frac{AUC_{\text{iv}}}{Dose_{\text{iv}}} \right)$$

$F = 1$ – sloučenina se 100%

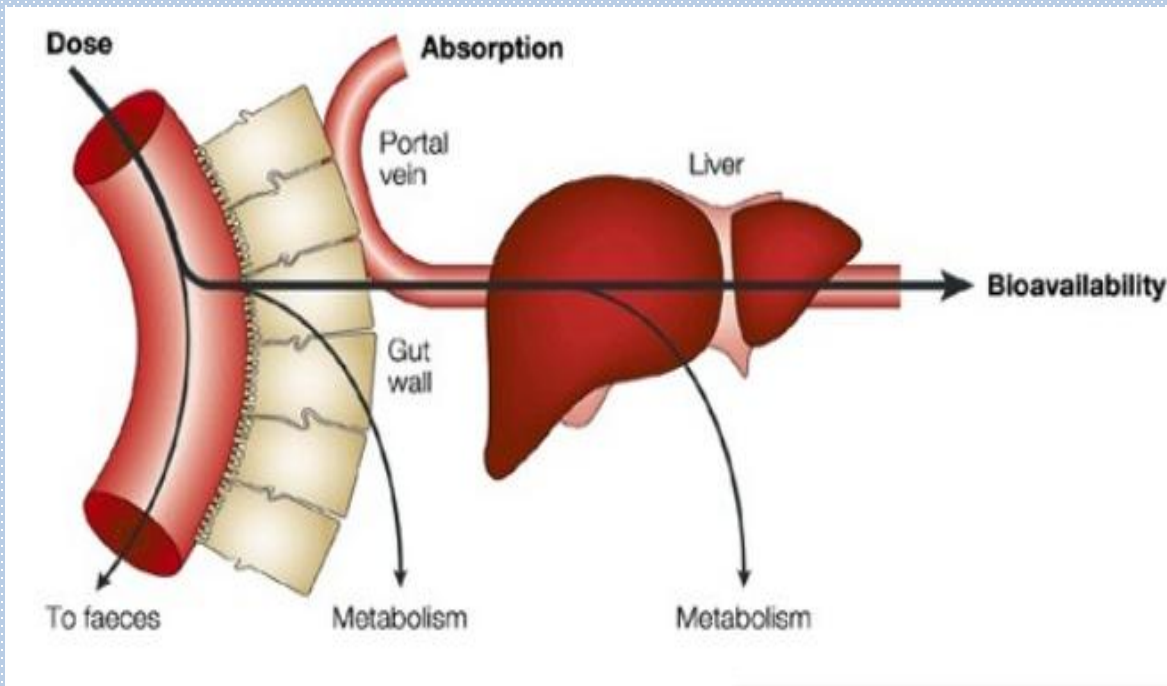
vstřebala do krve

$F < 1$ = méně než 100% dávky dosáhlo systémové cirkulace



Absorpce a biodostupnost

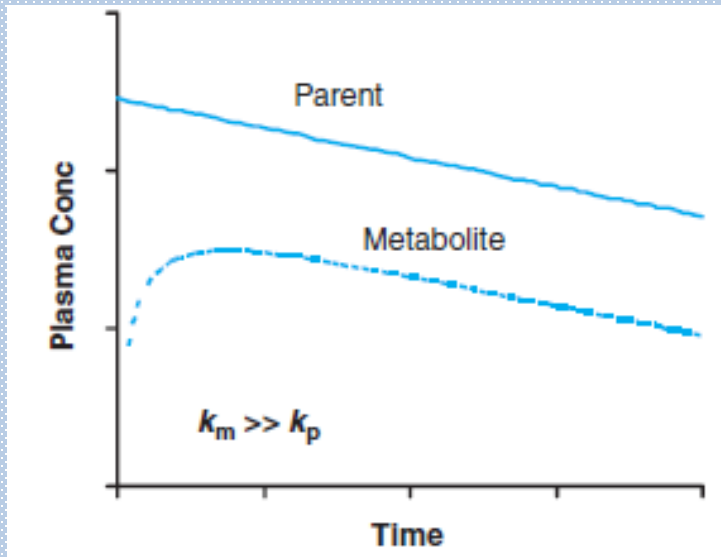
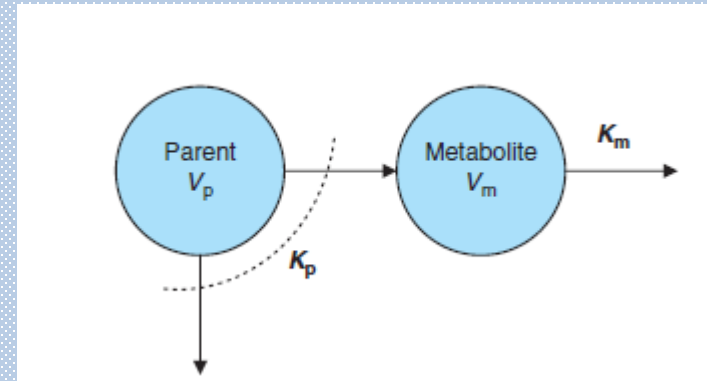
Dostupnost orálně podané škodliviny je řízena absorpcí na gastrointestinální bariéře, metabolismem střeva, metabolismem a žlučovou exkrecí jater.



