

**Beiträge zur mathematischen Modellierung  
der hepatischen Pharmakokinetik**

**Dissertation**



zur Erlangung des akademischen Grades  
doctor rerum naturalium (Dr. rer. nat.)

vorgelegt der

Mathematisch–Naturwissenschaftlich–Technischen Fakultät  
(mathematisch–naturwissenschaftlicher Bereich)  
der Martin–Luther–Universität Halle–Wittenberg

von Frau Dipl.–Math. Christina Ring  
geb. am 21. August 1970 in Schmalkalden

Gutachter:

1. Prof. Dr. M. Weiß
2. Prof. Dr. R. Neubert
3. PD Dr. Dr. W. Weber

Halle (Saale), den 27.07.2000

# Vorwort

Die vorliegende Arbeit entstand in der Sektion Pharmakokinetik am Institut für Pharmakologie und Toxikologie der Medizinischen Fakultät unter Betreuung von Herrn Prof. Dr. M. Weiß. Sie war eingebunden in das von der Deutschen Forschungsgemeinschaft (DFG) geförderte Graduiertenkolleg „Transport von Wirkstoffen in biologischen Systemen“.

Durch die Zusammenarbeit mit Prof. MD M. S. Roberts vom Department of Medicine der University of Queensland in Brisbane wurde ein 4monatiger Studienaufenthalt in Australien möglich. Darüber hinaus sind alle in dieser Arbeit ausgewerteten experimentellen Daten von Mitarbeitern der Arbeitsgruppe in Brisbane erhoben worden. Den genauen Verweis auf bisherige Veröffentlichungen findet der Leser an entsprechender Stelle.

Mein Dank gilt Herrn Prof. Dr. M. Weiß für seine Unterstützung, Diskussionsbereitschaft und wertvollen Ratschläge bei der Entstehung dieser Arbeit, sowie Frau Doz. Dr. K. Richter für weiterführende Denkanstöße und ihre freundliche Unterstützung.

Allen Mitarbeitern der Sektion Pharmakokinetik danke ich für die angenehme Arbeitsatmosphäre. Herr Dr. Kuhlmann stellte mir freundlicherweise seine Parameterschätzungen zur Verteilungs- und Eliminationskinetik von Diclofenac zur Verfügung, die Grundlage der Sensitivitätsanalyse sind. Herrn Dipl.–Phys. O. Jeschke danke ich für die gute Zusammenarbeit bei der programmtechnischen Umsetzung der Sensitivitätskriterien und Frau Günther für die Durchsicht des Manuskripts.

In besonderer Weise möchte ich meinen Eltern und meinem Mann für die vielfältige direkte und indirekte Unterstützung bei der Entstehung dieser Arbeit danken.

Ulm, im Januar 2000

Christina Ring



# Inhaltsverzeichnis

Symbolverzeichnis	iii
<b>0 Einführung</b>	<b>1</b>
<b>1 Theoretische Grundlagen</b>	<b>5</b>
1.1 Systemtheoretische Betrachtungen	5
1.1.1 System-Eigenschaften	6
1.1.2 Systemkopplung	6
1.2 Pharmakokinetische Grundlagen	7
1.2.1 Verweilzeitkonzept	7
1.2.2 Momentenanalyse	8
1.2.3 Clearance-Konzept	10
1.3 Modellselektionskriterien	10
<b>2 Perfusion der isolierten Leber</b>	<b>12</b>
2.1 Experimentelle Durchführung	12
2.2 „Multiple Indicator Dilution“ - Methode	14
<b>3 Lebermodelle</b>	<b>15</b>
3.1 Kompartiment- und Röhrenmodelle	16
3.2 Dispersionsmodell	21
3.3 Stochastisches 2-Phasen-Modell — Diffusionsmodell	23
<b>4 Diffusionsmodell</b>	<b>28</b>
4.1 Modellerweiterung — Metabolisierung	28
4.1.1 Verweilzeitdichte	28
4.1.2 Hepatische Durchlässigkeit und Mittlere Transitzeit	33
4.1.3 Zusammenfassung	34
4.2 Intravaskuläre Mischung — Modellwahl	36
4.2.1 Die zweifache Inverse Gauss-Funktion (2IG) als empirisches Modell	36
4.2.1.1 Die Inverse Gauss-Funktion (1IG)	36
4.2.1.2 Vergleich der Modellanpassungen mit 1IG und 2IG	37
4.2.2 Simulationen zum Einfluß der Modellmißspezifikation	41
4.2.2.1 Auswirkungen auf die Schätzung der Verteilungs- und Eliminationsparameter	42
4.2.2.2 Auswirkungen auf Vorhersagen der steady-state Extraktion	46
4.2.3 Zusammenfassung	48

4.3	Simulationen und Beschreibung experimenteller Daten . . . . .	49
4.3.1	Simulationen — Diffusionseinfluß auf Kenngrößen . . . . .	49
4.3.2	Modellvalidierung — experimentelle Daten . . . . .	53
4.3.3	Zusammenfassung . . . . .	61
4.4	Sampling-Design und Parameteridentifikation . . . . .	63
4.4.1	Sensitivitätskriterien nach THOMASETH UND COBELLI . . . . .	64
4.4.2	Identifizierbarkeit der Modellparameter — Modellvergleich . . . . .	67
4.4.2.1	Implementation der Sensitivitätskriterien . . . . .	67
4.4.2.2	Sensitivitätsanalysen . . . . .	67
4.4.3	Zusammenfassung . . . . .	75
<b>5</b>	<b>Einfluß der Großen Gefäße auf die Gesamtkinetik der Leber</b>	<b>79</b>
5.1	Superpositionseigenschaft — Transitzeitabschätzung . . . . .	81
5.2	Modellanpassungen . . . . .	82
5.3	Zusammenfassung . . . . .	85
<b>6</b>	<b>Die Leber als First-Pass-Organ bei oraler Applikation</b>	<b>88</b>
6.1	Verteilungsprozesse und pharmakokinetische Parameter des Gesamtorganismus . . . . .	88
6.2	Ergebnisse einer Bioverfügbarkeitsstudie . . . . .	90
6.2.1	Applizierte Substanz . . . . .	90
6.2.2	Metabolit . . . . .	94
6.3	Gastrointestinaler und hepatischer First-Pass-Effekt . . . . .	96
6.4	Zusammenfassung . . . . .	99
<b>7</b>	<b>Ausblick</b>	<b>101</b>
 <b>Anhang</b>		
<b>A</b>	<b>Modellierungsgegenstand — Organ Leber</b>	<b>I</b>
<b>B</b>	<b>Modelle der Metabolitkinetik</b>	<b>V</b>
<b>C</b>	<b>Ergebnistabellen</b>	<b>X</b>
C.1	Modellvalidierung . . . . .	X
C.2	Identifikation der Großen Gefäße . . . . .	XII
C.3	Bioverfügbarkeitsstudie . . . . .	XVII
<b>D</b>	<b>Bedienungsanleitung: Programm zur Sensitivitätsanalyse</b>	<b>XX</b>
 <b>Abbildungsverzeichnis</b>		
		<b>XXVIII</b>
 <b>Tabellenverzeichnis</b>		
		<b>XXIX</b>
 <b>Literaturverzeichnis</b>		
		<b>XXXI</b>

# Symbolverzeichnis

$\star \in \{p, m\}$	p-Precursor, m-Metabolit
$\hat{f}$	Laplace-Transformierte der Funktion $f$
$\bar{x}$	Mittelwert
$\tilde{x}_{0.5}$	Median
$1/y^2$	Wichtung bzgl. des Meßwertes $C(t) = y$
$A_{el}(t)$	bis zum Zeitpunkt $t$ eliminierte Menge
$A_{in}(t)$	bis zum Zeitpunkt $t$ in den Systemkreislauf gelangte Menge
$AIC$	Akaike-Kriterium zur Modellselektion
$ARE(t)$	Menge, die der Elimination zum Zeitpunkt $t$ im Körper zur Verfügung steht
$AUC$	Area Under the Curve – Fläche unter der Konzentrations-Zeit-Kurve
$\mathbb{C}$	komplexe Zahlen
$C_B(t)$	Konzentration im Blut/Plasma
$C_T(t)$	Konzentration im Gewebe
$CL$	Clearance
$CL_{BT}$	Verteilungsclearance Blut-Gewebe
$CL_{int}$	intrinsische Clearance
$CV^2$	relative Dispersion
$d$	Diffusionszeitkonstante
$D$	applizierte Dosis
$\tilde{D}$	Dispersionskoeffizient
$D_N$	Dispersionsparameter des Dispersionsmodells
$D_{eff,\star}$	effektiver Diffusionskoeffizient von $\star$
$E$	Extraktionsquote, $E = 1 - F$
$E_I$	intestinale Extraktionsquote
$E_H$	hepatische Extraktionsquote
$f, f_p$	(Organ-)Verweilzeitdichte des Precursors
$f_e$	Anteil der Niere an der systemischen Elimination
$f_m$	Anteil der Leber an der systemischen Elimination, $f_m = 1 - f_e$
$f_{ub,\star}$	freie Fraktion im Blut
$f_{ut,\star}$	freie Fraktion im Gewebe
$f_X$	Verweilzeitdichte der inneren Phase (intravaskuläre(r) Phase (Marker))
$f_Y$	Verweilzeitdichte eines Überganges in die äußere Phase (Gewebe)
$F$	Bioverfügbarkeit; hepatische Durchlässigkeit
$F_{abs}$	Absorptionsquote
$F_H$	hepatische Durchlässigkeit

$F_I$	gastrointestinale Durchlässigkeit
$h_{mi}$	hepatische Entstehungsrate des $i$ -ten primären Metaboliten
i.v.	intravenöse Applikation
$k, k_{12}$	Permeabilitätsratenkonstante des Gewebeintritts
$k_{21}$	Permeabilitätsratenkonstante des Gewebeaustritts
$k_e, k_{e,*}$	Eliminationsratenkonstante (Metabolisierung)
$k_{mi}$	gastrointestinale Entstehungsrate des $i$ -ten primären Metaboliten
$L$	maximale Diffusionstiefe
$MAT$	Mittlere Absorptionszeit
$MDT$	Mittlere Dissolutionszeit
$MDRT$	Mittlere Distributionszeit
$MIT$	Mittlere Invasionszeit, $MIT = MDT + MAT$
$MRT_{Ti}$	Mittlere Verweilzeit für einen einzelnen Aufenthalt im Gewebe
$MSC$	Modellselektionskriterium
$MTRT$	Mittlere Verweilzeit im Gesamtorganismus, $MRT = MIT + MDRT$
$MT, MTT$	Mittlere Transitzeit
$MTT_B$	Mittlere Transitzeit der intravaskulären (bzw. extrazellulären) Phase
p.o.	orale Applikation
$P$	Permeabilität
$P_* S$	Permeabilitätsflächenprodukt
$P(\dots)$	Wahrscheinlichkeit des Auftretens von ...
$Q$	Blutfluß
$\rho, \rho_*$	Funktion der Verteilung ins Gewebe
$\mathbb{R} (\mathbb{R}^+)$	(positive) reelle Zahlen
$R_m, R_{mi}$	$AUC$ -Verhältnis p.o. vs. i.v. eines primären Metaboliten (des $i$ -ten)
$s$	Laplace-Variable
$s.d.$	Standardabweichung (standard deviation)
$t$	Zeit ( $t \geq 0$ ); Realisierung der Zufallsgröße $T$
$T$	Zufallsgröße Gesamtverweilzeit im System
$T_0$	Mittlere Transitzeit durch die Großen Gefäße
$T_{inf}$	Mittlere Infusionszeit
$v, v_*$	Volumenverhältnis Gewebe/Blut ( $v = k_{12}/k_{21}$ )
$VAR$	Varianz
$V_B$	extrazelluläres Volumen
$V_T$	intrazelluläres Volumen
$\tilde{V}_T$	scheinbares Gewebe-Verteilungsvolumen
$X$	Verweilzeit der inneren Phase
$Y_i$	Verweilzeit beim $i$ -ten Übertritt in die äußere Phase

# Kapitel 0

## Einführung

*Die Wissenschaft ist ein System gesicherter Erkenntnisse und Erkenntnisverfahren.*

*Diese zu erweitern und zu vertiefen, ist Aufgabe der Forschung.*

*Resultate der Forschung sind im allgemeinen vorläufig,*

*d. h. komplettierbar und revidierbar;*

*daher gehört der Zweifel zum Wesen des Wissens.*

*Lothar Sachs*

*(Sachs, L., 1998)*

### Mathematische Modelle

Mathematische Modellsysteme sind aus Wissenschaft und Forschung nicht wegzudenken. Sie bilden u. a. die Grundlage der Steuerung technischer Systeme (Industrie, Luft- und Raumfahrt), meteorologischer Vorhersagen sowie des Verständnisses und der gezielten Beeinflussung biologischer Systeme. Trotz des unterschiedlichen Kontextes lassen sich drei wesentliche Aufgaben benennen: Beschreibung und Widerspiegelung realer Zusammenhänge (Beschreibung), Vorhersagen und Prognosen bei veränderten inneren und/oder äußeren Bedingungen (Vorhersage) und neue Einblicke in das Zusammenwirken komplexer Strukturen und Prozesse (Erkenntnisgewinn).

Erfaßt wird stets nur ein Teil der Wirklichkeit und nie die Gesamtheit aller Wechselwirkungen. Eine klare Zielsetzung, die eine sinnvolle Idealisierung des Originals — unter Berücksichtigung aller wesentlichen und dem Ausschluß aller unwesentlichen Elemente — ermöglicht, bildet die Basis einer adäquaten und praxisrelevanten Modellierung. Dabei fließt vorhandenes (*a priori*) Wissen in Entscheidungen über die Zerlegung komplexer Systeme in Teilsysteme oder das Zusammenfassen elementarer Komponenten ein. Nach der ersten Phase der Modellbildung ist das entwickelte allgemeine Modell durch die Anpassung realer Daten zu identifizieren. Die Modellparameter sind dabei so zu bestimmen, daß vorhandene Daten bestmöglich beschrieben werden. Neben der Eignung des Modells ist dabei in gleicher Weise die Güte des Datenmaterials von Bedeutung: alle anhand des Modells zu identifizierenden Prozesse müssen durch die Meßpunkte ausreichend charakterisiert sein, um eine Identifizierung der Modellparameter zu ermöglichen.

Während des gesamten Modellierungsprozesses geht es immer wieder darum, die Validiertheit, d. h. die Güte des Modells im Sinne der Zielstellung zu bewerten und ggf. neue Aspekte für eine weiterführende Modellierung anzuregen. Mit einer neu formulierten Zielstellung schließt sich der Kreis der Modellierung, der als iterativer Prozeß der Modellbildung, Prüfung, Korrektur und Verbesserung verstanden wird.

## Pharmakokinetische Modellierung

Die Anfänge der pharmakokinetischen Modellierung liegen am Beginn dieses Jahrhunderts. Nach ersten Analysen und der Beschreibung der Konzentrationen von Xenobiotika, formulierten WIDMARK UND TANDBERG 1924 das Ein-Kompartiment-Modell, und THEORELL leitete 1937 die Gleichung des Zwei-Kompartiment-Modells her. Trotz dieser Entwicklungen wurde der Begriff *Pharmakokinetik* erstmals von DOST, in seiner 1953 erschienenen Monographie „Der Blutspiegel – Kinetik der Konzentrationsabläufe in der Kreislaufflüssigkeit“ als der „Lehre von der quantitativen Auseinandersetzung zwischen Organismus und appliziertem Pharmakon“, geprägt (Pfeiffer, S. et al., 1995). Neben Untersuchungen zur Absorption leisteten RESIGNO UND SEGRE mit der 1966 publizierten Darstellung „Drug and Tracer Kinetics“ einen wesentlichen Beitrag zur Zusammenstellung der theoretischen Grundlagen. Bereits Anfang der 60er Jahre setzte eine rasche Entwicklung der Pharmakokinetik ein, die jedoch „von einer teilweise paradigmatischen Anwendung der Kompartimentmodelle geprägt war“ (Weiss, M., 1990a).

Kompartimentmodelle bestehen aus einem oder mehreren homogenen Verteilungsräumen, in denen alle Partikel die gleiche Wahrscheinlichkeit besitzen, von ihrem gegenwärtigen in einen anderen identifizierbaren Zustand zu gelangen (stochastische Definition nach RESIGNO UND SEGRE). Der Vorteil dieser Modelle besteht in der Handhabbarkeit der entstehenden Systeme linearer Differentialgleichungen, die mit bekannten Methoden der linearen Algebra zu lösen sind. Demgegenüber steht der Nachteil, daß aufgrund der festgelegten kinetischen Eigenschaften der Kompartimente kein weitgehend isomorphes Modell des realen Transportsystems entwickelt werden kann und geschätzte Modellparameter somit nicht physiologisch interpretierbar sind (Weiss, M., 1990a).

Anfang der 80er Jahre tendierte die Entwicklung in der Pharmakokinetik deshalb zunehmend zur Anwendung physiologisch orientierter Modelle. Aufbauend auf der Struktur der Blutzirkulation im menschlichen Organismus entstanden sogenannte Kreislaufmodelle. Je nach Anzahl der als Subsysteme eingebundenen Organe besitzen diese *a priori* Strukturmodelle eine mehr oder weniger hohe Komplexität.

Gesamtkörpermodelle (Weiss, M. et al., 1997), die alle Organe einzeln einbeziehen, dienen in der Regel Simulations-Untersuchungen zum Verständnis der Dynamik des komplexen Systems. Voraussetzung ist die Kenntnis physiologischer Kenngrößen, wie Flüsse, Verteilungsvolumina und physikochemische Parameter. Neben der Simulation von Dispositionskurven (Konzentrations-Zeit-Profilen nach Impuls-Input) können zusätzlich Gewebekonzentrations-Zeitverläufe berechnet werden, die beispielsweise der Interpretation tierexperimenteller Daten dienen.

Die Identifizierbarkeit solcher komplexer Modelle ist nur dann möglich, wenn zusätzlich zu den Blutkonzentrationen auch die Konzentrationen der Subsysteme (Gewebekonzentrationen u. ä.) vorliegen. Bei fehlenden Informationen zu Membranpermeabilitäten werden Subsysteme im einfachsten Fall als Ein-Kompartiment-Modelle modelliert, deren Verteilungsdynamik und Membraneinfluß vernachlässigt werden. Darüber hinaus wird in der Regel auch der Blutpool als homogen angesehen und damit die Initialverteilung vernachlässigt (Weiss, M., 1990a).

Durch Experimente an isoliert perfundierten Organen und Geweben erweiterte sich in den letzten 10–15 Jahren das Wissen über Verteilungsparameter der Subsysteme und ermöglichte realere Simulationsmodelle (Weiss, M. et al., 1997). Grundlage dafür ist eine stärker an der Realität orientierte Modellierung der einzelnen Organ- und Gewebesysteme, wie sie im Mittelpunkt der vorliegenden Arbeit steht.

## Verweilzeitkonzept

Neben der physiologischen Modellierung fand mit der sogenannten Verweilzeittheorie ein grundlegend neues, auf der statistischen Theorie der Lebensdauerverteilungen basierendes Konzept in der Pharmakokinetik Anwendung (Weiss, M., 1992). Durch die Betrachtung der Verweilzeit des einzelnen Pharmakonmoleküls im biologischen System wird eine modellunabhängige Charakterisierung der Systemeigenschaften möglich. Die Besonderheit der pharmakokinetischen Anwendung besteht im Einsatz eines *wahrscheinlichkeitstheoretischen Konzeptes zur Analyse deterministischer Systeme*. Durch die Betrachtung der stochastischen Prozesse auf Mikroniveau (Verweilzeit des einzelnen Moleküls) — deren Zufälligkeit nach dem Gesetz der großen Zahlen bei hinreichend großer Molekülanzahl verschwindet — wird das meßbare deterministische Verhalten charakterisiert (Makroniveau). Die innere mathematische Struktur bleibt bei diesem „Niveauwechsel“ erhalten.

Wie in der Anwendung der Überlebenstheorie zeigt sich auch im Bereich der Modellierung durch die Adaption bekannter Theorien und Vorgehensweisen eine starke Verflechtung der Pharmakokinetik mit anderen wissenschaftlichen Disziplinen, wie z. B. der Systemtheorie oder chemischen Verfahrenstechnik.

## Modellklassifikationen und Validitätskriterien

Die **Klassifikation von Modellen** kann nach unterschiedlichen Gesichtspunkten erfolgen. Eine grundlegende Einteilung ist die Unterscheidung zwischen empirischen und theoretischen Modellen bzw. deren Mischform (Carson, E. R. et al., 1983; Weiss, M., 1990a).

*Empirische Modelle* sind Verhaltensmodelle, sogenannte Black-Box-Modelle, die keinerlei Annahmen zur inneren Struktur des Modells in die Modellierung einbeziehen, vielmehr den kausalen Zusammenhang zwischen Eingangs- und Ausgangsgrößen empirisch abbilden. Dabei wird der spezielle Zusammenhang mit Hilfe beliebiger mathematischer Funktionen (z. B. Exponentialfunktionen) beschrieben. Ihr Vorhersagewert beschränkt sich deshalb nur auf den Bereich der experimentell erhobenen Daten; sie können die Struktur des Systems nicht erklären und eignen sich in diesem Sinne nicht zum Erkenntnisgewinn.

*Theoretische Modelle* hingegen basieren auf validierten Erkenntnissen zu Struktur, Eigenschaften und Funktionsweisen des Systems und beziehen gültige chemische und physikalische Gesetzmäßigkeiten in die Modellierung ein. Ihre Voraussagen des Systemverhaltens gelten deshalb auch für nicht beobachtete oder nicht testbare Situationen. Aufgrund ihrer *a priori* Eigenschaften sind sie unter definierten Voraussetzungen gültig und besitzen in diesem Rahmen Aussagekraft. Besteht Isomorphie zum biologischen Objekt (z. B. bei Kreislaufmodellen), sind physiologische und/oder biophysikalische Interpretationen des Systemverhaltens möglich. Beispiele für Strukturmodelle, die wegen fehlender physiologischer Korrelate und damit fehlender Isomorphie ohne Erklärungswert bleiben, sind die klassischen Kompartimentmodelle. Ihre Anwendung ist im Einzelfall kritisch zu überprüfen. — Generell ist die Validität des gewählten Modells am speziellen System zu klären.

Innerhalb der vorgestellten Modellklassen sind weitere Charakterisierungen möglich. Zum Beispiel kann einerseits zwischen linearen und nichtlinearen Modellen unterschieden werden, andererseits sind globale Systeme oder einzelne Organe modellierbar. In der Pharmakokinetik nehmen lineare Modelle, trotz prinzipieller Nichtlinearität der pharmakokinetischen Prozesse, einen breiten Raum ein.

*Alle nachfolgenden Betrachtungen dieser Arbeit setzen Linearität des pharmakokinetischen Systems voraus, d. h. sie postulieren einen linearen Zusammenhang zwischen der applizierten Dosis und der Fläche unter dem gemessenen Konzentrations-Zeit-Verlauf.* Diese Annahme ist aufgrund niedriger Dosierungen i. A. gerechtfertigt und nach dem Sparsamkeitsprinzip sinnvoll. Sie impliziert die Gültigkeit des zentralen Clearance-Konzeptes (S. 10).

Die **Überprüfung der Modellvalidität**, die während des gesamten Modellierungsprozesses erfolgt, mißt sich an verschiedenen internen und externen Gütekriterien. Neben der inneren Konsistenz (keine logischen, mathematischen oder konzeptionellen Widersprüche) und algorithmischen Validität (konvergente, stabile numerisch approximative Verfahren u. ä.) sind als externe Kriterien empirische, theoretische, heuristische und pragmatische Validität zu prüfen. Während empirische Validität die Übereinstimmung des Modells mit verfügbaren Daten fordert, bezieht sich die theoretische Validität auf die Übereinstimmung mit Naturgesetzen und anerkannten Theorien. Heuristische Validität ist gegeben, wenn sich das Modell zur Gewinnung neuer Erkenntnisse eignet, Hypothesen geprüft werden können oder neue Experimente angeregt werden. Pragmatische Validität spiegelt die praktische Anwendbarkeit, d. h. seine Effektivität unter Berücksichtigung des Aufwandes an Zeit, Geräten etc., wider (Weiss, M., 1990a).

### **Modellierung der Leberkinetik**

Die Leber steht als das größte und bedeutendste Stoffwechselorgan, insbesondere als wichtigstes Organ der Biotransformation (Metabolisierung) des Organismus, im Mittelpunkt dieser Arbeit.

Aufgrund der Vielfalt ihrer Aufgaben zeichnet sie sich durch eine sehr komplexe und heterogene Struktur aus (siehe Anhang A), die es bei der Modellierung in ihren wesentlichsten Komponenten zu erfassen gilt. Das besondere Interesse der praktischen Arzneimitteltherapie ergibt sich aus ihrer Lage zwischen Gastrointestinaltrakt und Systemkreislauf: Bis auf einige Ausnahmen (z. B. parenterale, bukkale und sublinguale Applikation) unterliegen extravaskulär applizierte Pharmaka auf ihrem Weg zum Systemkreislauf einer ersten Leberpassage, die aufgrund der Metabolisierungskapazität der Leber zu einer wesentlichen Herabsetzung der systemischen Verfügbarkeit (Bioverfügbarkeit) der Substanz, dem sogenannten „First-Pass-Effekt“, führen kann. Darüber hinaus zeigen entstehende Metabolite inaktive, aktive oder toxische Wirkung.

Die vorliegenden „Beiträge zur Mathematischen Modellierung der hepatischen Pharmakokinetik“ spannen deshalb einen Bogen von der Erweiterung eines bisher für nicht-eliminierende (d. h. konservative) Systeme vorliegenden Organmodells bis hin zu Untersuchungen zum Beitrag der Leber am First-Pass-Effekt, welcher neben hepatischer Elimination auch durch außerhepatische Metabolisierung und Absorption bestimmt sein kann.

Nachdem *in den ersten zwei Kapiteln* theoretische Grundlagen vermittelt und die tierexperimentelle Datengewinnung durch isolierte Leber-Perfusion skizziert werden, stellt *das dritte Kapitel* bisher bekannte Lebermodelle, insbesondere das stochastische 2-Phasen-Modell — Basismodell des anschließend im Mittelpunkt stehenden Diffusionsmodells — vor.

Der Schwerpunkt der eigenen Untersuchungen liegt *in Kapitel 4*, das neben der Erweiterung des Diffusionsmodells um Metabolisierung Untersuchungen zum Modellverhalten, der Validität des Modells sowie der Parameter-Identifizierbarkeit umfaßt, die in eigenständigen Teilkapiteln dargestellt werden.

*Im fünften Kapitel* geht es um die Frage, ob die simultane Analyse verschiedener Indikatoren der hepatische Verteilung Hinweise auf eine Dispersion in den sogenannten „Großen Gefäßen“ gibt. Diese Gefäße befinden sich innerhalb der Leber und dienen als Zu- und Abflüsse der kleinsten funktionellen Einheiten (Acini). Sie sind im Diffusionsmodell nicht berücksichtigt, könnten jedoch durch Systemkopplung in die Leber-Modellierung einbezogen werden.

Abschließend betrachtet *das sechste Kapitel* die Leber aus Sicht des Gesamtorganismus und untersucht ihren Beitrag am First-Pass-Effekt an Daten einer speziellen Bioverfügbarkeitsstudie am Menschen.

Im Anhang findet der interessierte Leser neben der Darstellung der Anatomie und Morphologie der Leber verschiedene Ergebnistabellen sowie die Bedienungsanleitung zum Programm der Sensitivitätsanalyse.

An dieser Stelle sei darauf hingewiesen, daß im Folgenden alle Gleitkommazahlen entsprechend der Englisch-sprachigen Konvention mit Punkt dargestellt sind.

# Kapitel 1

## Theoretische Grundlagen

### 1.1 Systemtheoretische Betrachtungen

Experimente der isoliert perfundierten Leber sind im allgemeineren Kontext der Systemtheorie Untersuchungen zum Verhalten eines dynamischen, d. h. explizit zeitabhängigen Systems. In der Pharmakokinetik handelt es sich dabei in der Regel um Systeme mit jeweils *einem* System-Ein- und -Ausgang (SISO-Systeme - single input, single output, Abb. 1.1).

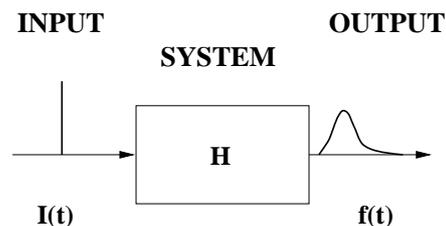


Abbildung 1.1: Charakterisierung des Systemverhaltens

Zur vollständigen Charakterisierung aller im System stattfindenden, das Systemverhalten bestimmenden Prozesse, wird die Systemantwort (Output) nach *Impuls*-Input untersucht (Abb. 1.1), denn prinzipiell können nur im Vergleich zum Input langsamer ablaufende Prozesse erfaßt werden. In der pharmakokinetischen Praxis bedeutet dies die Bestimmung des Konzentrations-Zeit-Verlaufes am Organ-Ausgang nach Bolusinjektion (*Dispositionskurve*).

