

Cover Page



Universiteit Leiden



The handle <http://hdl.handle.net/1887/19947> holds various files of this Leiden University dissertation.

Author: Krekels, Elke Henriëtte Josephina

Title: Size does matter : drug glucuronidation in children

Issue Date: 2012-10-10

Appendix

**Nederlandse Samenvatting:
Grootte is een Factor van Betekenis:
Glucuronidering van Geneesmiddelen in Kinderen**



I. Achtergrond en Doel van het Onderzoek

Voor de meeste geneesmiddelen zijn geen wetenschappelijk onderbouwde doseervoorschriften voor kinderen beschikbaar, dat geldt in het bijzonder voor pasgeborenen (neonaten) en jonge kinderen. Als gevolg hiervan komen zowel onderdosering als overdosering vaak voor. De voornaamste oorzaak hiervan is dat vaak niet is onderzocht welke factoren bij kinderen bepalend zijn voor de variatie in de werking van geneesmiddelen.

De intensiteit en duur van de werking van geneesmiddelen wordt bepaald door twee processen, te weten de farmacokinetiek (het verloop van de concentratie van het geneesmiddel in het lichaam in de tijd) en de farmacodynamiek (de verandering in het biologische systeem die een geneesmiddel bij een bepaalde concentratie te weeg brengt). Beide kunnen in kinderen veranderen met de leeftijd. Factoren die bij kinderen de farmacokinetiek van een geneesmiddel, en daarmee de blootstelling, beïnvloeden zijn: i) de grootte en groei van het lichaam en ii) de veranderingen in de processen die bepalend zijn voor de opname en de verdeling van stoffen in het lichaam en de eliminatie uit het lichaam. Deze veranderingen kunnen het gevolg zijn van veranderingen in a) de expressie en functie van enzymen en transporteiwitten, b) het hartminuutvolume en de doorbloeding van organen, c) de pH van het bloed en d) de concentratie van geneesmiddelbindende plasma-eiwitten en andere componenten in het bloed. Bovendien veranderen ook de relatieve grootte van de organen, de verhouding tussen water en vetweefsel en de verhouding tussen intra- en extracellulair water. Naast de veranderingen in farmacokinetiek kunnen veranderingen in de expressie en functie van receptoren of andere 'targeteiwitten' leiden tot een veranderde farmacodynamiek bij kinderen in vergelijking met volwassenen en tussen kinderen van verschillende leeftijden.

Wanneer er geen rekening wordt gehouden met leeftijdsafhankelijke verschillen in de farmacokinetiek en farmacodynamiek van geneesmiddelen kan dit leiden tot het falen van de behandeling of tot bijwerkingen met soms zelfs fatale afloop. Het is daarom van groot belang dat er onderzoek plaatsvindt naar de factoren die bij kinderen de farmacokinetiek en de farmacodynamiek van geneesmiddelen kunnen beïnvloeden. Recente wet- en regelgeving in Europa en de Verenigde Staten is er op gericht om geneesmiddelonderzoek in kinderen te bevorderen. Dat heeft ertoe geleid dat onderzoek in kinderen verplicht is voor nieuwe, nog op de markt te brengen geneesmiddelen. Er zijn vooralsnog geen wetten die betrekking hebben op onderzoek voor geneesmiddelen die al op de markt zijn en die niet meer onder een patent vallen.

Het doel van het onderzoek in dit proefschrift was om nieuwe methodes te ontwikkelen die gebruikt kunnen worden voor het vaststellen van wetenschappelijk onderbouwde doseervoorschriften voor geneesmiddelen in kinderen. De gebruikte methoden zijn gebaseerd op zogenaamde “populatie” analyses. Bij deze analyses worden wiskundige en statistische modellen gebruikt om farmacokinetische en farmacodynamische processen te beschrijven op basis van waargenomen geneesmiddelconcentraties of geneesmiddeleffecten. Daarnaast wordt ook de variabiliteit in de verschillende processen tussen individuen geanalyseerd. Hierdoor is het mogelijk om patiëntkarakteristieken te identificeren op basis waarvan de variabiliteit in de verschillende processen tussen individuen kan worden voorspeld. Deze voorspellende patiëntkarakteristieken worden covariaten genoemd. Covariaten vormen de basis voor geïndividualiseerde doseervoorschriften, of te wel doseervoorschriften die op de individuele patiënt zijn toegesneden.