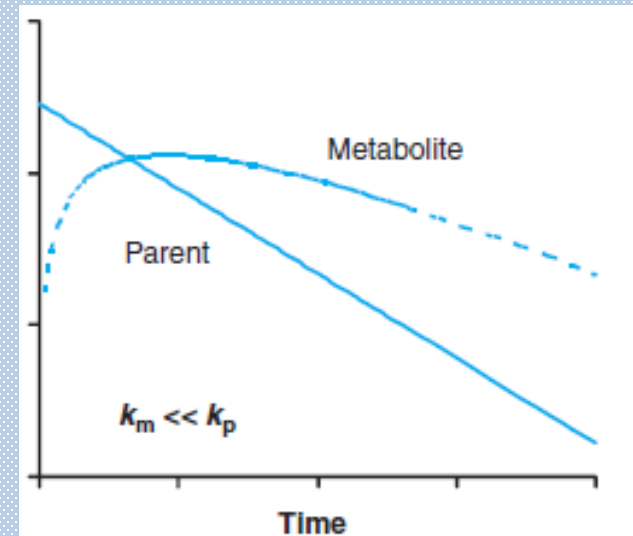
First-pass effect =
metabolická inaktivace a
exkrece škodliviny ve střevě
a játrech před vstupem do
systémové cirkulace.

Kinetika metabolitu

- Hladina zpočátku roste, pak klesá



Případ rychlé eliminace metabolitu – pokles metabolitu sleduje pokles parentální sloučeniny



Případ pomalé eliminace metabolitu

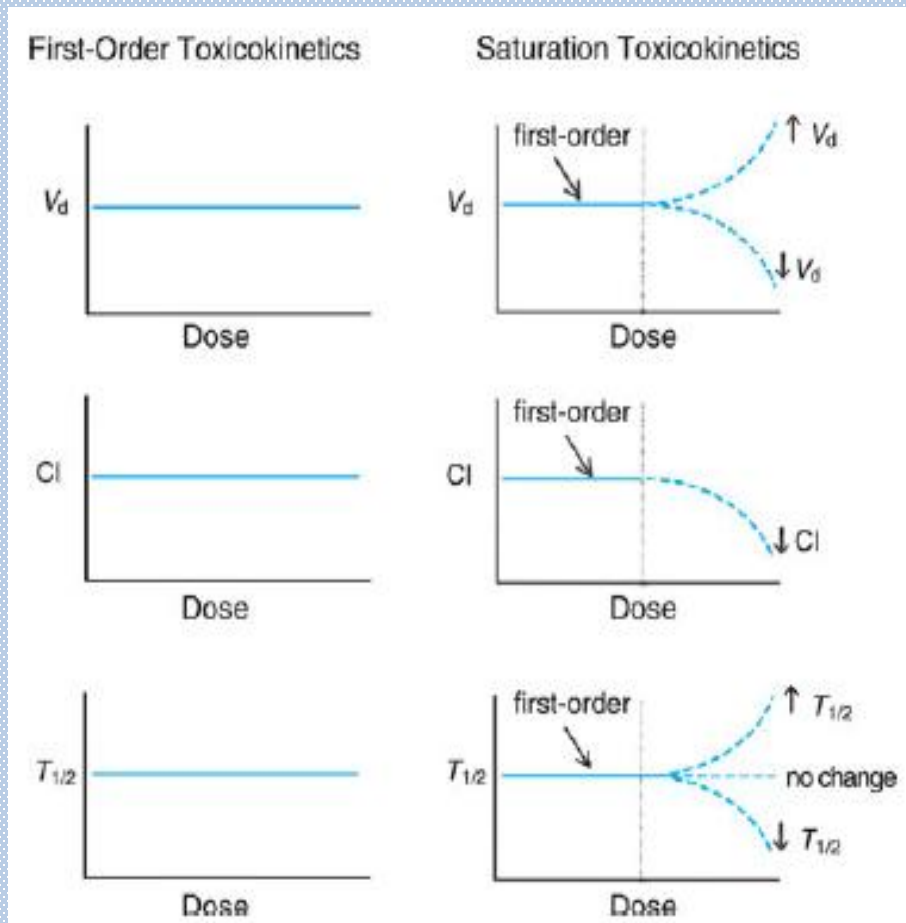
Saturační toxikokinetika – koncentračně-závislá kinetika

Distribuce a eliminace většiny škodlivin = kinetika prvního řádu → V_d , Cl , $T_{1/2}$ = **nezávislé na dávce** !!!!

