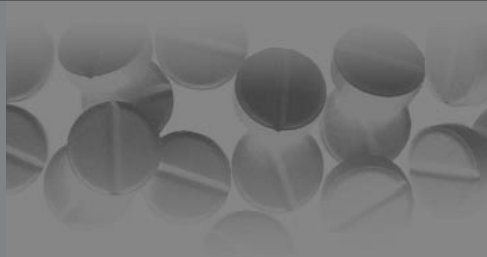


# Samenvatting





## Samenvatting

Rijping van verschillende organen en veranderingen in lichaamssamenstelling gedurende de neonatale periode en de kinderleeftijd hebben een duidelijk effect op de farmacokinetiek van geneesmiddelen. De uitscheiding van geneesmiddelen door het lichaam (klaring) geschiedt hoofdzakelijk via afbraak in de lever (metabolisme door enzymen) en excretie door de nieren (renale klaring). De ontwikkeling van de activiteit van de enzymen die geneesmiddelen metaboliseren is de belangrijkste factor voor leeftijdsgerelateerde veranderingen in de klaring van geneesmiddelen die niet renaal geklaard worden. Belangrijke enzymfamilies zijn CYP3A en UGT. De CYP3A subfamilie is betrokken bij het metabolisme van meer dan 50% van alle geneesmiddelen. De UGT familie is betrokken bij de omzetting van tientallen belangrijke geneesmiddelen (bv. paracetamol en morfine). Echter over de precieze ontwikkeling van deze enzymactiviteit is niet veel bekend, alsmede over welk effect deze ontwikkeling heeft op de farmacokinetiek van geneesmiddelen bij kinderen op verschillende leeftijden. Dit wordt beschreven in het inleidende gedeelte van dit proefschrift. In het tweede deel van dit proefschrift wordt gekeken naar het effect van leeftijd op de ontwikkeling van CYP3A and UGT activiteit door op verschillende leeftijden de farmacokinetiek te bepalen van midazolam. Midazolam kan als 'modelmedicijn' gebruikt worden voor de enzymactiviteit van CYP3A en UGT. Naast leeftijdsgerelateerde veranderingen in farmacokinetiek, blijken ook verschillen in erfelijke aanleg een rol te spelen bij geneesmiddelen die gemetaboliseerd worden. In het derde deel van dit proefschrift hebben we gekeken naar het vóórkomen van twee mutaties (afwijkingen) in het gen van CYP3A4 en naar het effect van één deze mutaties op de farmacokinetiek van midazolam bij premature pasgeborenen. Tenslotte is niet alleen de farmacokinetiek onderhevig aan leeftijdsgerelateerde veranderingen, ook de farmacodynamiek (werking van het geneesmiddel) is onderhevig aan leeftijdsgerelateerde veranderingen in bijvoorbeeld geneesmiddel-receptor binding. In het laatste deel van dit proefschrift hebben we gekeken naar het effect van midazolam bij zowel premature pasgeborenen als bij oudere kinderen (3 dagen tot 17 jaar) die opgenomen waren op een intensive care.

### *Inleiding*

Hoofdstuk 1 beschrijft de doelen van de studies die zijn uitgevoerd zoals beschreven in dit proefschrift.

In hoofdstuk 2 wordt een literatuuroverzicht gegeven met betrekking tot de ontwikkeling van de enzymen van de cytochroom P450 3A subfamilie bij kinderen. De beschikbare data laten zien dat er belangrijke, vaak klinisch relevante veranderingen in de CYP3A activiteit plaatsvinden tijdens alle ontwikkelingsstadia. Echter, het precieze patroon van de ontwikkeling van CYP3A expressie en het belang daarvan voor de farmacokinetiek van CYP3A substraten is voor de eerste 3 tot 4 levensjaren niet volledig gekarakteriseerd. De bijdrage van intestinaal en renaal CYP3A aan de farmacokinetiek van CYP3A substraten is evenmin goed in kaart gebracht op de kinderleeftijd en het is niet bekend of ontwikkeling op zich de functionele expressie van CYP3A in deze organen beïnvloedt. Tenslotte zijn de genetische en mogelijk neurohumorale factoren, die de activering van CYP3A expressie en activiteit reguleren na de geboorte, eveneens grotendeels niet bekend.

In hoofdstuk 3 wordt de recente literatuur besproken met betrekking tot de ontwikkeling van de UDP-glucuronosyltransferase (UGT) superfamilie. Tenminste 10 verschillende UGT enzymen (isoformen) zijn tot nu toe geïdentificeerd, die zich ieder verschillend lijken te ontwikkelen. Ondanks studies naar de farmacokinetiek van UGT geneesmiddelen bij kinderen (lorazepam, morfine, paracetamol) zijn enzym specificiteit en de betekenis daarvan voor de farmacokinetiek, over het algemeen nog niet bekend. Geconcludeerd wordt dat de huidige kennis over het effect van ontwikkeling op de activiteit van de UGTs onvoldoende is en dat onderzoek in de toekomst zich moet richten op het effect van ontwikkeling van de individuele UGTs op de farmacokinetiek van veel gebruikte UGT geneesmiddelen.

