

# Фармакокинетика колистина и расчет суточной дозы колистиметата натрия у детей с химиоиндуцированной нейтропенией

В.И. Захаревич, В.В. Дмитриев

ГУ РНПЦ ДОГИ

Министерства здравоохранения Республики Беларусь, Минск

Контакты: Вячеслав Васильевич Дмитриев dmitrievhaematol@mail.ru

Применение стандартного фракционного режима введения колистиметата натрия не позволяет в большинстве случаев достичь целевых значений индекса площадь под фармакокинетической кривой / минимальная ингибирующая концентрация (AUC/MIC), определяющих фармакологическую эффективность колистина. Использование предлагаемого алгоритма расчета суточной дозы колистиметата натрия увеличивает частоту достижения концентрации колистина, обеспечивающей значения AUC, достаточных для изолятов *A. baumannii*, *P. aeruginosa* и *K. pneumoniae*, имеющих MIC колистина 0,75–1 мг/л. При фракционном режиме введения рекомендуемой инструкцией суточной дозы целевые значения AUC для MIC 1 г/л достигались лишь в 19 % случаев, при использовании предлагаемого алгоритма внутривенного введения с постоянной скоростью в течение длительного времени суточной дозы колистиметата натрия 100 000 МЕ/кг – в 60 % (у 3 из 5 пациентов).

**Ключевые слова:** колистин, фармакокинетика, расчет дозы, дети, злокачественные новообразования и гемобластозы, инфекционные осложнения

## Colistine pharmacokinetics and Colistimethate sodium daily dose calculation in children with chemotherapy induced neutropenia

V.I. Zakharevich, V.V. Dmitriev

Republican Scientific Center of Pediatric Oncology, Hematology and Immunology, Ministry of Health of Republic of Belarus, Minsk

A standard fractional Colistimethate sodium dosing regimen does not allow in most cases reach the target values of AUC/MIC index, determining the Colistine pharmacological efficacy. Use of the proposed algorithm for daily dose calculating increases the incidence to achieve Colistine concentration providing AUC values, sufficient for *A. baumannii*, *P. aeruginosa* and *K. pneumoniae* with Colistine MIC 0.75–1 mg/l. Using fractional administration of recommended daily dose target AUC values for MIC 1 g/l achieved only in 19 % cases, whereas using the proposed algorithm of intravenous injection with long-time constant rate of daily dose 100.000 ME/kg Colistimethate sodium – in 60 % (in 3 of 5 patients).

**Key words:** Colistine, pharmacokinetics, dose calculation, children, malignant neoplasms, hematological malignancies, infectious complications

### Введение

Увеличение числа случаев инфекционных осложнений, вызванных госпитальными штаммами *P. aeruginosa*, *A. baumannii* и *K. pneumoniae*, обладающими множественной лекарственной устойчивостью к подавляющему большинству антибактериальных лекарственных средств, представляет серьезную проблему для пациентов любого профиля, особенно в состоянии фебрильной нейтропении [1, 2]. Колистин, известный как полимиксин Е, – первый антибиотик с доказанным «противосинежной» эффектом [3, 4]. Колистин является многокомпонентным полипептидным антибиотиком, содержащим 2 основных компонента: колистин А (полимиксин Е1) и колистин В (полимиксин Е2). В медицинской практике доступны 2 лекарственных формы: 1-я – колистина сульфат для местного применения и приема внутрь; 2-я – колистина метансульфонат натрия (колистиметат натрия), рекомендованная для парентерального применения путем

внутривенных или внутримышечных инъекций, или в виде аэрозоля. Колистиметат натрия в водной среде при температуре 37 °С способен к гидролизу с образованием сульфометилированных производных и колистина. Лекарственное средство, содержащее колистиметат натрия, продукты его гидролиза и колистин, обладая такими же антимикробными свойствами, менее токсично, чем колистина сульфат [5–7]. Колистиметат натрия является неактивным пролекарством колистина, и именно активный колистин обеспечивает антимикробный эффект препарата [8]. Данных о фармакокинетике колистина и колистиметата натрия у детей с сепсисом в состоянии нейтропении, индуцированной химиотерапией, в связи со злокачественным новообразованием в публикациях не приведено.