Het onderzoek in dit proefschrift is vooral gericht op kinderen jonger dan drie jaar, omdat de grootste en belangrijkste veranderingen plaatsvinden in de eerste levensjaren. Omdat wordt aangenomen dat leeftijdsafhankelijke verschillen in geneesmiddeleffecten bij kinderen voornamelijk het gevolg zijn van veranderingen in de farmacokinetiek, is het onderzoek in dit proefschrift hierop gericht. De belangrijkste farmacokinetische parameter in dit verband is de klaring. Dit is de parameter die beschrijft hoe snel een geneesmiddel uit het lichaam wordt geëlimineerd. Bij chronische toediening wordt bij een gegeven doseringsschema de hoogte van de gemiddelde plasmaconcentratie uitsluitend bepaald door de klaring. Geneesmiddelen kunnen geklaard worden door onveranderde uitscheiding in de nieren of door metabolisme in de lever. Bij metabolisme worden geneesmiddelen door enzymen omgezet in metabolieten die gemakkelijker door de nieren kunnen worden uitgescheiden dan het geneesmiddel zelf. Het onderzoek in dit proefschrift richt zich op de klaring van geneesmiddelen via metabolisme door het enzym uridine 5'-diphosphate glucuronosyltransferase (UGT) 2B7. Afbraak van geneesmiddelmoleculen door dit type enzym wordt glucuronidering genoemd. Morfine en zidovudine zijn twee geneesmiddelen die regelmatig aan kinderen worden voorgeschreven en beiden worden voornamelijk via glucuronidering door het UGT2B7 enzym geklaard. Deze twee geneesmiddelen zijn daarom gebruikt als modelstoffen om de rijping (het patroon waarmee de snelheid van geneesmiddelmetabolisme zich in kinderen ontwikkelt) van deze klaringsroute in kinderen te bepalen.

In **Hoofdstuk 2** wordt een overzicht gegeven van beschikbare *in vitro* en *in vivo* methodes om de rijping van enzymen in de lever te bestuderen. Hierbij worden ook de resultaten die met deze methodes voor de verschillende UGT enzymen zijn verkregen besproken.

De rijping van enzymen kan op verschillende niveaus onderzocht worden, waarbij telkens specifieke onderdelen van het biologische systeem worden uitgelicht. Hierbij moet gedacht worden aan i) mRNA transcriptie, ii) expressie van enzymen, iii) de activiteit van enzymen *in vitro* en iv) *in vivo* klaring. Deze verschillende onderdelen van het biologische systeem worden op verschillende manieren door de overige processen in dat biologische systeem beïnvloed. Daarnaast bestaan er vaak meerdere technieken om het biologische systeem op één specifiek niveau te bestuderen. Afhankelijk van de gebruikte techniek en het niveau van het biologische systeem dat wordt bestudeerd, kunnen de conclusies met betrekking tot enzym rijping dus verschillen.

Op basis van literatuurgegevens kon worden vastgesteld dat de rijping van de verschillende UGT enzymen erg varieert. Over het algemeen kan expressie en activiteit van deze enzymen al worden waargenomen in foetussen na een draagtijd van 20 weken en vindt er een snelle toename in expressie en activiteit plaats in de eerste weken na de geboorte. De gerapporteerde leeftijd waarop de rijping van de verschillende UGT enzymen is voltooid verschilt tussen 6 maanden en 18 jaar.

Van alle technieken die beschikbaar zijn om rijping van UGT enzymen te bestuderen is de klaring via glucuronidering in de mens de meest relevante parameter voor het vaststellen van het doseervoorschrift. Daarom is er in dit proefschrift voor gekozen om klaring via glucuronidering te gebruiken als eindpunt in de studies.

II. Morfine Glucuronidering in Kinderen.

In **Sectie II** van dit proefschrift wordt het onderzoek naar de glucuronidering van morfine in kinderen jonger dan drie jaar beschreven. Het doel van dit onderzoek was om een wetenschappelijk onderbouwd doseervoorschrift voor dit geneesmiddel in deze kinderen te ontwikkelen. Bij het klinisch geneesmiddelonderzoek dat daarvoor nodig is, spelen specifieke ethische, wettelijke en praktische factoren een rol.

Omdat (jonge) kinderen zelf niet kunnen instemmen met deelname aan studies, is het onethisch geneesmiddelstudies uit te voeren in gezonde kinderen. Om die reden is geneesmiddelonderzoek in gezonde kinderen wettelijk niet toegestaan. Geneesmiddelstudies vinden daarom alleen plaats in kinderen die een middel als onderdeel van hun medische behandeling voorgeschreven krijgen. Dit vergroot de variabiliteit tussen de patiënten die worden onderzocht, omdat de ernst van de ziekte en het aantal en soort van de overige voorgeschreven geneesmiddelen sterk kunnen verschillen. Praktische beperkingen vinden hun oorzaak in het kleine bloedvolume van (jonge) kinderen. Hierdoor kan per patiënt slechts een beperkt aantal bloedmonsters