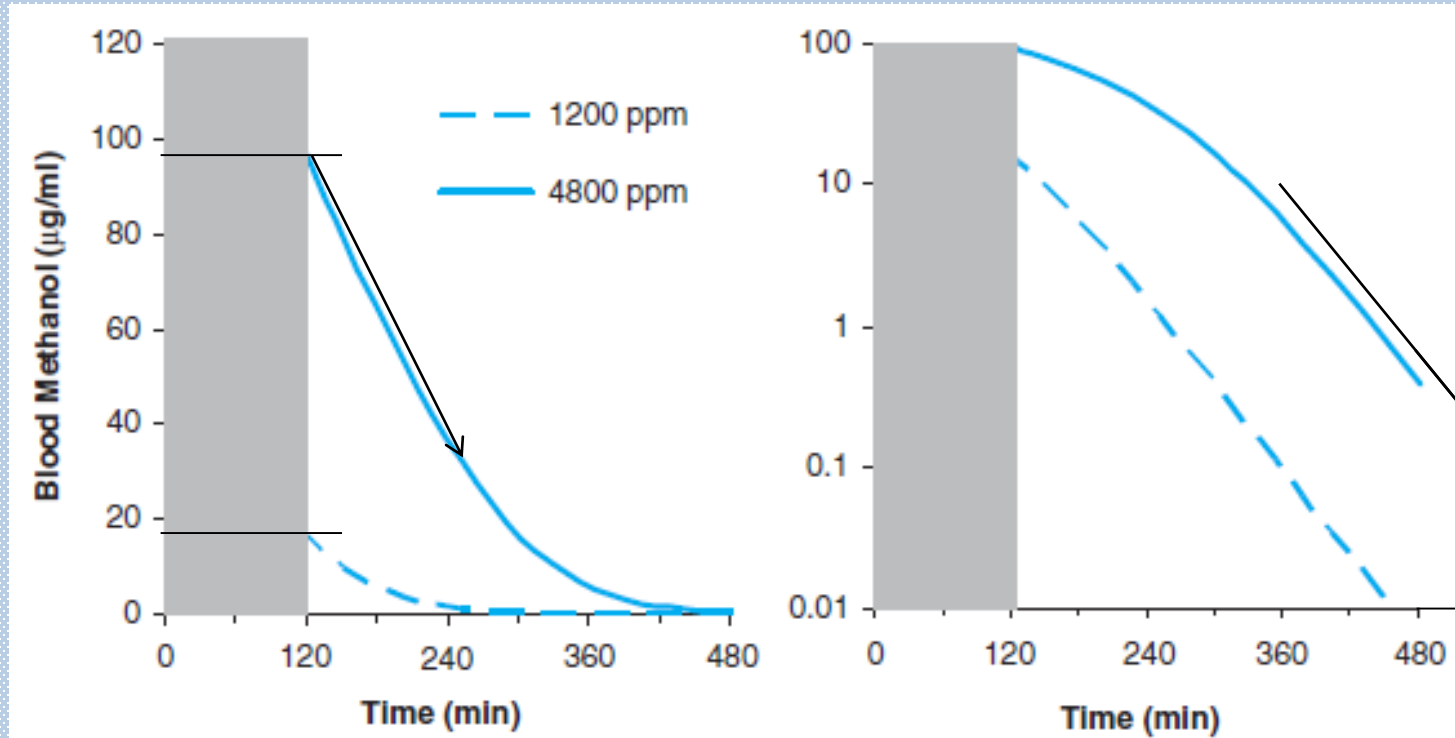
Biotransformace, transportní systémy, vazba na proteiny jsou saturevatelné procesy !!!!

Přechod mezi kinetikou prvního řádu a saturační má význam pro perzistující škodliviny po akutní otravě či akumulaci po opakované expozici.

- 1 – pokles koncentrace není exponenciální
- 2 – AUC není úměrná dávce
- 3 – V_d , Cl , $T_{1/2}$ – se mění s dávkou
- 4 – složení exkrečních produktů se mění



Saturační toxikokinetika – koncentračně-závislá kinetika



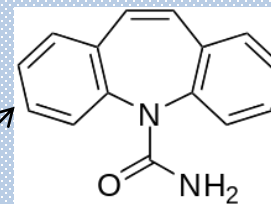
MeOH – změna z kinetiky prvního řádu (nízké dávky) na řád 0 (vysoké dávky)!!!

- Předpověď kinetiky MeOH v těle samic opic po dobu 2 hodin v inhalační komoře
- 1200 ppm – kinetika prvního řádu → pokles koncentrace exponenciální
- 4800 ppm – metabolismus je saturevaný → pokles koncentrace je lineární !!!!
- Konverze zpět ke kinetice 1.řádu jakmile $c < K_M$
- C_{MAX} , AUC – vykazují větší jak proporcionální nárůst (> 4 krát)
- $T_{1/2}$, k_{el} – nejsou konstantní během saturace !!!