**Цель исследования** – изучить фармакокинетику колистина и определить принципы коррекции суточной дозы колистиметата натрия для парентерального введения у детей с химиоиндуцированной нейтропенией.

### Материалы и методы

Для количественного определения колистина в сыворотке крови нами был применен метод высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) с масс-спектрометрией. При разработке условий разделения, пробоподготовки и выбора параметров работы масс-детектора за основу взяты литературные данные [9, 10]. В работе использовали жидкостный хроматограф Agilent 1200, соединенный с тандемным масс-спектрометром Agilent 6410 Triple Quad («тройной квадруполь»). Разделение компонентов проб выполняли на колонке ZORBAX SB C18 (2,1 × 30 мм; 3,5 мкм) при температуре +30 °С. Качественный и количественный анализ хроматограмм и масс-спектров проводили с использованием компьютерного обеспечения Agilent MassHunter Workstation Software version B. 01.03 (Agilent Technologies Inc., USA).

**Реактивы и материалы:** ацетонитрил для градиентной ВЭЖХ (Fisher Chemical), муравьиная кислота (Acros), серная кислота (чистая для анализа — ч.д.а.), цинка сульфат (ч.д.а.), натрия гидроксид (ч.д.а.), вода деионизованная, контрольная сыворотка с биохимическими параметрами, близкими к таковым у здорового человека. Натриевая соль колистина метансульфоната (colistimethate sodium) «колистиметат натрия» Colomycin® производства Forest Laboratories UK Ltd (Dartford, Kent, Великобритания), 1 мг которого эквивалентен 12 500 МЕ, являлась стандартом для приготовления калибровочных растворов. Расчеты концентраций веществ в испытуемых растворах выполняли методом внешнего стандарта по калибровочным зависимостям.

После получения информированного согласия родителей в исследование были включены дети в возрасте от 3 до 18 лет (11 мальчиков и 10 девочек) как с солидными злокачественными новообразованиями, так и с гемобластомами на различных этапах лечения. У всех пациентов на момент исследования зарегистрирована индуцированная химиотерапией нейтропения (уровень нейтрофилов < 500 клеток в мкл). Пациенты с тяжелым сепсисом и септическим шоком (13 человек) получали колистин в качестве компонента эмпирической дезэскалационной или этиотропной антибактериальной терапии, пациенты контрольной группы (8 человек) получали колистин в качестве антибиотикопрофилактики. Решение о назначении колистина в каждом случае было инициировано лечащим врачом. Показаниями для назначения колистина в качестве антибиотикопрофилактики была предшествующая колонизация или инфекция у данного пациента, вызванная чувствительными только к колистину микроорганизмами. Для внутривенного введения использовали лекарственное средство колистиметат натрия Colomycin® производства Forest Laboratories UK Ltd (Dartford, Kent, Великобритания), 1 мг которого эквивалентен 12 500 МЕ. Введение суточной дозы лекарственного средства, разрешенной инструкцией по

медицинскому применению колистиметата натрия, осуществляли путем 30-минутной инфузии 25 000–50 000 МЕ/кг каждые 8 ч. Фармакокинетическое исследование проводили через 36–48 ч после первого введения лекарственного средства по достижении им стационарной концентрации. Взятие крови из центрального венозного катетера для определения концентрации колистина и колистиметата натрия в крови пациентов проводили в определенные временные интервалы: непосредственно перед очередным введением препарата; непосредственно после завершения инфузии препарата (ч = 0); через 1 ч после завершения инфузии препарата (ч + 1); через 2 ч после завершения инфузии препарата (ч + 2); через 4 ч после завершения инфузии препарата (ч + 4); через 8 ч после завершения инфузии препарата (ч + 8). Не позднее 30 мин от момента взятия крови сыворотку в объеме не более 500 мкл в пластиковых пробирках типа «эппендорф» помещали в морозильную камеру с температурой –20 °С, где хранили до момента выполнения исследования не более 1 мес [11]. На протяжении 24 ч от начала фармакокинетического исследования дополнительно определяли клиренс эндогенного креатинина (КЭК) методом Реберга–Тареева с использованием технических нормативно-правовых актов, регламентирующих процесс, и средств измерения, разрешенных для применения в организации здравоохранения. Минимальная ингибирующая концентрация (МИС) колистина по отношению к изолятам *P. aeruginosa* (30 изолятов), *A. baumannii* (30 изолятов) и *K. pneumoniae* (30 изолятов), выделенным из крови пациентов с сепсисом с 2003 по 2013 г., определена методом E-test. Test Strip производства LIOFILCHEM (Italy).