Der den Zusammenhang zwischen Input  $I(t)$  und Output  $f(t)$  vermittelnde Operator wird dabei als Übertragungsfunktion  $H$  bezeichnet

$$f(t) = H(I(t)) \quad (1.1)$$

und ermöglicht die Definition grundlegender Systemeigenschaften, von deren Gültigkeit im Folgenden stets ausgegangen wird.

### 1.1.1 System-Eigenschaften

**Linearität** Ein System  $H$  ist genau dann linear, wenn für beliebige reelle Konstanten  $a_1$  und  $a_2$

$$\begin{aligned} H(a_1 I_1(t) + a_2 I_2(t)) &= a_1 H(I_1(t)) + a_2 H(I_2(t)) \\ &= a_1 f_1(t) + a_2 f_2(t) \end{aligned} \quad (1.2)$$

— das sogenannte *Superpositionsprinzip* — gilt. Linearität impliziert Homogenität,

$$H(a_1 I_1(t)) = a_1 H(I_1(t)) = a_1 f_1(t) \quad (1.3)$$

die in der Pharmakokinetik bereits ein hinreichendes Kriterium für Linearität zu sein scheint (Weiss, M., 1990a). Homogenität besagt z. B., daß eine  $a$ -fache Dosis die  $a$ -fache Konzentration bewirkt.

Die Annahme der System-Linearität ist bei pharmakokinetischen Untersuchungen aufgrund geringer therapeutischer Dosierungen i. a. berechtigt. Grundsätzlich kann nichtlineares Verhalten bei allen zentralen pharmakokinetischen Prozessen (Invasion, Dispersion, Elimination) auftreten und wird vorrangig durch die Sättigung bimolekularer Reaktionen (Bindungsproteine, Enzymkapazität, Carriersysteme) verursacht.

**Zeitinvarianz** Ein System  $H$  entsprechend Gleichung (1.1) ist genau dann zeitinvariant, wenn für eine beliebige wohldefinierte Zeitverschiebung  $t_0 \in \mathbb{R}^+$  gilt:

$$H(I(t + t_0)) = f(t + t_0) \quad \forall t \in \mathbb{R}^+ \quad (1.4)$$

d. h. wenn es zu beliebigen Zeiten bei gleichen äußeren Bedingungen (Input) dasselbe Verhalten zeigt. Auf der Grundlage dieser Eigenschaft lassen wiederholte Experimente zur Charakterisierung eines Systems ein bis auf zufällige Schwankungen gleiches Systemverhalten erwarten. Die Parameter eines solchen Systems sind zeitunabhängig.

Unter Annahme dieser System-Eigenschaften gelten für unterschiedliche Verknüpfungen zweier oder mehrerer Systeme (Abb. 1.2) die folgenden Gesetzmäßigkeiten.

### 1.1.2 Systemkopplung

**Reihenschaltung** Für zwei in Reihe geschaltete Systeme ergibt sich der Gesamt-Output  $f(t)$  als Faltung der Einzel-Funktionen  $f_1(t)$  und  $f_2(t)$ ,

$$\begin{aligned} f(t) &= f_1(t) \star f_2(t) \\ &= \int_0^t f_1(t - \tau) f_2(\tau) d\tau \end{aligned} \quad (1.5)$$

Die bei der Lösung von Differentialgleichungen in der Praxis häufig genutzte (komplexwertige) Laplace-Transformation,  $s \in \mathbb{C}$ ,

$$\mathcal{L}\{f(t)\} = \hat{f}(s) = \int_0^\infty f(t) e^{-st} dt \quad (1.6)$$

überführt diese Faltung in eine einfache Multiplikation der Laplace-Transformierten,

$$f_1(t) \star f_2(t) \longrightarrow \hat{f}_1(s) \hat{f}_2(s) \quad (1.7)$$

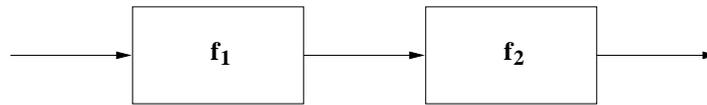
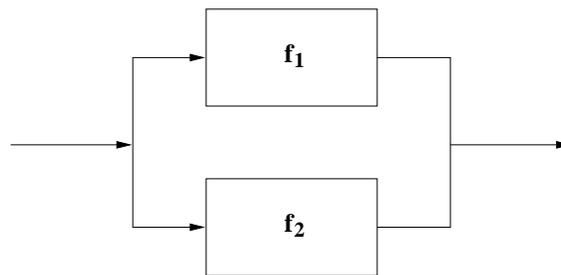
**Reihenschaltung****Parallelschaltung**

Abbildung 1.2: Wichtigste prinzipielle Möglichkeiten der Kopplung zweier Systeme

**Parallelschaltung** Die parallele Verknüpfung zweier Systeme führt zur Linearkombination der einzelnen Übertragungsfunktionen. Dadurch ergibt sich als Gesamtsystem-Output, unter Berücksichtigung des Anteils der einzelnen Systeme am Gesamtsystem durch Wichtungsfaktoren  $q_1, q_2 \in \mathbb{R}: q_1 + q_2 = 1$ ,

$$f(t) = q_1 f_1(t) + q_2 f_2(t) \quad (1.8)$$

Diese Beziehung gilt auch für die zugehörigen Laplace-Transformierten.

## 1.2 Pharmakokinetische Grundlagen

### 1.2.1 Verweilzeitkonzept

Die Theorie der Verweilzeitverteilungen (**R**esidence **T**ime **D**istributions – RTD) stellt ein mathematisches Konzept dar, das der Pharmakokinetik linearer Systeme (lineare Pharmakokinetik) eine verallgemeinerte Sicht auf die zu untersuchenden Verteilungs- und Eliminationsprozesse ermöglicht (Weiss, M., 1992). Ihr Vorteil liegt in der Unabhängigkeit von Strukturmodellen oder der *a priori* Annahme gut gemischter Verteilungsräume (Kompartimente).

Ausgangspunkt ist die zufällige (stetige) Verweilzeit  $T$  der einzelnen Substanz-Moleküle im System, die einer kumulativen Verweilzeitverteilung  $F(t)$  unterliegt,

$$F(t) = P(T \leq t) \quad (1.9)$$

(der Wahrscheinlichkeit, daß ein Molekül eine Verweilzeit  $T$  kleiner oder gleich  $t$  besitzt).

$F(t)$  wird als eine auf  $[0, \infty)$  differenzierbare Funktion angenommen, für die zusätzlich  $F(-0) = 0$  und  $F(\infty) = 1$  gelten (spezifizierte Eigenschaften einer Verteilungsfunktion). Ihre erste Ableitung

$$f(t) = \frac{dF(t)}{dt} \quad (1.10)$$

ist die sogenannte RTD-Dichte, auch als Verweilzeit- oder Transitzeitdichte (TTD) bezeichnet, die über die zugehörigen Momente (Abschnitt 1.2.2) näher charakterisiert werden kann.

$f(t) dt$  repräsentiert die Wahrscheinlichkeit, daß die Verweilzeit des Moleküls im Intervall  $(t, t + dt]$  liegt.

Geht man von der Betrachtung des individuellen Moleküls (Mikrolevel) zur Betrachtung größerer Molekül-Ensembles über (Makrolevel), ergibt sich zwischen der Verweilzeitdichte  $f(t)$  und der bis zum Zeitpunkt  $t$  aus dem System eliminierten Menge  $A_{el}(t)$  der Zusammenhang

$$f(t) = \frac{dA_{el}/dt}{A_{el}(\infty)} \quad (1.11)$$

Dabei liegen folgende Annahmen zugrunde: 1) die einzelnen Moleküle sind nicht voneinander zu unterscheiden, 2) zwischen ihnen finden keine Interaktionen statt, 3) ihre individuellen Verweilzeiten sind voneinander unabhängig und 4) ein Molekül, das das System verläßt, kann nicht wieder in dieses zurückkehren (irreversibler Prozeß).

Aufgrund der Proportionalität der Austrittsgeschwindigkeit  $dA_{el}/dt$  aus dem System und der als System-Output gemessenen Konzentration  $C(t)$  gilt (siehe Gleichung (1.25) und (1.26)),

$$f(t) = \frac{C(t)}{\int_0^\infty C(t) dt} \quad (1.12)$$

Für nicht-metabolisierte Substanzen folgt daraus (siehe Gleichung (1.19)),

$$f(t) = \frac{C(t)}{D/Q} \quad (1.13)$$

Von dieser Dosis ( $D$ ) / Fluß ( $Q$ ) - normierten Konzentration wird im Folgenden bei der Verwendung des Begriffes *Verweilzeitdichte* stets ausgegangen, selbst wenn für metabolisierte Substanzen der Begriff *Dichte* wegen

$$\int_0^\infty f(t) dt < 1 \quad (1.14)$$

nicht mehr im mathematischen Sinn Anwendung findet. Um auf diese Ausnahme explizit hinzuweisen, wird in der pharmakokinetischen Literatur der Begriff *defekte Dichte* verwandt. Der Vorteil dieser Normierung wird bei der im nächsten Abschnitt folgenden Definition der Leber-Durchlässigkeit (Glg. (1.18)) deutlich.

## 1.2.2 Momentenanalyse

Die Momentenanalyse beruht auf der (numerischen oder modellabhängigen) Bestimmung der Momente  $m_i$  des Konzentrations-Zeit-Verlaufes bzw. der Verweilzeitdichte,  $i \in \{0, 1, 2, \dots\}$ ,

$$m_i = \int_0^\infty t^i f(t) dt \quad (1.15)$$

die die nachfolgend beschriebenen pharmakokinetischen Kenngrößen definieren. Für analytische Funktionen, die im Laplace-Raum vorliegen, ist keine Rücktransformation in den Zeitbereich notwendig. In diesem Fall gilt aufgrund der Korrespondenzen zwischen Zeit- und Laplace-Raum:

$$m_i = (-1)^i \lim_{s \rightarrow 0} \frac{d^i \hat{f}(s)}{ds^i} \quad (1.16)$$

**Bioverfügbarkeit bzw. Organ-Durchlässigkeit** Die Bioverfügbarkeit  $F \in [0, 1]$  charakterisiert den Anteil einer applizierten Substanz, der die systemische Zirkulation erreicht und somit dem Weitertransport zum Wirkort zur Verfügung steht. Sie ergibt sich über die Absorptionsquote und die Durchlässigkeit aller am First-Pass-Effekt beteiligten Organe, wie der Leber (H), der Niere (R) und dem Gastrointestinaltrakt (I):

$$F = F_H F_R F_I \quad (1.17)$$

Es sei darauf hingewiesen, daß im Gegensatz zur Definition in der pharmakologischen Literatur in dieser Arbeit unter Bioverfügbarkeit nur der Anteil und nicht die Geschwindigkeit, mit der dieser Anteil im Systemkreislauf zur Verfügung steht, verstanden wird.

Die Leber-Durchlässigkeit  $F_H$  berechnet sich, unter Einbeziehung des Leber-Flusses  $Q_H$  und der Dosis  $D$ , als das nullte Moment der Dispositionskurve  $C(t)$ , auch als *AUC* (Area Under the Curve) bezeichnet,

$$\begin{aligned} F_H &= \frac{Q_H \int_0^\infty C(t) dt}{D} \\ &= \frac{Q_H AUC}{D} \\ &= \int_0^\infty f(t) dt \end{aligned} \quad (1.18)$$

Dabei ist  $f(t)$  die spezielle Leberverweilzeitdichte. (Der Einfachheit halber wird hier und im Folgenden von der Bezeichnung  $f_H(t)$  abgesehen.) Für nichteliminierte Substanzen ( $F_H = 1$ ) ergibt sich demzufolge

$$AUC = \frac{D}{Q_H} \quad (1.19)$$

Liegt Elimination vor, bezeichnet die (hepatische) Extraktion  $E_H = 1 - F_H$  den eliminierten Anteil der ursprünglich applizierten Substanz. Die Extraktion steht im engen Zusammenhang zur Organ-Clearance  $CL_H$  (dem pro Zeiteinheit von der Substanz gereinigten Leber-Volumen)

$$E_H = \frac{CL_H}{Q_H} \quad (1.20)$$

Aus Gleichung (1.26) folgt als allgemeiner Zusammenhang zwischen Verfügbarkeit, *AUC* und Clearance

$$CL_H = \frac{F_H D}{AUC} \quad (1.21)$$

**Mittlere Transitzeit** Die mittlere Transitzeit *MTT* der betrachteten Substanz durch das Organ ergibt sich als Quotient des ersten und nullten Momentes der Dispositionskurve bzw. Verweilzeitdichte

$$MTT = \frac{\int_0^\infty t f(t) dt}{\int_0^\infty f(t) dt} = \frac{m_1}{m_0} \quad (1.22)$$

Das erste Moment stellt den Schwerpunkt der Kurvenverläufe dar.

**Relative Dispersion** Als relative Dispersion  $CV^2$  wird die *MTT*<sup>2</sup>-normierte Varianz (*VAR*) der Verweilzeit der Substanz im System bezeichnet. Sie ergibt sich über das nullte, erste und zweite Moment der Dispositionskurve bzw. Verweilzeitdichte

$$CV^2 = \frac{VAR}{MTT^2} = \frac{m_2 m_0}{m_1^2} - 1 \quad (1.23)$$

**Verteilungsvolumen** Im Gegensatz zum realen geometrischen Volumen ist das Verteilungsvolumen  $V_d$  ein *scheinbares Volumen*, welches einen Zusammenhang zwischen der im System vorhandenen Substanzmenge und der zu einem bestimmten Zeitpunkt (z. B.  $t = 0$ : Initialverteilungsvolumen) beobachteten Konzentration herstellt,

$$V_d(t) = \frac{A(t)}{C(t)}, \quad t \text{ fix} \quad (1.24)$$

Eine starke Verringerung der Konzentration durch Bindungsprozesse o. ä. kann das Verteilungsvolumen derart vergrößern, daß es das anatomische Volumen um ein Vielfaches übersteigt. Das Verteilungsvolumen repräsentiert das Volumen, in dem sich die Substanz verteilen müßte, um die beobachtete Konzentration zu erreichen.

### 1.2.3 Clearance-Konzept

Das Clearance-Konzept — ein grundlegendes Konzept der Pharmakokinetik — basiert auf der bereits erwähnten Annahme, daß die Eliminationsgeschwindigkeit der Substanz zu jedem Zeitpunkt proportional der gemessenen Konzentration ist, d. h.

$$\frac{dA_{el}}{dt} = CL C(t) \quad (1.25)$$

gilt. Der Proportionalitätsfaktor  $CL$ , die sogenannte Clearance, ist das konstante Verhältnis zwischen Eliminationsrate und Konzentration am Eliminationsort, die das pro Zeiteinheit von der Substanz gereinigte Volumen widerspiegelt. Eine wesentliche Voraussetzung dieser Clearance-Definition ist das schnelle, nahezu sofortige Erreichen des Gleichgewichts zwischen den Konzentrationen am Ort der Messung und am Ort der Elimination. Für arterielles Blut ist diese Bedingung im allgemeinen erfüllt (Weiss, M., 1990a).

Integriert man die Beziehung bezüglich der gesamten positiven Zeitachse, folgt

$$A_{el}(\infty) = CL \int_0^{\infty} C(t) dt \quad (1.26)$$

wobei  $A_e(\infty)$  die im Zeitintervall  $[0, \infty)$  insgesamt eliminierte Menge ist (siehe auch Gleichung (1.21)).

## 1.3 Modellselektionskriterien

Zum Vergleich unterschiedlicher Modelle im Hinblick auf die Qualität ihrer Datenbeschreibung und die Anzahl der Modellparameter existieren verschiedene Kriterien (Heinzel, G. et al., 1993). Ein häufig angewandtes ist das Akaike-Kriterium  $AIC$ :

$$AIC = n \ln \left( \sum_{i=1}^n w_i [C(t_i) - f(t_i)]^2 \right) + 2p \quad (1.27)$$

Es basiert auf der gewichteten ( $w_i$ ) Summe der Abweichungsquadrate der gemessenen Konzentration  $C(t_i)$  vom Modellwert  $f(t_i)$  und bezieht die Anzahl der Meßwerte  $n$  und die Modellparameterzahl  $p$  explizit in die Bewertung mit ein (Akaike, H., 1974). Je kleiner der  $AIC$ -Wert, um so geeigneter ist das Modell.

Eine Modifikation stellt das *MSC*-Kriterium (**M**odel **S**election **C**riterion) dar:

$$MSC = \ln \left( \frac{\sum_{i=1}^n w_i [C(t_i) - \bar{C}(t)]^2}{\sum_{i=1}^n w_i [C(t_i) - f(t_i)]^2} \right) - \frac{2p}{n} \quad (1.28)$$

Neben den Abweichungen der Modellwerte von den gemessenen Konzentrationen werden die Schwankungen der Meßwerte um die mittlere Konzentration  $\bar{C}(t) = \sum_{i=1}^n C(t_i)/n$  berücksichtigt. Da sie auf die Modellabweichungen bezogen wird, ist ein Modell mit größerem *MSC*-Wert geeigneter als ein Modell mit geringerem (Micromath Scientific Software, 1995).

## Kapitel 2

# Perfusion der isolierten Leber

### 2.1 Experimentelle Durchführung

Die folgende Beschreibung der Single-Pass-Experimente an der isoliert perfundierten Ratten-Leber erfolgt aus Sicht des Theoretikers und beschränkt sich deshalb auf die prinzipielle Vorgehensweise.

Ausgehend von der Zielstellung — der Charakterisierung der hepatischen Verteilungsprozesse durch Aufnahme der Leber-Dispositionskurve — ist das Organ aus der systemischen Zirkulation zu lösen und gleichzeitig seine reale Funktionsfähigkeit zu gewährleisten. Wechselwirkungen mit anderen Organen werden dadurch ausgeschlossen, so daß unabhängige Aussagen zum Organverhalten möglich sind.

**Vorbereitung der Leber** Die Isolation der Leber erfolgt an der narkotisierten Ratte, welcher durch einen Längsschnitt Bauchraum und Brustkorb geöffnet werden, so daß die zentralen Arterien und Venen des Herzens und der Leber für die isolierte Perfusion vorbereitet werden können. Nachdem die notwendigen Inflow- und Outflow-Katheter der Leber gelegt und die Hauptgefäße der systemischen Blutversorgung zum Abbinden vorbereitet sind, kann die Leberperfusion gestartet werden (Wolkoff, A. W. et al., 1987; Waynforth, W. B. und Flecknell, 1992).

**Leberperfusion** Die Perfusion erfolgt *in situ*, d. h. das Organ wird *an Ort und Stelle* aus dem Blutkreislauf gelöst und unabhängig perfundiert.

Nach Abschluß der Vorbereitungen werden das Perfusat-Reservoir und der Inflow-Katheter miteinander verbunden (Abb. 2.1) und das Perfusat über eine regelbare Pumpe mit definierter Fließgeschwindigkeit der Leber zugeführt. Gleichzeitig ist die systemische Blutzufuhr, durch das Abbinden der präparierten Gefäße, zu unterbrechen.

Ab dem Zeitpunkt der Injektion aller zu untersuchenden Substanzen in den Inflow-Katheter ist das die Leber über den Outflow-Katheter verlassende Perfusat mit Hilfe eines Probenkollektors intervallweise zu sammeln und anschließend der Auswertung zuzuführen.

Als Perfusat wird in der Regel *MOPS-Puffer* verwandt, der, im Gegensatz zum früher häufig verwandten Krebs-Henseleit-Bicarbonat-Puffer, eine höhere Stabilität der Puffereigenschaften (*pH*-Wert konstant 7.4) aufweist (Kuhlmann, O., 1998).

Das Perfusat wird auf etwa 42°C temperiert, so daß in der Leber Körpertemperatur (37°C) herrscht. Zusätzlich wird es entweder vor der Perfusion mit Sauerstoff angereichert oder währenddessen über einen Oxygenator mit Sauerstoff versorgt. Neben Messungen des Sauerstoffgehaltes erfolgt zur Kontrolle der Funktionstüchtigkeit des Organs eine zusätzliche Beobachtung des Leber-Innendruckes während des gesamten Experimentes.

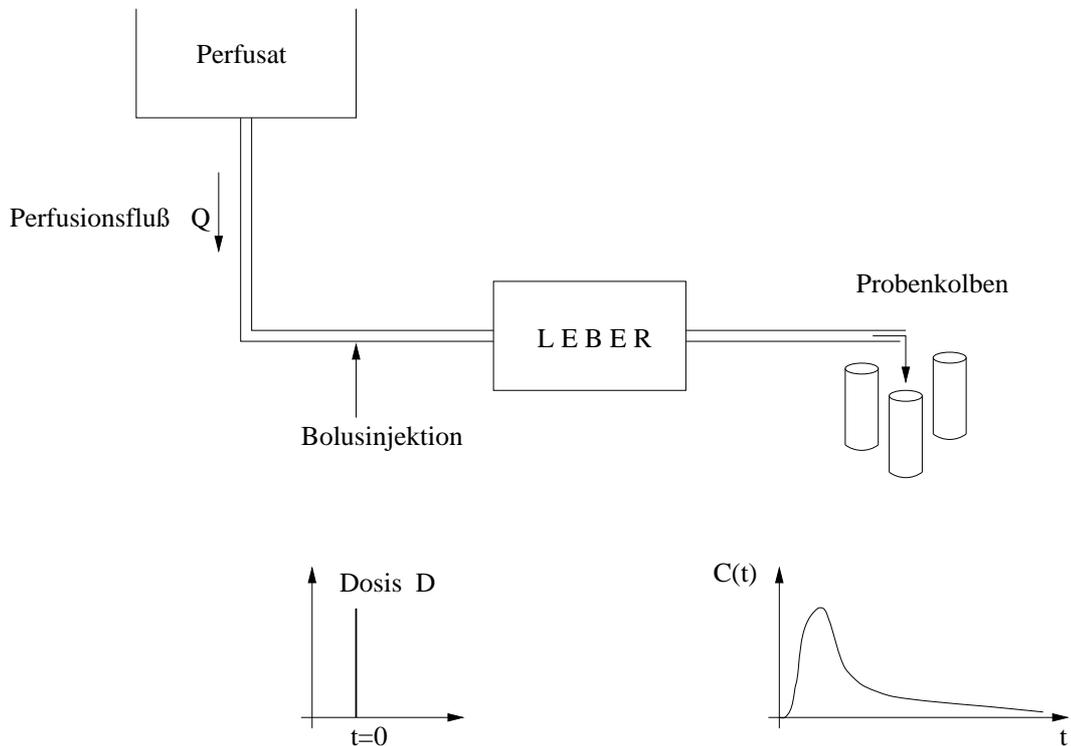


Abbildung 2.1: Prinzipieller Aufbau der Single-Pass Perfusion einer isolierten Leber

Die erste Injektion der zu untersuchenden Substanzen erfolgt nach einer Auswaschzeit von etwa 15 min, die der Entfernung letzter Blutrückstände dient. Da die Leber in der Regel für 1.5 – 2 Stunden ihre Funktionstüchtigkeit behält, sind mehrere Injektionen möglich (Kuhlmann, O., 1998). Um Kumulationen zu vermeiden, werden zwischen den aufeinanderfolgenden Injektionen substanzabhängige Auswaschzeiten eingehalten.

**Proben-Vermessung** Zur Detektion der injizierten Substanzen, wie Wasser, Saccharose oder Albumin, ist in der Regel eine Markierung erforderlich. Dabei zeichnen sich radioaktive Marker ( $^3\text{H}$ ,  $^{14}\text{C}$ ,  $^{125}\text{I}$ ), im Gegensatz zu Farbmakern wie Evans Blue, durch eine höhere Empfindlichkeit der Meßmethoden aus.

Neben *Szintillationsmessungen* radioaktiv markierter Substanzen und der Anwendung von *Mikroplattenlasern* bei Farbmarkierungen steht die Hochleistungs-Flüssigkeits-Chromatographie (**H**igh **P**erformance **L**iquid **C**hromatography - HPLC) als eine leistungsfähige Methode der Spurenanalytik immer mehr im Mittelpunkt der Anwendungen. Ihre Stärke liegt im Einsatz hochempfindlicher Detektoren (z. B. Fluoreszenz- und chemischer Detektoren sowie Massenspektrometer), die im Gegensatz zu radioaktiv markierten Substanzen eine selektive Bestimmung, d. h. die Unterscheidung verschiedener, gleich markierter Substanzen ermöglichen (Kuhlmann, O., 1998).

## 2.2 MID-Methode

Die „Multiple Indicator Dilution Method“ (Goresky, C. A., 1963; Goresky, C. A., 1983) stellt die zentrale Methode zur Analyse der aus mehreren Verteilungsräumen bestehenden Organe dar. Sie ist durch die Injektion eines Gemisches verschiedener Indikator-Substanzen (Chinard, F. P. et al., 1955) gekennzeichnet, die sich hinsichtlich ihrer Verteilung im Organ unterscheiden und damit die unterschiedlichen Verteilungsräume widerspiegeln.

Neben der Bestimmung der Verteilungsvolumina dient die MID-Methode der Charakterisierung von Substanzen mit unbekanntem Verteilungseigenschaften. Während sich erste Informationen bereits aus dem Vergleich des Konzentrations-Zeit-Verlaufes der „unbekannten“ Substanz mit denen der Indikator-Substanzen ergeben, erfolgt die Schätzung der Verteilungsparameter in der Regel modellbasiert.

Marker der hepatischen Verteilung sind Wasser, Saccharose, Albumin und rote Blutzellen. Während sich Wasser ungehindert im Organgewebe verteilt (intrazellulärer Indikator), gelingt es Saccharose und Albumin nicht, die Membrambarriere der Hepatozyten zu überwinden. Albumin verteilt sich im Gegensatz zu Saccharose (extrazellulärer Indikator) nur in etwa  $2/3$  des Dissé-Raumes (Abb. A.3 im Anhang S. IV). Die roten Blutzellen (RBC) hingegen verbleiben vollständig im Gefäßsystem (intravaskulärer Indikator) und verteilen sich weder im Interstitium noch in den Zellen.

Für die Indikator-Substanzen gilt das sogenannte Superpositionsprinzip: Da sich ihre Verteilung bei gleichem Fluß zwar bezüglich der Verteilungsvolumina jedoch nicht in den zugrundeliegenden Mischungsprozessen unterscheidet, führt eine geeignete Korrektur zur Überlagerung der Zeitverläufe (Goresky, C. A., 1983; Schwab, A. J. et al., 1990). Detaillierte Informationen und eine bisherige Anwendung dieser Eigenschaft finden sich in Kapitel 5.1.

An dieser Stelle sei darauf hingewiesen, daß im Folgenden der Einfachheit halber von „intravaskulärer“ Verteilung bzw. Markern gesprochen wird, obwohl dabei in der Regel sowohl die Dispersion in den Sinusoiden als auch die Verteilung im Dissé-Raum gemeint sind, die entweder vollständig oder, wie im Falle des Albumins, nur teilweise erfolgt.

# Kapitel 3

## Lebermodelle

Zum Verständnis der im Gesamtorganismus stattfindenden Prozesse und deren Einfluß auf die Kinetik applizierter Pharmaka bildet die Modellierung der Leber, dem wichtigsten Ort der Elimination und Metabolitenentstehung, eine wesentlich Grundlage.

Aufgrund der charakteristischen Struktur der Leber wird die mathematische Modellierung durch die Beschreibung zweier in Abb. 3.1 dargestellter **Mischungsprozesse** bestimmt:

1. der **makroskopischen** Mischung, verursacht durch das Netzwerk der Kapillargefäße, und
2. der **mikroskopischen** Mischung, der Verteilung zwischen Sinusoid und Hepatozyt.