worden afgenomen voor de bepaling van geneesmiddelconcentraties. Daarnaast mogen kinderen niet worden blootgesteld aan de stress van bloedafname wanneer dit alleen voor onderzoeksdoeleinden wordt gedaan. Bloedmonsters kunnen daarom alleen verkregen worden van patiënten die een permanente arteriële lijn hebben. Wanneer er geen permanente arteriële lijn aanwezig is, mogen er alleen bloedmonsters worden afgenomen op tijdstippen dat er bloed wordt verzameld voor behandeldoelstellingen. Hierdoor kan het tijdstip van bloedmonsters afname niet altijd vooraf in het studieprotocol worden vastgelegd. Ook de hoogte en het tijdstip van dosering kan vaak niet vooraf worden vastgesteld, omdat dit door de behandelend arts wordt voorgeschreven op basis van de individuele behoefte van een patiënt. Voor de analyse van data met grote variatie in patiëntkarakteristieken, in het tijdstip en de hoogte van de dosering en in het tijdstip en de frequentie van de bloedmonsterafname, is de populatie analyse die in dit proefschrift is toegepast uitermate geschikt.

Het onderzoek dat wordt beschreven in **Hoofdstuk 3** heeft betrekking op de farmacokinetiek van morfine, inclusief de twee belangrijkste metaboliëten morfine-3-glucuronide (M3G) en morfine-6-glucuronide (M6G), in kinderen jonger dan drie jaar. Dit onderzoek is uitgevoerd op basis van een populatie analyse van de bloedconcentraties in 248 patiënten. Per patiënt waren gemiddeld 4 bloedconcentraties beschikbaar. Deze patiënten kregen morfine toegediend voor pijnbestrijding na een zware operatie (met uitzondering van hartoperaties) of tijdens mechanische beademing. Op basis van deze analyse kon worden vastgesteld, dat lichaamsgewicht de meeste voorspellende covariaat is om de verandering in morfine klaring ten gevolge van groei en ontwikkeling in deze jonge kinderen te beschrijven. De verandering in morfine klaring werd het beste beschreven met een exponentiële functie op basis van lichaamsgewicht met een exponent van ongeveer 1.5. Daarnaast bleek dat de snelheid van glucuronidering van morfine ongeveer 50% lager is in neonaten die jonger zijn dan tien dagen, ongeacht de draagtijd.

De voorspellende waarde van het ontwikkelde model is uitvoerig getest door te bepalen of het model de morfine, M3G en M6G concentraties die gebruikt zijn voor de ontwikkeling van het model ook inderdaad accuraat kan voorspellen. Een goede voorspelling van de concentraties van de twee metaboliëten is daarbij net zo belangrijk als een goede voorspelling van de morfine concentraties, omdat beide metaboliëten bijdragen aan de (bij)werkingen van morfine. In deze analyse zijn de voorspellingen van de concentraties gedaan op basis van het lichaamsgewicht en leeftijd van de patiënt, het tijdstip van toediening en het tijdstip van de concentratiebepaling. De voorspelde concentraties zijn vervolgens vergeleken met de gemeten concentraties. Hieruit bleek dat de voorspellingen van de concentraties van morfine en de twee metaboliëten tijdens en na beëindiging van de infusie accuraat waren voor alle patiënten.

De evenwichtsconcentraties van geneesmiddelen in het bloed zijn bij continue infusies uitsluitend afhankelijk van de klaring van het geneesmiddel. Op basis van het ontwikkelde model kon daarom worden vastgesteld dat continue morfine infusies het best gedoseerd kunnen worden in microgram per kilogram tot de macht 1.5 per uur ($\mu\text{g}/\text{kg}^{1.5}/\text{uur}$), in plaats van in de meer gebruikelijke dosering in microgram per kilogram per uur ($\mu\text{g}/\text{kg}/\text{uur}$), en dat de dosering in neonaten jonger dan tien dagen met 50% moet worden gehalveerd. Simulaties met het model lieten inderdaad zien dat de variabiliteit in concentraties van morfine, M3G en M6G in pasgeborenen tot peuters van drie jaar met dit nieuwe doseringsregime lager is dan de variabiliteit in de concentraties die voorspeld worden bij dosering volgens het traditionele doseringsschema.

Voordat het bovengenoemde doseervoorschrift in de praktijk kon worden getest, is in **Hoofdstuk 4** bestudeerd of het model ook accurate concentratievoorspellingen kan doen voor externe data. Hiermee worden data bedoeld die afkomstig zijn van patiënten die geen onderdeel vormden van de dataset waarmee het model is ontwikkeld. Voor deze analyses waren morfine en metaboliet concentraties beschikbaar van 90 patiënten uit vier verschillende studies die waren uitgevoerd in vier verschillende ziekenhuizen. Deze studies waren uitgevoerd in neonaten tot peuters van één jaar oud die een zware operatie hadden ondergaan (met uitzondering van hartoperaties) of die mechanisch beademd werden. Met behulp van verschillende methodes is vastgesteld dat de morfine en metaboliet concentraties in deze externe patiënten met behulp van het model kunnen worden voorspeld op basis van het lichaamsgewicht, de leeftijd en de morfine dosering. Bovendien zijn de waarden van de klaringen via glucuronidering van morfine die door het model worden voorspeld vergeleken met literatuurwaardes. Ondanks de grote spreiding in de gerapporteerde waardes voor deze jonge populatie, bleek het model de trend in de resultaten van verschillende studies goed te beschrijven.