Методы статистической обработки включали определение в каждом вариационном ряду средних значений, ошибки среднеквадратичного отклонения и расчет величин  $\pm 95\%$  доверительный интервал (95 % ДИ). Достоверность различий определяли по критерию Манна–Уитни (U-test), а для попарно связанных вариантов — по критерию Вилкоксона (T-test) с помощью программного обеспечения Statistica 6.0. Расчеты фармакокинетических параметров произведены для однокамерной модели с помощью программного обеспечения Microsoft Excel 2010 с использованием трапецеидального правила. Рассчитана площадь под фармакокинетической кривой (AUC) колистина, а также фармакокинетические параметры колистиметата натрия: AUC, видимый объем распределения, общий клиренс (Cl), период полувыведения ( $T_{1/2}$ ). Фармакокинетическое моделирование производилось с помощью пакета программного обеспечения R.

### Результаты исследования

Перед введением пациентам контрольной группы очередной дозы колистиметата натрия исходное содержание колистиметата натрия в крови в среднем составляло 0,08 мг/л, изменяясь в пределах 95 % ДИ

от 0,07 до 0,24 мг/л. Непосредственно после завершения внутривенной инфузии колистиметата натрия выявлено повышение содержания в крови колистиметата от 1,4 до 5,11 мг/л, что в среднем составило 3,25 мг/л. Исходная концентрация колистина – 0,34 (0,14–0,54) мг/л – по достижении им стационарной концентрации у пациентов с сепсисом была выше ( $p = 0,032$ ), чем величина аналогичного показателя 0,08 (0,014–0,15) мг/л у детей контрольной группы. Исходная концентрация колистиметата натрия 0,06 (0,02–0,1) мг/л была такой же, как и в контроле – 0,08 (0,07–0,24) мг/л (табл. 1). После введения очередной дозы колистиметата натрия концентрация колистиметата в крови повысилась до 3,74 (2,16–5,31) мг/л, что не отличалось ( $p = 0,9$ ; U-test) от величины данного показателя в контроле – 3,25 (1,4–5,11) мг/л.

Концентрация колистина в крови в этот момент составила 1,03 (0,77–1,29) мг/л, что также не превышало аналогичный показатель у детей, не имевших сепсиса. Через 8 ч концентрации колистина и его предшественника не отличались от исходных значений.

**Таблица 1.** Концентрация (мг/л) колистина и колистиметата натрия у детей в состоянии нейтропении, индуцированной химиотерапией, средние значения ( $\pm 95\%$  ДИ)

Группа пациентов и этап исследования	Коллистин	Коллистиметат натрия
<b>Контроль, n = 8</b> перед очередным введением	0,08 (0,014–0,15)	0,08 (0,07–0,24)
после введения	1,02 (0,39–1,65)	3,25 (1,40–5,11)
через 1 ч	0,70 (0,15–1,26)	1,84 (1,19–2,48)
через 2 ч	0,52 (0,08–0,96)	0,96 (0,55–1,38)
через 4 ч	0,33 (0,02–0,63)	0,33 (0,07–0,59)
через 8 ч	0,21 (0,002–0,41)	0,15 (0,09–0,4)
<b>Сепсис, n = 13</b> перед очередным введением	0,34 (0,14–0,54)	0,06 (0,02–0,10)
после введения	1,03 (0,77–1,29)	3,74 (2,16–5,31)
через 1 ч	0,82 (0,55–1,09)	1,10 (0,67–1,52)
через 2 ч	0,70 (0,43–0,97)	1,01 (0,39–1,63)
через 4 ч	0,51 (0,27–0,74)	0,33 (0,18–0,49)
через 8 ч	0,34 (0,14–0,54)	0,07 (0,02–0,12)