Saturační toxikokinetika – časově-závislá

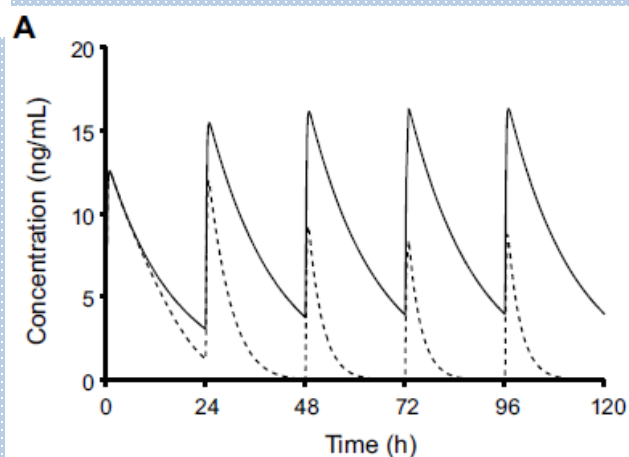
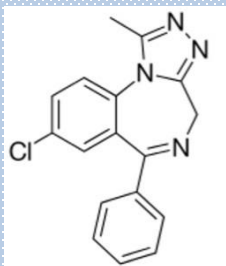
= Důsledek autoindukce biotransformačních enzymů

Carbamazepine – antiepileptikum - denní administrace vede ke **zvýšení Cl** a **poklesu $T_{1/2}$** (aktivace PXR, CAR)

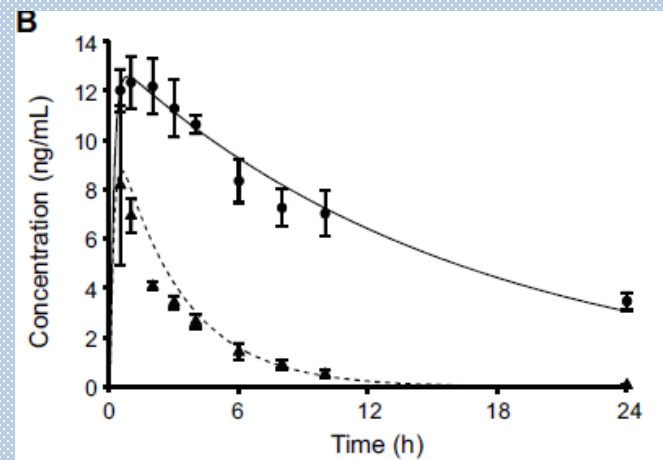


Alprazolam vs preinkubace s Rifampicinem

- na léčbu úzkostných poruch (sociální fobie)



- Pevná čára
- alprazolam
- Tečkovaná čára – preinkubace s Rifampicinem

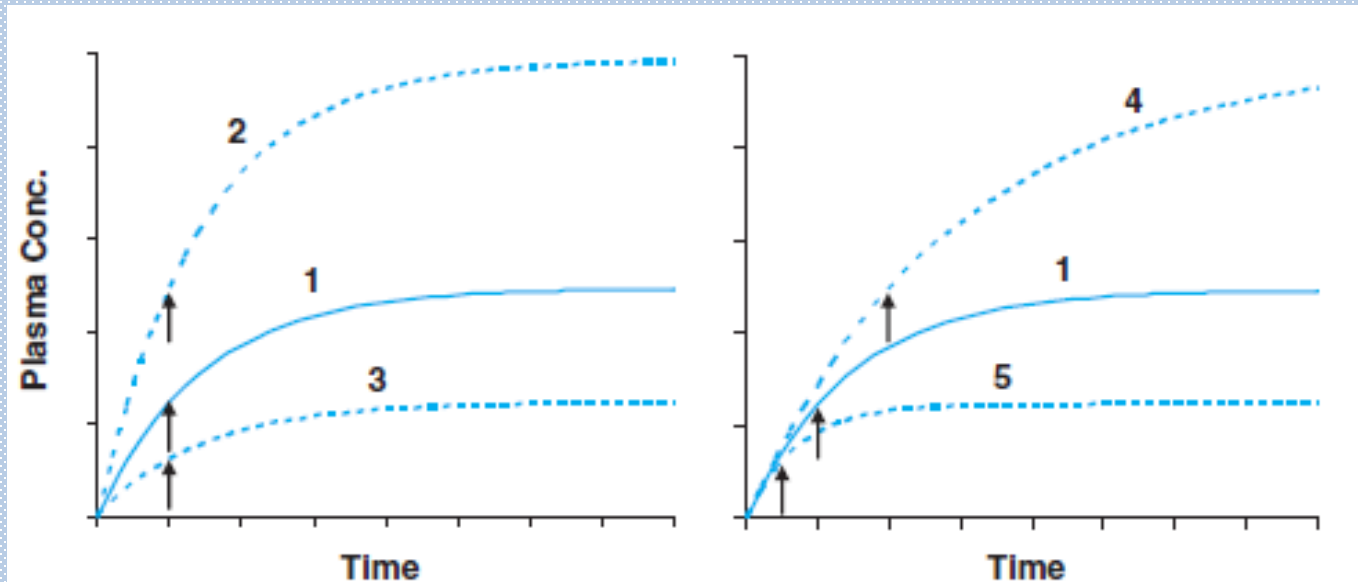


Akumulace v důsledku kontinuální či přerušované expozice

Kontinuální či chronická expozice vede k akumulaci škodliviny v těle !!

Při určité hladině expozice dojde ke stavu, kdy příjem je roven eliminaci → zatížení je konstantní = rovnovážný stav (steady state)

Funkce
expozice !!!
(dávky)



Funkce
eliminace
při
konstantní a
rychlosti
expozice !!!