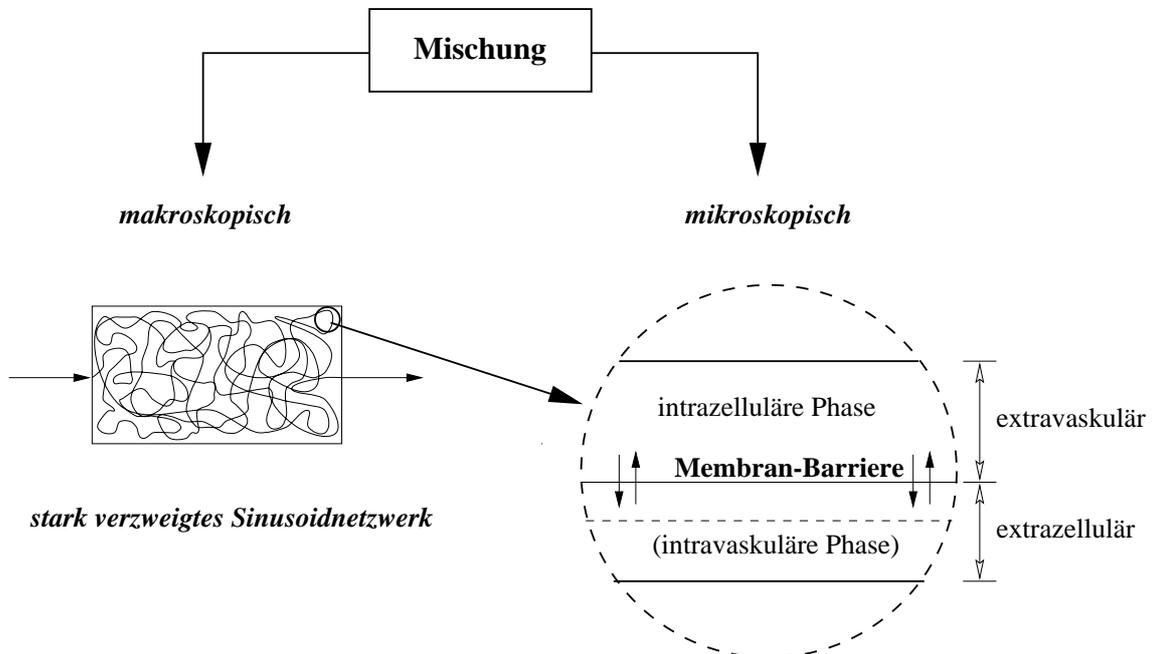


Abbildung 3.1: Hepatische Mischungsprozesse; Informationen über den intrasinusoidalen Mischungsprozeß (makroskopische Mischung) sind auf Basis der Transitzeitverteilung vaskulärer bzw. extrazellulärer Marker möglich.

Bisherige Lebermodelle unterscheiden sich insbesondere in der Modellierung der makroskopischen Mischungsprozesse.

Die Basis der Beschreibung des intravaskulären Mischungsverhaltens bildet in den meisten Fällen (Tab. 3.1) die eindimensionale Transportgleichung

$$\frac{\partial C}{\partial t} + \tilde{v} \frac{\partial C}{\partial x} - \tilde{D} \frac{\partial^2 C}{\partial x^2} = -r(x)g(C) \quad (3.1)$$

Sie charakterisiert die zeitliche Änderung der Substratkonzentration  $C(t, x)$ , die durch einen in Flußrichtung  $x$  vorliegenden Konzentrationsgradienten  $\tilde{v} \partial C / \partial x$  (Konvektionsterm der Geschwindigkeit  $\tilde{v}$ ), molekulare Diffusion bzw. Dispersion  $\tilde{D} \partial^2 C / \partial x^2$  sowie einen zusätzlichen Weg- und/oder Konzentrations-abhängigen Prozeß  $r(x)g(C)$  verursacht wird. Da in der Regel vereinfachend von homogener (mittlerer) Enzymaktivität und Permeabilität innerhalb der Leber ausgegangen wird, ist  $r(x) = \textit{konstant}$ .

Modell	Spezifizierte Transportgleichung
Kompartiment-Modell	$\partial C / \partial t = -r(x)g(C)$
Röhrenmodell	$\partial C / \partial t + \tilde{v} \partial C / \partial x = -r(x)g(C)$
Dispersionsmodell	$\partial C / \partial t + \tilde{v} \partial C / \partial x - \tilde{D} \partial^2 C / \partial x^2 = -r(x)g(C)$

Tabelle 3.1: Spezifikation der Transportgleichung zur Beschreibung der intravaskulären Mischung in unterschiedlichen Lebermodellen

Während die Extreme Kompartiment- und Röhrenmodell von *vollständiger* bzw. *keinerlei* Mischung zwischen den Sinusoiden ausgehen, ist die in der Realität auftretende zeitliche und örtliche Verteilung in häufiger genutzten Modellen, wie dem Goresky- oder Dispersionsmodell, auf unterschiedliche Art und Weise modelliert.

Das vorliegende Kapitel stellt neben bereits erwähnten Lebermodellen das von WEISS UND ROBERTS 1996 in die Pharmakokinetik eingeführte, allgemeine(re) stochastische 2-Phasen-Modell vor (Abschnitt 3.3). Es wird im Rahmen der vorliegenden Arbeit um Metabolisierung erweitert, um es als Organmodell der Leber nutzen zu können und enthält die obigen Extremmodelle und das Dispersionsmodell als Spezialfälle (siehe S. 25f.).

### 3.1 Kompartiment- und Röhrenmodelle

#### Kompartimentmodelle

Kompartimentmodelle (Wagner, J. G., 1975) sind die Modelle der *klassischen* Pharmakokinetik. Sie unterscheiden durch Kombination mehrerer Einzel-Kompartimente unterschiedliche, jeweils gut gemischte Verteilungsräume.

**Gleichverteilungsmodell (well-stirred model)** Im einfachsten Fall wird das zu beschreibende System als *ein* gut gemischtes Kompartiment modelliert (Ein-Kompartiment-Modell, Abb. 3.2), dessen Ausflußkonzentration gleich der inneren Konzentration des Kompartiments ist. Die zeitliche Änderung der Konzentration

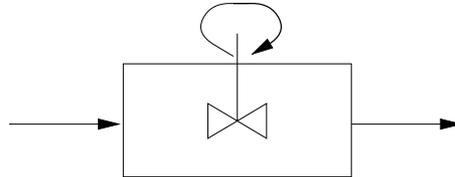


Abbildung 3.2: Ein-Kompartiment-Modell

dieses Systems wird entsprechend Tabelle 3.1 durch die Differentialgleichung

$$\frac{\partial C(t)}{\partial t} = -\frac{Q + CL_{int}}{V} C(t) \quad (3.2)$$

beschrieben. Ihre Lösung stellt, unter Berücksichtigung der Anfangsbedingung  $C(0) = D/V$ , die Impulsantwort des Systems dar und führt auf den exponentiell abfallenden Konzentrations-Zeit-Verlauf

$$C(t) = \frac{D}{V} \exp\left(-\frac{Q + CL_{int}}{V} t\right) \quad (3.3)$$

Dabei sind  $D$  die applizierte Dosis,  $V$  das Verteilungsvolumen,  $Q$  der konvektive Fluß und  $CL_{int}$  die Metabolisierungsclearance (intrinsische Clearance) der modellierten Elimination erster Ordnung. Als  $AUC$ ,  $MTT$  und  $CV^2$  ergeben sich  $D/(Q + CL_{int})$ ,  $V/(Q + CL_{int})$  und 1. Die Abhängigkeit der  $AUC$  und  $MTT$  vom Fluß weist darauf hin, daß der Stofftransport durch das System durch die Fließgeschwindigkeit limitiert wird. Neben der Beschreibung des zeitlichen Konzentrationsverlaufes geht es, im Zusammenhang der Bewertung des First-Pass-Effektes (siehe Anhang S. I), um die Güte der modellabhängigen Schätzung der Leberdurchlässigkeit. Für das Gleichverteilungsmodell ergibt sich nach Gleichung (1.18)

$$F_{H,Komp} = \frac{Q}{Q + CL_{int}} \quad (3.4)$$

Für gering metabolisierte Substanzen unterscheiden sich die Vorhersagen der Verfügbarkeit dieses einfachen Modells — das die wahren Mischungsprozesse in der Leber in keiner Weise realistisch beschreibt — nur geringfügig von denen komplexerer Modelle. Mit steigender Metabolisierung vergrößern sich die Unterschiede zwischen den Vorhersagen der verschiedenen Lebermodelle immer mehr (Abb. 3.3) und werden somit in hohem Maße modellabhängig. Um so bedeutsamer ist für extensiv metabolisierte Pharmaka eine möglichst realitätsnahe mathematische Beschreibung der in der Leber stattfindenden Prozesse.

**Zwei-Kompartiment-Modell (well-stirred tank model)** Für sogenannte Barriere-limitierte Substanzen, deren Verteilung in die Leberzellen durch die Zellmembran als Permeationsbarriere beschränkt ist, stellt das Lebergewebe einen zusätzlichen Verteilungsraum dar, der durch ein zweites Kompartiment (Abb. 3.4) berücksichtigt werden kann. Die Leber wird somit als ein aus zwei gut gemischten Verteilungsräumen (Gefäßsystem und Lebergewebe) bestehendes System betrachtet, die über eine gemeinsame Grenzfläche, die Membran des Hepatozyten, in Verbindung stehen. Die Verteilung aus dem zentralen in das periphere Kompartiment wird durch die substanzabhängigen Permeabilitätseigenschaften der Membran bestimmt.

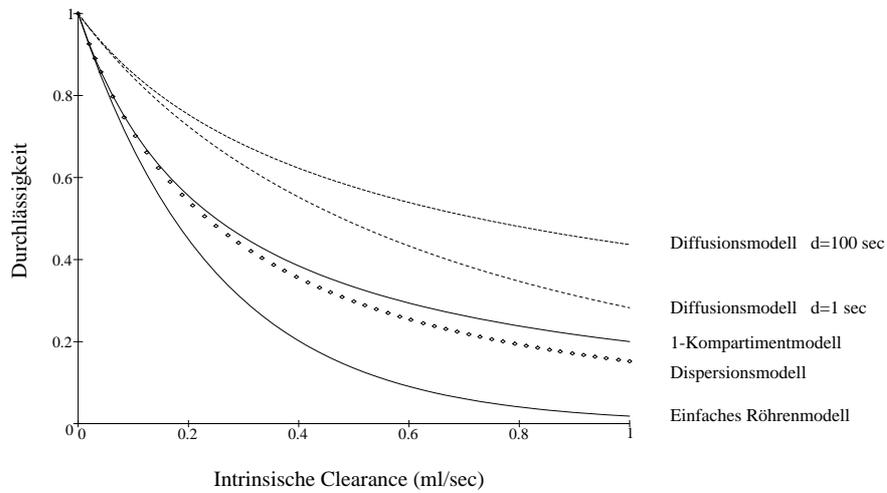


Abbildung 3.3: Einfluß der intrinsischen Clearance auf Unterschiede in den Vorhersagen der hepatischen Durchlässigkeit  $F_H$  verschiedener Lebermodelle

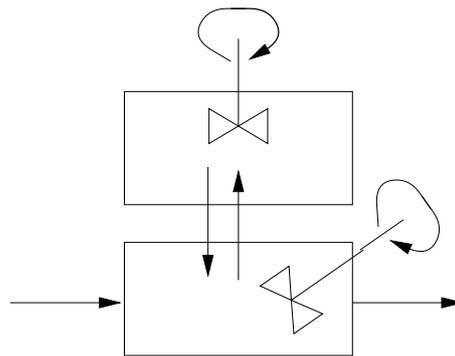


Abbildung 3.4: Zwei-Kompartiment-Modell

Da Membranen Doppellipidschichten sind, verringert sich die Penetrationsfähigkeit je hydrophiler die Substanz ist.

Die zeitlichen Änderungen der Konzentrationen in den Kompartimenten (Blut:  $C_B$  und Gewebe:  $C_T$ ) werden durch die folgenden Differentialgleichungen beschrieben:

$$\frac{\partial C_B(t)}{\partial t} = -\frac{Q}{V_B} C_B(t) - \frac{PS}{V_B} [C_B(t) f_{uB} - C_T(t) f_{uT}] \tag{3.5}$$

$$\frac{\partial C_T(t)}{\partial t} = \frac{PS}{V_T^*} [C_B(t) f_{uB} - C_T(t) f_{uT}] - \frac{CL_{int}}{V_T^*} C_T(t) f_{uT} \tag{3.6}$$

Dabei sind  $V_B$  und  $V_T^*$  das vaskuläre und zelluläre Verteilungsvolumen,  $f_{uB}$  und  $f_{uT}$  die freien Fraktionen (ungebundener Anteil der Substanz) sowie  $CL_{int}$  die bereits bekannte intrinsische Clearance, die die Metabolisierung der applizierten Substanz beschreibt. Als Lösung dieser Differentialgleichungen ergibt sich die

folgende Verweilzeitdichte in Laplace-Koordinaten

$$\hat{f}_{2komp}(s) = \frac{1}{1 + MTT_B \left( s + \frac{k v (s+k_e)}{k+v(s+k_e)} \right)} \quad (3.7)$$

Dabei gelten die Beziehungen:

$$MTT_B = \frac{V_B}{Q} \quad (3.8)$$

$$k = \frac{f_{u_B} P S}{V_B} \quad (3.9)$$

$$v = \frac{f_{u_B} V_T^*}{f_{u_T} V_B} =: \frac{V_T}{V_B} \quad (3.10)$$

$$k_e = \frac{f_{u_T} CL_{int}}{V_T} \quad (3.11)$$

**Kettenmodell (tanks-in-series model)** Neben der Kombination eines zentralen und eines peripheren Kompartimentes ist es im nächsten Schritt naheliegend, die Gefäßsystem-Mischung mit Hilfe  $n$  in Reihe geschalteter identischer Kompartimentsysteme (Kette) zu beschreiben.

Für jedes einzelne Kompartimentsystem gelten dabei die Gleichungen (3.5) und (3.6) unter zusätzlicher Berücksichtigung des jeweiligen Inputs, der sich als Output des Vorgänger-Kompartiments ergibt. Systemtheoretisch führen diese Überlegungen auf eine  $n$ -fache Faltung des Konzentrations-Zeit-Verlaufes des Zwei-Kompartiment-Modells unter Berücksichtigung des anteilmäßigen Volumens  $V_i = V_{ges}/n$  der einzelnen Kettenglieder.

Die relative Dispersion dieses Modells beträgt für nicht-eliminierte Substanzen  $CV^2 = 1/n$  (Mellick, G. D. et al., 1997). Experimentell erhaltene Werte von 0.4–0.5 (Roberts, M. S. und Rowland, M., 1986) legten bisher die Betrachtung zweier Kettenglieder nahe (Mellick, G. D. et al., 1997).

Das Kettenmodell in Ein-Kompartiment-Form wurde von WEISIGER ET. AL (Weisiger, R. A. et al., 1986) und GRAY UND TAM (Gray, M. R. und Tam, Y. K., 1987) in die Pharmakokinetik eingeführt. Es sollte als ein einfaches empirisches Modell eine Brücke zwischen den Extremmodellen schlagen. Als hepatische Transitzeit ergab sich für diesen Fall einfacher Kompartimente die Gammaverteilung  $C(t) = A * t^\kappa e^{-bt}$  mit  $\kappa = n$  und  $b = Q/V$  (Weiss, M., 1990a). Für Thyroxin konnte mit diesem Modell bereits bei 8 Kettengliedern der intrasinusoidaler Konzentrationsgradient nachgebildet werden (Weisiger, R. A. et al., 1986). Die Verfügbarkeit führt für die Spezialfälle  $n = 1$  und  $n = \infty$  auf die des Ein-Kompartiment- bzw. Röhrenmodells (Weiss, M., 1990a).

## Röhrenmodelle

**Einfaches Röhrenmodell (tube model)** Das aus der Gastroenterologie stammende Modell betrachtet die Leber als Röhre der Länge  $\tilde{L}$  mit konvektivem Fluß  $Q$  und parallel verlaufenden, nicht miteinander

kommunizierenden Sinusoiden (keine intersinusoidale Mischung), die in erweiterter Modellformulierung vom Lebergewebe, als einem gut gemischten Kompartiment, umgeben ist (Abb. 3.5).

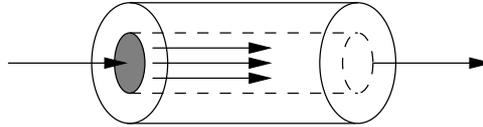


Abbildung 3.5: Einfaches Röhrenmodell

Die Konzentration innerhalb der Röhre ist ortsabhängig und wird durch die Konvektions-Permeationsgleichung (vgl. Tabelle 3.1)

$$\frac{\partial C_B(t)}{\partial t} = -\tilde{v} \frac{\partial C_B(t)}{\partial x} - \frac{PS}{V_B} [C_B(t) f_{u_B} - C_T(t) f_{u_T}] \quad (3.12)$$

beschrieben (Mellick, G. D. et al., 1997). Der Eintritt der Substanz in das umliegende Gewebekompartiment sowie Metabolisierung erfolgen wie beim 2-Kompartiment-Modell, so daß Gleichung (3.6) auch hier Gültigkeit besitzt. Zusätzlich gelten die Anfangs- und Randbedingungen  $C_B(x, t = 0) = C_T(x, t = 0) = 0$  und  $C_B(x = 0, t) = \delta(t)$ , so daß sich als Laplace-Lösung die Verweilzeitdichte

$$\hat{f}_{tube}(s) = \exp \left[ MTT_B \left( s + \frac{k v (s + k_e)}{k + v (s + k_e)} \right) \right] \quad (3.13)$$

ergibt.

**Verteilungsmodell (distributed tube model)** Das von GORESKY ET. AL (Goresky, C. A., 1963; Goresky, C. A. et al., 1973) im Zusammenhang mit der MID-Methode eingeführte Verteilungsmodell betrachtet die Sinusoide als ein System identischer, paralleler Röhren mit unterschiedlichen Transitzeiten  $T$ . Es stellt eine Erweiterung des einfachen Röhrenmodells zum strukturierten Lebermodell dar, das der Realität besser entspricht.

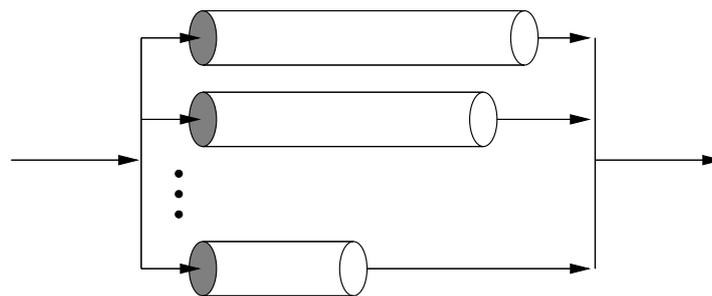


Abbildung 3.6: Verteilungsmodell - System paralleler Röhren unterschiedlicher Länge

Der Konzentrations-Zeit-Verlauf am Organ-Ausgang ergibt sich als Integral der Zeit-Profile  $u(t; T)$  der einzelnen Röhren (Luxon, B. A. und Weisiger, R. A., 1993)

$$c(t) = \int_0^t u(t; T) \Psi(T) dT \quad (3.14)$$

wobei  $\Psi(T)$  die Wahrscheinlichkeitsdichtefunktion der Röhren-Transitzeiten ist.

LUXON UND WEISIGER erweiterten das Goresky-Modell um intrazelluläre Diffusion, die für extensiv an das Zytoplasma oder Proteine der Zelle gebundene Substanzen zu erwarten war (Luxon, B. A. und Weisiger, R. A., 1993). Dabei ergab sich für die obige Gleichung (3.14) die Laplace-Darstellung

$$\hat{c}(s) = \hat{\Psi} \left( s + \hat{k}(s) \right) \tag{3.15}$$

mit

$$\hat{k}(s) = k_1 - k_1 k_2 \frac{\sqrt{\frac{s}{t_{diff}}} + k_3 \tanh \left( \sqrt{\frac{s}{t_{diff}}} \right)}{\sqrt{\frac{s}{t_{diff}}} (k_2 + k_3) + \left( \frac{s}{t_{diff}} + k_2 k_3 \right) \tanh \left( \sqrt{\frac{s}{t_{diff}}} \right)} \tag{3.16}$$

Die Parameter  $k_1 = P_1 S / V_B$  und  $k_2 = P_2 S / V_T$  charakterisieren die Ein- und Austrittsraten der Zelle. Intrazelluläre Exkretion und Diffusion werden durch  $k_3 = P_3 S / V_T$  bzw.  $t_{diff} = L^2 / D_{eff}$  bestimmt, wobei  $L$  die maximale Diffusionstiefe und  $D_{eff}$  den Diffusionskoeffizienten bezeichnet.

### 3.2 Dispersionsmodell

Das 1985/86 von ROBERTS UND ROWLAND zur Beschreibung der Kapillarsystem-Mischung und Metabolisierung in der Leber vorgeschlagene Dispersionsmodell (Roberts, M. S. und Rowland, M., 1985; Roberts, M. S. und Rowland, M., 1986) stellt eine Adaption des von PERL UND CHINARD 1968 für den Kapillarbereich vorgeschlagenen Konvektions-Diffusionsmodells dar. Es greift auf Ergebnisse der chemischen Reaktortheorie zurück und modelliert die axiale Dispersion über einen einzigen Mischungsparameter, die sogenannte Dispersionszahl. Aus Sicht der Transportgleichung (3.1) gilt  $D_N = \tilde{D} / (\tilde{v} \tilde{L})$  mit  $\tilde{L}$  der „Gesamtlänge“ der Leber. Die axiale Dispersion ergibt sich durch Teilung und Rekombination der Flußwege sowie zusätzliche

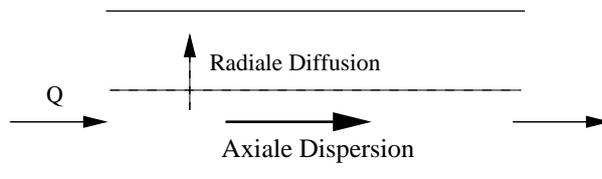


Abbildung 3.7: Verteilungsprozesse im Dispersionsmodell

radiale Variation der Fließgeschwindigkeit und Wegelängen. Axiale Diffusion ist im Vergleich dazu vernachlässigbar. Gleichzeitig erfolgt radiale Diffusion im Vergleich zur Flußgeschwindigkeit so schnell, daß sich ortsunabhängig ein sofortiges Gleichgewicht zwischen Sinusoid und Dissé-Raum (Interstitium) einstellt. Damit ist die axiale Dispersion die wichtigste Determinante der hepatischen Transitzeitverteilung und bestimmt insbesondere die relative Dispersion der sich ergebenden Verweilzeitdichte.

Für Barriere-limitierte Substanzen wurde das ursprüngliche Dispersionsmodell, wie das Röhrenmodell, um ein Gewebekompartiment erweitert (Roberts, M. S. et al., 1988; Yano, Y. et al., 1989) (Abb. 3.8). Die in der

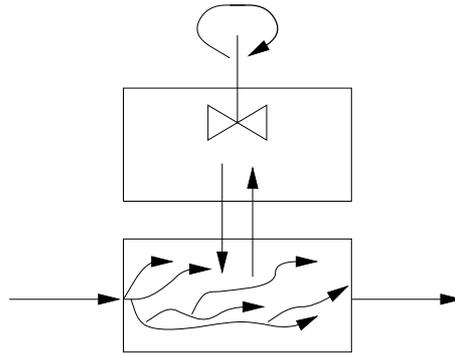


Abbildung 3.8: Zwei-Kompartiment-Dispersionsmodell

Literatur in diesem Fall übliche Bezeichnung *Zwei-Kompartiment-Dispersionsmodell* ist dabei im Hinblick auf die modellierte vaskuläre Dispersion eigentlich nicht exakt und irreführend.

Die vaskuläre Gleichung des Dispersionsmodells unterscheidet sich von der des Röhrenmodells durch einen zusätzlichen diffusionsähnlichen Dispersionsterm zweiter Ordnung (vgl. Tabelle 3.1), dessen Dispersionskoeffizient  $\tilde{D}$  im Gegensatz zur Diffusion durch die Konvektion im Mikrozirkulationsbereich bestimmt wird, so daß sich folgende Gleichung (Mellick, G. D. et al., 1997) ergibt:

$$\frac{\partial C_B(t)}{\partial t} = \tilde{D} \frac{\partial^2 C_B(t)}{\partial x^2} - \tilde{v} \frac{\partial C_B(t)}{\partial x} - \frac{PS}{V_B} [C_B(t) f_{u_B} - C_T(t) f_{u_T}] \quad (3.17)$$

Analog zum Röhrenmodell gilt auch hier bezüglich der Gewebeverteilung die Differentialgleichung (3.6). Unter Berücksichtigung der Anfangsbedingungen und gemischter Randbedingungen (geeigneter als Danckwerts Randbedingungen (Hsu, J. T. und Dranhoff, J. S., 1986)),

$$C_B(x, t = 0) = 0 \quad (3.18)$$

$$C_T(x, t = 0) = 0 \quad (3.19)$$

$$C_B(x = 0, t) = \delta(t) \quad (3.20)$$

$$\left. \frac{\partial C_B}{\partial x} \right|_{x=\infty} = 0 \quad (3.21)$$

ergibt sich als Verweilzeitdichte

$$\hat{f}_{disp}(t) = \exp \left( \frac{1}{2 D_N} \left( 1 - \sqrt{4 D_N M T T_B \left( s + \frac{k v (s + k_e)}{k + v (s + k_e)} \right) + 1} \right) \right) \quad (3.22)$$

wobei  $2 D_N = CV^2$  gilt.

Neben dem Goreskyschen Verteilungsmodell entwickelte sich das Dispersionsmodell seit seiner Einführung in die Pharmakokinetik recht schnell zu einem Standardmodell zur Bestimmung der hepatischen Verteilungs- und Eliminationsparameter auf Basis experimentell an der isoliert perfundierten Leber erhobener Konzentrations-Zeit-Profile. Die bis zu diesem Zeitpunkt häufig genutzten einfachen Modelle waren hinsichtlich ihrer Vorhersagen der hepatischen Elimination bei veränderten physiologischen Bedingungen bereits vielfach diskutiert und kritisch verglichen worden. Ausgehend von der komplexen, heterogenen

Struktur des Organes war unumstritten, daß die Extremmodelle die Mischungsverhältnisse im Bereich der Sinusoide nicht annähernd real beschreiben.

Dem Dispersionsmodell lag mit der Modellierung der axialen Mischung auf Basis eines sog. Dispersions-Parameters ein völlig neuartiger Ansatz zugrunde, der zu einer verbesserten Modellierung der Mischungsprozesse führte. Trotzdem zeigte sich mit der Einführung eines neuen, im Hinblick auf die vaskuläre Mischung allgemeineren stochastischen 2-Phasen-Modells in die Pharmakokinetik ein entscheidender Nachteil des Dispersionsmodells (Weiss, M. und Roberts, M. S., 1996), der durch die Untersuchungen dieser Arbeit bestätigt wird.

Im folgenden Abschnitt wird deshalb das stochastische 2-Phasen-Modell — Basis des Diffusionsmodells — vorgestellt, dessen Erweiterung um *Metabolisierung* zentrale Zielstellung dieser Arbeit war.

### 3.3 Stochastisches 2-Phasen-Modell — Diffusionsmodell

Das stochastische 2-Phasen-Modell, ursprünglich in der chemischen Reaktorthorie angewandt (Shinnar, R. et al., 1972), wurde 1996 von WEISS UND ROBERTS in die Pharmakokinetik eingeführt und zur Beschreibung der Verteilungsprozesse im Hinterbein der Ratte genutzt (Weiss, M. und Roberts, M. S., 1996).

Es ermöglicht die Entkopplung intravaskulärer Mischungsprozesse von Permeations- und Eliminationsprozessen in das bzw. im umliegenden Organgewebe. Die Charakterisierung des konvektiven Transports im kapillären Netzwerk erfolgt durch die experimentelle Bestimmung der Transitzeitdichte eines nicht-permeablen intravaskulären Indikators.

Ausgehend davon, daß biologische Prozesse makroskopisch zwar deterministische (Konzentrations-Zeit-Messungen), mikroskopisch jedoch stochastische Prozesse sind, wird die Verweilzeit  $t$  eines einzelnen Teilchens als Zufallsgröße  $T$  mit zugehöriger Verweilzeitdichte  $f(t)$  modelliert.

Betrachtet werden 2 Phasen: eine innere Phase — im hepatischen Mikrosystem der extrazelluläre Raum (Sinusoid und Dissé-Raum) — und eine angrenzende äußere Phase, der intrazelluläre Raum (Hepatozyt). In der inneren Phase unterliegt das beobachtete Teilchen konvektivem Transport. Der Übergang in die äußere Phase ist als Sprung modelliert, in dessen Ergebnis das Teilchen zu seinem Ausgangspunkt in die innere Phase zurückkehrt, dort wieder Konvektion unterliegt und ggf. weitere Exkursionen in die äußere Phase unternimmt (Abb. 3.9 A).