AUC колистина достигла 18,755 (11,599–25,911) мг × сут/л у пациентов с сепсисом и 11,356 (3,635–19,076) мг × сут/л у пациентов контрольной группы ( $p = 0,149$ ). Максимальная концентрация колистина ( $C_{max}$ ) у пациентов с сепсисом и в контрольной группе составила 1,16 (0,84–1,49) и 0,96 (0,41–1,51) мг/л соответственно ( $p = 0,44$ ).

Эффективность колистина определяет соотношение AUC/MIC. Целевое значение данного индекса, по мнению исследователей, составляет 27,6–45,9 [12].

Рассчитана частота достижения целевых значений индекса AUC/MIC в зависимости от MIC колистина по отношению к возбудителям, выделенным при исследовании гемокультур пациентов с доказанным сепсисом, в ГУ РНПЦ детской онкологии, гематологии и иммунологии с 2003 по 2013 г. Все изоляты *K. pneumoniae* имели по отношению к колистину MIC  $\geq 1$  мг/л, вследствие чего предполагаемая частота достижения целевых значений AUC/MIC при применении стандартного режима дозирования колистиметата натрия была очень низка: 19 % для штаммов с MIC 1 мг/л и 0 % при MIC  $> 1$  мг/л. Для изолятов *A. baumannii*, имеющих MIC колистина  $\leq 0,1$  мг/л (всего 3,4 % изолятов), частота достижения целевых значений AUC/MIC составила 100 %, при MIC = 0,5 мг/л (13,3 % изолятов) – 38 %, при MIC = 0,75 мг/л (23,3 % изолятов) – 33 %, при MIC = 1 мг/л (46,7 % изолятов) – 19 %. При MIC  $> 1$  мг/л (13,3 % изолятов) невозможно достижение целевых значений индекса AUC/MIC при применении стандартных режимов дозирования колистиметата натрия. Для изолятов *P. aeruginosa*, имеющих MIC-0,75 мг/л (всего 16,7 % изолятов), предполагаемая частота достижения целевых значений AUC/MIC составила 33 %, при MIC = 1 мг/л (50 % изолятов) – 19 %, при MIC  $> 1$  мг/л (33,3 % изолятов) невозможно достижение целевых значений индекса AUC/MIC при применении стандартных режимов дозирования. Все изоляты *K. pneumoniae*, 83,3 % изолятов *P. aeruginosa* и 60 % изолятов *A. baumannii* имели MIC  $\geq 1$  мг/л, что делает в данных случаях возможность достижения целевых значений индекса AUC/MIC очень низкой. Данное обстоятельство определяет недостаточный эффект антибактериальной терапии инфекций, вызванных данными патогенами, при применении стандартного фракционного режима дозирования путем 30-минутной инфузии 25 000–50 000 МЕ/кг каждые 8 ч.

Фармакокинетику колистиметата натрия описывает однокамерная модель. Выявлена тесная корреляция между AUC колистиметата натрия (зависящей, в свою очередь, от КЭЖ) и AUC активного колистина. Это позволило построить модель, предсказывающую AUC колистина, на основе которой можно прогнозировать эффективность терапии и подбирать дозу колистиметата натрия, создающую концентрацию колистина, эффективную в отношении микроорганизмов с известной MIC.

Выполнение расчетов по определению константы элиминации колистина ( $k_{el}$ ), целевого значения AUC колистина ( $AUC_{цель}$ ), целевого значения AUC колистиметата натрия ( $AUC_{смысле}$ ) и с учетом величины MIC колистина, а также поиск величины суточной дозы колистиметата натрия представляют сложный процесс. Для удобства работы практического врача нами разработана номограмма, включающая значения MIC колистина с шагом 0,1 мг/л, 0,25 мг/л, 0,5 мг/л, 0,75 мг/л, и значения КЭЖ на момент расчетов от 30 до 200 мл/м<sup>2</sup> × мин с шагом 5 мл/м<sup>2</sup> × мин. С помощью данной но-

мограммы (табл. 2) в точке пересечения значений, определенных лабораторно, КЭК и МИС колистина находят величину суточной дозы колестиметата натрия, позволяющую с максимальной вероятностью достигнуть целевого значения индекса (AUC/МИС) – 27,6–45,9, при котором будет обеспечена эффективность лекарственного средства.