Nadat was vastgesteld dat het model goede voorspellingen voor de concentraties van morfine en de metabolieten oplevert, is in **Hoofdstuk 5** de effectiviteit van het nieuwe doseervoorschrift voor morfine geëvalueerd in de klinische praktijk. In een studie in neonaten tot peuters van één jaar die een morfine infusie kregen voor pijnbestrijding na een zware operatie (met uitzondering van hartoperaties), kregen neonaten jonger dan tien dagen een morfine infusie van $2.5 \mu\text{g}/\text{kg}^{1.5}/\text{uur}$ terwijl oudere kinderen een infusie kregen van $5 \mu\text{g}/\text{kg}^{1.5}/\text{uur}$. Ten opzichte van traditioneel gebruikte morfine infusiesnelheid van $10 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{uur}$, betekende dit een dosisvermindering van 50% tot 75% voor neonaten jonger dan tien dagen, en een dosis verhoging tot 150% in oudere kinderen van meer dan vier kilogram.

De effectiviteit van de nieuwe dosering is geëvalueerd op basis van een analyse van de zogenaamde 'rescue doses'. Dit zijn extra morfine doses die worden toegediend wanneer de pijnbestrijding onvoldoende is op basis van objectieve methodes voor het vaststellen van pijn in deze jonge patiënten. In de neonaten jonger dan tien dagen had maar 27% van de patiënten rescue doses nodig, ten opzichte van 90% in de oudere patiënten. Ook het aantal rescue doses en de gemiddelde rescue dosis was beduidend lager in neonaten jonger dan tien dagen ten opzichte van de oudere kinderen. Deze resultaten tonen aan dat de gereduceerde dosis in jonge neonaten nog steeds voldoende effectief is, terwijl de verhoogde dosering in oudere patiënten nog niet hoog genoeg is. Ten opzichte van de traditioneel gebruikte morfine doseringen, leidt het nieuwe morfine doseervoorschrift dus tot een verbetering van de behandeling, omdat het de blootstelling aan te hoge doses in jonge neonaten vermindert, terwijl het ook, weliswaar in minder mate, de blootstelling aan ineffectieve doses in oudere patiënten tot één jaar vermindert.

Waar mogelijk waren er in deze studie ook bloedmonsters afgenomen om de concentraties van morfine, M3G en M6G te bepalen. Deze concentraties zijn vergeleken met de voorspellingen van het populatie model uit Hoofdstuk 3, om vast te stellen of de voorspellingen van dit model ook accuraat zijn bij doseringen volgens het nieuwe doseervoorschrift. Dit bleek het geval te zijn. Dit bevestigt dat het ontwikkelde doseervoorschrift corrigeert voor verschillen in de klaring van morfine in deze patiëntengroep. Er kan worden aangenomen dat doseervoorschriften die corrigeren voor verschillen in klaring voldoende zijn wanneer de farmacodynamiek van het geneesmiddel gelijk is in kinderen van alle leeftijden. Dit is niet waarschijnlijk voor morfine. Morfine werkt door binding aan specifieke opiaat receptoren in de hersenen. Het transport van morfine van het bloed naar deze receptoren in hersenen en de expressie en functie van deze receptoren in de hersenen zijn mogelijk beide onderhevig aan leeftijdsverschillen. Deze verschillen verklaren mogelijk het verschil in effectiviteit van het nieuwe morfine doseervoorschrift in oudere en jongere kinderen in deze studie. In vervolg onderzoek kan een populatie analyse van de farmacodynamiek van morfine in deze jonge kinderen gebruikt worden om voor elke leeftijdsgroep te bepalen welke concentratie tot het gewenste effect leidt. Simulaties met het huidige farmacokinetische model kunnen dan worden gebruikt om vast te stellen welke dosering tot de gewenste concentraties zal leiden. Hierdoor kan het doseervoorschrift van morfine verder geoptimaliseerd worden.