- 1 – reference s $T_{1/2} = 1h$
- 2 – nárůst expozice na 2x
- 3 – pokles expozice na 50%

1x $T_{1/2}$ = 50% rovnovážné koncentrace

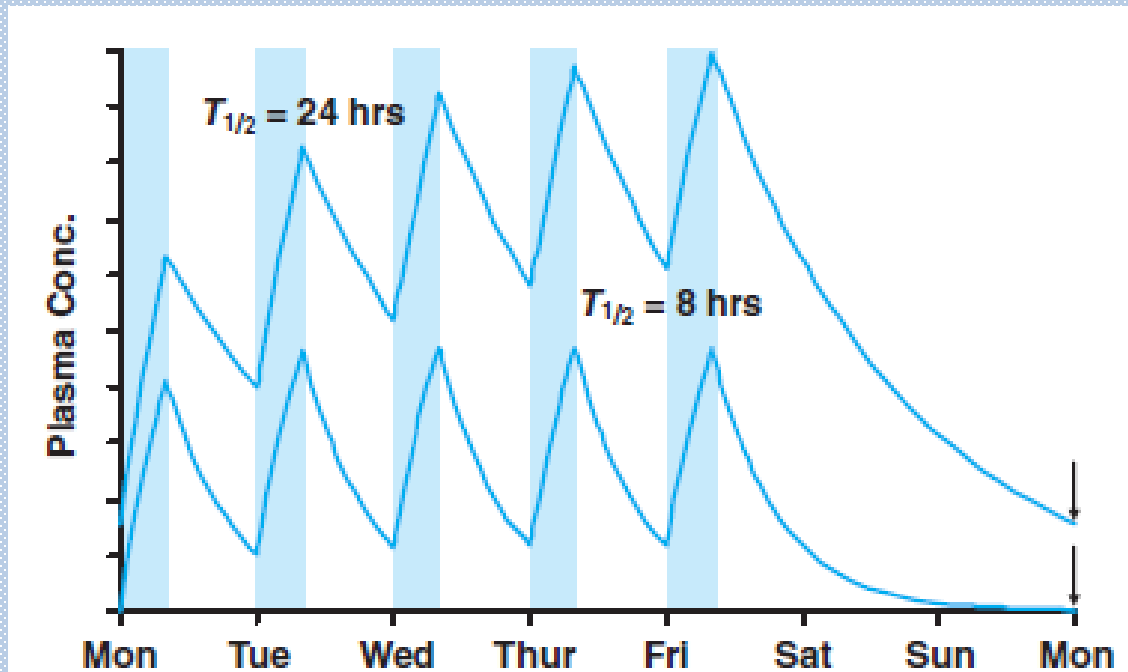
- 1 – reference
- 4 – 50% pokles v Cl → $T_{1/2} = 2x$
- 5 – 2x vyšší Cl → pokles $T_{1/2} = 50\%$

Akumulace v důsledku kontinuální či přerušované expozice

Přerušovaná expozice – např. pracovní prostředí – těkavé látky

Závisí na $T_{1/2}$ a době volna !!!

Pokud $T_{1/2} < \text{doba mezi směnami}$ → nízká akumulace



Fyziologická toxikokinetika

Rozdíl mezi klasickou a fyziologickou kinetikou leží v zadání rychlostních konstant popisujících transport sloučeniny do a z kompartmentu.

Klasická kinetika – **konstanty definovány daty**

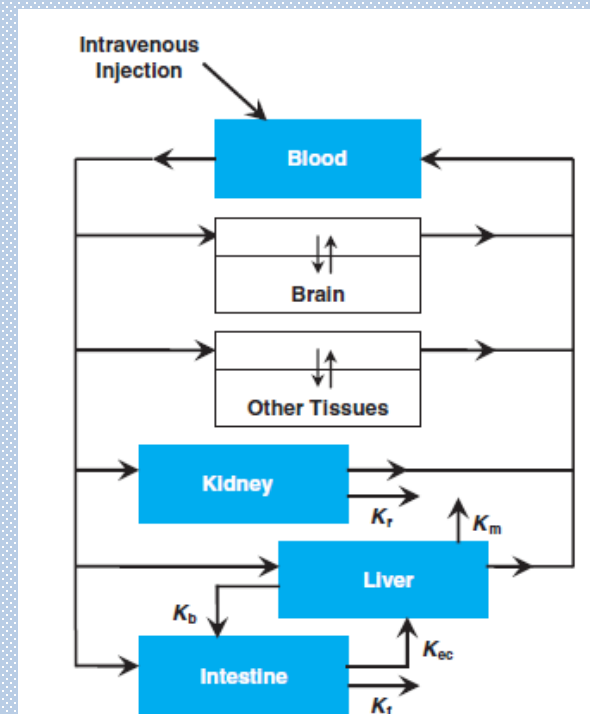
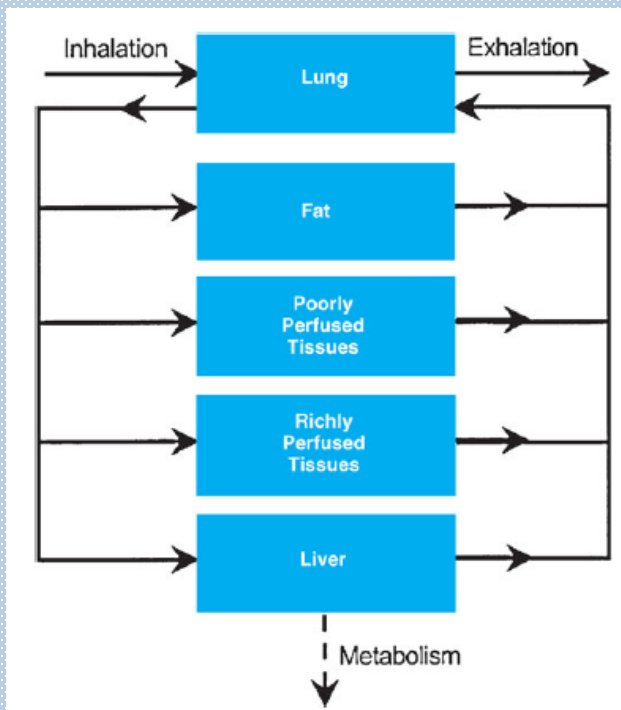
Fyziologická kinetika – **rychlostní konstanty reprezentují známé procesy**