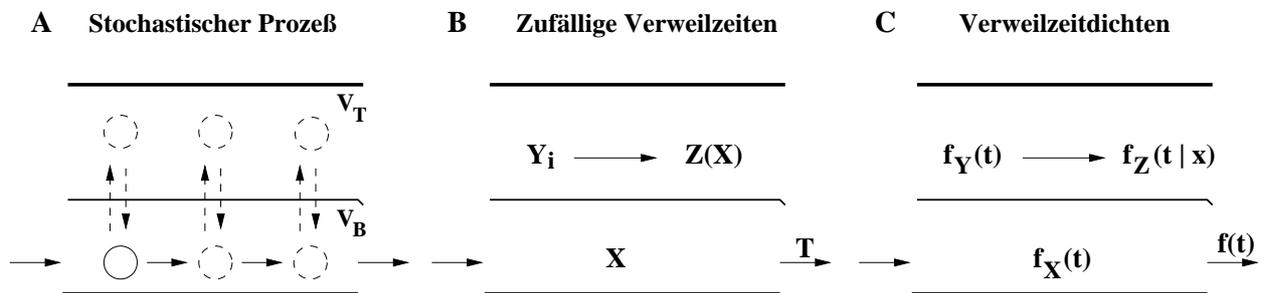


Abbildung 3.9: Stochastisches 2-Phasen-Modell

Die zufällige Verweilzeit  $T$  des Teilchens im Gesamtsystem ergibt sich als die Summe der zufälligen Verweilzeiten in innerer und äußerer Phase,  $X$  bzw.  $Z(X)$  (Abb. 3.9 B). Da die Verweilzeiten der einzelnen Sprünge als unabhängig vorausgesetzt werden können (Markov-Eigenschaft), ist  $Z(X)$  die Summe der zufälligen Verweilzeiten  $Y_i$  der einzelnen Sprünge  $i$ , deren Anzahl  $N$  eine von  $X$  abhängige Zufallsgröße darstellt:

$$T = X + Z(X) \quad (3.23)$$

$$Z(X) = \sum_{i=1}^{N(X)} Y_i \quad (3.24)$$

Als zugehörige Verweilzeitdichte  $f(t)$  der Gesamtverweilzeit  $T$  (Abb. 3.9 C) ergibt sich nach Transformation in den Laplace-Raum die **zentrale Modellgleichung**,

$$\hat{f}(s) = \hat{f}_X(s + \hat{\rho}(s)) \quad (3.25)$$

nach der sich die Gesamtverweilzeitdichte des betrachteten Systems über die Verweilzeitdichte  $\hat{f}_X(s)$  eines geeigneten intravaskulären Indikators darstellen läßt, in deren Argument die Funktion  $\hat{\rho}(s)$  die Kinetik der Verteilungsprozesse in das und innerhalb des Organgewebes definiert. Für  $\hat{\rho}(s)$  kann die Bestimmungsgleichung

$$\hat{\rho}(s) = k \left[ 1 - \hat{f}_Y(s) \right] \quad (3.26)$$

hergeleitet werden, in der  $k$  die in Flußrichtung konstant angenommene Permeabilitätsratenkonstante (Glg. (3.9)) und  $\hat{f}_Y(s)$  die Verweilzeitdichte des einzelnen Gewebeübertritts charakterisiert, die allein vom Schicksal der Teilchen vom Austritt aus der inneren Phase bis zu ihrem Wiedereintritt abhängig ist.

Da neben der Permeabilitätsratenkonstante auch alle übrigen Verteilungsparameter als in Flußrichtung konstant angenommen werden, ist  $\hat{f}_Y(s)$  vom Modell der intravaskulären Verteilung  $\hat{f}_X(s)$  unabhängig und kann deshalb über den Spezialfall vollständiger intravaskulärer Mischung (gut gemischtes Volumenelement)

$$\hat{f}_X = \frac{1}{1 + MTT_B s} \quad (3.27)$$

bestimmt werden. Dazu wird die Gesamtverweilzeitdichte  $\hat{f}(s)$  als Lösung der Massebilanzgleichungen berechnet, die die intravaskuläre Mischung und Gewebeverteilung charakterisieren, und zur Bestimmung von  $\hat{f}_Y(s)$  mit Gleichung (3.27) in die zentrale Modellgleichung (3.25) eingesetzt:

Neben der Membran-Permeation, dem Verteilungsprozeß zwischen innerer und äußerer Phase, wird im sogenannten Diffusionsmodell eindimensionale intrazelluläre Diffusion als Gewebe-Verteilungsprozeß modelliert (Abb. 3.10). Als Lösung der entstehenden Differentialgleichungen (siehe Modellerweiterung im nächsten Kapitel) ergibt sich die Gesamtverweilzeitdichte

$$\hat{f}(s) = \frac{1}{1 + MTT_B \left[ s + \frac{\frac{v}{d} \sqrt{d s} \tanh(\sqrt{d s})}{1 + \frac{v}{dk} \sqrt{d s} \tanh(\sqrt{d s})} \right]} \quad (3.28)$$

mit der Permeabilitätsratenkonstante  $k$  und dem Volumenverhältnis aus scheinbarem Gewebe-Verteilungsvolumens  $\tilde{V}_T = f_{u_B} V_T / f_{u_T}$  und intravaskulärem Verteilungsvolumen  $V_B$ ,  $v = \tilde{V}_T / V_B$ . Dabei charakterisieren  $f_{u_B}$  und  $f_{u_T}$  die freien Fraktionen im Blut und Gewebe unter der Annahme, daß Bindungs- und Freilassungsprozesse augenblicklich (vergleichsweise schnell) erfolgen. Die Diffusionszeitkonstante

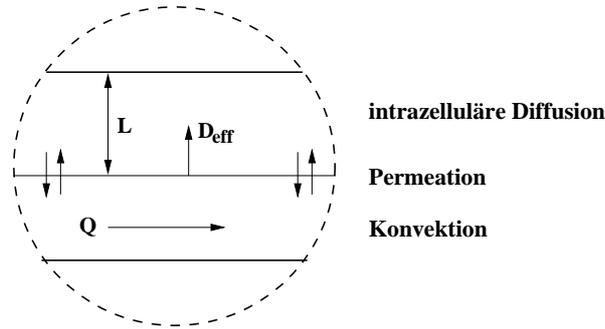


Abbildung 3.10: Verteilungsprozesse im Diffusionsmodell

$d = L^2/D_{eff}$ , bestimmt durch den effektiven radialen Diffusionskoeffizienten  $D_{eff}$  und die maximale Diffusionstiefe  $L$ , charakterisiert die Zeit, die zur Einstellung des Konzentrationsgleichgewichtes im Gewebe benötigt wird. Als intravaskuläre Transitzeit ergibt sich  $MTT_B$  gemäß Gleichung (3.8).

Aus den Gleichungen (3.25), (3.27) und (3.28) folgt die Funktion der Gewebeverteilung

$$\hat{\rho}(s) = \frac{\frac{v}{d} \sqrt{ds} \tanh(\sqrt{ds})}{1 + \frac{v}{dk} \sqrt{ds} \tanh(\sqrt{ds})} \quad (3.29)$$

und nach Gleichung (3.26) die gesuchte Verweilzeitdichte des einzelnen Gewebeübertritts

$$\hat{f}_Y(s) = \frac{1}{1 + \frac{v}{dk} \sqrt{ds} \tanh(\sqrt{ds})} \quad (3.30)$$

**Folglich ist die Gesamt-Verweilzeitdichte des Diffusionsmodells einer (nicht-eliminierten) Substanz bei frei wählbarer intravaskulärer Verweilzeitdichte durch die Gleichungen (3.25) und (3.29) bzw. (3.25), (3.26) und (3.30) vollständig bestimmt.**

Wie in der Einleitung des Abschnittes 3 bereits erwähnt, enthält das stochastische 2-Phasen-Modell die Extremmodelle und das Dispersionsmodell als Spezialfälle. Sie ergeben sich für den Grenzfall augenblicklicher intrazellulärer Verteilung  $d \rightarrow 0$  durch spezielle Wahl der vaskulären Verweilzeitdichte  $\hat{f}_X(s)$  (Tab. 3.2). Zusätzlich kann durch  $k \rightarrow \infty$  die Barriere-Wirkung der Zellmembran aufgehoben werden.

Eine Übersicht der wesentlichsten Grenzwerte des Permeations-Diffusions-Modells befindet sich in Kapitel 4.1, S. 32.

Modell	$\hat{f}_X(s)$
Gut gemischtes Volumenelement	$(1 + MTT_B s)^{-1}$
Röhrenmodell	$\exp(-MTT_B s)$
Dispersionsmodell	$\exp\left(\frac{1}{2D_N} (1 - \sqrt{4D_N MTT_B s + 1})\right)$ $= \exp\left(\frac{1}{CV^2} - \sqrt{\frac{2MTT_B}{CV^2} \left(s + \frac{1}{2MTT_B CV^2}\right)}\right)$

Tabelle 3.2: Funktion der vaskulären Mischung in unterschiedlichen Lebermodellen

# Modellierung - Metabolisierung des Precursors

**Modell - Erweiterung**

**Randbedingungen**

**Differentialgleichung der Prozesse  
im Gewebe mit Eliminationsterm**

**Spezialfall: vollständige Mischung  
der vaskulären Phase**

**Verweilzeitdichte des Precursor**

**Zentrale Modellgleichung**

**Allgemeines Modell der Verweilzeitdichte  
des Precursors im Organ (bei Metabolisierung)**

## Kapitel 4

# Diffusionsmodell

Das vorliegende Kapitel vereinigt vier relativ eigenständige Teilkapitel, die sich alle auf das Diffusionsmodell beziehen und prinzipielle Aspekte der Modellentwicklung, wie sie in der Einleitung dargestellt wurden, widerspiegeln. Die den Unterkapiteln jeweils vorangestellte Übersicht vermittelt einen kurzen Gesamtüberblick und veranschaulicht die Vorgehensweise.

Nach der Einführung des stochastischen 2-Phasen-Modells im Kapitel 3.3 geht es im ersten Teil dieses Kapitels um die Erweiterung des Diffusionsmodells, das auf dem stochastischen Modell basierend neben der frei wählbaren intravaskulären Transitzeitdichte Permeation in das angrenzende Organgewebe und intrazelluläre Diffusion als Verteilungsprozesse berücksichtigt (siehe Abb. 3.1). Da die Kinetik der Leber nicht nur durch die Verteilung der applizierten Substanz, sondern wesentlich durch Metabolisierung bestimmt wird, soll dieser Prozeß in das Diffusionsmodell integriert werden.

Obwohl biliäre Exkretion eine weitere Komponente der hepatischen Elimination darstellt, bleibt sie im Folgenden unberücksichtigt. Bis auf Substanzen, die durch aktive Sekretion in der Galle angereichert werden und ggf. dem enterohepatischen Kreislauf (Anhang A) unterliegen, spielt sie in den meisten Fällen aufgrund des vergleichsweise geringen Gallenflusses von 0.5–0.8 ml/min (vgl.  $Q_H = 1350$  ml/min) eine untergeordnete Rolle (Weiss, M., 1990a).

Ausgehend vom häufig angewandten Dispersionsmodell beschäftigt sich der zweite Teil mit der Wahl einer geeigneten intravaskulären Transitzeitfunktion als Voraussetzung für die Anwendung des Gesamtmodells. Im Anschluß daran stehen Simulationen des Modellverhaltens sowie die Validität des erweiterten Diffusionsmodells im Mittelpunkt der Untersuchungen des dritten Teiles.

Den abschließenden vierten Teil bilden modellvergleichende Sensitivitätsanalysen für Aussagen zur Parameteridentifikation unter Berücksichtigung des gegebenen Sampling-Designs, d. h. der Verteilung der Meßzeitpunkte über das Gesamtbeobachtungsintervall.

### 4.1 Modellerweiterung — Metabolisierung

#### 4.1.1 Verweilzeitdichte

Die Herleitung des stochastischen Modells erfolgte im wesentlichen in 3 Schritten (Weiss, M. und Roberts, M. S., 1996):

- (a) Herleitung der zentralen Modellgleichung (3.25)
- (b) Definition der Funktion der Gewebeverteilung  $\hat{\rho}$  (3.26)
- (c) Bestimmung der Funktion  $\hat{f}_Y$  (3.30) über die Differentialgleichungen des gut gemischten Volumenelements.

Tabelle 4.1 gibt einen Überblick über die Annahmen der einzelnen Schritte:

Modellierungsschritt	Annahmen
(a) Herleitung der zentralen Modellgleichung	Verweilzeiten der einzelnen Übergänge unabhängig (Markov-Prozeß)
(b) Definition der Funktion $\hat{\rho}$	Zeitpunkte des Übergangs poissonverteilt (Poissonprozeß)
(c) Bestimmung der Funktion $\hat{f}_Y$	alle Parameter in Flußrichtung konstant $\Rightarrow$ Spezialfall $f_X(t) = \frac{Q}{V_B} e^{-\frac{Q}{V_B} t}$ ermöglicht Bestimmung von $\hat{f}_Y$

Tabelle 4.1: Modellierungsprozesse und Annahmen des stochastischen 2-Phasen-Modells

Zur Einbindung der Metabolisierung in das Permeations-Diffusions-Modell ist es erforderlich, die Funktion  $\hat{f}_Y$  neu zu bestimmen. Die Gleichungen (3.25) und (3.26) ändern sich hinsichtlich ihrer Struktur nicht, da Biotransformation nur in den Hepatozyten, d. h. im Organewebe, stattfindet und demzufolge nur den Anteil der Substanz betrifft, der die Permeationsbarriere überwindet und in die Zelle gelangt.

Die Bestimmung der Funktion  $\hat{f}_Y$  erfolgt analog der Vorgehensweise in Abschnitt 3.3, S. 24f. Dabei wird die bisherige Diffusionsgleichung ((Weiss, M. und Roberts, M. S., 1996), Glg. (19)) um Elimination erster Ordnung erweitert, so daß die pro Zeiteinheit durch Metabolisierung eliminierte Menge proportional der vorhandenen Gewebekonzentration ist. Zur Vereinfachung werden die Berechnungen im Laplace-Raum ausgeführt; alle Gleichungen wurden deshalb zuvor der Laplace-Transformation (Gleichung (1.6)) unterzogen. Dabei ergibt sich die Diffusionsgleichung in folgender Gestalt

$$s \hat{C}_T(z, s) = D_{eff} \frac{\partial^2 \hat{C}_T(z, s)}{\partial z^2} - k_e \hat{C}_T(z, s) \tag{4.1}$$

$D_{eff}$  bezeichnet den effektiven Diffusionskoeffizienten, und die Eliminationsratenkonstante

$$k_e = \frac{f u_T CL_{int}}{V_T} \tag{4.2}$$

charakterisiert die Metabolisierung. Dabei sind  $f u_T$  und  $CL_{int}$  der ungebundene Anteil der Substanz im Gewebe und dessen intrinsische Clearance. Entstehen mehrere primäre Metabolite, ist  $k_e$  die Summe der einzelnen Eliminationsratenkonstanten.

Die Randbedingungen, eine Reflexionsbedingung am Ende des Diffusionsgebietes und eine Stetigkeitsbedingung direkt an der Permeationsbarriere, bleiben im wesentlichen unverändert. Berücksichtigt wird zusätzlich Proteinbindung, so daß sich nach Laplace-Transformation unter Berücksichtigung der Anfangs-

bedingungen  $C_B(0) = D/V_B$  und  $C_T(0) = 0$  die Gleichungen

$$\begin{aligned} \frac{\partial \hat{C}_T(L, s)}{\partial z} &= 0 \\ -D_{\text{eff}} \frac{\partial \hat{C}_T(0, s)}{\partial z} &= fu_B P \left[ \hat{C}_B(s) - \gamma \hat{C}_T(0, s) \right] \end{aligned} \quad (4.3)$$

ergeben. Dabei ist  $fu_B$  die freie Fraktion der Blut/Plasma-Phase und  $\gamma$  der Quotient der freien Fraktion der Substanz in Gewebe und Blut

$$\gamma = \frac{fu_T}{fu_B} \quad (4.4)$$

Die Konzentration  $\hat{C}_B$  berechnet sich aus der Massebilanzgleichung

$$V_B \left[ s \hat{C}_B(s) - \frac{D}{V_B} \right] = -Q \hat{C}_B(s) - fu_B PS \left[ \hat{C}_B(s) - \gamma \hat{C}_T(0, s) \right] \quad (4.5)$$

die aufgrund der Laplace-Transformation gleichzeitig die Anfangsbedingung enthält.

Als **allgemeine Lösung der Differentialgleichung (4.1)** ergibt sich

$$\hat{C}_T(z, s) = A_1(z, s) e^{\lambda z} + A_2(z, s) e^{-\lambda z} \quad (4.6)$$

mit

$$\lambda = \sqrt{\frac{s + k_e}{D_{\text{eff}}}}$$

deren Koeffizienten durch **Anpassung an die Randbedingungen (4.3)**

$$\begin{aligned} \lambda (A_1 e^{\lambda z} - A_2 e^{-\lambda z}) &= 0 \\ -D_{\text{eff}} \lambda (A_1 - A_2) &= fu_B P \{ \hat{C}_B(s) - \gamma (A_1 + A_2) \} \end{aligned}$$

und unter Verwendung der Massebilanzgleichung (4.5) über

$$\hat{C}_B(s) = \frac{\gamma fu_B PS (A_1 + A_2) + D}{V_B s + Q + fu_B PS} \quad (4.7)$$

bestimmt werden. Es ergibt sich das Gleichungssystem

$$M_1 (A_1 \ A_2)^T = y_1 \quad (4.8)$$

mit

$$\begin{aligned} M_1 &= \begin{pmatrix} \lambda & -\lambda e^{-\lambda L} \\ \lambda D_{\text{eff}} + H & -\lambda D_{\text{eff}} + H \end{pmatrix} \\ H &= -fu_B P \gamma + \frac{\gamma (fu_B P)^2 S}{V_B s + Q + fu_B PS} \end{aligned}$$

und

$$y_1 = \begin{pmatrix} 0 \\ -\frac{f u_B P D}{V_B s + Q + f u_B P S} \end{pmatrix}$$

dessen in Gleichung (4.7) eingesetzte Lösung die Konzentration im Blut bestimmt. Durch  $\frac{D}{Q}$ -Normierung folgt die **(defekte) Verweilzeitdichte**

$$\hat{f}(s) = \frac{Q [E_{(+1)} f u_T P + E_{(-1)} W]}{E_{(+1)} f u_T P (V_B s + Q) + E_{(-1)} W (V_B s + Q + f u_B P S)}$$

mit

$$W = \sqrt{D_{eff} (s + k_e)}$$

$$E_{(\pm 1)} = e^{2L \sqrt{\frac{s+k_e}{D_{eff}}}} \pm 1$$

Unter Verwendung des hyperbolischen Tangens in der Form  $(e^{2x} - 1)/(e^{2x} + 1)$  ergibt sich

$$\hat{f}(s) = \frac{Q \left[ f u_T P + \tanh \left( L \sqrt{\frac{s+k_e}{D_{eff}}} \right) \sqrt{D_{eff} (s + k_e)} \right]}{f u_T P (V_B s + Q) + \tanh \left( L \sqrt{\frac{s+k_e}{D_{eff}}} \right) \sqrt{D_{eff} (s + k_e)} (V_B s + Q + f u_B P S)}$$

und nach weiteren äquivalenten Umformungen folgt

$$\hat{f}(s) = \frac{1}{1 + \frac{V_B}{Q} \left( s + \frac{\frac{f u_B S}{f u_T V_B} \sqrt{D_{eff} (s+k_e)} \tanh \left( L \sqrt{\frac{s+k_e}{D_{eff}}} \right)}{1 + \frac{1}{f u_T P} \sqrt{D_{eff} (s+k_e)} \tanh \left( L \sqrt{\frac{s+k_e}{D_{eff}}} \right)} \right)}$$

Bei näherer Betrachtung läßt  $\hat{f}(s)$  die allgemeine Struktur  $\hat{f}_X(s + \hat{\rho}(s))$  des stochastischen Modells, mit  $\hat{f}_X$  entsprechend Glg. (3.27) und

$$\hat{\rho}(s) = \frac{\frac{f u_B S}{f u_T V_B} \sqrt{D_{eff} (s + k_e)} \tanh \left( L \sqrt{\frac{s+k_e}{D_{eff}}} \right)}{1 + \frac{1}{f u_T P} \sqrt{D_{eff} (s + k_e)} \tanh \left( L \sqrt{\frac{s+k_e}{D_{eff}}} \right)}$$

erkennen. Nach **Reparametrisierung** gemäß Glg. (3.9)–(3.11), S. 19, und der Beziehung

$$d = \frac{L^2}{D_{eff}} \quad (4.9)$$

ergibt sich

$$\hat{\rho}(s) = \frac{\frac{v}{d} \sqrt{d (s + k_e)} \tanh \left( \sqrt{d (s + k_e)} \right)}{1 + \frac{v}{dk} \sqrt{d (s + k_e)} \tanh \left( \sqrt{d (s + k_e)} \right)} \quad (4.10)$$

Aufgrund des Zusammenhangs (3.26) führt dies auf

$$\hat{f}_Y(s) = \frac{1}{1 + \frac{v}{dk} \sqrt{d (s + k_e)} \tanh \left( \sqrt{d (s + k_e)} \right)} \quad (4.11)$$

Die Verweilzeitdichte der applizierten Substanz bei Metabolisierung ist somit durch die Gleichung

$$\hat{f}(s) = \hat{f}_X \left( s + k \left[ 1 - \frac{1}{1 + \frac{v}{dk} \sqrt{d(s+k_e)} \tanh(\sqrt{d(s+k_e)})} \right] \right) \quad (4.12)$$

gegeben. Tab. 4.2 stellt die wichtigsten **Grenzfälle** des erweiterten Permeations-Diffusions-Modells zusammen: keine Elimination ( $k_e \rightarrow 0$ ), schnelle Diffusion ( $d \rightarrow 0$ ), Wegfall der Permeationsbarriere ( $k \rightarrow \infty$ ) bzw. keinerlei Membrandurchlässigkeit ( $k \rightarrow 0$ ).

<b>Modell:</b> $\hat{f}(s) = \hat{f}_X(s + \hat{\rho}(s)) = \hat{f}_X \left( s + k \left[ 1 - \hat{f}_Y(s) \right] \right)$		
<b>Grenzfall</b>	$\hat{\rho}(s)$	$\hat{f}_Y(s)$
<b>Keine Metabolisierung</b>		
$k_e \rightarrow 0$	$\frac{\frac{v}{d} \sqrt{ds} \tanh(\sqrt{ds})}{1 + \frac{v}{dk} \sqrt{ds} \tanh(\sqrt{ds})}$	$\frac{1}{1 + \frac{v}{dk} \sqrt{ds} \tanh(\sqrt{ds})}$
<b>Keine langsame intrazelluläre Diffusion</b>		
$d \rightarrow 0$	$\frac{kv(s+k_e)}{k+v(s+k_e)}$	$\frac{k}{k+v(s+k_e)}$
$k_e \rightarrow 0 :$	$\frac{kvs}{k+vs}$	$\frac{k}{k+vs}$
$k \rightarrow \infty :$	$v(s+k_e)$	$1 - \frac{v(s+k_e)}{k}$
<b>Keine Permeabilitätsbarriere</b>		
$k \rightarrow \infty$	$\frac{v}{d} \sqrt{d(s+k_e)} \tanh(\sqrt{d(s+k_e)})$	$1 - \frac{v}{dk} \sqrt{d(s+k_e)} \tanh(\sqrt{d(s+k_e)})$
<b>Keine Membrandurchlässigkeit</b>		
$k \rightarrow 0$	0	beliebig

Tabelle 4.2: Grenzfälle des Permeations-Diffusionsmodells mit Elimination

**Vergleich des Diffusionsmodells mit dem um Diffusion erweiterten Goresky-Modells (MID):** Bereits vor der Einführung des Diffusionsmodells durch WEISS UND ROBERTS stand mit dem erweiterten Goresky-Modells (Luxon, B. A. und Weisiger, R. A., 1993) ein Modell mit radialer Diffusion als Verteilungsprozeß innerhalb der (Leber-)Zelle zur Verfügung.

Während das Goresky-Modell die Leber als ein System identischer paralleler Röhren mit umgebender Zellschicht auffaßt, die sich allein in ihren Transitzeiten unterscheiden, ist das allgemeine stochastische 2-Phasen-Modell (Basismodell des Diffusionsmodells) frei von speziellen Annahmen zur Anordnung der Sinusoide. Obwohl das Goresky-Modell (S. 20f.) von diesen einschränkenden Voraussetzungen ausgeht, zeigt sich im Ergebnis der Verknüpfung der Transitzeitfunktionen der einzelnen Röhren, Gleichung (3.15), die Struktur des stochastischen 2-Phasen-Modells, Gleichung (3.25):

$$\hat{c}(s) = \hat{\Psi}(s + \hat{k}(s)) \quad \text{versus} \quad \hat{f}(s) = \hat{f}_X(s + \hat{\rho}(s))$$

Dabei wird die Funktion  $\hat{\Psi}(s)$ , die als Wahrscheinlichkeits-Dichtefunktion der einzelnen Röhren-Transitzeiten interpretiert wird, wie  $\hat{f}_X(s)$  über einen nicht-permeablen intravaskulären Indikator experimentell bestimmt.

Die Gewebe-Verteilungsfunktionen  $\hat{k}(s)$  und  $\hat{\rho}(s)$ , verglichen unter der Annahme gleicher Permeabilitäten des Gewebeein- und -austritts,  $P_1 = P_2 = P$ , und der Verwendung einer einheitlichen Nomenklatur ( $t_{diff} = d$ ,  $k_1/k_2 = v$ ,  $k_3 = k_e$ ), stimmen nicht überein. Ursache ist die unterschiedliche Modellierung der Elimination: im Diffusionsmodell als Metabolisierung innerhalb der Zelle, im erweiterten Goresky-Modell als Exkretion in die Gallenflüssigkeit, modelliert durch die Randbedingung am Ende des Diffusionsgebietes ( $z = L$ ;  $x$  axiale Koordinate und  $v(x, z, t)$  intrazelluläre Konzentration),

$$-D_{eff} \frac{\partial v(x, z = L, t)}{\partial z} = P_3 v(x, z = L, t) \quad (4.13)$$

Für den Grenzfall einer gegen Null strebenden Elimination sind die beiden Funktionen  $\hat{k}(s)$  und  $\hat{\rho}(s)$  identisch. Die Gleichheit für  $\hat{k}(s)$  und  $\hat{\rho}(s)$  ergibt sich auch dann, wenn statt der Eliminationsratenkonstante sehr schnelle Diffusion ( $t_{diff} \rightarrow 0$  bzw.  $d \rightarrow 0$ ) betrachtet wird. Trotz unterschiedlich modellierter Eliminationsprozesse entsteht in diesem Fall die gleiche Gewebeverteilungsfunktion, allein die Interpretation der Eliminationsratenkonstante ist verschieden.

Zusammenfassend erweist sich das erweiterte Goresky-Modell als Spezialfall des stochastischen 2-Phasen-Modells. Aufgrund der frei wählbaren Wahrscheinlichkeitsdichte  $\hat{\Psi}(s)$  zeigt es die Vorteile des stochastischen 2-Phasen-Modells. Das Diffusions-erweiterte Goresky-Modell und das auf dem 2-Phasen-Modell basierende sogenannte erweiterte Diffusionsmodell unterscheiden sich allein im Eliminationsprozeß und dessen Modellierung.

Die Flexibilität, wie sie sich in den Gleichungen des *erweiterten* Goresky-Modells darstellt, wurde in den Modellgleichungen des ursprünglichen Goresky-Modells bisher nicht erkannt. Eine Ursache dafür ist in der Rücktransformation des Modells in den Zeitbereich zu sehen. Bei der praktischen Anwendung des Goresky-Modells wird die Verweilzeitdichte des intravaskulären Indikators in der Regel durch Spline-Funktionen angepaßt. LUXON UND WEISIGER nutzten für Simulationsuntersuchungen des erweiterten Modells, wie bei (Roberts, M. S. et al., 1988) vorgeschlagen, die Inverse Gauss-Funktion. Mit der Wahl einer geeigneten intravaskulären Verweilzeitdichte beschäftigt sich das Kapitel 4.2.

#### 4.1.2 Hepatische Durchlässigkeit und Mittlere Transitzeit

Die hepatische Durchlässigkeit und die mittlere Transitzeit der applizierten Substanz berechnen sich über die Momente der Verweilzeitdichte (S. 8).