III. Semi-Fysiologisch Model voor de Glucuronidering van Geneesmiddelen in Kinderen.

De methode die in Sectie II van de dit proefschrift is gebruikt voor het vaststellen van wetenschappelijk onderbouwde doseervoorschriften voor morfine in kinderen, is tijdrovend en intensief. Het is onmogelijk om een soortgelijke analyse uit te voeren voor elk geneesmiddel en in elke leeftijdsgroep. In **Sectie III** is daarom gezocht naar een algemene methode voor de ontwikkeling van populatie modellen voor kinderen, die gebruikt kunnen worden voor het vaststellen van wetenschappelijk onderbouwde doseervoorschriften. De ontwikkelde methode is gebaseerd op de hypothese dat het rijpingspatroon van geneesmiddelklaring door metaboliserende enzymen een systeem-specifieke eigenschap is. Dit betekent dat het rijpingspatroon van toepassing is op alle geneesmiddelen die via een specifiek enzym worden geëlimineerd. Met andere woorden, als voor één geneesmiddel de covariaatrelatie voor de rijping van de klaring is vastgesteld, kan deze relatie ook worden gebruikt om de leeftijdsafhankelijke verandering in klaring van andere geneesmiddelen die via hetzelfde enzym worden gemetaboliseerd te voorspellen. De absolute waarde van de klaring kan daarbij wel verschillend zijn, omdat dit een geneesmiddel-specifieke eigenschap is.

De modellen die in deze sectie beschreven worden, worden semi-fysiologische modellen genoemd, omdat ze zijn afgeleid van fysiologische modellen. Fysiologische modellen zijn mechanistische modellen. Deze modellen gaan niet, zoals populatie modellen, uit van gemeten concentraties, maar zijn gebaseerd op een beschrijving en kwantificering van alle onderliggende biologische processen die bepalend zijn voor het verloop van de concentratie van een geneesmiddel in het lichaam (de absorptie, de verdeling, het metabolisme en de eliminatie) en de interacties tussen geneesmiddelen en het biologische systeem. Een fundamentele eigenschap van fysiologische modellen is het strikte onderscheid tussen systeem-specifieke eigenschappen (b.v. doorbloeding van het lever, concentratie van plasma-eiwitten, expressie en functie van enzymen en transport-eiwitten) en geneesmiddel-specifieke eigenschappen (b.v. lipofiliciteit, en affiniteit voor bindingseiwitten, enzymen en transporters). Deze modellen worden in de praktijk onder meer toegepast om de absolute waarden van de klaring van nieuwe stoffen in de mens te voorspellen op basis van pre-klinische gegevens. In de semi-fysiologische modellen in dit proefschrift, combineren eerder opgedane kennis van het biologische systeem met een populatie analyse. Zo wordt de covariaatrelatie die het rijpingspatroon voor het metabolisme van een bepaald geneesmiddel beschrijft, rechtstreeks gebruikt om de veranderingen in klaring van een nieuw geneesmiddel dat via hetzelfde enzym wordt gemetaboliseerd te beschrijven. Vervolgens wordt een populatie analysis op

basis van gemeten concentraties gebruikt om de absolute waarde van de klaring (een geneesmiddel-specifieke eigenschap) vast te stellen.

In **Hoofdstuk 6** is onderzocht of covariaatrelaties voor de rijping van specifieke klaringsroutes in kinderen uitwisselbaar zijn tussen geneesmiddelen die via hetzelfde enzym worden gemetaboliseerd. In deze studie zijn twee populatie modellen voor een dataset met concentraties van zidovudine en zidovudine-glucuronide met elkaar vergeleken. De data waren verkregen in een studie met gezonde kinderen tussen nul en vijf maanden, waarin werd onderzocht of zidovudine een geschikt middel is om de overdracht van het Hiv-virus tussen moeder en kind te voorkomen.

Zidovudine wordt, net als morfine, voornamelijk geklaard via metabolisme door het UGT2B7 enzym. In het eerste model is daarom de covariaatrelatie voor de rijping van de activiteit van UGT2B7 die in Hoofdstuk 3 is gevonden voor de glucuronidering van morfine, onveranderd toegepast op de glucuronidering van zidovudine. Vervolgens is de absolute waarde van de klaring voor de glucuronidering van zidovudine bepaald op basis van de zidovudine en zidovudine-glucuronide concentraties. Dit model is het semi-fysiologische model. Om vast te kunnen stellen hoe goed de beschrijvende en voorspellende waarde van het semi-fysiologische model is, is er tevens een referentie model ontwikkeld dat statistisch gezien de beste beschrijving van de zidovudine data geeft. In dit referentie model is een populatie analyse gebruikt om zowel de absolute glucuronideringsklaring van zidovudine vast te stellen, als de covariaatrelatie die het patroon van de leeftijdsafhankelijke verandering in de klaring beschrijft in deze groep kinderen.