### *Farmacokinetiek*

Hoofdstuk 4 beschrijft de farmacokinetiek en het metabolisme van het CYP3A modelmedicijn midazolam, toegediend als een intraveneuze bolus aan 24 premature neonaten die minder dan 12 dagen oud waren. Passend bij een nog niet volledig ontwikkelde hepatische CYP3A<sub>4</sub>/5 activiteit waren de klaring van midazolam en de concentraties van de belangrijkste metaboliet 1-OH-midazolam sterk afgenomen bij deze neonaten in vergelijking tot oudere kinderen en volwassenen. Het verdelingsvolume en de klaring van midazolam waren verhoogd in die neonaten die na de geboorte indomethacine kregen voor de behandeling van een open ductus botalli. Deze bevinding suggereert dat indomethacine een (nog onbekend) effect tot gevolg heeft, gerelateerd aan de open ductus Botalli of aan het geneesmiddel, dat in staat is de farmacokinetiek van midazolam bij premature pasgeborenen te veranderen.

De farmacokinetiek, absolute orale beschikbaarheid en metabolisme van midazolam na orale bolus aan 15 premature neonaten wordt beschreven in hoofdstuk 5. De resultaten laten zien dat de orale beschikbaarheid en de klaring van midazolam hoger zijn, terwijl de 1-OH-midazolam concentraties lager zijn dan bij oudere kinderen en volwassenen. Dit is in overeenstemming met de verminderde functionele activiteit van zowel intestinaal als hepatisch CYP3A<sub>4</sub>/5; bevindingen die passen bij prematuriteit. Mogelijk hebben deze resultaten belangrijke consequenties voor de orale beschikbaarheid van andere CYP3A<sub>4</sub>/5 geneesmiddelen. Een hogere orale beschikbaarheid kan namelijk leiden tot hogere plasma concentraties van deze geneesmiddelen. Hierdoor wordt de kans op toxiciteit hoger bij pasgeborenen, wanneer de dosis van het geneesmiddel niet wordt gecorrigeerd voor deze ontwikkelingsgerelateerde verschillen.

Hoofdstuk 6 beschrijft de populatiefarmacokinetiek en het metabolisme van midazolam toegediend als continu infuus aan 21 intensive care patiënten met een leeftijd van 2 dagen tot 17 jaar. De midazolam plasmaklaring bij deze patiënten blijkt lager te zijn dan eerder gerapporteerd voor pediatrische intensive care patiënten. Een mogelijke verklaring voor de lagere klaring is lagere CYP3A<sub>4</sub>/5 activiteit ten gevolge van de jongere leeftijd van de patiënten in onze studie populatie. 1-OH-midazolam-glucuronide, de glucuronide conjugaat van 1-OH-midazolam, kon bij alle patiënten gedurende de gehele onderzoeksduur worden aangetoond. Deze bevinding suggereert dat de tot nu toe niet gekarakteriseerde UGTs, die verantwoordelijk zijn voor de vorming van 1-OH-midazolam-glucuronide, bij pasgeborenen reeds aanwezig zijn. Deze studie laat tevens

het belang zien van aandoeningen zoals bv. lever- en nierfalen en behandeling zoals bv. gelijktijdige toediening van andere CYP3A4 geneesmiddelen op de farmacokinetiek van midazolam.

### *Farmacogenetica*

Hoofdstuk 7 beschrijft een nieuwe detectiemethode voor een mutatie in het CYP3A4 gen (het CYP3A4\*1B allel) en de frequentie van deze mutatie bij 199 Caucasische Nederlanders. Een eenvoudige en specifieke polymerase ketting reactie (PCR) met restrictie fragment lengte polymorfisme (RFLP) werd ontwikkeld. Allelfrequentie voor deze mutatie was 5,3%. Alle individuen met het allel waren heterozygoot, hetgeen leidt tot een heterozygote frequentie van 10,6%. Geconcludeerd wordt dat deze analysemethode studies naar het effect van dit polymorfisme op endogene processen, de gevoeligheid voor kanker en de individuele mogelijkheid om CYP3A4/5 geneesmiddelen te metaboliseren, kan ondersteunen.