Таблица 2. Расчетная доза колестиметата натрия в зависимости от КЭК и МИС колистина

КЭК, мл/м <sup>2</sup> × мин	МИС г/л колистина по отношению к выделенному патогену			
	0,1	0,25	0,5	0,75
30	30 000	30 000	30 000	60 000
35	30 000	30 000	30 000	60 000
40	30 000	30 000	30 000	60 000
45	50 000	50 000	50 000	70 000
50	50 000	50 000	50 000	90 000
55	50 000	50 000	50 000	90 000
60	50 000	50 000	50 000	90 000
65	50 000	50 000	50 000	90 000
70	50 000	50 000	50 000	110 000
75	50 000	50 000	50 000	110 000
80	50 000	50 000	50 000	120 000
85	50 000	50 000	50 000	130 000
90	50 000	50 000	50 000	130 000
95	50 000	50 000	50 000	140 000
100	50 000	50 000	50 000	140 000
105	50 000	50 000	50 000	150 000
110	50 000	50 000	60 000	*
115	50 000	50 000	90 000	*
120	50 000	50 000	110 000	*
125	50 000	50 000	110 000	*
130	50 000	50 000	130 000	*
135	50 000	50 000	130 000	*
140	50 000	50 000	140 000	*
145	50 000	50 000	140 000	*
150	50 000	50 000	*	*
155	50 000	50 000	*	*
160	50 000	50 000	*	*
165	50 000	50 000	*	*
170	50 000	50 000	*	*
175	50 000	50 000	*	*
180	50 000	50 000	*	*
185	50 000	60 000	*	*
190	50 000	70 000	*	*
195	50 000	90 000	*	*
200	50 000	110 000	*	*

**Примечание.** \* – при данных параметрах КЭК и величины МИС фракционное болюсное введение суточной дозы лекарственного средства в виде 30-минутной инфузии 25 000–50 000 МЕ/кг каждые 8 ч не позволит достичь целевого значения показателя AUC/МИС = 27,6–45,9, обеспечивающего фармакологическую эффективность препарата.

Для повышения вероятности достижения целевых значений AUC/МИС мы модифицировали режим введения с учетом данных о том, что колистину присущ смешанный тип действия – как концентрационно-зависимый (причем известно, что введение доз, рекомендованных производителем, не всегда позволяет создать эффективную концентрацию, зачастую даже пиковая концентрация не превышает МИС возбудителей), так и зависимый от AUC, что вкпе с невыраженным постантибиотическим эффектом создает предпосылки для использования такого режима дозирования, который позволяет постоянно поддерживать эффективную концентрацию в плазме крови. Модифицированный режим введения представлял собой следующее: вводили разовую дозу 75 000–100 000 МЕ/кг в течение 30 мин, затем (без паузы) начинали круглосуточную непрерывную инфузию в суточной дозе 100 000 МЕ/кг.

Для подтверждения эффективности в достижении целевых значений фармакологического индекса колистина была определена концентрация колестиметата и колистина в крови у 5 детей с химиоиндуцированной нейтропенией и сепсисом, получавших антибиотик в расчетной дозе, путем длительной непрерывной инфузии колестиметата натрия в течение суток с постоянной скоростью (табл. 3).