De covariaatrelatie voor de glucuronidering van zidovudine die in het referentie model is gevonden verschilde van de relatie die in Hoofdstuk 3 is gevonden voor de glucuronidering van morfine. Dit komt waarschijnlijk omdat het leeftijdsverschil van de patiënten in de zidovudine dataset een stuk kleiner is (voldragen neonaten tot peuters van vijf maanden) dan het leeftijdsverschil van de patiënten in de morfine dataset (te vroeg geboren (onvoldragen) en voldragen neonaten tot kleuters van drie jaar). Ondanks dit verschil waren de beschrijvingen van zowel individuele zidovudine klaringen als individuele zidovudine en zidovudine-glucuronide concentraties door beide modellen vergelijkbaar. Bovendien waren voor beide modellen ook de voorspelde concentraties die werden verkregen op basis van informatie over de leeftijd, het gewicht en de dosis vergelijkbaar. Deze resultaten ondersteunen de hypothese dat covariaatrelaties voor de klaring van geneesmiddelen in kinderen systeem-specifieke eigenschappen zijn, die uitwisselbaar zijn tussen stoffen die via hetzelfde enzym worden gemetaboliseerd.

Door het gebruik van eerder opgedane kennis over de ontwikkeling van glucuronideringsklaring, kon het semi-fysiologische model voor zidovudine vele malen

sneller ontwikkeld worden dan het referentie model. Dit toont aan dat deze methode de ontwikkeling van populatie farmacokinetische modellen voor kinderen, en daarmee de ontwikkeling van wetenschappelijk onderbouwde doseervoorschriften, kan bevorderen.

In Hoofdstuk 6 is voor het eerst aangetoond dat covariaatrelaties in een kinderpopulatie uitgewisseld kunnen worden tussen twee geneesmiddelen die via dezelfde route uit het lichaam worden geklaard. Omdat morfine en zidovudine echter veel op elkaar lijken met betrekking tot hun moleculaire eigenschappen, zal verder onderzocht moeten worden of het semi-fysiologische model voor glucuronidering ook gebruikt kan worden voor twee stoffen die weliswaar door hetzelfde enzym worden gemetaboliseerd, maar verder erg verschillen in hun moleculaire eigenschappen. Daarnaast is het model voor de glucuronidering van morfine gebaseerd op data van postoperatieve kinderen en kinderen aan de mechanische beademing, terwijl de zidovudine data verkregen zijn in gezonde kinderen. Het is belangrijk om te weten welke onderliggende biologische veranderingen verantwoordelijk zijn voor de verandering in klaring in kinderen, om vast te stellen of patiëntkarakteristieken het gebruik van het semi-fysiologische model voor glucuronidering in een bepaalde patiëntenpopulatie kunnen beperken.

Het onderzoek dat betrekking heeft op de invloed van zowel verschillende eigenschappen van het geneesmiddel als eigenschappen van het biologische systeem op het rijpingspatroon van UGT2B7 metabolisme wordt beschreven in **Hoofdstuk 7**. In dit onderzoek is gebruik gemaakt van simulaties met een fysiologisch model. Bij simulaties wordt de werkelijkheid nagebootst met behulp van modellen van die werkelijkheid. Er zijn verschillende scenario's gesimuleerd, waarin de waardes van geneesmiddel-specifieke parameters zoals moleculair gewicht, logP en pKa, en biologische systeem-specifieke parameters zoals lever volume, milligram eiwit per gram lever, plasma-eiwit binding, doorbloeding van de lever en UGT expressie en activiteit, één voor één zijn veranderd. Door te bepalen wat de invloed van deze veranderingen is op de voorspelde glucuronidering in kinderen, kon worden vastgesteld of en hoe de glucuronidering door de individuele parameters wordt beïnvloed.

Deze theoretische studie liet zien dat logP en pKa de absolute waarde van de klaring door glucuronidering kunnen beïnvloeden. Deze moleculaire eigenschappen van het geneesmiddel hadden echter geen invloed op het patroon waarmee de glucuronidering zich in kinderen ontwikkelt. Dit betekent dat de covariaatrelatie die deze ontwikkeling beschrijft, voor alle substraten hetzelfde zou zijn, wat suggereert dat geneesmiddeleigenschappen het gebruik van het semi-fysiologische model voor glucuronidering niet beperken. Deze bevindingen zijn echter gebaseerd op de aanname dat de geneesmiddeleigenschappen geen invloed hebben op de opname van de geneesmiddelen in de lever en de interactie tussen de geneesmiddelmoleculen en

het UGT2B7 enzym. Daarnaast zal verder onderzocht moeten worden of het semi-fysiologische model voor glucuronidering gebruikt kan worden voor geneesmiddelen met een lever extractie-ratio die anders is dan de extractie-ratio voor morfine en zidovudine en voor geneesmiddelen met verzadigbare glucuronidering.