Dabei gilt für die Durchlässigkeit  $F_H$

$$\overline{F_H} = \lim_{s \rightarrow 0} \hat{f}_X(s + \hat{\rho}(s)) \quad (4.14)$$

und die mittlere Transitzeit  $MTT$  ergibt sich über

$$MTT = \overline{F_H}^{-1} \lim_{s \rightarrow 0} - \frac{\partial \hat{f}_X(s + \hat{\rho}(s))}{\partial s} \quad (4.15)$$

Unter Annahme einer gewichteten Summe zweier Inverser Gauss-Funktionen (Glg. 4.20) als Modell der intravaskulären Mischung, die sich aus den Untersuchungen des folgenden Kapitels 4.2 ergibt, gilt für obige Kenngrößen

$$\overline{F_H} = p \overline{IG_{0,1}} + (1 - p) \overline{IG_{0,2}} \quad (4.16)$$

und

$$MTT = \overline{F_H}^{-1} (1 + \hat{\rho}_0^{\partial}) [p \overline{IG_{0,1}} r_1 + (1 - p) \overline{IG_{0,2}} r_2] \quad (4.17)$$

mit  $p \in [0, 1]$  sowie

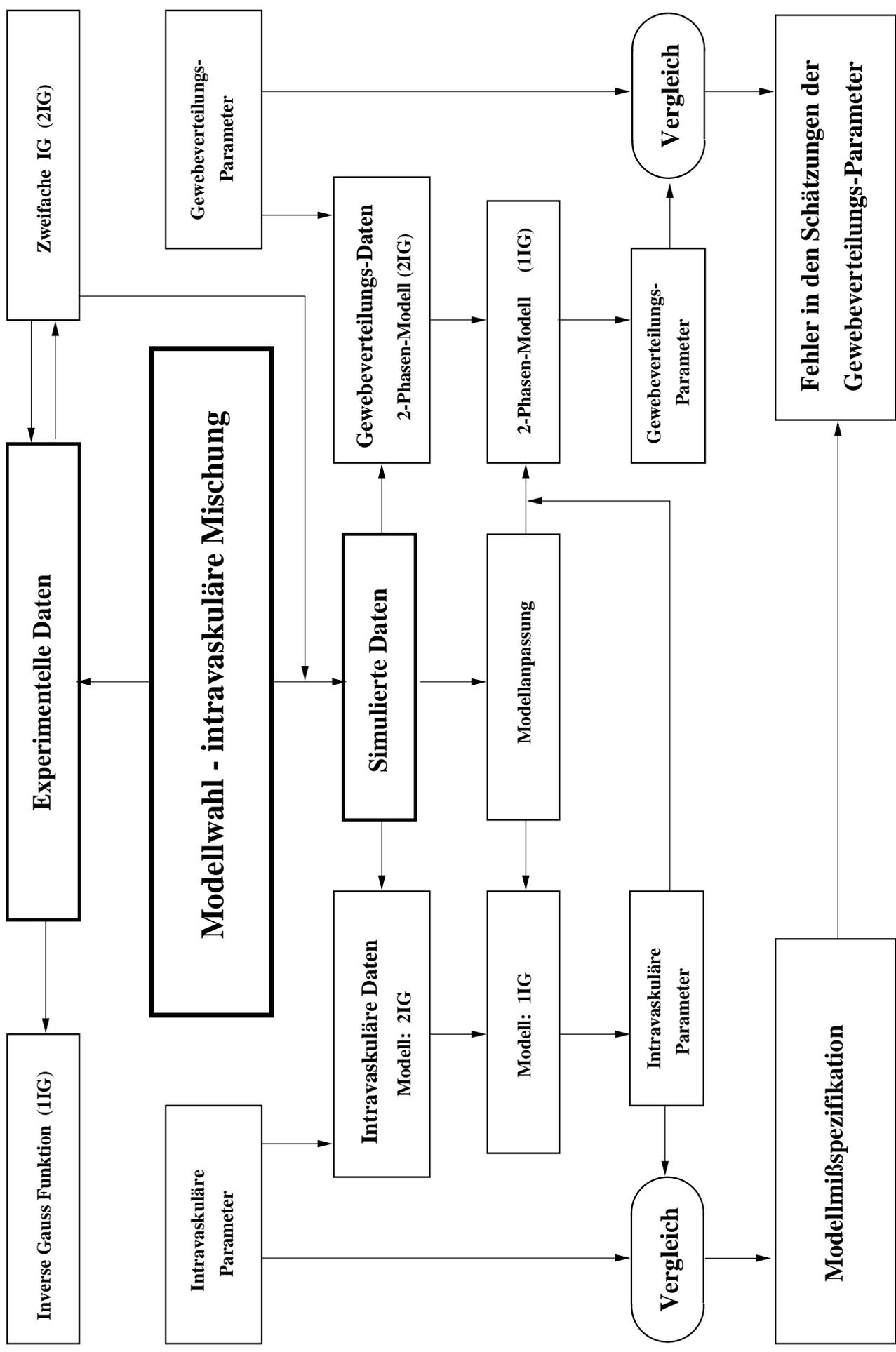
$$\begin{aligned} \overline{IG_{0,i}} &= \exp \left( \frac{1}{CV_i^2} - \sqrt{\frac{2 MT_i}{CV_i^2} \left( \hat{\rho}_0 + \frac{1}{2 MT_i CV_i^2} \right)} \right) \quad i=1, 2 \\ r_i &= \frac{MT_i}{CV_i^2} \left[ \frac{2 MT_i}{CV_i^2} \left( \hat{\rho}_0 + \frac{1}{2 MT_i CV_i^2} \right) \right]^{-1/2} \\ \hat{\rho}_0 &= \frac{\frac{v}{d} \sqrt{d k_e} \tanh(\sqrt{d k_e})}{1 + \frac{v}{d k} \sqrt{d k_e} \tanh(\sqrt{d k_e})} \\ \hat{\rho}_0^{\partial} &= \frac{\hat{\rho}_0}{2} \left( 1 - \frac{\hat{\rho}_0}{k} \right) \left( \frac{d(1 - \tanh^2(\sqrt{d k_e}))}{\sqrt{d k_e} \tanh(\sqrt{d k_e})} + \frac{1}{k_e} \right) \end{aligned} \quad (4.18)$$

Diese Gleichungen bilden die Grundlage der Simulationen zum Einfluß unterschiedlicher Verteilungs- und Eliminationsparameter des Kapitels 4.3.1.

### 4.1.3 Zusammenfassung

Im Ergebnis dieses Kapitels steht das um Metabolisierung erweiterte Diffusionsmodell zur Charakterisierung hepatischer Verteilungs- und Eliminationsprozesse zur Verfügung (Glg. 4.12). Da es sich im Gegensatz zu bisherigen Lebermodellen durch ein frei wählbares intravaskuläres Modell auszeichnet, stellt es eine Verallgemeinerung dar, die die Extremmodelle und das Dispersionsmodell als Spezialfälle enthält (siehe Tab. 3.2).

Neben der Verweilzeitdichte zur Beschreibung der Konzentrations-Zeit-Verläufe sind die Bestimmungsgleichungen der hepatischen Verfügbarkeit und mittleren Organtransitzeit (Glg. 4.16 und 4.17) gegeben. Sie beziehen sich auf das im nachfolgenden Abschnitt als geeignet erkannte intravaskuläre Modell: die gewichtete Summe zweier Inverser Gauss-Funktionen.



## 4.2 Intravaskuläre Mischung — Modellwahl

Die Anwendung des stochastischen 2-Phasen-Modells wird wesentlich von der Wahl des Modells der intravaskulären Mischung bestimmt. Die Freiheit der Wahl dieser Funktion stellt die Flexibilität des Gesamtmodells dar, erfordert jedoch simultane Injektionen intravaskulärer Marker und stellt vor die Herausforderung, das jeweils geeignetste Modell der intravaskulären Verteilung zu bestimmen.

Ursache der intravaskulären Mischungsprozesse in der Leber ist die Heterogenität des Gefäßsystems (siehe Anhang A), das durch ständige Verzweigung und Rekombination der einzelnen Kapillaren zur Mischung und Neuverteilung des Blutes führt.

In der Charakterisierung dieser Prozesse unterscheiden sich bisherige Lebermodelle grundlegend. Im Gegensatz zu Modellen, wie dem Gleichverteilungs- und Röhrenmodell, die von vollständiger bzw. keiner Mischung zwischen den einzelnen Gefäßen des Systems ausgehen, spiegeln sich intravaskuläre Mischungsprozesse beim Dispersionsmodell (Roberts, M. S. und Rowland, M., 1985; Roberts, M. S. und Rowland, M., 1986) in einem der Modellparameter, der sogenannten Dispersionszahl  $D_N$ , wider. Bei Annahme gemischter Randbedingungen (Roberts, M. S. und Rowland, M., 1986) entspricht das Dispersionsmodell einer Inversen Gauss-Funktion mit relativer Dispersion  $CV^2 = 2 D_N$ . Auch die Erweiterung zum sogenannten Zwei-Kompartiment-Dispersionsmodell für Barriere-limitierte Verteilung enthält diese Funktion implizit als Transitzeitdichte intravaskulärer Marker bzw. hochpermeabler Substanzen, die Fluß-limitierter Verteilung unterliegen.

Auf der Suche nach einem geeigneten intravaskulären Modell zeigt dieses Kapitel, daß die einfache Inverse Gauss-Funktion im Dispersionsmodell die Daten des intravaskulären Markers im Tailbereich nicht exakt beschreibt (Weiss, M. et al., 1997). Außerdem beschäftigt es sich mit möglichen Fehlern in den Parameterschätzungen eliminerter und Barriere-limitierter Substanzen, verursacht durch Modellmißspezifikation im intravaskulären Modell.

### 4.2.1 Die zweifache Inverse Gauss-Funktion (2IG) als empirisches Modell

#### 4.2.1.1 Die Inverse Gauss-Funktion (1IG)

Nachdem BACHELIER (1900) und EINSTEIN (1905) die Normalverteilung als Modell der Brownschen Bewegung hergeleitet hatten, betrachtete SCHRÖDINGER 1915 Brownsche Bewegung mit positiver Drift und erhielt die First-Passage-Verteilung zur Positionsbeschreibung des sich bewegenden Teilchens. 1941 erkannte TWEEDIE den inversen Zusammenhang dieser Verteilung zur Kumulanten-generierenden Funktion (Tweedie, M. C. K., 1941). Seitdem wird sie als *Inverse Gauss-Verteilung* bezeichnet (Tweedie, M. C. K., 1957; Chhikara, R. S. und Folks, J. L., 1989). Ihre Dichtefunktion

$$f(t) = \sqrt{\frac{MTT}{2 \pi CV^2 t^3}} \exp \left[ -\frac{(t - MTT)^2}{2 CV^2 MTT t} \right] \quad (4.19)$$

ergibt sich auch als Lösung der Konvektions-Dispersions-Gleichung (S. 16: Glg. (3.1) mit  $r(x)g(C) = 0$ ) unter Annahme gemischter Randbedingungen. Durch den fehlenden Eliminationsterm  $r(x)g(C)$  unterscheidet sich die Konvektions-Dispersions-Gleichung vom Dispersionsmodell und ist damit die dem Dispersionsmodell inhärente Funktion der intravaskulären Verteilung.

An Daten intravaskulärer Marker vom Hinterbein der Ratte zeigte sich erstmals, daß die einfache Inverse Gauss-Funktion (1IG) die Transitzeitdichten im Tailbereich nicht vollständig beschreibt (Weiss, M.

und Roberts, M. S., 1996). Als flexibleres, allerdings rein empirisches Modell, wurde deshalb die gewichtete Summe zweier Inverser Gauss-Funktionen (2IG)  $f_i(t, MT_i, CV_i^2)$ ,  $i = 1$  und  $2$ , gemäß Gleichung (4.19) vorgeschlagen

$$f_X(t) = p f_1(t) + (1 - p) f_2(t) \quad (4.20)$$

Die zugehörige mittlere Transitzeit und relative Dispersion ergeben sich aufgrund der Additivität von Mittelwert und Varianz zu

$$MTT = p MT_1 + (1 - p) MT_2 \quad (4.21)$$

$$CV^2 = \frac{p(CV_1^2 + 1) MT_1^2 + (1 - p)(CV_2^2 + 1) MT_2^2}{MTT^2} - 1 \quad (4.22)$$

#### 4.2.1.2 Vergleich der Modellanpassungen mit 1IG und 2IG

Zur Prüfung der Validität der Inversen Gauss-Funktion als Modell intravaskulärer Mischung in der Leber stellt dieser Abschnitt die Anpassungen der einfachen und zweifachen Inversen Gauss-Funktion an intravaskuläre Daten der isoliert perfundierten Leber gegenüber. Es zeigt sich, daß die 1IG auch im Fall der Leber zu Abweichungen im Tailbereich führt, die mit der 2IG vermieden werden können. Selbst Wichtung verbessert das nicht-zufällige Verhalten in den Residuen im Falle der 1IG nicht.

Ausgewertet wurden  $^{125}\text{I}$ -Albumin-Daten der isoliert perfundierten Rattenleber nach Bolusinjektion bei einem Fluß von  $Q = 15$  ml/min (Mellick, G. D., 1995). Die Daten waren Teil einer Serie von 60 Experimenten und stellten die homogenste Gruppe dar. Die Probenahme erfolgte bis 90 sec nach Applikation in Zeitintervallen von 1 bzw. 2 sec.

Da bei der Datenauswertung der Kathetereinfluß berücksichtigt werden muß (Goresky, C. A. und Silverman, M., 1964), wurden die Modelle im Laplace-Raum installiert. Die Faltung der einzelnen Modellfunktionen vereinfacht sich dabei zum Produkt (siehe S. 6). Für den allgemeineren Fall der 2IG ergibt sich die korrigierte  $^{125}\text{I}$ -Albumin-Konzentration deshalb wie folgt

$$C_A(t) = \frac{D}{Q} \mathcal{L}^{-1} \left\{ \hat{f}_{cath}(s) \left[ p \hat{f}_1(s) + (1 - p) \hat{f}_2(s) \right] \right\} \quad (4.23)$$

mit

$$\hat{f}_i(s) = \exp \left\{ \frac{1}{CV_i^2} - \sqrt{\frac{2 MT_i}{CV_i^2} \left( s + \frac{1}{2 MT_i CV_i^2} \right)} \right\} \quad i = 1, 2 \quad (4.24)$$

der Laplace-transformierten Inversen Gauss-Funktion (Chhikara, R. S. und Folks, J. L., 1977) und  $\hat{f}_{cath}$  der Katheter-Verweilzeitdichte, die auf Basis eines unabhängigen Katheter-Experimentes bestimmt wurde. Zur Beschreibung der Katheter-Outflow-Profile erwies sich eine einfache Inverse Gauss-Funktion als geeignet.

Die Modellanpassungen erfolgten mit der Software ADAPT II (D'Argenio, D. Z. und Schumitzky, A., 1992) und einer zusätzlich implementierten FORTRAN-Routine des TALBOT-Algorithmus zur numerischen Laplace-Rücktransformation (Murli, A. und M. Rizzardi, 1990; Schalla, M. und Weiss, M., 1999).

Abbildung 4.1 zeigt die Konzentrations-Zeit-Verläufe und Modellanpassungen der Datensätze mit schlechtester und bester Daten-Beschreibung. Im Gegensatz zur 2IG, die die Daten bei Wichtung  $1/y^2$  gut beschreibt (Abb. 4.1 A), paßt die 1IG entweder nur den Peak im Anfangsbereich bis etwa 20 sec (ohne Wichtung, Abb. 4.1 B) oder nur den Tail (bei Wichtung, Abb. 4.1 C) an.

Die Ergebnisse sind in Tab. 4.4 und Tab. 4.3 zusammengestellt und enthalten neben den geschätzten Werten der Parameter auch die Werte des Akaike-Kriteriums. Obwohl das *AIC*-Kriterium in diesem Fall zur Modellselektion nicht adäquat ist (unterschiedliche Wichtungen), stellt es einen empirischen Parameter der Güte der Anpassung dar, der die Anzahl der Modellparameter einbezieht.

Die Anwendung der 1IG anstelle der geeigneteren 2IG führt zum Anstieg des Mittelwertes der *AIC*-Werte von 54 auf 105. Dies impliziert eine zu hohe mittlere Transitzeit (14.6 vs. 9.3 sec) und eine Unterschätzung der relativen Dispersion  $CV^2$  (0.69 vs. 0.86).

Ohne Wichtung ergibt sich für die Anpassung der 1IG eine zu geringe mittlere Transitzeit (6.11 vs. 9.3 sec) und eine stark unterschätzte relative Dispersion (0.25 vs. 0.86). Diese Ergebnisse der 1IG (Tab. 4.3) korrespondieren mit denen der gewichteten Summe zweier Inverser Gauss-Funktionen (Tab. 4.4): Bei einem relativen Gewicht von  $p = 0.8$  beschreibt die erste IG den Peak mit  $MT_1 = 7.08$  sec und  $CV_1^2 = 0.19$  und die zweite den Tail der Kurve, wobei sich  $MT_2 = 18.86$  sec und  $CV_2^2 = 0.69$  ergeben. Die Tatsache, daß die einfache Inverse Gauss-Funktion in Abhängigkeit der Datenwichtung entweder nur den Initial- oder den Tailbereich richtig beschreibt, zeigt die Grenzen dieser Funktion und weist auf die 2IG als geeigneteres Modell hin.

Zugleich unterstreichen diese Ergebnisse die Bedeutung sowohl des experimentellen Designs als auch der Wichtung der Daten. Ein ungünstiges experimentelles Design, das nur die Anfangsphase von ca. 15 sec umfaßt, läßt die Problematik der 1IG unerkannt. Deshalb blieb das Long-Tail-Problem bisher unbeobachtet, falls (was nicht unbedingt notwendig war) unabhängige Informationen zur intrahepatischen Mischung auf Grundlage der Transitzeitdichte intravaskulärer Marker erhoben wurden. Allerdings gab es bei halblogarithmischer Darstellung in einigen Arbeiten, so z. B. bei Saccharose (Chou, Ch.-H. et al., 1995) und Wasser (Hussein, Z. et al., 1994), erste Hinweise auf systematische Abweichungen im Tailbereich.

Die vorliegenden Ergebnisse weisen darauf hin, daß bereits relative Dispersionen von  $CV^2 = 0.5$  (d. h.  $D_N \sim 0.25$ ) Unterschätzungen der intravaskulären Mischung, bedingt durch Modellmißspezifikation und/oder inadäquates Sampling Design, darstellen.

Welche Auswirkungen dieser Modellfehler auf die Parameterschätzungen des Dispersionsmodells für gewebeverteilte Substanzen hat, untersucht der folgende Abschnitt.

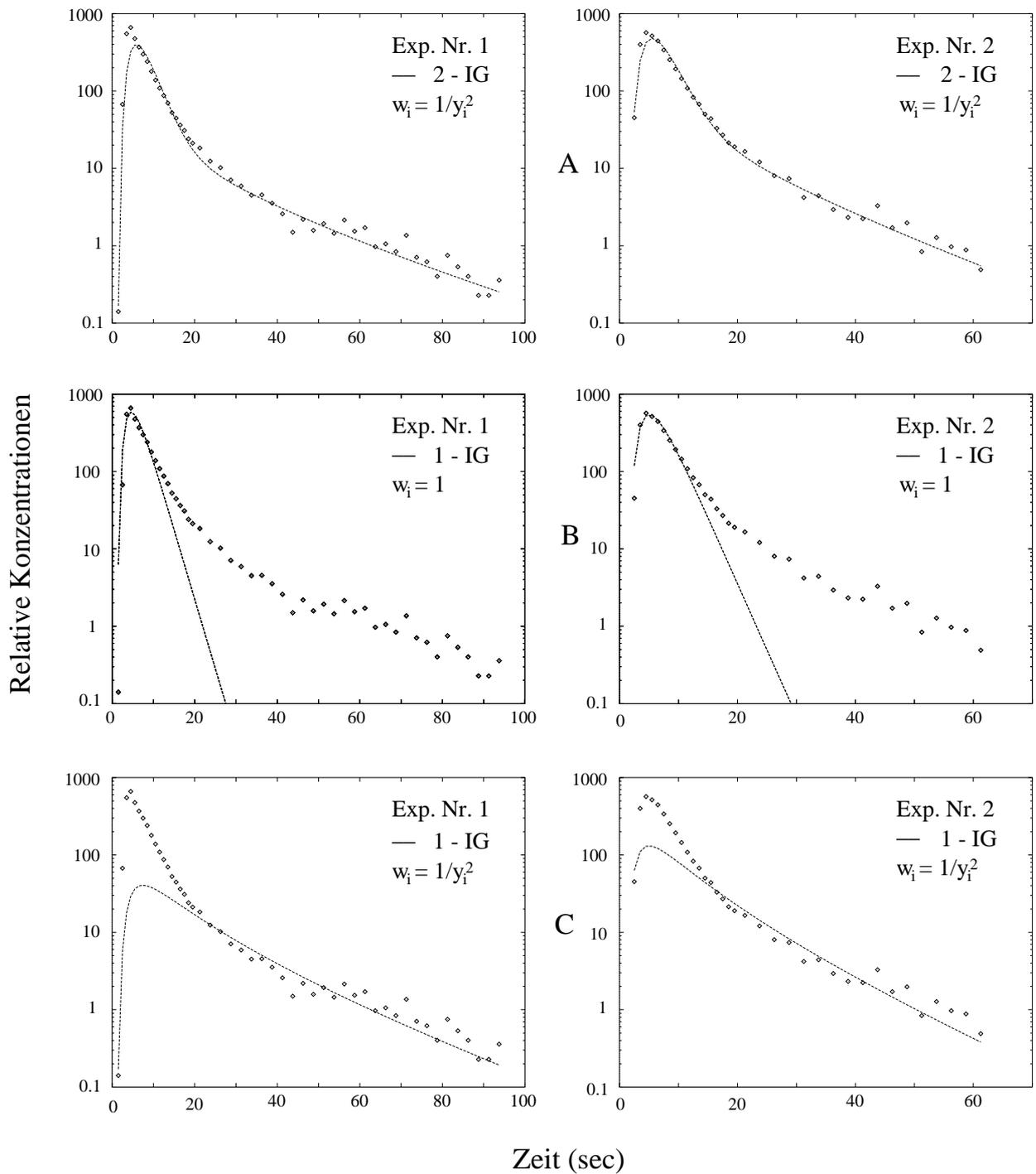


Abbildung 4.1:  $^{125}\text{I}$ -Albumin-Daten ( $\diamond$ ) der isoliert perfundierten Rattenleber ( $Q = 15 \text{ ml/min}$  mit Modell-anpassung (—): (A) Anpassung der 2IG, Glg. (4.23), bei Wichtung  $1/y^2$  für die schlechteste (Exp.1) und beste Anpassung (Exp. 2), (B) ungewichtete und (C) gewichtete Anpassung der 1IG, Glg. (4.23 mit  $p = 1$ )

Exp. Nr.	B Daten ungewichtet			C Daten gewichtet ( $w_i = 1/y_i^2$ )		
	$CV^2$	$MTT$ (sec)	$AIC$	$CV^2$	$MTT$ (sec)	$AIC$
1	0.231	5.81	532	0.769	18.4	127
2	0.223	6.31	336	0.702	11.2	66
3	0.223	6.64	368	0.493	16.5	90
4	0.216	2.07	398	0.645	13.5	80
5	0.316	6.89	465	0.691	14.7	132
6	0.334	6.86	476	0.671	15.3	126
7	0.222	7.27	398	0.870	12.8	95
8	0.206	7.02	444	0.674	14.3	127
$\bar{x}$	0.246	6.11	427	0.689	14.6	105
<i>s.d.</i>	0.049	1.69	64	0.107	2.23	26

Tabelle 4.3: Anpassung der 1IG an  $^{125}\text{I}$ -Albumin Outflow-Daten der isoliert perfundierten Rattenleber ohne (Abb. 4.1 B) und mit (Abb. 4.1 C) Datenwichtung

Exp. Nr.	$MT_1$ (sec)	$MT_2$ (sec)	$CV_1^2$	$CV_2^2$	$p$	$CV^2$	$MTT$ (sec)	$AIC$
1	7.19	23.0	0.202	0.791	0.848	1.140	9.59	62.4
2	6.85	15.8	0.187	0.664	0.801	0.749	8.41	11.9
3	8.43	25.2	0.199	0.461	0.832	0.792	11.30	52.1
4	6.92	17.3	0.161	0.609	0.761	0.778	9.39	31.3
5	7.07	19.0	0.223	0.731	0.864	0.822	8.68	78.0
6	6.84	18.7	0.203	0.688	0.823	0.885	8.94	75.5
7	7.12	16.8	0.205	0.852	0.774	0.911	9.32	34.4
8	6.50	15.2	0.157	0.710	0.722	0.824	8.92	88.3
$\bar{x}$	7.08	18.9	0.192	0.688	0.803	0.862	9.31	54.3
<i>s.d.</i>	0.60	3.52	0.023	0.119	0.048	0.123	0.873	26.6

Tabelle 4.4: Anpassung der 2IG an  $^{125}\text{I}$ -Albumin Outflow-Daten der isoliert perfundierten Rattenleber bei Datenwichtung (Abb. 4.1 A)

### 4.2.2 Simulationen zum Einfluß der Modellmißspezifikation

Im Folgenden geht es darum, den Einfluß der Modellmißspezifikation im Modell der intravaskulären Verteilung auf die Parameterschätzungen eliminiertes Substanzen zu untersuchen.

Grundlage dieser Untersuchungen bildet das im Kapitel 4.1 erweiterte stochastische 2-Phasen-Modell ohne Diffusion,

$$\hat{f}(s) = \hat{f}_X \left[ s + \frac{k v (s + k_e)}{k + v (s + k_e)} \right] \quad (4.25)$$

welches das Dispersionsmodell in Form des Ein-Kompartiment- (Roberts, M. S. und Rowland, M., 1985)

$$\hat{f}(s) = \exp \left[ \frac{1 - \sqrt{1 + \frac{4 D_N V_B}{Q} ((1 + v) s + v k_e)}}{2 D_N} \right] \quad (4.26)$$

und Zwei-Kompartiment-Dispersionsmodells (Roberts, M. S. et al., 1988; Yano, Y. et al., 1989)

$$\hat{f}(s) = \exp \left[ \frac{1 - \sqrt{1 + \frac{4 D_N V_B}{Q} \left( s + k_{12} - \frac{k_{12} k_{21}}{s + k_{21} + k_e} \right)}}{2 D_N} \right] \quad (4.27)$$

als Spezialfälle enthält.

Die dem Kapitel 4.2 vorangestellte Übersicht verdeutlicht die Vorgehensweise der folgenden Abschnitte schematisch:

1. Datenerzeugung: Simulation der Konzentrations-Zeit-Profile
  - (a) des intravaskulären Markers (Modell: 2IG)
  - (b) ausgewählter gewebeverteilter und eliminiertes Substanzen (Modell: 2-Phasen-Modell ohne Diffusion mit 2IG)
2. Modellanpassung obiger Daten zur Schätzung der Verteilungs- und Eliminationsparameter
  - (a) des intravaskulären Markers (Modell: 1IG)
  - (b) ausgewählter gewebeverteilter und eliminiertes Substanzen (Modell: 2-Phasen-Modell ohne Diffusion mit 1IG)
3. Vergleich der zur Simulation genutzten Parameter mit den durch die Modellanpassung geschätzten Parametern

Die simulierten Daten wurden fehlerfrei erzeugt, um ausschließlich die Auswirkungen der Modellmißspezifikation zu quantifizieren.

#### 4.2.2.1 Auswirkungen auf die Schätzung der Verteilungs- und Eliminationsparameter

Die Simulation der fehlerfreien Daten der intravaskulären Verteilung erfolgte auf Basis der Summe zweier Inverser Gauss-Funktionen. Als Parameter wurden — in Anlehnung an die Mittelwerte in Tabelle 4.4 —

$$p = 0.8, MT_1 = 7 \text{ sec}, MT_2 = 18 \text{ sec}, CV_1^2 = 0.2 \text{ und } CV_2^2 = 0.7$$

gewählt. Nach Gleichung (4.21) und (4.22) impliziert dies eine mittlere Verweilzeit von  $MTT_B = 9.2 \text{ sec}$  und eine relative Dispersion von  $CV_B^2 = 0.86$ . Bei einem Fluß von  $Q = 15 \text{ ml/min}$  folgt als intrasinusoidales Verteilungsvolumen  $V_B = 2.3 \text{ ml}$ .

Zur späteren Bestimmung der Gewebeverteilungs- und Eliminationsparameter erfolgte die Schätzung der vaskulären Parameter durch Anpassung einer einfachen Inversen Gauss-Funktion an die simulierten Daten. Der in den Parametern  $MTT_B$  und  $CV_B^2$  auftretende Bias kennzeichnete dabei die durch die IIG verursachte Modellmißspezifikation. Die Ergebnisse in Abbildung 4.2 sind denen der realen Daten (Abb. 4.1) ähnlich.

Bei der Modellanpassung ergab sich als Parametervektor für den ungewichteten Fall ( $MTT_B = 7.4 \text{ sec}$ ,  $CV_B^2 = 0.23$ ) und bei Wichtung ( $MTT_B = 14.5 \text{ sec}$ ,  $CV_B^2 = 0.69$ ), was prozentualen Fehlern von (-20%, -73%) bzw. (+57%, -20%) entspricht, deren Auswirkungen nachfolgend untersucht werden.