- Výhody**
- časový průběh distribuce v jakékoliv tkáni
 - umožňují odhad účinků měnících se parametrů na koncentrace v tkáních
 - predikce kinetiky v různých druzích
 - snadná adaptace na režimy dávkování a saturační procesy

- Nevýhody**
- více informací
 - obtížná matematika
 - hodnoty parametrů často špatně definovány

Fyziologická toxikokinetika

- Komplexní kompartmentové modely
- Orgány spojené krví
- Modely se liší dle studované sloučeniny, např. těkavá vs. rozpustná ve vodě (IV)



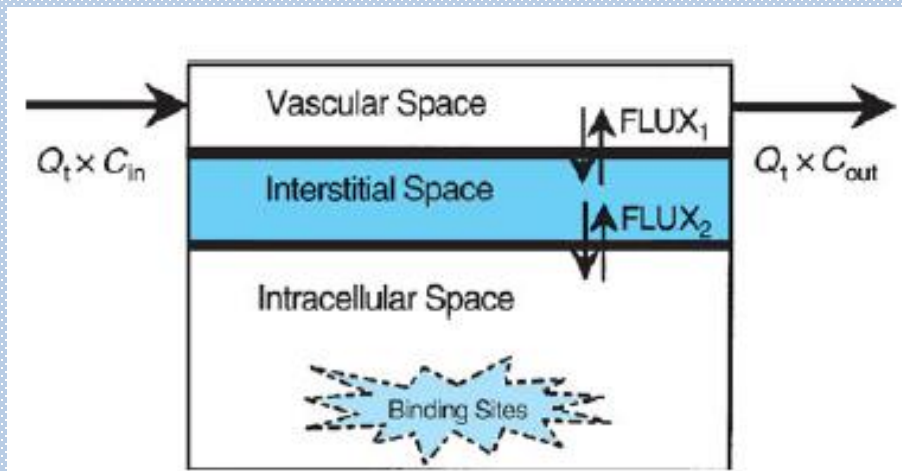
- Neexistuje obecný fyziologický model
- Představují zjednodušení reality a měly by obsahovat elementy, o kterých se věří, že hrají roli v dispoziční sloučeniny

Fyziologická toxikokinetika

I přes složitost – popularita → **Proč ?** – kinetické konstanty reprezentují měřitelné biologické procesy, výsledný model má silnou schopnost extrapolace z pozorovaných dat na předpokládané scénáře, např. ze zvířat na lidi !!!! (modely pro benzen či styren – simulují správně koncentrace jak u lidí tak u hlodavců !!!)

Kompartmenty představují anatomické místo či tkáň, která se účastní kinetického procesu.

- skládají se často ze 3 podjednotek
- prokrvená část (vaskulární prostor)
- mezibuněčný prostor
- vnitrobuněčný prostor



Q_t – objemový průtok
 C_{in} – koncentrace na vstupu
 C_{out} – koncentrace na výstupu
 $Flux_{1,2}$ – rychlosti pohybu mezi sub-kompartmenty

Fyziologická toxikokinetika

Parametry

- **anatomické** – k popisu fyzické velikosti – např. objem či hmotnost (ledviny, játra, mozek)
- **fyziologické** – zahrnují procesy v biologickém systému – např. objemový průtok krve či plicní ventilaci, glomerulární filtraci, V_M a K_M (pokud metabolismus)
- **termodynamické** – celková koncentrace a vázaná koncentrace, obě v rovnováze a jen volná může prostupovat kompartmenty, rozdělovací koeficienty (tkáň vs. krev)
- **transportní** – pasivní difúze, zprostředkovaná transportéry, aktivní transport – Fickův zákon