Een nieuwe analysemethode (PCR-RFLP) voor de detectie van een andere CYP3A4 gen mutatie (het CYP3A4\*3 allel) wordt beschreven in hoofdstuk 8. De frequentie van deze mutatie werd bepaald bij 499 Caucasische Nederlanders en 66 pediatrische patiënten. Dertien van de 499 en één van de 66 pediatrische patiënten waren heterozygoot voor het allel, hetgeen een allelfrequentie van ongeveer 1% oplevert. Dit betekent dat het CYP3A4\*3 allel een voorkomend genetische polymorfisme blijkt te zijn en niet slechts een zeldzaam allel zoals eerder gesuggereerd is. Indien dit allel geassocieerd is met veranderde enzymactiviteit kan dit leiden tot veranderde farmacokinetiek van CYP3A4 geneesmiddelen. Voorgesteld wordt om verder onderzoek naar het klinische effect van dit polymorfisme te verrichten.

Hoofdstuk 9 beschrijft een pilot studie naar de mogelijke associatie tussen het CYP3A4\*1B allel en de farmacokinetiek van midazolam bij premature neonaten werd onderzocht. Deze studie laat zien dat het CYP3A4\*1B allel niet geassocieerd is met verschillen in intraveneuze of orale klaring van midazolam bij premature neonaten tot 14 dagen oud. De geringe studie populatie in ogenschouw nemend, een beperking van deze studie, wordt geconcludeerd dat verder onderzoek nodig is om het mogelijke effect van het CYP3A4\*1B allel en andere allel variaties van CYP3A4 en CYP3A5 op de farmacokinetiek van CYP3A4/5 geneesmiddelen bij kinderen op te helderen.

### *Farmacodynamiek*

Hoofdstuk 10 beschrijft de farmacodynamiek van midazolam toegediend als een 30-minuten durend infuus of als orale bolus bij premature neonaten. Het effect (farmacodynamiek) werd gemeten met behulp van de COMFORT score; een sedatiescore specifiek ontwikkeld voor pediatrische intensive care patiënten. De resultaten suggereren dat midazolam effectief is bij de meerderheid van de patiënten. Dit blijkt uit de significante daling van de gemiddelde COMFORT score (=meer gesedeerd) binnen 30 minuten na intraveneuze en 60 minuten na orale toediening van midazolam. Dit gewenste farmacologische effect (midazolam werd toegediend om sedatie rondom een vervelende procedure te bewerkstelligen) werd geobserveerd zonder een klinisch belangrijke verandering van hemodynamische of andere veiligheidsparameters. Echter,

een belangrijk deel van de patiënten leek niet te reageren op midazolam. Gesuggereerd wordt dat dit gebrek aan respons op midazolam veroorzaakt kan worden door therapeutisch falen inherent aan immaturiteit van de geneesmiddel-receptor interactie en/of is geassocieerd met falen van de COMFORT score om sedatie adequaat weer te geven bij premature pasgeborenen. Dit laatste kan veroorzaakt worden doordat deze groep pasgeborenen soms zo ziek is dat ze niet kunnen reageren op vervelende, pijnlijke gebeurtenissen.

Hoofdstuk 11 beschrijft de farmacodynamiek van een continue midazolam infusie bij 21 intensive care patiënten. De data laten zien dat de dosering van midazolam succesvol getitreerd kan worden ten einde adequate sedatie te verkrijgen. Echter, de noodzaak tot verschillende niveaus van sedatie bij verschillende patiëntengroepen beperkt de mogelijkheid van een enkele COMFORT score range (bv. 17-26) die gebruikt kan worden als indicator voor adequate sedatie. Daarom wordt voorgesteld dat individuele COMFORT score ranges bepaald worden voor elke patiënt.

In hoofdstuk 12 worden de beperkingen van de studies besproken en worden voorstellen gedaan voor verder onderzoek.

Dit proefschrift illustreert dat leeftijd een belangrijke determinant is van de farmacokinetiek en de farmacodynamiek van midazolam bij premature neonaten en oudere kinderen. Daarnaast dragen fysiologische veranderingen (inherent aan ontwikkeling, zoals bv. een open ductus Botalli) en lever- en nierfalen bij aan de variabiliteit in farmacokinetiek en farmacodynamiek van midazolam.

De verkregen kennis over de ontwikkeling van de farmacokinetiek van midazolam kan worden geëxtrapoleerd naar andere geneesmiddelen die ook door CYP3A en dezelfde, nog onbekende, UGTs worden gemetaboliseerd. De afhankelijkheid van veel geneesmiddelen van metabolisme als belangrijkste eliminatie route benadrukt de noodzaak om specifieke gegevens te verkrijgen bij pediatrische patiënten. Leeftijdsspecifieke dosering kan dan de kans op therapeutisch falen of toxiciteit bij kinderen sterk verminderen.