Für die Simulationen der Daten gewebeverteilter Substanzen wurden zur Illustration des Einflusses des Verteilungsvolumens  $v = V_T/V_B$  und der Membranpermeabilität  $k = k_{12} = fu_B PS/V_B$  folgende Fälle hoher und niedriger Verteilungsvolumina und Permeabilitäten betrachtet:

- 1)  $v = 2.0 \quad k = \infty$
- 2)  $v = 8.3 \quad k = \infty$
- 3)  $v = 2.0 \quad k = 0.008 \text{ sec}^{-1}$
- 4)  $v = 8.3 \quad k = 2.5 \text{ sec}^{-1}$

Die Parameterkombinationen 3) und 4) korrespondieren mit den für Enalapril (Schwab, A. J. et al., 1990) und Lidocain (Mellick, G. D. und Roberts, M. S., 1996) in der Literatur angegebenen. Für alle vier Fälle wurde die Eliminationsratenkonstante  $k_e = fu_T CL_{int}/V_T$  als gleich angenommen,  $k_e = 0.03 \text{ sec}^{-1}$ . Als Modell intravaskulärer Mischung wurde zur Simulation wiederum die 2IG verwendet; die anschließende Modellanpassung erfolgte mit dem Ein- (Parameterkombinationen 1 und 2) bzw. Zwei-Kompartiment-Dispersionsmodell (Kombinationen 3 und 4). Die Ergebnisse sind in Abbildung 4.3 und 4.4 sowie in Tab. 4.5 zusammengestellt. Im ungewichteten Fall beschreibt das Dispersionsmodell den Tail der Kurve nicht vollständig. Wie erwartet führt die Modellmißspezifikation in allen Fällen zu Fehlern in den Parameterschätzungen. Bei Wichtung sind die Parameterschätzungen in jedem Fall besser. Der Bias verringert sich mit größer werdendem Verteilungsvolumen  $v$  und wächst bei geringer werdender Permeabilität  $k$ . In den Schätzungen der Eliminationsratenkonstante  $k_e$  des in der Praxis relevanteren Zwei-Kompartiment-Dispersionsmodelles sind Fehler von 36 und 43% zu verzeichnen. Aus den optisch guten Anpassungen der Fälle (b2) (Abb. 4.3) und (d2) (Abb. 4.4) wären nahezu fehlerfreie Parameterschätzungen zu vermuten. Daß dies nicht zutrifft, zeigen die in der Größenordnung von 50% liegenden prozentualen Fehler (Tab. 4.5).

Werden die simulierten Daten als Beobachtungen eines idealen Experiments aufgefaßt, ist zusammenfassend festzustellen, daß die Anwendung des Dispersionsmodells zur Auswertung der Daten eine Modellmißspezifikation darstellt, die zu signifikanten Fehlern in den Schätzungen der Parameter führt.

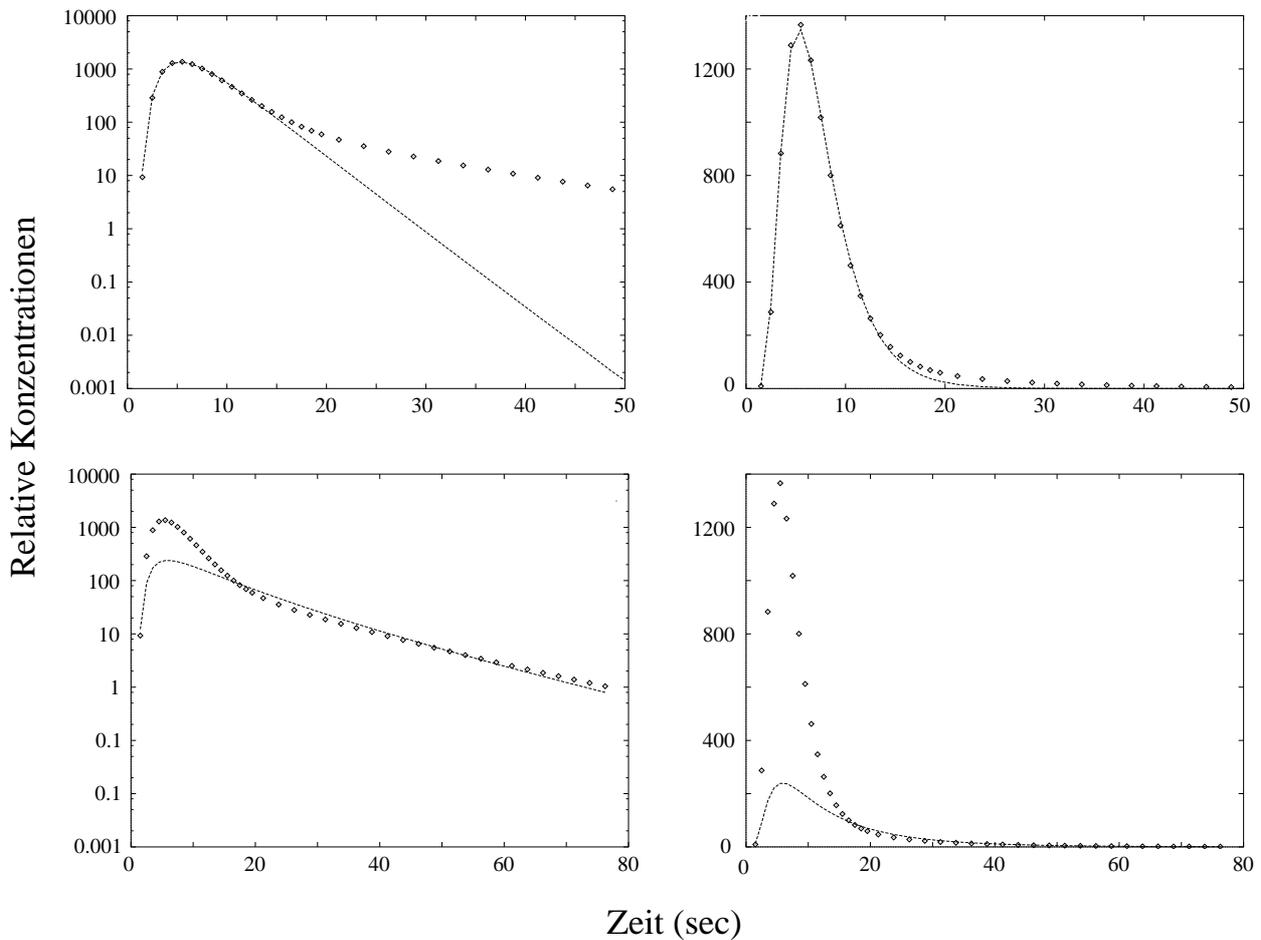


Abbildung 4.2: An die mittels zweifacher Inversen Gauss-Funktion ( $p = 0.8$ ,  $MT_1 = 7$  sec,  $MT_2 = 18$  sec,  $CV_1^2 = 0.2$ ,  $CV_2^2 = 0.7 \rightarrow MTT = 9.2$ ,  $CV^2 = 0.86$ ) simulierten Daten ( $\diamond$ ) wurde die einfache Inverse Gauss-Funktion (—) sowohl ungewichtet (oben; führt auf  $MTT = 7.4$  sec,  $CV^2 = 0.23$ ) als auch gewichtet (unten;  $MTT = 14.5$  sec,  $CV^2 = 0.69$ ) angepaßt. Man beachte die log-lineare (links) und lineare (rechts) Darstellung der relativen Konzentrationen.

Mit der Wahl der Parameter entsprechend der von Lidocain und Enalapril standen sich in den Untersuchungen eine hochpermeable, stark verteilte Substanz und eine wenig permeable Substanz mit geringem Verteilungsvolumen gegenüber. Für erstere wurde das Outflow-Profil anstelle der vaskulären Verteilung, die den Modellfehler enthält, stärker durch die Gewebeverteilung bestimmt. Trotzdem ergaben sich auch dort Fehler von mehr als 40% in den Parameterschätzungen von  $k$  und  $k_e$ . Obwohl die im Dispersionsmodell berücksichtigte intrasinusoidale Mischung (Roberts, M. S. und Rowland, M., 1986; Bass, L. et al., 1987; Weiss, M., 1997) und die gute Beschreibung der an isoliert perfundierten Rattenlebern ohne zusätzliche Transitzeitdichte vaskulärer Referenzen erhobenen Outflow-Profile für Pharmaka, wie z. B. Diclofenac (Evans, A. M. et al., 1993) und Diazepam (Diaz-Garzia, J. M. et al., 1992), bisher aus theoretischer und praktischer Sicht für das Modell sprachen, erweist sich die implizit enthaltene IIG als limitiert.

Auch bei der von LUXON UND WEISIGER (Luxon, B. A. und Weisiger, R. A., 1993) vorgestellten erweiterten MID wurde sie zur Anpassung an das  $^{125}\text{I}$ -Albumin Konzentrations-Zeit-Profil genutzt.

Der Modellfehler aufgrund des unberücksichtigten intravaskulären Tailbereiches trifft bei schlechtem Sampling Design auch auf das Goresky Modell (Goresky, C. A., 1983; Goresky, C. A. et al., 1970; Schwab, A. J. et al., 1990) zu, das die intravaskulären Daten durch kubische Splines approximiert.

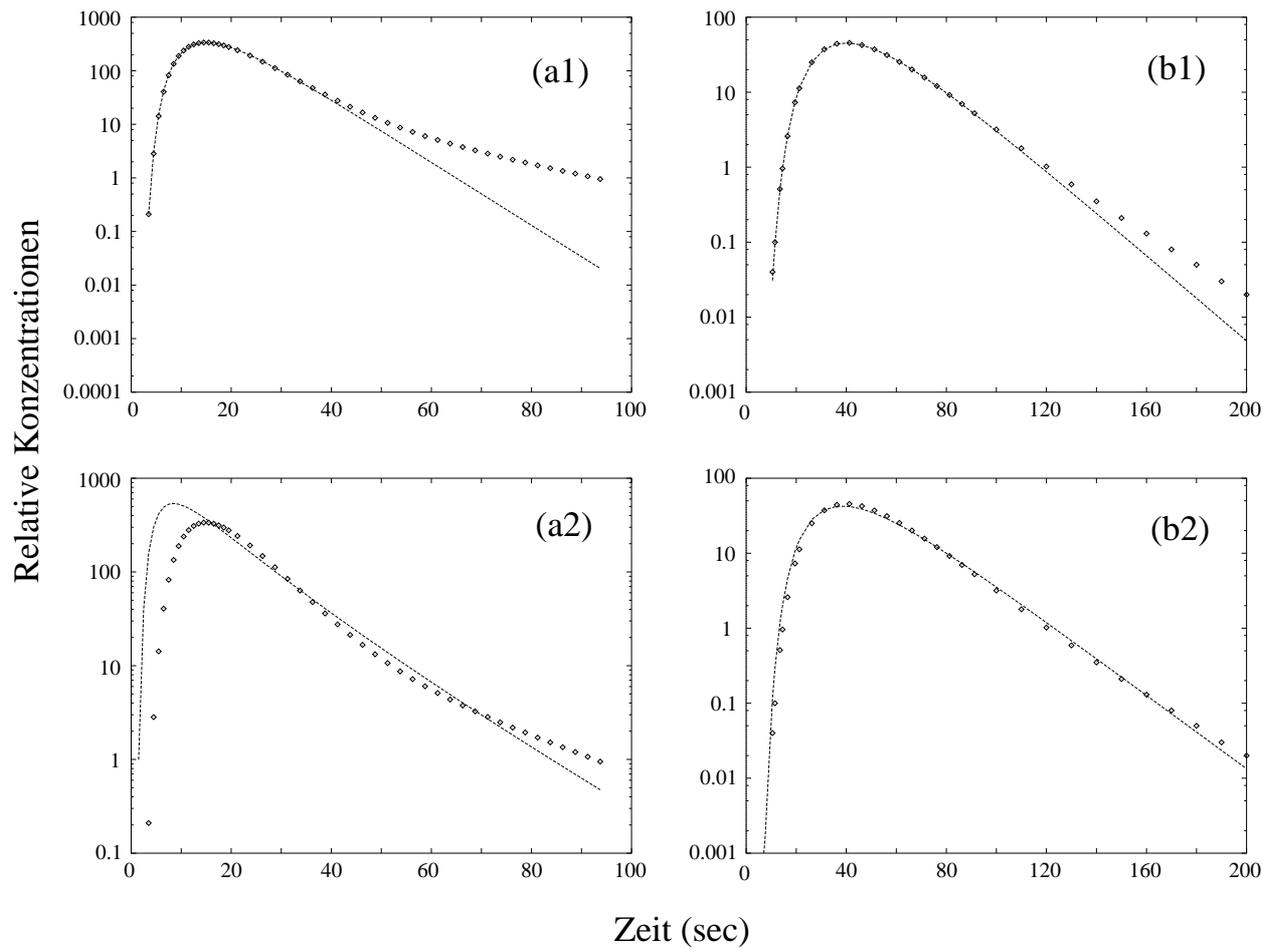


Abbildung 4.3: Simulierte Kurven ( $\diamond$ ) für Fluß-limitierte hepatische Pharmakonverteilung ( $k = \infty$ ) und Elimination ( $k_e = 0.03$ ) mit (a)  $v = 2$  und (b)  $v = 8.3$ , ungewichtet (a1, b1) und mit Wichtung (a2, b2) mittels Ein-Kompartiment-Dispersionsmodell (—; Gleichung (4.26)) angepaßt. (Bias der Parameterschätzungen siehe Tab. 4.5.)

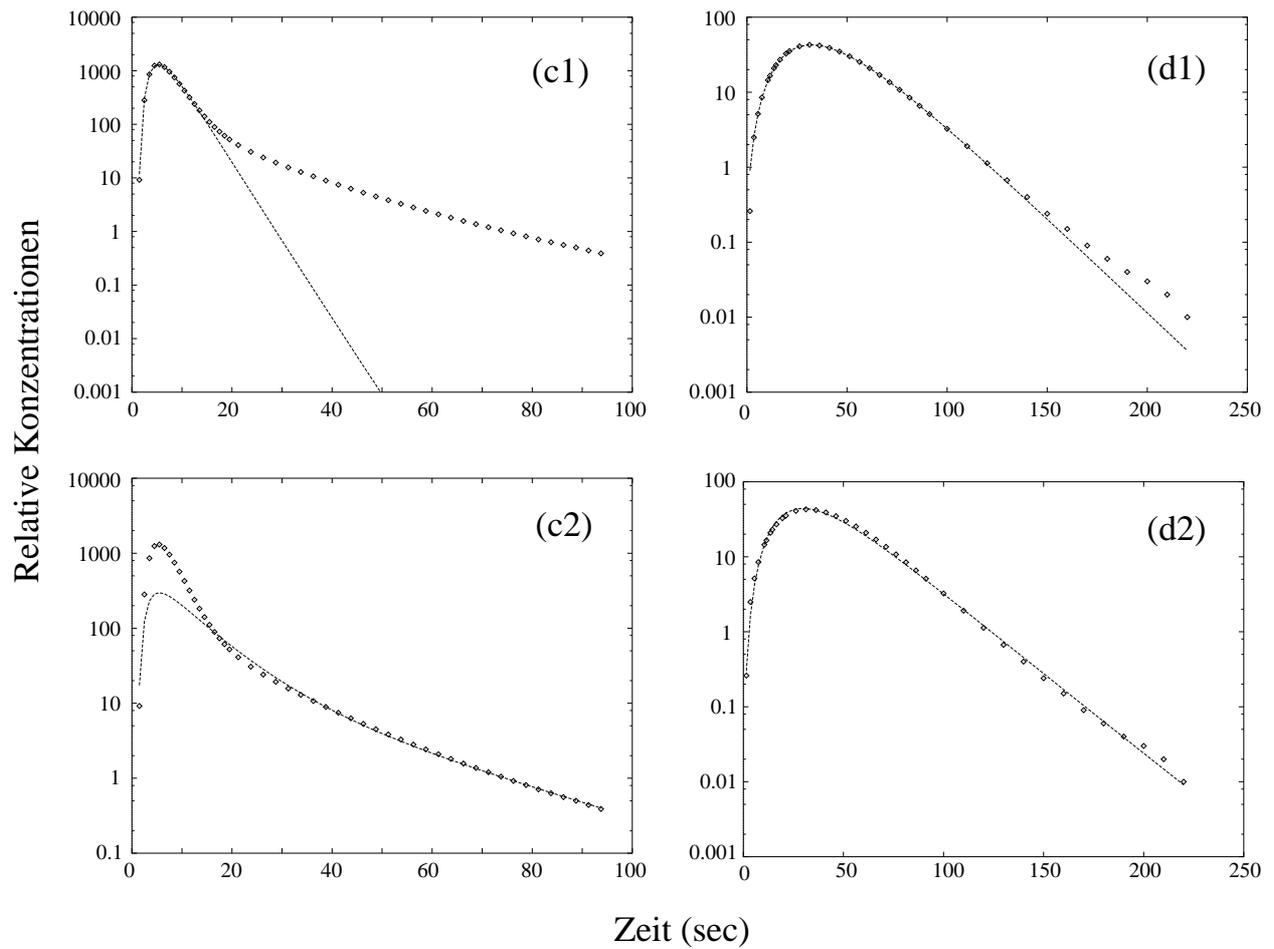


Abbildung 4.4: Simulierte Kurven ( $\diamond$ ) der hepatischen Pharmakaverteilung entsprechend Lidocain (c) und Enalapril (d) mit Elimination: (c) mit  $k = 0.008$ ,  $v = 2$ ,  $k_e = 0.03$  und (d)  $k = 2.5$ ,  $v = 8.3$ ,  $k_e = 0.03$ . Modellanpassung mittels Zwei-Kompartiment-Dispersionsmodell (—; Gleichung 4.27) ungewichtet (c1, d1) und gewichtet (c2, d2) (Bias der Parameterschätzungen siehe Tab. 4.5.).

Fall	Simulation			Verteilungsräume	Dispersionsmodell			
	Parameter				Wichtung	%Bias der Schätzungen		
	$k$ (sec <sup>-1</sup> )	$v$	$k_e$ (sec <sup>-1</sup> )			$w_i$	$\hat{k}$	$\hat{v}$
Fluß-limitierte Verteilung								
(a1)	$\infty$	2.0	0.03	1	1		87	379
(a2)					$1/y_i^2$		-70	168
(b1)	$\infty$	8.3	0.03	1	1		69	109
(b2)					$1/y_i^2$		41	74
Barriere-limitierte Verteilung								
(c1)	0.008	2.0	0.03	2	1	$10^9$	-73	2485
(c2)					$1/y_i^2$	301	96	36
(d1)	2.5	8.3	0.03	2	1		7.4	83
(d2)					$1/y_i^2$		2.5	43

Tabelle 4.5: Parameter des Dispersionsmodells (%Bias) nach Anpassung an Konzentrations-Zeit-Daten, die mit dem 2-Phasen-Modell (2IG als vaskulärer Transitzeitdichte) simuliert wurden

**4.2.2.2 Auswirkungen auf Vorhersagen der steady-state Extraktion**

Die in steady-state (Fließgleichgewicht) Experimenten als das Verhältnis der Output- zur Input-Konzentration ermittelte hepatische Durchlässigkeit (1-Extraktion), kann entsprechend Gleichung (1.16) als das nullte Moment der Transitzeitdichte  $\hat{f}(s)$  berechnet werden. Im Falle des allgemeinen 2-Phasen-Modells ohne Diffusion ergibt sich dabei

$$F = \hat{f}_X \left( \frac{v k k_e}{k + v k_e} \right) \tag{4.28}$$

wobei  $\hat{f}_X$  die gewichtete Summe zweier Inverser Gauss Funktionen sei. Vergleicht man die Vorhersagen des 2-Phasen-Modells mit denen des Dispersionsmodells, ergeben sich die in Tab. 4.6 dargestellten Abweichungen. Nicht unerwartet zeigt sich, daß die Vereinfachung des Modells der intrasinusoidalen Verteilung (2IG  $\rightarrow$  1IG) auf den steady-state Parameter  $F$  einen sehr viel geringeren Einfluß als auf die Modellparameter des transienten Verhaltens hat. Trotzdem steigt der Fehler mit höherer Eliminationsratenkonstante  $k_e$  (d. h. geringerer Organ-Durchlässigkeit  $F$ ) von 20% bei  $k_e = 0.03 \text{ sec}^{-1}$  auf mehr als 100% für  $k_e > 0.09 \text{ sec}^{-1}$  (Abbildung 4.5). Es ist deshalb möglich, daß die Schätzung der intrinsischen Clearance stark extrahierter Substanzen durch den Modellfehler im Dispersionsmodell beeinflusst werden kann.

Fall	Modell-Parameter			Durchlässigkeit F	
	$k$ ( $\text{sec}^{-1}$ )	$v$	$k_e$ ( $\text{sec}^{-1}$ )	2-Phasen Modell	Dispersionsmodell Abweichungen (%)
(a)	$\infty$	2.0	0.03	0.62	1.60
(b)	$\infty$	8.3	0.03	0.19	24.00
(c)	0.008	2.0	0.03	0.94	0.01
(d)	2.5	8.3	0.03	0.22	20.00

Tabelle 4.6: Prozentuale Abweichungen der Durchlässigkeit  $F$  des Dispersionsmodells von der des 2-Phasen-Modells mit der 2IG als vaskulärer Transitzeitdichte

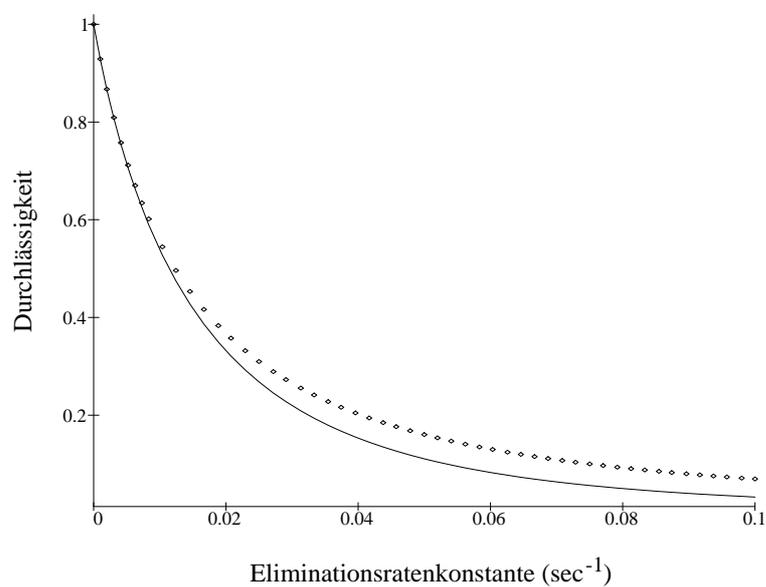


Abbildung 4.5: Durchlässigkeit  $F_H$  als Funktion der Eliminationsratenkonstante simuliert für das Dispersionsmodell (1IG inhärent) ( $\diamond$ ) und das 2-Phasen-Modell ( $—$ ) mit 2IG für die Parameterkombination (d).

### 4.2.3 Zusammenfassung

Im Mittelpunkt dieses Kapitels stand die Wahl eines geeigneten Modells der intravaskulären Mischung im 2-Phasen-Modell. Dabei wurde der einfachen Inversen Gauss-Funktion (1IG) die gewichtete Summe zweier Inverser Gauss-Funktionen (2IG) gegenübergestellt. Die Limitiertheit der 1IG zeigte sich erstmals am Hinterbein der Ratte (Weiss, M. und Roberts, M. S., 1996) und bestätigte sich in den vorliegenden Ergebnisse auch für die Leber. Wiederum erwies sich die 2IG zur Datenbeschreibung im Tailbereich besser geeignet. Obwohl dieses Modell einen rein empirischen Ansatz darstellt, genügt es den Anforderungen, die Kinetik der intravaskulären Verteilung adäquat zu beschreiben.

Zur Quantifizierung des Einflusses der Modellmißspezifikation (1IG statt 2IG) auf die Parameterschätzungen des erweiterten Diffusionsmodells wurden 2IG-simulierte Daten unter Verwendung der 1IG angepaßt. Dabei ergaben sich signifikant fehlerhafte Schätzungen in den Gewebeverteilungs- und Eliminationsparametern, so daß die Anwendung des Dispersionsmodells zukünftig in Frage gestellt werden muß.

Dem erweiterten Diffusionsmodell wird im Folgenden deshalb die 2IG als Modell der intravaskulären Mischung zugrunde gelegt. Gleichzeitig verbindet sich damit die Datenwichtung  $1/C^2(t)$ , bei der geringe Konzentrationswerte mehr Gewicht erhalten, wodurch die zweite Inverse Gauss-Funktion zum Tragen kommt. Im Gegensatz zur statistischen Literatur, in der sich die obige Wichtung über das zugrunde liegende Varianzmodell ergibt (Bickel, P. J. und Doksum, K. A., 1977), dient sie der pharmakokinetischen Modellierung unabhängig vom Varianzmodell der Daten zur Modellkorrektur. Bisher sind Diskussionen und Untersuchungen zur adäquaten Wichtung in der Literatur nicht abgeschlossen und ihre Anwendung auf reale Daten bleibt vorläufig mehr oder weniger empirisch (Weiss, M. und Geschke, D., 1997).

### 4.3 Simulationen und Beschreibung experimenteller Daten

#### 4.3.1 Simulationen — Diffusionseinfluß auf Kenngrößen

Hinweise auf langsame intrazelluläre Diffusion, verursacht durch Bindung an zytoplasmatische Membranen, gab es erstmals bei Trijodthyroxin (Luxon, B. A. und Weisiger, R. A., 1992; Luxon, B. A. und Weisiger, R. A., 1993; Weisiger, R. A., 1996; Zucker, S. D. et al., 1996). Auch Lidocaine zeigte am Hinterbein der Ratte (konservatives Organ) Diffusionszeiten  $d$  von etwa 100 sec (Weiss, M. und Roberts, M. S., 1996).

Die nachfolgenden Simulationen untersuchen den Einfluß intrazellulärer Diffusion bei signifikanter Metabolisierung. Grundlage bildet das um Elimination erweiterte Permeations-Diffusions-Modell mit der Summe zweier Inverser Gauss-Funktionen (2IG) als Modell der intravaskulären Mischung ( $p = 0.8$ ,  $MT_1 = 8$  sec,  $MT_2 = 17$  sec,  $CV_1^2 = 0.2$ ,  $CV_2^2 = 0.7$ , Tab. 4.4 S. 40). Die Verteilungs- und Eliminationsparameter wurden in Anlehnung an die für Lidocaine bei isolierter Leber-Perfusion erhaltenen Parameter (Mellick, G. D. und Roberts, M. S., 1996) gewählt. Dabei entspricht das Verteilungsvolumen  $v = 8.3$  moderater Bindung (vgl. Wasser etwa 4.5 (Roberts, M. S. et al., 1990)). Neben  $k = 2.5 \text{ sec}^{-1}$  wurde aufgrund der modellabhängigen Schätzung der Permeabilitätsratenkonstante zum Vergleich  $k = 0.8 \text{ sec}^{-1}$  betrachtet; die Eliminationsratenkonstante beträgt  $k_e = 0.03 \text{ sec}^{-1}$ . Der Einfluß langsamer intrazellulärer Diffusion wird im Vergleich der Simulationen für  $d = 1$  sec (schnelle Diffusion; (Luxon, B. A. und Weisiger, R. A., 1992) für  $L = 10 \mu\text{m}$ ) und  $d = 100$  sec deutlich .

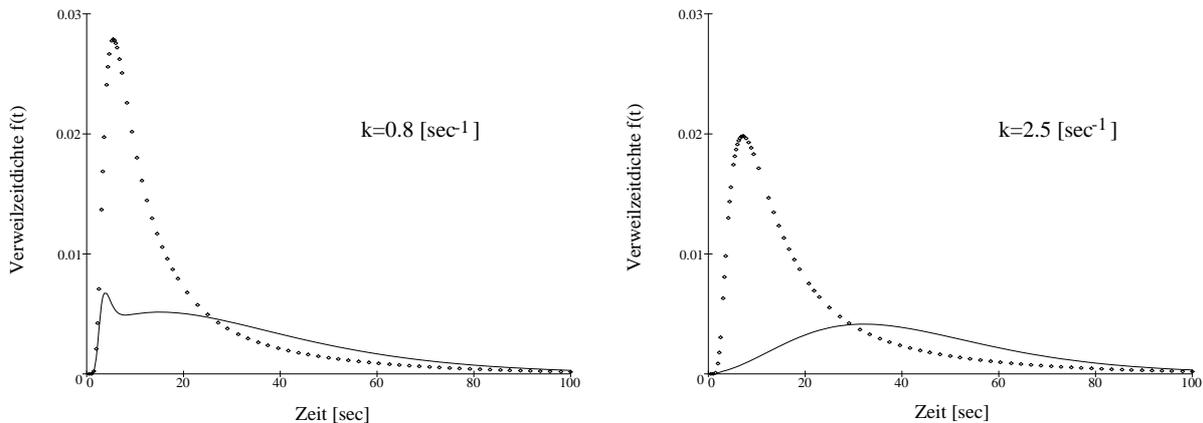


Abbildung 4.6: Einfluß schneller (—) und langsamer (◊) Diffusion auf die Transitzeitdichten bei unterschiedlicher Permeabilitätsratenkonstante  $k$ .