Таблица 3. Концентрация колестиметата натрия и колистина, AUC колистина при непрерывном круглосуточном введении колестиметата натрия с постоянной скоростью 100 000 МЕ/кг

Пациент	Концентрация колестиметата натрия (мг/л)	Концентрация колистина (мг/л)	AUC колистина (мг × сут/л)
№ 1	1,311	0,5087	12,208
№ 2	1,806	1,172	28,128
№ 3	2,014	1,218	29,232
№ 4	1,954	1,152	27,648
№ 5	1,153	0,958	22,992

Применение режима дозирования в виде непрерывного круглосуточного введения колестиметата натрия с постоянной скоростью увеличило частоту достижения концентрации, обеспечивающей значения AUC, достаточных для изолятов *A. baumannii*, *P. aeruginosa* и *K. pneumoniae*, имеющих МИС колистина 1 мг/л. При фракционном режиме введения целевые значения AUC для данного МИС были достигнуты лишь в 19,05 % случаев, при непрерывном круглосуточном введении с постоянной скоростью – в 60 % (у 3 из 5 пациентов).

Таким образом, применение стандартного фракционного режима введения колестиметата натрия не позволяет в большинстве случаев достичь целевых значений индекса AUC/МИС. Использование предлагаемого алгоритма расчета суточной дозы колестиметата натрия увеличивает частоту достижения концентрации,

обеспечивающей значения AUC, достаточные для изолятов *A. baumannii*, *P. aeruginosa* и *K. pneumoniae*, имеющих MIC колистина 0,75–1 мг/л. При фракционном режиме введения рекомендуемой инструкцией суточной дозы целевые значения AUC для MIC 1 г/л достигались лишь в 19 % случаев, при использовании предлагаемого алгоритма внутривенного введения суточной

дозы колистиметата натрия 100 000 МЕ/кг – в 60 % (у 3 из 5 пациентов).

Необходимы дальнейшие исследования для определения эффективности и безопасности альтернативных режимов введения колистиметата для достижения эффективных концентраций, в том числе при инфекциях, вызванных штаммами микроорганизмов с MIC > 1 мг/л.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Giamarellou H., Antoniadou A. Antipseudomonal antibiotics. Med Clin N Am 2001;85:19–42.
2. Evans M.E., Feola D.J., Rapp R.P. Polymyxin B sulfate and colistin: old antibiotics for emerging multiresistant gram-negative bacteria. Ann Pharmacother 1999;33:960–7.
3. Barnett M., Bushby S.R., Wilkinson S. Sodium sulphomethyl derivatives of polymyxins. Br J Pharmacol 1964;23:552–74.
4. Schwartz B.S., Warren M.R., Barkley F.A., Landis L. Microbiological and pharmacological studies of colistin sulphate and sodium colistin methanesulfonate. Antibiotics Annu 1959–1960;7:41–60.
5. Li J., Turnidge J., Milne R. et al. *In vitro* pharmacodynamic properties of colistin and colistin methanesulfonate against *Pseudomonas aeruginosa* isolates from patients with cystic fibrosis. Antimicrob Agents Chemother 2001;45:781–5.
6. Li J., Milne R.W., Nation R.L. et al. Simple method for assaying colistin methanesulfonate in plasma and urine using high-performance liquid chromatography. Antimicrob Agents Chemother 2002;46(10):3304–7.
7. Li J., Coulthard K., Milne R. et al. Steady-state pharmacokinetics of intravenous colistin methanesulphonate in patients with cystic fibrosis. J Antimicrob Chemother 2003;52:987–92.
8. Bergen P.J., Li J., Rayner C.R. et al. Colistin methanesulfonate is an inactive pro-drug of colistin against *Pseudomonas aeruginosa*. Antimicrob Agents Chemother 2006;50:1953–8.
9. Gobin P., Lemaitre F., Marchand S. et al. Assay of colistin and colistin methanesulfonate in plasma and urine by liquid chromatography tandem mass spectrometry. Antimicrob Agents Chemother 2010;54(5):1941–8.
10. Dotsikas Y., Markopoulou C.K., Koundourellis J.E. et al. Validation of novel LC–MS/MS method for the quantitation of colistin A and B in human plasma. J Sep Sci 2011;34:37–45.
11. Gobin P., Lemaitre F., Marchand S. et al. Stability of colistimethate sodium in aqueous solution. Antimicrob Agents Chemother 2012;56(12):6432–3.
12. Bergen P.J., Li J., Nation R.L. Dosing of colistin – back to basic PK/PD. Curr Opin Pharmacol 2011;11(5):464–9.