Partition Coefficients for Four Volatile Organic Chemicals in Several Tissues

CHEMICAL	BLOOD/AIR	MUSCLE/BLOOD	FAT/BLOOD
Isoprene	3	0.67	24
Benzene	18	0.61	28
Styrene	40	1	50
Methanol	1350	3	11

DOSE

BLOOD

K_{Bl}

K'_{Bl}

BRAIN

K_{Br}

K'_{Br}

CARCASS

K_{Cs}

K'_{Cs}

LIVER

K_{Lv}

K'_{Lv}

BILE

GUT TISSUE

K_{Gt}

K'_{Gt}

GUT LUMEN

$(K_{Lv} - K_{Gl})$

$(K'_{Lv} - K'_{Gl})$

FECES

KIDNEY

K_{Kl}

K'_{Kl}

SKIN

K_{Sk}

K'_{Sk}

HAIR

K_{In}

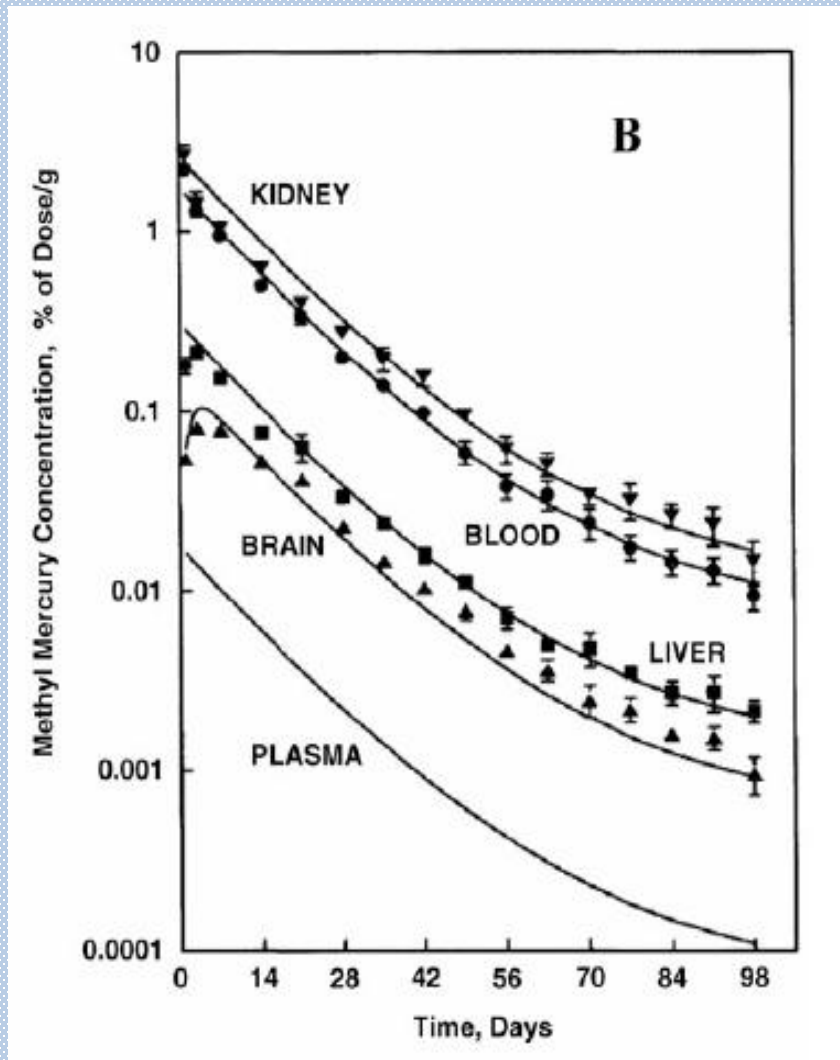
K'_{In}

URINE

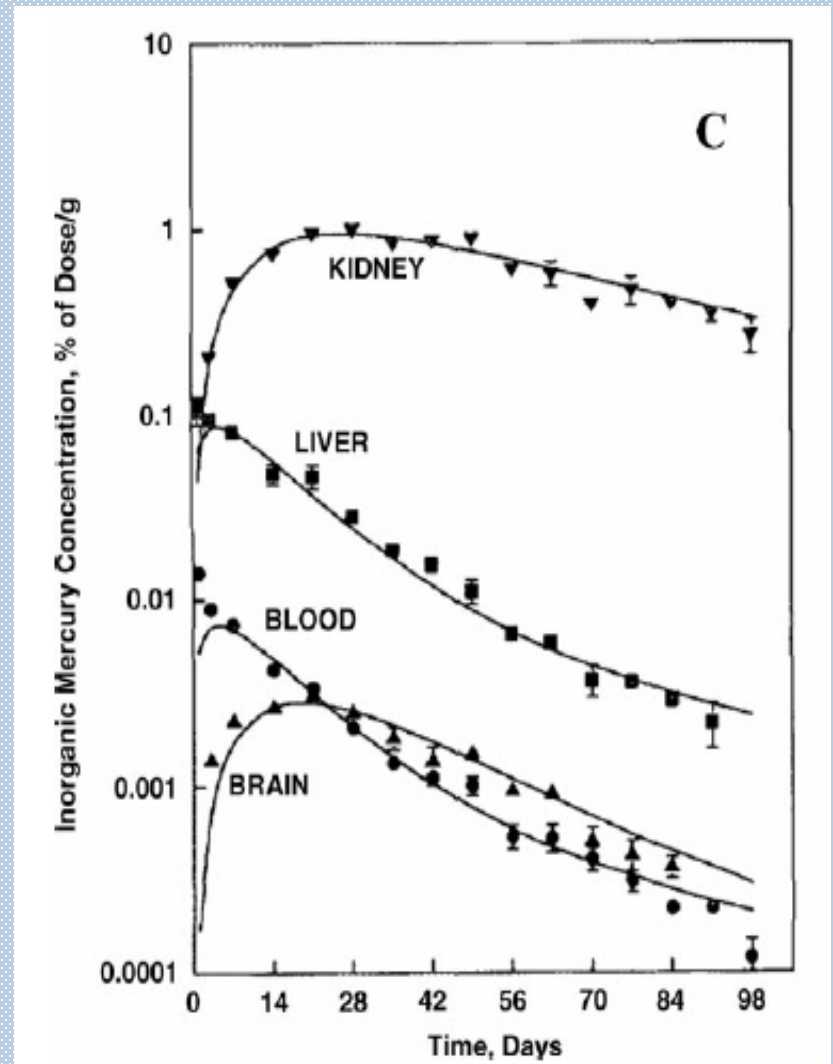
A

- 1) Nárůst velikosti kompartmentu
- 2) Hg vstupuje do střeva skrz exkreci žluče, transport z tkáně do prostoru střeva
- 3) Příjem Hg z krve do tkání je limitován tokem plazmy v důsledku erytrocytů, ze kterých se pomalu uvolňuje
- 4) Příjem CH_3Hg skrz BBB je limitován transportem
- 5) Příjem anorganické Hg je limitován transportem
- 6) Hg je přenášena z kůže do chlupů, kde se ireversibilně váže
- 7) Hg v chlupcích buď odchází nebo je pojídána zvířaty

Fyziologická toxikokinetika



CH_3Hg rychle demetylována na Hg →
pomalá eliminace z ledvin a mozku



Významné množství Hg je uloženo do
chlupů a požívání vlastních chlupů vede k
přetrvávání Hg u potkanů

Příklady

Ampicilin je antibiotikum, které je eliminováno z těla dle kinetiky prvního řádu.

Vypočítejte množství ampicilinu 6 hr po IV administraci dávky 500 mg, pokud víte že eliminační konstanta $k_{el} = 0.53 \text{ h}^{-1}$.