Met betrekking tot the systeem-specifieke eigenschappen toonde deze theoretische studie aan dat veranderingen in het volume van de lever en in de expressie en activiteit van de UGT2B7 enzymen in de eerste drie levensjaren voor het grootste deel verantwoordelijke zijn voor de waargenomen veranderingen in glucuronidering door UGT2B7. Dit suggereert dat glucuronideringsnelheid in patiënten met insufficiënte leverfunctie mogelijk is afgenomen, wat zou kunnen betekenen dat de semi-fysiologische functie voor glucuronidering niet gebruikt kan worden in een patiëntenpopulatie met lever insufficiënties. Dit zal echter nog verder onderzocht moeten worden.

IV. Evaluatie van Farmacokinetische Modellen voor Kinderen

Een belangrijke eigenschap van de populatiebenadring voor de analyse van farmacokinetische data is dat het kan worden toegepast wanneer er een beperkt aantal waarnemingen per individu beschikbaar is. Vooral in zeer jonge kinderen komt dat vaak voor. Echter, hoe beperkter de data, hoe groter de kans op mis-gespecificeerde of 'onjuiste' modellen. Wanneer zulke 'onjuiste' modellen worden gebruikt als basis voor klinische beslissingen (bijvoorbeeld voor het bepalen van doseringen) kan dit grote gevolgen hebben. Uitgebreide evaluatie en validatie van een model, waarbij wordt vastgesteld of een model juiste voorspellingen geeft, is daarom heel belangrijk. In Hoofdstuk 3 en Hoofdstuk 4 is gebleken dat het evalueren en valideren van populatie farmacokinetische modellen voor kinderen op sommige punten aanpassingen vereist ten opzichte van de evaluatie en validatie van populatie farmacokinetische modellen voor volwassenen.

In **Hoofdstuk 8** zijn patiënt- en studiekenmerken geïdentificeerd die de eigenschappen van farmacokinetische datasets van kinderen beïnvloeden. Omdat (jonge) kinderen zich snel ontwikkelen, is de variatie in de ontwikkelingsstadia tussen patiënten bijvoorbeeld vaak groot. Daarnaast is, zoals eerder genoemd, de variabiliteit in geneesmiddeldosering en bloedmonster afname vaak groot omdat deze sterk beïnvloed worden door de conditie van de patiënt, en is het aantal bloedmonsters per patiënt vaak beperkt. Als gevolg van deze factoren zijn er voor de evaluatie en validatie van populatie modellen in kinderen vaak aanpassingen nodig van al bestaande validatietechnieken. Een belangrijk punt is bijvoorbeeld om vast te stellen of het model de data in alle leeftijdscategorieën juist voorspelt. Om die reden is het noodzakelijk een dataset niet

alleen in zijn geheel te bekijken, maar de dataset ook op te splitsen in verschillende leeftijdscategorieën. Daarnaast zijn soms geavanceerde evaluatie technieken nodig ter vervanging van meer traditionele technieken. Een zogenaamde “normalized prediction distribution error” (NPDE) analyse is bijvoorbeeld een meer geschikte evaluatie methode op basis van simulaties, dan de meer traditionele visual predictive check (VPC), omdat het flexibeler kan omgaan met grote variabiliteit in dosering en afname schema en in covariaatdistributies. Tot slot is in Hoofdstuk 8 ook een nieuwe evaluatie techniek gepresenteerd om vast te stellen of een gevonden covariaatrelatie de patronen in de variabiliteit in parameterwaarden tussen individuen goed beschrijft.

Het onderzoek dat is beschreven in **Hoofdstuk 8** heeft betrekking op de ontwikkeling van een theoretisch raamwerk voor de systematische evaluatie en validatie van populatiemodellen in kinderen. Dit raamwerk omvat zes verschillende onderdelen. Het raamwerk werd toegepast in de evaluatie van twee verschillende populatie farmacokinetische modellen voor morfine in kinderen. Deze twee modellen zijn op verschillende manieren ontwikkeld. Het eerste model is gebaseerd op het model dat is beschreven in Hoofdstuk 3, wat tot stand is gekomen op basis van een uitvoerige covariaat analyse. Het tweede model is gebaseerd op specifieke theoretische aannames met betrekking tot de samenhang tussen lichaamsgewicht en klaring. Omdat voor de ontwikkeling van beide modellen gebruik was gemaakt van exact dezelfde dataset, was een directe vergelijking tussen de twee modellen mogelijk. De resultaten van de analyse laten zien dat het ontwikkelde evaluatie en validatie raamwerk in staat is om problemen met de beschrijvende en voorspellende waarde van populatie modellen voor kinderen te identificeren. Daarnaast kan het ook gebruikt worden om vast te stellen waardoor gebrekkige beschrijvingen en voorspellingen van deze modellen worden veroorzaakt.