Abb. 4.6 zeigt die Auswirkungen langsamer intrazellulärer Diffusion auf die Transitzeitdichten. Im Fall geringerer Permeabilität führt der intrazelluläre Diffusionsprozeß zur Aufhebung des bimodalen Kurvenverlaufes.

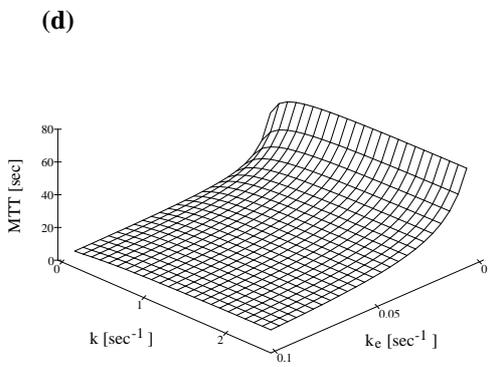
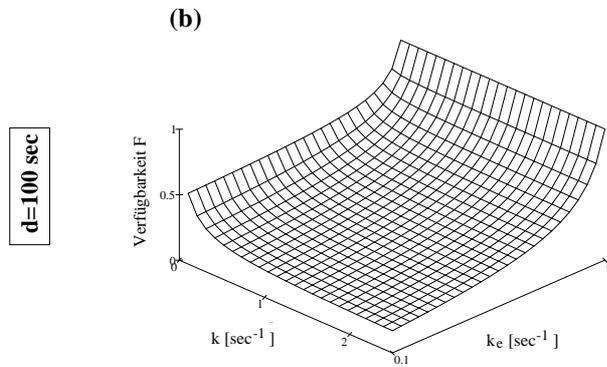
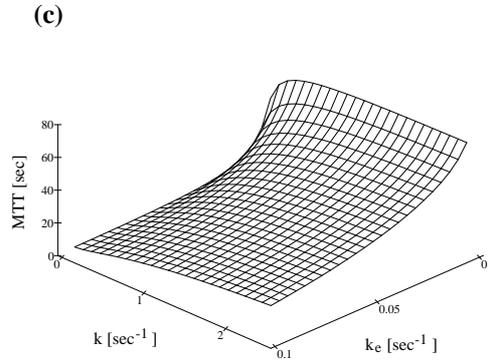
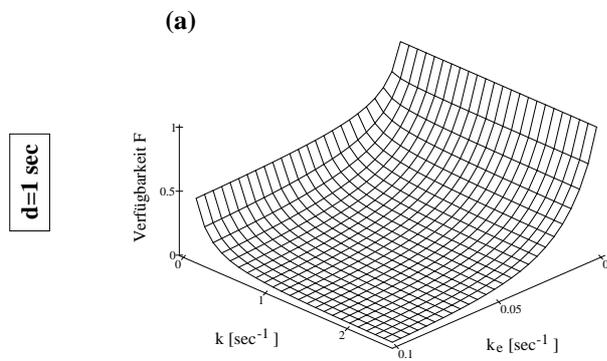
Die gleiche Auswirkung hätte eine starke Erhöhung der Metabolisierung (Mellick, G. D. und Roberts, M. S., 1996). Während dabei die Anzahl überlebender Substanzteilchen verringert würde (Abschneiden/Glättung des zweiten Peaks), erhöht langsame Diffusion den Anfangspeak und verringert damit den Anteil der zu späteren Zeiten aus dem Gewebe in die vaskuläre Phase austretenden und anschließend zum Organ-Ausgang transportierten Moleküle.

Durch verzögerte Gewebeverteilung — die den Konzentrationsgradienten zwischen vaskulärer und zellulärer Phase verringert, so daß weniger Moleküle ins Gewebe gelangen — und die zusätzlich durch den konvektiven vaskulären Transport bedingte relativ schnelle Umkehr des Gradienten (Verweilzeit im Gewebe verringert sich), gelangt ein größerer Anteil der injizierten Substanz direkt vom Organ-Eingang zum Ausgang und erzeugt in beiden Fällen den um ein Vielfaches höheren Anfangspeak. Gleichzeitig verringert sich dadurch der eliminierte Anteil der injizierten Substanzmenge und führt bei  $k = 2.5 \text{ sec}^{-1}$  und  $k_e = 0.03 \text{ sec}^{-1}$  bereits zur Verdopplung der Verfügbarkeit von etwa 18 auf 36% (Abb. 4.7 (a), (b) und (e)). Die mittlere Transitzeit fällt (d. h. die prozentuale Abweichung (Abb. 4.7 (f)) steigt) für  $d = 100 \text{ sec}$  mit steigender Permeabilität und Elimination auf bis zu etwa 50% für  $k > 2.0 \text{ sec}^{-1}$  und  $k_e > 0.025 \text{ sec}^{-1}$  (Abb. 4.7 (c), (d) und (f)). Mit zunehmender Diffusionszeit vergrößert sich die relative Dispersion (Abb. 4.8 und 4.9) im Fall der ausgewählten Parameterkombinationen (S. 49). Für höhere Eliminationsratenkonstanten bzw. im Bereich um  $k = 0.1 \text{ sec}^{-1}$  tritt der gegenteilige Effekt auf.

In Abb. 4.9 führt die Erhöhung der Membran-Permeabilität im Anfangsbereich, die eine Verteilung in den angrenzenden Geweberaum erst ermöglicht, zum verzögerten Austritt aus dem System und damit zu einer anwachsenden relativen Dispersion. Da bei gleicher Permeabilität und größerer Diffusionszeit die mittlere Tiefe der Verteilung in das Gewebe im Vergleich zu schneller Diffusion geringer ist, entsteht ein höherer Diffusionsgradient innerhalb der Zelle, der eine weitere Stoffzufuhr aus der vaskulären Phase verhindert und gleichzeitig zu einem schnelleren Austritt der Substanz aus dem Gewebe führt, was die relative Dispersion vermindert. Ab  $k = 0.1 \text{ sec}^{-1}$  gewinnt die Metabolisierung im Gewebe stärker an Bedeutung und führt durch Reduzierung der Anzahl überlebender Substanzmoleküle zur Verringerung der relativen Dispersion, die bei geringerer Diffusionszeit, d. h. schnellerer Gewebeverteilung, größer ist. Dadurch ergibt sich für langsamere intrazelluläre Diffusion die anfangs erwähnte höhere relative Dispersion im Tailbereich.

**Verfügbarkeit**

**Mittlere Transitzeit**



**Relative Abweichungen bezüglich d=1 sec**

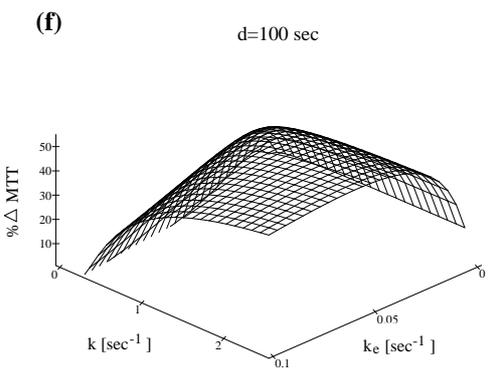
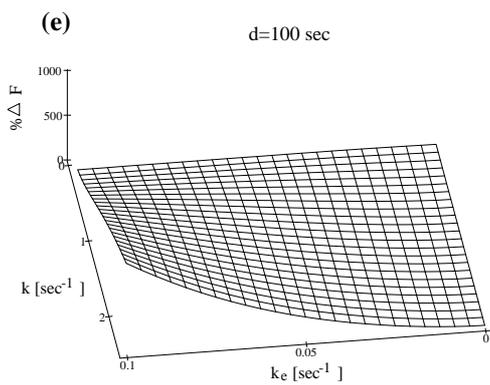


Abbildung 4.7: Einfluß der Permeabilität  $k$  und der Eliminationsratenkonstante  $k_e$  auf Verfügbarkeit  $F$  (links) und mittlere Transitzeit  $MTT$  (rechts) bei schneller ( $d = 1$  sec; oben) und langsamer Diffusion ( $d = 100$  sec; Mitte und unten).  $\% \Delta F$  und  $\% \Delta MTT$  bezeichnen die prozentualen Abweichungen der Parameter langsamer im Vergleich zu denen mit schneller Diffusion; Gleichung (4.16) und (4.17).

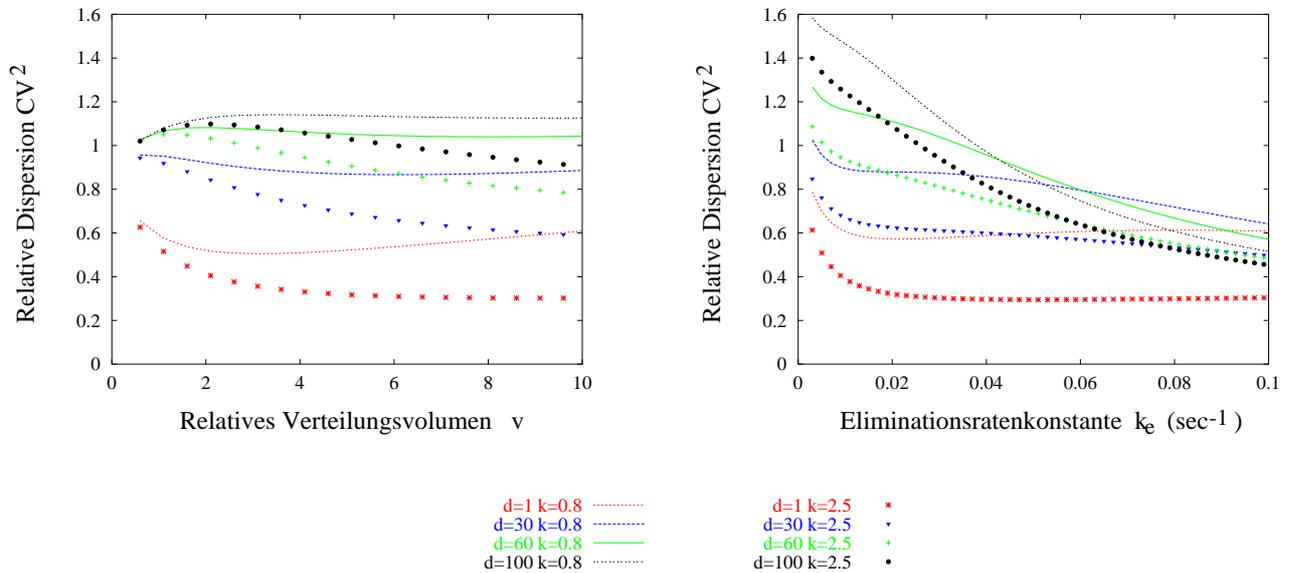


Abbildung 4.8: Einfluß des relativen Verteilungsvolumens  $v$  (links) und der Eliminationsratenkonstante  $k_e$  (rechts) auf die relative Dispersion  $CV^2$  bei unterschiedlichen Diffusionszeiten (**verschieden farbig**: schnell  $d = 1$  sec, moderat  $d = 30$  und  $60$  sec, langsam  $d = 100$  sec) und Permeabilitätsratenkonstanten (**Punkt- bzw. Linien-Style**:  $k = 2.5$  und  $k = 0.8 \text{ sec}^{-1}$ ).

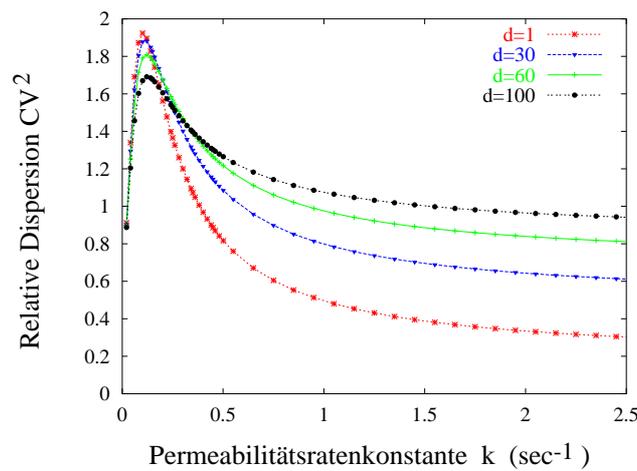


Abbildung 4.9: Einfluß der Permeabilitätsratenkonstante  $k$  auf die relative Dispersion  $CV^2$  bei unterschiedlichen Diffusionszeiten.

### 4.3.2 Modellvalidierung — experimentelle Daten

Nach der Erweiterung des stochastischen Modells, Untersuchungen zur Funktion der intravaskulären Mischung und Simulationen des Modellverhaltens bzw. charakteristischer Kenngrößen geht es im Folgenden um die empirische Validität des erweiterten Diffusionsmodells, d. h. seine Fähigkeit, reale Daten zu beschreiben und die Parameter der kinetischen Prozesse zu bestimmen.

Den Untersuchungen standen experimentelle Daten der Phenol-Derivate

- |                                |   |
|--------------------------------|---|
| (A) p-Cresol ( $C_7H_8O$ )     | (B) p-Chlorphenol ( $C_6H_5OCl$ )           |
| (C) p-Iodphenol ( $C_6H_5OI$ ) | (D) p-Propionamidphenol ( $C_9H_{12}NO_2$ ) |

zur Verfügung, die an isoliert perfundierten Rattenlebern durch Simultaninjektionen der jeweiligen Substanz und des intrazellulären Markers Evans Blue (Farbmarkierung des gebundenen Albumins) erhoben wurden (Mellick, G. D. und Roberts, M. S., 1999). Darüber hinaus lagen die von MELLICK mit dem Dispersionsmodell durchgeführten Parameterschätzungen der gegebenen Datensätze vor. Neben der Frage, wie sich die unterschiedlichen physiko-chemischen Eigenschaften der Phenole in den Verteilungsparametern widerspiegeln, interessierte besonders, ob intrazelluläre Diffusion die Gewebeverteilung bestimmt.

### Modellanpassung — Parameterschätzung

**Intravaskuläre Verteilung** Vor der Auswertung der gewebeverteilten Phenole galt es, die intravaskulären Verteilungsparameter zu ermitteln. Als Modell der intravaskulären Mischung erwies sich die gewichtete Summe zweier Inverser Gauss-Funktionen (2IG; Glg. (4.19)) zur Beschreibung der Evans Blue Konzentrations-Zeit-Profile wie in Kapitel 4.2 als geeignet (Abb. 4.11, S. 57). Die dabei geschätzten Modellparameter sind in Tabelle 4.7 zusammengestellt. Sie gingen als Vorinformation in das anschließend zur Phenolbeschreibung genutzte Diffusionsmodell ein.

Bei näherer Betrachtung der Ergebnisse zeigen sich interindividuelle Unterschiede: Im Vergleich zu Leber 2 und 3 ist die mittlere vaskuläre Transitzeit  $MTT_B$  der ersten Leber mehr als 30 % höher (9.2 sec vs. 6.4 bzw. 5.4 sec). Darüber hinaus spiegeln sich die morphologischen Unterschiede auch im Mischungsparameter, der relativen Dispersion  $CV_B^2$ , wider.

Intravaskuläre Parameter	$A_3$	$B_1$	$B_3$	$C_1$	$C_3$	$D_1$	$D_2$	$D_3$
$p$	0.19	0.23	0.10	0.09	0.21	0.38	0.04	0.21
$MT_1$ (sec)	11.91	18.29	13.38	22.88	10.60	13.11	21.38	10.60
$MT_2$ (sec)	3.84	7.58	4.11	7.83	4.03	6.13	5.70	4.03
$CV_1^2$	0.32	0.56	0.24	0.08	0.82	0.42	0.11	0.82
$CV_2^2$	0.15	0.16	0.22	0.20	0.25	0.14	0.20	0.25
$MTT_B$ (sec)	5.34	10.02	5.08	9.18	5.43	8.75	6.37	5.43
$CV_B^2$	0.55	0.39	0.60	0.47	0.56	0.31	0.50	0.56

Tabelle 4.7: Evans Blue Verteilungsparameter dreier isoliert perfundierter Rattenlebern (Index 1...3) bei Simultaninjektion des Markers mit Phenol A, B, C oder D. Oben die geschätzten Einzelparameter des Modells, unten die nach Glg. (4.21) und (4.22) ermittelten Gesamtverteilungsparameter. Die sich aus den mittleren Transitzeiten  $MTT_B$  und dem Fluß  $Q = 0.5$  ml/sec ergebende intravaskulären Verteilungsvolumina  $V_B$  sind in Tabelle 4.12, S. 60, angegeben.)

**Gewebeverteilung der Phenol-Derivate** Die Auswertung der Phenol Konzentrations-Zeit-Profile erfolgte anhand des erweiterten Diffusionsmodells. In ersten Modellanpassungen zeigten sich stabile Parameterschätzungen stark von den gewählten Anfangsparametern abhängig. Gleichzeitig gab es für Phenole bisher keinen Hinweis auf langsame intrazelluläre Diffusion.

Die erste Phase der Anpassung des Diffusionsmodells an die gegebenen Daten bestand deshalb in Modellanpassungen für verschiedenen feste  $d$ -Werte, die über die Summe der Abweichungsquadrate  $SAQ$

$$SAQ = \sum_{i=1}^n w_i [C(t_i) - f(t_i)]^2 \quad (4.29)$$

miteinander verglichen wurden. Dabei waren geringere Werte Indikator einer besseren Datenbeschreibung; denn die Minimierung der gewichteten ( $w_i = 1/C^2(t_i)$ ) Abweichungsquadrate zwischen gemessener Konzentration  $C(t_i)$  und Modellwert  $f(t_i)$ ,  $i = 1 \dots n$ , ist Zielkriterium der Modellanpassung.

Ergebnisse solcher „ $d$  fix“-Anpassungen zeigt die Abbildung 4.10 am Beispiel des Datensatzes Phenol  $B_1$ . Die ermittelte „optimale“ Diffusionszeit  $d = 150$  sec entspricht den bisher in der Literatur angegebenen Werten, z.B. (Weisiger, R. A., 1996; Weiss, M. und Roberts, M. S., 1996). Da sich in einem relativ großen Bereich ( $d > 200$  sec) keine wesentliche Verbesserung noch Verschlechterung der Modellanpassung ergibt (Abb. 4.10, links oben), ist die Identifizierbarkeit des Diffusionszeitparameters nur sehr schwer möglich und wesentlich vom Startwert abhängig.

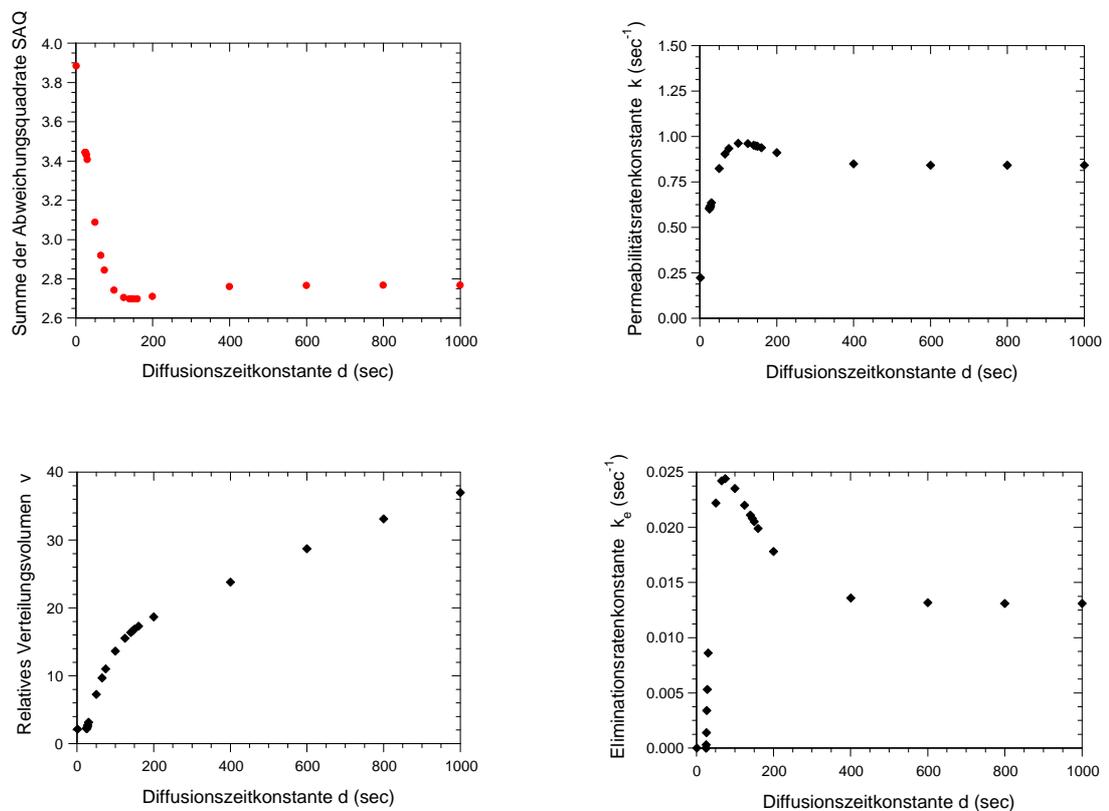


Abbildung 4.10: Bestimmung der Startparameter für Phenol  $B_1$ : Die Abbildung oben links zeigt die Summe der Abweichungsquadrate der Modellanpassungen bei unterschiedlich gewählter Diffusionszeitkonstante. Die zugehörigen Schätzwerte der übrigen Modellparameter sind in den Abbildungen links unten und rechts dargestellt.

Darüber hinaus besteht in diesem Bereich ein starker Zusammenhang zwischen der Diffusionszeitkonstanten  $d$  und dem relativen Verteilungsvolumen  $v$  (Abb. 4.10, links unten; vgl. Tab. 4.8). Im Unterschied zur Darstellung, die von der Vorgehensweise bestimmt ist, hängt die Diffusionszeit vom Gewebeverteilungsvolumen ab und nicht umgekehrt. Die Permeabilitätsratenkonstante  $k$  ist im Gegensatz dazu besser identifizierbar und wird bei hohen Diffusionszeiten  $> 400$  sec wie die Eliminationsratenkonstante  $k_e$  von  $d$  nahezu unabhängig (Abb. 4.10, rechts).

Im Rahmen der Voruntersuchungen am Datensatz Phenol  $B_1$  wurde die obige Vorgehensweise — einen Parameter auf verschiedene Werte zu fixieren, die anderen dann jeweils zu schätzen und diese Modellanpassungen über die  $SAQ$  miteinander zu vergleichen — auch auf die übrigen Parameter  $v$ ,  $k$  und  $k_e$  ausgedehnt. Dabei führten alle Untersuchungen auf ein und dieselbe optimale Parameterkombination:  $d = 150$  sec,  $v = 16.86$ ,  $k = 0.95$  sec<sup>-1</sup> und  $k_e = 0.02$  sec<sup>-1</sup> (vgl. Abb. 4.10).

	$d$	$v$	$k$	$k_e$		$v$	$k$	$k_e$
$d$	1				$v$	1		
$v$	0.99	1			$k$	-0.6	1	
$k$	-0.5	-0.5	1		$k_e$	-0.6	0.5	1
$k_e$	-0.99	-0.99	0.6	1				

Tabelle 4.8: Korrelationen bei Anpassung des Diffusionsmodells an Phenol 1B mit (links) und ohne Schätzung ( $d$  fix) des Diffusionszeitparameters

Im Anschluß an die erste Phase der Modellanpassung erfolgte die simultane Schätzung *aller* Parameter. Als Startparameter dienten die Werte der besten Anpassung aus Phase 1, die durch die erneute Modellanpassung leicht modifiziert wurden und die  $SAQ$  weiter verringerten. — Die Ergebnisse sind in Tabelle 4.9 zusammengestellt; Abbildung 4.10 zeigt neben Phenol  $B_1$  die Ergebnisse für Phenol  $D_1$ – $D_3$ , dem Phenol-Derivat mit der maximalen Anzahl zur Verfügung stehender Datensätze.

Bei Betrachtung der Korrelationsmatrix (für Phenol  $B_1$  Tab. 4.8) bestätigt sich, was während der ersten Phase in Abbildung 4.10 bereits deutlich wurde: Die Diffusionszeitkonstante  $d$  korreliert sehr stark mit den Parametern  $v$  und  $k_e$ . Darüber hinaus ergab sich zum Teil auch zwischen  $v$  und  $k_e$  eine starke Abhängigkeit; Parametern, die in der ersten Phase keine wesentliche Korrelation zeigten.

Die Ergebnisse machen deutlich, daß der Informationsgehalt der Daten zur Schätzung aller Parameter zu gering ist. Trotzdem sind die gewonnenen Parameterschätzungen aufgrund der speziellen Vorgehensweise, mit der die optimale Modellanpassung bereits am Ende der ersten Phase relativ genau feststand, als gültig anzusehen. Für valide Schlußfolgerungen, wie sich die unterschiedlichen Substanzeigenschaften qualitativ und quantitativ auf die Verteilungsparameter auswirken, standen der Auswertung jedoch zu wenig Datensätze zur Verfügung.

Die ermittelten Diffusionszeiten  $d$  weisen in den meisten Fällen mit mehr als 70 sec auf einen signifikanten Einfluß langsamer intrazellulärer Verteilung hin. Für die Phenole B und C ( $n=2$ ) ergaben sich trotz optisch guter Modellanpassungen (siehe Beispiel  $B_1$ , Abb. 4.11 oben links) jeweils sehr inhomogene Ergebnisse in den Parameterschätzungen. Für die zugrundeliegenden Rattenlebern zeigten sich bereits bei der Auswertung

der Evans Blue Daten deutliche Unterschiede in den intravaskulären Verteilungsparametern.

Auch Phenol A ( $n=1$ ) konnte vom Modell beschrieben werden, unterscheidet sich in den geschätzten Parametern jedoch stärker von den übrigen Phenolen. Neben den strukturellen Unterschieden der Phenole, die zu veränderten physiko-chemischen Eigenschaften führen, ist die Anzahl der Datenpunkte dieses Datensatzes im Vergleich zu den übrigen Phenolen besonders im Peak- jedoch auch im Tail-Bereich gering.

Gewebeverteilung	A <sub>3</sub>	B <sub>1</sub>	B <sub>3</sub>	C <sub>1</sub>	C <sub>3</sub>	D <sub>1</sub>	D <sub>2</sub>	D <sub>3</sub>
$d$ (sec)	32.13	150.34	392.57	79.13	90.05	145.91	222.96	204.69
$v$	75.73	16.86	23.39	2.92	17.56	14.57	22.65	28.14
$k$ (sec <sup>-1</sup> )	4.39	0.94	3.45	0.27	0.30	2.37	2.35	13.64
$k_e$ (sec <sup>-1</sup> )	0.129	0.020	0.004	0.01	0.002	0.037	0.037	0.039

Tabelle 4.9: Modellgeschätzte Gewebeverteilungsparameter der Phenole A...D in drei verschiedenen Rattenlebern (Index 1...3; oben).

Phenol D ( $n=3$ ) zeigt mit etwa 12.5% eine geringe hepatische Durchlässigkeit (Tab. 4.10). Die mittlere Verweilzeit und die relative Dispersion liegen im Median bei 19 sec bzw. 0.9. Darüber hinaus wurden als mediane Eliminations- und Verteilungsparameter  $k = 2.37 \text{ sec}^{-1}$ ,  $d = 205 \text{ sec}$ ,  $v = 23$ ,  $k_e = 0.04 \text{ sec}^{-1}$  bestimmt. Im Gegensatz zu den anderen Phenolen ist im Konzentrations-Zeit-Profil mit Ausnahme von  $D_1$  (Abb. 4.11 unten links) eine leichte „Schulter“ (Abb. 4.11 rechts) zu beobachten, die vom Modell nicht angepaßt werden kann, deren Relevanz jedoch unklar ist.

Bereits in der Einführung wurde darauf hingewiesen, daß die optische Beschreibung der Daten zwar notwendige, jedoch nicht hinreichende Bedingung für die Güte eines Modells und insbesondere die Validität der Parameterschätzungen ist. Deshalb wurden auf Grundlage der geschätzten Modellparameter die pharmakokinetischen Parameter der Gesamt-Organikinetik: hepatische Durchlässigkeit  $F$ , mittlere Transitzeit  $MTT$  sowie die relative Dispersion  $CV^2$  ermittelt und Ergebnissen der modellunabhängigen Momentenanalyse gegenübergestellt. Die Parameterwerte sind in Tabelle 4.10 erfaßt. Größte Unterschiede ergaben sich für Phenol  $B_4$ . In den übrigen Fällen stimmen  $MTT$  und  $CV^2$  jeweils gut überein; wobei sich in der Bioverfügbarkeit Unterschiede zeigen. Dieser Vergleich ermöglicht keine direkte Aussage zur Validität des einzelnen Modellparameters.