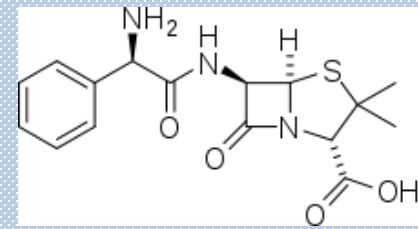
Lze využít i pro dávku, ne jen koncentraci !!!!

$$C = C_0 \times e^{-k_{el} \times t}$$

$$A \text{ (zbývající dávka)} = A_0 \text{ (dávka na počátku)} \times e^{-k_{el} \times t}$$

$$A \text{ (zbývající dávka)} = 500 \times e^{-0.53 \times 6}$$

$$A \text{ (zbývající dávka)} = 20.8 \text{ mg}$$



Příklady

Následující koncentrace byly zjištěny v krvi po intravenosním podání 200 mg léku, který se eliminuje dle kinetiky prvního řádu.

Čas (h)	Koncentrace v krvi (mg/L)
1	1.85
2	0.858
3	0.397
4	0.184
6	0.039

Vypočítejte dobu, kdy bude koncentrace 0.5 mg/L ???

$$C = C_0 \times e^{-k_{el} \times t}$$

$$\left. \begin{array}{l} C_2 = C_0 \times e^{-k_{el} \times t_2} \\ 1) \quad C_3 = C_0 \times e^{-k_{el} \times t_3} \end{array} \right\} \quad \frac{C_2}{C_3} = e^{k_{el} \times (t_3 - t_2)}$$

$$\frac{0.858}{0.397} = e^{k_{el} \times 1}$$

$$k_{el} = 0.771 \text{ h}^{-1}$$

$$2) \quad C_2 = C_0 \times e^{-k_{el} \times t_2}$$

$$0,858 = C_0 \times e^{-0.771 \times 2}$$

$$C_0 = 4 \text{ mg/L}$$

3)

$$C_t = C_0 \times e^{-k_{el} \times t}$$

$$0,5 = 4 \times e^{-0.771 \times t}$$

$$t = 2.7 \text{ h}$$

Slovo závěrem....

**Abychom dopředu věděli jak
to vlastně dopadne !!!**



If you immediately
know the
candlelight is
fire, then the meal
was cooked a long
time ago.

Použitá literatura

Curtis D. Klaassen: Casarett and Doull's Toxicology – The Basic Science of Poisons, 7th Edition, 2007