De farmacokinetiek en klaring van morfine in kinderen zijn uitgebreid bestudeerd in de literatuur. In **Hoofdstuk 9** worden de verschillende analysemethodes die hiervoor gebruikt zijn beschreven en zijn de voor- en nadelen van elke methode in kaart gebracht. Daarnaast zijn de gerapporteerde klaringswaarden met elkaar vergeleken en is de voorspellende waarde van gepubliceerde modellen (zowel populatie modellen als fysiologische modellen) geëvalueerd.

In de afgelopen twintig jaar zijn twintig studies naar de klaring van morfine in kinderen gerapporteerd waarin gebruik werd gemaakt van traditionele farmacokinetische analyse technieken. Deze studies zijn veelal beschrijvend en gebaseerd op waarnemingen in een klein aantal kinderen. De gerapporteerde waarden voor de klaring van morfine lopen ver uiteen, waarschijnlijk doordat de metingen met traditionele technieken minder nauwkeurig zijn en het aantal patiënten in de studies vaak klein is. Daarnaast is een nadeel van deze studies dat de klaring in kinderen vaak wordt uitgedrukt per kilogram

lichaamsgewicht en dat de leeftijdsafhankelijke veranderingen alleen maar beschreven kunnen worden door kinderen in leeftijdscategorieën in te delen en een gemiddelde klaring per groep te berekenen. Het patroon van leeftijdsafhankelijke verschillen in klaring hangt daarmee af van de meestal willekeurig gekozen leeftijdscategorieën.

De beschrijving van leeftijdsafhankelijke verschillen in klaring in populatie modellen en fysiologische modellen is niet afhankelijk van een indeling van de patiënten in leeftijdsgroepen. Daarnaast kunnen met deze technieken data van verschillende studies gecombineerd worden, wat de nauwkeurigheid van de bevindingen kan vergroten. Voor morfine zijn drie populatie farmacokinetische modellen beschreven in de literatuur, waarbij verschillende technieken voor de covariaatanalyse zijn gebruikt. Alle drie de modellen zijn voor kinderen die jonger zijn dan drie jaar waarbij in twee modellen ook de farmacokinetiek in onvoldragen neonaten wordt beschreven. De verschillende functies voor de verandering van morfineklaring in deze patiëntengroep in deze modellen, leveren ongeveer gelijke klaringswaardes op, behalve in neonaten die jonger zijn dan één maand en dan vooral in onvoldragen neonaten. Voor één fysiologisch model is gekeken naar de voorspellingen van morfine klaringen in kinderen en ook deze voorspellingen waren in dezelfde grootte orde dan de overige gerapporteerde klaringswaardes. Helaas is het vooralsnog niet mogelijk om met fysiologische modellen voorspellingen te doen in te vroeg geboren neonaten.

Met betrekking tot de validatie van de populatie modellen en het fysiologische model, kon worden vastgesteld dat niet voor alle modellen voldoende is bewezen dat ze de werkelijkheid accuraat kunnen beschrijven en voorspellen. Voor één populatiemodel is zelfs bewezen dat het model een te hoge morfineklaring in neonaten voorspelt. Wanneer dit model zou worden gebruikt voor het bepalen van morfine doseringen, zou dat kunnen leiden tot ernstige overdosering.

V. Conclusie

In de eerste paar levensjaren vindt er een groot aantal veranderingen plaats in het lichaam van een kind. Deze veranderingen kunnen de blootstelling aan en werking van geneesmiddelen beïnvloeden. Dit proefschrift beschrijft hoe wetenschappelijk onderbouwde doseervoorschriften voor geneesmiddelen in kinderen kunnen worden ontwikkeld waarbij rekening wordt gehouden met veranderingen in farmacokinetische processen in deze populatie. Deze aanpak omvat de volgende stappen:

- 1) Ontwikkeling van populatie farmacokinetische modellen in kinderen. Deze modellen kunnen worden ontwikkeld door middel van een uitgebreide analyse

zoals beschreven in Hoofdstuk 3, of door middel van een semi-fysiologische aanpak zoals beschreven in Hoofdstuk 6, hoewel de bredere toepasbaarheid van de semi-fysiologische methode nog verder onderzocht dient te worden.

- 2) Evaluatie en validatie van het ontwikkelde model met behulp van het raamwerk dat in Hoofdstuk 8 is ontwikkeld. De evaluatie en validatie dienen plaats te vinden op basis van zowel interne data (data die gebruikt zijn voor de ontwikkeling van het model), als externe data (data die niet gebruikt zijn voor de ontwikkeling van het model of van externe bronnen afkomstig zijn).
- 3) Een prospectieve klinische studie om de veiligheid en effectiviteit van het doseerregime dat van het populatiemodel is afgeleid, vast te stellen, zoals voor morfine is gedaan in Hoofdstuk 5.

Voor morfine heeft deze aanpak een onderbouwd doseervoorschrift opgeleverd dat overdosering van neonaten en blootstelling van ineffectieve doses in oudere kinderen vermindert.