Zur näheren Charakterisierung der Verteilungseigenschaften wurde die ermittelte Diffusionszeitkonstante auf die zugehörige intravaskuläre Transitzeit  $MTT_B$  bzw. mittlere Gewebeverweilzeit  $MRT_{Ti}$  bezogen (Tab. 4.11). Außerdem interessierte das Verhältnis Verteilungsclearance (Blut-Gewebe) vs. Perfusionsfluß. Die Ergebnisse sind, bedingt durch die Unterschiede in den Parameterschätzungen der vaskulären Verteilung und der Gewebeverteilung, auch für gleiche Phenole sehr heterogen.

Trotzdem weisen die Werte  $CL_{BT}/Q > 1$  auf die Fluß-limitiertheit der Organverteilung hin. Darüber hinaus zeigt sich, daß intrazelluläre Diffusion als sehr langsamer Prozeß die Gewebe- und Organverteilung wesentlich bestimmt ( $d/MTT_B > 1$  und  $d/MTT_{Ti} > 1$ ).

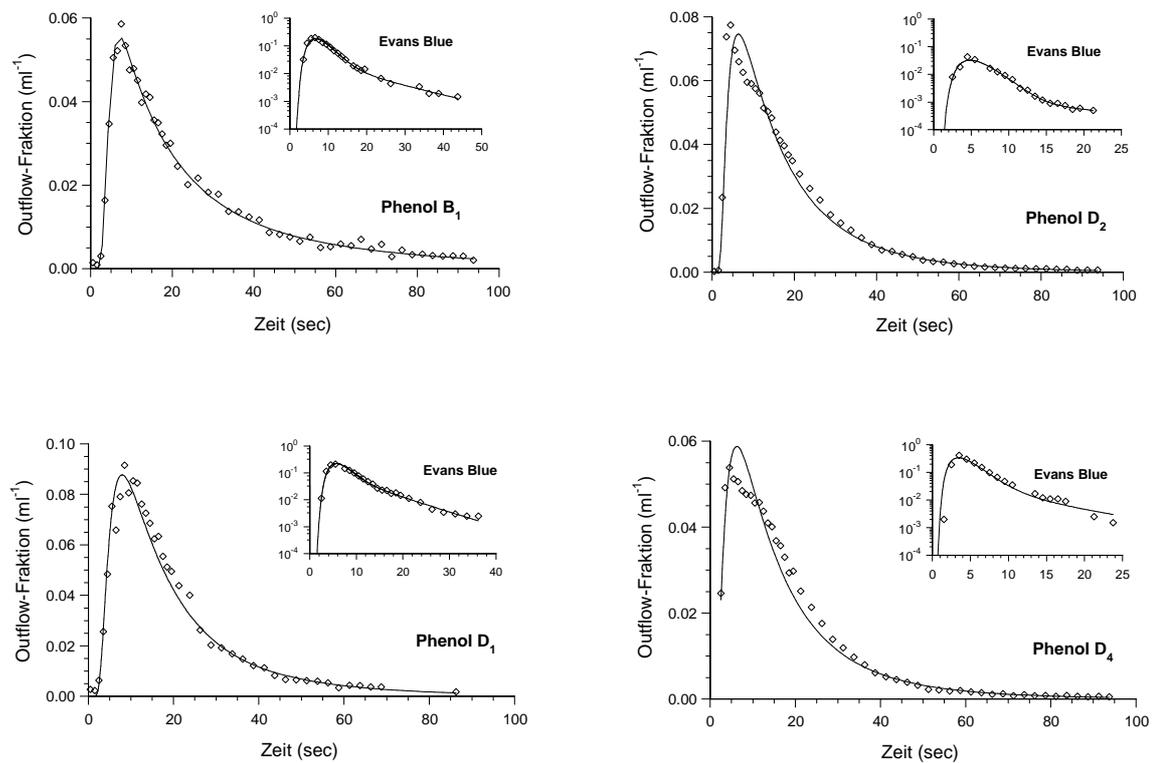


Abbildung 4.11: Beschreibung der Phenol-Outflow-Profile ( $\diamond$ ) B<sub>1</sub> und D<sub>1</sub>–D<sub>3</sub> durch das erweiterte Diffusionsmodell (—). Als kleine Abbildungen sind die zugehörigen Evans Blue 2IG-Anpassungen dargestellt, für die dieselbe Achsenbeschriftung gilt.

Organkinetik	A <sub>3</sub>	B <sub>1</sub>	B <sub>3</sub>	C <sub>1</sub>	C <sub>3</sub>	D <sub>1</sub>	D <sub>2</sub>	D <sub>3</sub>
modellbasiert:								
$F$	0.001	0.20	0.52	0.57	0.64	0.12	0.23	0.19
$MTT$ (sec)	11.80	33.18	51.38	22.23	60.01	21.60	19.15	18.33
$CV^2$	0.73	1.15	2.83	1.71	2.83	0.83	0.90	0.91
modellunabhängig:								
$F$	0.009	0.14	0.16	0.33	0.61	0.19	0.15	0.13
$MTT$ (sec)	13.44	34.14	24.98	28.72	69.32	22.95	20.24	17.29
$CV^2$	0.98	1.11	1.29	1.85	2.55	0.85	0.91	1.08

Tabelle 4.10: Pharmakokinetische Parameter der Phenole A...D in drei verschiedenen Rattenlebern (Index 1...3): hepatische Durchlässigkeit  $F$ , mittlere Transitzeit  $MTT$ , relative Dispersion  $CV^2$ . Die modellbasierte Berechnung erfolgte auf Basis der Parameterschätzungen des erweiterten Diffusionsmodells (Tab. 4.9, siehe Kapitel 4.1.2); die modellunabhängige Momentenanalyse nutzte Algorithmen von PURVES (Purves, R. D., 1992b; Purves, R. D., 1994) zur numerischen Integration und Extrapolation.

	A <sub>3</sub>	B <sub>1</sub>	B <sub>3</sub>	C <sub>1</sub>	C <sub>3</sub>	D <sub>1</sub>	D <sub>2</sub>	D <sub>3</sub>
$d/MTT_B$	6.02	15.00	77.28	8.62	16.58	16.68	35.00	37.70
$d/MTT_{Ti}$	14.17	30.37	123.45	12.29	1.92	113.11	144.78	553.22
$CL_{BT}/Q$	23.44	9.46	17.52	2.44	1.60	20.78	15.00	74.06

Tabelle 4.11: Dimensionslose Verhältnisparameter, die die Fluß- und Diffusions-limitierte Verteilung der Phenole A...D in den verschiedenen Rattenlebern (Index 1...3; oben) charakterisieren. Dabei ist  $MRT_{Ti}$  die Gewebeverweilzeit, berechnet über die Verweilzeitdichte  $f_Y$  des einzelnen Gewebeübertritts (Glg. (4.11) und (1.22)). Die Blut-Gewebe-Clearance  $CL_{BT}$  ergibt sich als Produkt der freien Fraktion im Blut/Plasma  $f_{uB}$  und des Permeabilitäsoberflächenproduktes  $PS$ .

### Gewebebindung und Diffusionskoeffizienten

Neben der Anpassung des Modells an die experimentellen Daten und der damit verbundenen Schätzung der Modellparameter war die Bestimmung physiologischer Kenngrößen, wie z. B. verschiedener Verteilungsvolumina, der intrinsischen Clearance und des Permeabilitätsflächenproduktes, das eigentliche experimentelle Ziel. Weil intrazelluläre Diffusion eine Rolle spielte, interessierten insbesondere die zugrunde liegenden Bindungs- und Diffusionskoeffizienten der Gewebeverteilung, die durch zusätzliche Informationen berechnet werden konnten.

Unter Verwendung der von MELLICK UND ROBERTS neben den Konzentrations-Zeit-Profilen experimentell ermittelten freien Fraktionen  $f_{uB}$  im Blutplasma (Mellick, G. D. und Roberts, M. S., 1999) und dem bei PANG ET AL. publizierten Wasserverteilungsvolumen  $v_w = V_T^w/V_B$  (Schwab, A. J. et al., 1990) war es möglich, den freien Substanzanteil  $f_{uT} = f_{uB} V_T^w/V_T$  im Gewebe zu bestimmen. Dabei ergab sich mittels  $V_B = MTT_B Q$  und  $V_T = v V_B$  die Bestimmungsgleichung

$$f_{uT} = \frac{f_{uB} v_w}{v} \quad (4.30)$$

Mit der freien Fraktion  $f_{uT}$  war unter Berücksichtigung der Diffusionstiefe des Hepatozyten  $L = 10 \mu\text{m}$  (Luxon, B. A. und Weisiger, R. A., 1993) auch der freie Diffusionskoeffizient  $D_{free} = D_{eff}/f_{uT}$  durch

$$D_{free} = \frac{L^2}{d f_{uT}} \quad (4.31)$$

vollständig bestimmt. Das Permeabilitäts-Oberflächenprodukt berechnet sich entsprechend der Definition des Modellparameters  $k$  über die Gleichung

$$PS = \frac{k V_B}{f_{uB}} \quad (4.32)$$

und für das Gewebeverteilungsvolumen gilt  $V_T = v V_B$ .

Tabelle 4.12 stellt die Ergebnisse der Berechnungen im Überblick zusammen. Die Diffusionskoeffizienten  $D_{free}$  mit Größenordnungen von  $10^{-7}$ – $10^{-8}$   $\text{cm}^2/\text{sec}$  sind im Vergleich zur Diffusion im Wasser von  $10^{-6}$   $\text{cm}^2/\text{sec}$  (Luxon, B. A. und Weisiger, R. A., 1993) wesentlich vermindert. Die einzige Ausnahme stellt der Datensatz Phenol  $A_4$  dar, der bei einer Diffusionszeitkonstanten von  $d = 32$  sec auf einen freien Diffusionskoeffizienten in der Größenordnung von Wasser führt.

Eine erste Vermutung, nach der sich die unterschiedlichen physiko-chemischen Eigenschaften der Phenole evtl. nur in den freien Fraktionen der Substanzen im Gewebe widerspiegeln könnten, jedoch zu gleichen freien Diffusionskoeffizienten führen, bestätigte sich nicht.

### Vergleich der Parameterschätzungen des Diffusions- und Dispersionsmodells

Für die ausgewerteten Konzentrations-Zeit-Profile lagen vor Anpassung des Diffusionsmodells die Parameterschätzungen des Dispersionsmodells ohne Datenwichtung bereits vor (Mellick, G. D. und Roberts, M. S., 1999). Der nachfolgende Vergleich mit diesen Ergebnissen bezieht sich aus statistischen Gründen jedoch nicht auf die in der Publikation angegebenen Mittelwerte der geschätzten Parameter, sondern vergleicht die Einzelergebnisse, die mit den experimentellen Daten zur Verfügung standen (Tab. C.1).

Die Bewertung der Unterschiede in den Parameterschätzungen ist schwierig, weil sich sowohl die Modelle (intravasculäres Modell, Gewebeverteilungsprozeß) als auch die Methodik der Parameterschätzung (Wichtung) unterscheiden. Dies gilt insbesondere für Parameter, die nicht modellunabhängig bestimmt werden können.

	A <sub>3</sub>	B <sub>1</sub>	B <sub>3</sub>	C <sub>1</sub>	C <sub>3</sub>	D <sub>1</sub>	D <sub>2</sub>	D <sub>3</sub>
$V_B$ (ml)	2.67	5.01	2.54	4.59	2.72	4.38	3.19	2.72
$V_W$ (ml)	5.61	10.53	5.33	9.64	5.70	9.19	6.69	5.70
$f_{uB} PS$ (ml/sec)	11.72	4.73	8.76	1.22	0.80	10.39	7.5	37.03
$PS$ (ml/sec)	16.06	15.77	29.20	6.24	4.21	14.04	10.14	50.04
$f_{uT}$	0.02	0.04	0.03	0.14	0.02	0.11	0.07	0.06
$V_T$ (ml)	202.20	84.51	59.41	13.41	47.68	63.75	72.20	76.42
$D_{eff}$ ( $10^{-6}$ cm <sup>2</sup> /sec)	0.031	0.007	0.003	0.013	0.011	0.007	0.004	0.005
$D_{free}$ ( $10^{-6}$ cm <sup>2</sup> /sec)	1.55	0.178	0.095	0.093	0.489	0.064	0.065	0.088

Tabelle 4.12: Aus den geschätzten Modellparametern (Tab. 4.9) abgeleitete Verteilungs- und Bindungsparameter (Phenole A...D, Leber 1...3). Die Berechnung der freien Fraktion im Gewebe ( $f_{uT}$ ) und des Diffusionskoeffizienten ungebundener Substanz ( $D_{free}$ ) basiert auf zusätzlichen Informationen zur freien Fraktion im Blut,  $f_{uB}$ : (A) 0.73, (B) 0.30, (C) 0.19, (D) 0.74 (Mellick, G. D. und Roberts, M. S., 1999), dem relativen Wasser-Verteilungsvolumen  $v_w = 2.1$  (Schwab, A. J. et al., 1990) und der Diffusionstiefe  $L = 10 \mu\text{m}$  (Luxon, B. A. und Weisiger, R. A., 1993).

Im Gegensatz zum Dispersionsmodell wurde bei der Anwendung des Diffusionsmodells nicht die einfache Inverse Gauss-Funktion (1IG), sondern die flexiblere 2IG zur Beschreibung der intravaskulären Mischung genutzt. Dadurch konnte — wie bereits in den Untersuchungen des Kapitels 4.2 — nicht nur der Peak, sondern auch der Tail der Evans Blue Konzentrations-Zeit-Profile adäquat beschrieben werden. Im Vergleich zu den Ergebnissen der 2IG unterschätzt die 1IG die mittlere Transitzeit  $MTT_B$  um 14–27 % und die relative Dispersion  $CV_B^2$  um 16–70 % (Tab. C.2). Daß diese Modellmißspezifikation wesentlichen Einfluß auf die Schätzungen der Verteilungs- und Eliminationsparameter hat, zeigt die Gegenüberstellung der Ergebnisse des 2-Phasen-Modells (ohne langsame intrazelluläre Diffusion) und des Dispersionsmodells im Anhang (Tab. C.3).

Beim Vergleich der durch das Diffusions- und Dispersionsmodell geschätzten Verteilungsparameter zeigt sich für Phenol C ein Unterschied im Permeabilitäts-Oberflächen-Produkt, der nicht erklärt werden kann. Prinzipiell ist bei vorhandener langsamer intrazellulärer Diffusion eine Unterschätzung der Permeabilitätsrate durch das Dispersionsmodell zu erwarten, die durch die Fehlinterpretation der geringeren Gewebe-Verteilungsgeschwindigkeit als niedrige Membrandurchlässigkeit zustande kommt (vgl. Abb. 4.10, rechts oben).

Durch den berücksichtigten intrazellulären Diffusionsprozeß ergeben sich im Falle des Diffusionsmodells deutlich höhere Gewebeverteilungsvolumina. Darüber hinaus wurden die Daten gewichtet, um eine geeignete Schätzung der Eliminationsratenkonstante zu ermöglichen; während das Dispersionsmodell den Tail unzureichend beschreibt und deshalb die Eliminationsratenkonstante überschätzt. Insgesamt ergeben sich auch beim Dispersionsmodell für die einzelnen Phenole heterogene Ergebnisse.

Der Unterschied der modellunabhängig (Tab. 4.10) und anhand des Dispersionsmodells (Tab. C.1) ermittelten Organdurchlässigkeit, mittleren Transitzeit und relativen Dispersion ist wesentlich und stellt die Validität der modellbasierten Parameterschätzungen in Frage. Im Vergleich dazu sind die Ergebnisse des Diffusionsmodells konsistenter.

### 4.3.3 Zusammenfassung

Im Gegensatz zu bisherigen Lebermodellen berücksichtigt das Diffusionsmodell intrazelluläre Diffusion als zusätzlichen verteilungsbestimmenden Prozeß. Untersuchungen zum Einfluß dieses Prozesses auf Modellvorhersagen des Konzentrations-Zeit-Verlaufes für unterschiedliche Parameterkonstellationen finden sich bereits bei WEISS UND ROBERTS (Weiss, M. und Roberts, M. S., 1996), der ersten pharmakokinetischen Anwendung des Diffusionsmodells am Hinterbein der Ratte.

Durch die Erweiterung des Modells um Metabolisierung (Kapitel 4.1) stellte sich die Frage nach den Auswirkungen langsamer intrazellulärer Diffusion auf die pharmakokinetischen Kenngrößen erneut. Der erste Teil dieses Unterkapitels beschäftigte sich deshalb mit Simulationen zur Organ-Verweilzeitdichte, der mittleren Transitzeit und Organ-Durchlässigkeit sowie der Abhängigkeit der relativen Dispersion von Verteilungs- und Eliminationsparametern. Da geringe Metabolisierung keine wesentlichen Veränderungen erwarten ließ, beziehen sich die Ergebnisse auf extensive Metabolisierung bzw. betrachten das Zusammenspiel der unterschiedlichen Verteilungsprozesse für verschiedene Eliminationsratenkonstanten und damit (aufgrund der unveränderten Verteilungsvolumina) bei veränderter intrinsischer Clearance.

Die Ergebnisse zeigen, daß intrazelluläre Diffusion je nach Parameterkonstellation nicht nur zu quantitativen, sondern auch qualitativen Veränderungen im Konzentrations-Zeit-Verlauf führen kann. Gleichzeitig beeinflußt dies die pharmakokinetischen Parameter entscheidend.

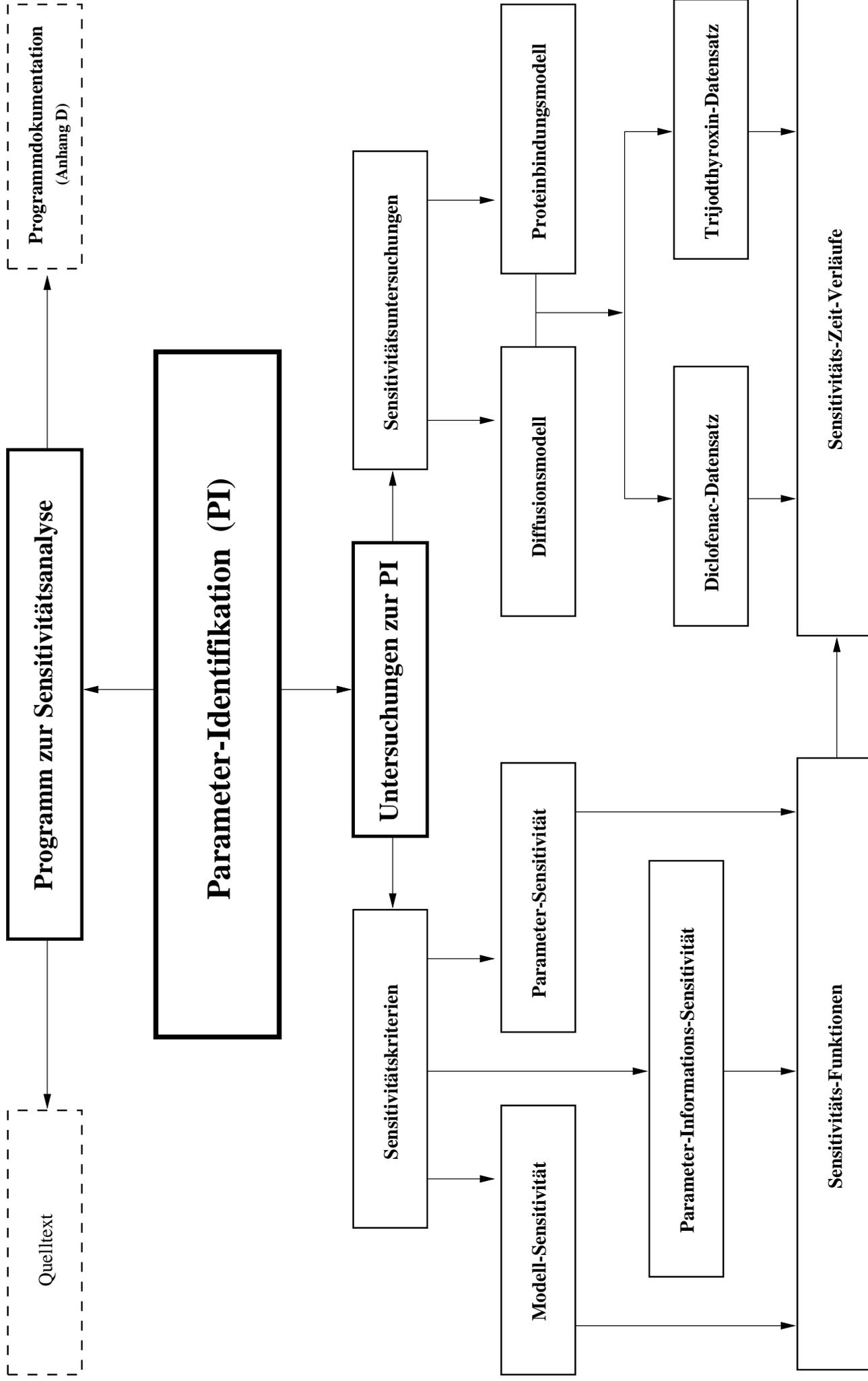
Im Gegensatz zum Diffusionsmodell ohne Metabolisierung (Weiss, M. und Roberts, M. S., 1996) konnte aufgrund der erhöhten Komplexität für die relative Dispersion keine handhabbare Bestimmungsgleichung angegeben werden (vgl. Glg. (4.14) und (4.15), S. 34).

Im Mittelpunkt des zweiten Teils stand die Validierung des erweiterten Diffusionsmodells. Durch die Beschreibung experimentell ermittelter Konzentrations-Zeit-Profile und die Schätzung realitätsnaher Modellparameter sollte sich die praktische Anwendbarkeit des erweiterten Diffusionsmodells unter Beweis stellen. Es zeigte sich, daß der Informationsgehalt der gegebenen Daten nicht ausreichte, um die Modellparameter zu identifizieren. Hohe Korrelationen, insbesondere zwischen der Diffusionszeitkonstante  $d$  und dem relativen Verteilungsvolumen  $v$ , waren die Folge. Diese Situation änderte sich, sobald ein Parameter als Vorinformation in das Modell einging.

Die Modellanpassung und Bestimmung des Diffusionszeitparameters wurde deshalb im Zwei-Schritt-Verfahren (I. „ $d$  fix“-Anpassungen  $\rightarrow$  II. alle Parameter) durchgeführt. Das Diffusionsmodell zeigte sich dabei prinzipiell geeignet: Es konnte die Daten adäquat beschreiben; darüber hinaus stimmen die Schätzungen des Modells mit den modellunabhängig ermittelten mittleren Organtransitzeiten und relativen Dispersionsen in nahezu allen Fällen gut überein. Trotz vorhandener Abweichungen in den Bioverfügbarkeiten sind die Unterschiede im Vergleich zum bisher genutzten Dispersionsmodell (Mellick, G. D., 1995; Mellick, G. D. und Roberts, M. S., 1999) wesentlich geringer.

Für die Bewertung der empirischen Validität des erweiterten Diffusionsmodells sind weitere Untersuchungen notwendig. Die vorliegenden Ergebnisse sollten nur als erster Hinweis gewertet werden. Zukünftige Experimente müssen entsprechend der Fragestellung geplant werden, so daß der Informationsgehalt und die Anzahl der Datensätze optimiert werden.

Die vorliegenden Ergebnisse weisen für die Phenole auf langsame interzelluläre Diffusion oder einen vergleichbaren Prozeß als verteilungsbestimmend hin und entsprechen den bisher für andere Substanzen in der Literatur verfügbaren Werten des Diffusionszeitparameters (Luxon, B. A. und Weisiger, R. A., 1992; Weiss, M. und Roberts, M. S., 1996).



## 4.4 Sampling-Design und Parameteridentifikation

Die Identifikation eines Modells bezieht sich sowohl auf seine Struktur als auch auf die Schätzung der Modellparameter. Dementsprechend ist zwischen theoretischer (*a priori*) und praktischer (*a posteriori*) Identifizierbarkeit zu unterscheiden.

*Theoretische Identifizierbarkeit* fragt nach der Existenz und Eindeutigkeit einer auf dem geplanten Input-Output-Experiment basierenden Parameterschätzung: Sind die Parameter durch das geplante Experiment (eindeutig) identifizierbar? Eindeutigkeit muß nicht für alle Parameter gegeben sein. Während einige eindeutig identifizierbar sind, liegen für andere Parameter möglicherweise mehrere Lösungen vor, die die experimentellen Daten in gleicher Weise beschreiben. Die Existenz von Lösungen ist in der Regel gesichert, sobald ein direkter Bezug des Modells zum realen System gegeben ist (Carson, E. R. et al., 1983). Aus einer guten Modellanpassung darf jedoch kein unmittelbarer Rückschluß auf die Gültigkeit des Modells gezogen werden, da die Wahl eines ungeeigneten Modells zu unrealistischen Parametern führen kann.

Ist die Parameteridentifikation nicht oder nur schlecht möglich, muß entweder die Modellstruktur oder das Experiment modifiziert werden. Im häufigsten Fall wird jedoch das Modell den experimentellen Bedingungen anzupassen sein (Weiss, M., 1990a).

Theoretische Identifizierbarkeit beruht auf der Annahme fehlerfreier Daten. Experimentelle Ergebnisse können dieser Forderung nie gerecht werden. Da zufällige Fehler in den realen Daten (Varianz der Analyse, Variabilität des pharmakokinetischen Systems) nicht vollständig verhindert werden können, gilt es in besonderem Maße, systematische Fehler zu vermeiden, wie sie z. B. durch die Wahl eines inadäquaten Modells entstehen.

*Praktische Identifizierbarkeit* fragt nach der Güte der geschätzten Parameter. Ausgehend von der angenommenen Modellstruktur werden interne, nicht zugängliche Parameter des Systems durch die Minimierung des Unterschiedes zwischen Modell-Output und experimentell erhobenen Daten bestimmt. Obwohl notwendige Bedingung, ist theoretische Identifizierbarkeit für die erfolgreiche Schätzung der den realen, fehlerbehafteten Daten zugrundeliegenden Parameter nicht hinreichend.

Eine weitere wesentliche Voraussetzung der Modellidentifikation ist ein gutes experimentelles Design. Es wird neben der Wahl des Applikationsortes, der Inputfunktion und dem Ort der Probenahme vom Zeitbereich der Messung, der Anzahl der Meßpunkte und dem Schema der Probenentnahme bestimmt.

Bei Bestimmung der Dispositionskurve isoliert perfundierter Organe gilt dem Sampling-Schema, d. h. der Lage der Meßzeitpunkte zur genauen Erfassung der im System stattfindenden und in das Modell einbezogenen Prozesse, besonderes Interesse. Da die Prozesse durch die Modellparameter charakterisiert werden, stellt sich aus Sicht der Parameterschätzung die Frage, welche Zeitbereiche für die Identifizierbarkeit der einzelnen Parameter von Bedeutung sind.

Von dieser Problemstellung ausgehend erweiterten THOMASETH UND COBELLI die traditionelle Sensitivitätsanalyse, die den Einfluß veränderter Parameter auf das *Modellverhalten* untersucht, und entwickelten zusätzliche Kriterien (Thomaseth, K. und Cobelli, C., 1997), die sowohl die Auswirkungen des veränderten Modell-Outputs als auch die Kombination dieser zwei Einflüsse auf die *Parameterschätzungen* erfassen (Abb. 4.12).

Unter Verwendung der nachfolgend vorgestellten Kriterien steht der Vergleich der Parameteridentifikation zweier ausgewählter Modelle im Mittelpunkt dieses Kapitels. Betrachtet wird neben dem erweiterten Diffusionsmodell das kürzlich von WEISS vorgestellte Bindungsmodell (Weiss, M. et al., 1998). Neben den für die Parameteridentifikation wesentlichen Zeitbereichen wird zusätzlich der Einfluß eines veränderten Sampling-Designs untersucht.

**Modell-Sensitivität**



**Parameter-Sensitivität**



**Parameter-Informationen-Sensitivität**

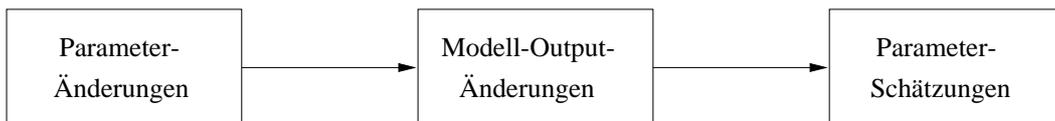


Abbildung 4.12: Schematische Darstellung der Aussagen der Sensitivitätskriterien: **1** Modellsensitivität – Empfindlichkeit des Modells gegenüber Parameteränderungen, **2** Parametersensitivität – Empfindlichkeit der Parameterschätzungen gegenüber Änderungen des Modellverhaltens, **3** Parameterinformations-Sensitivität – Empfindlichkeit der Parameterschätzungen hinsichtlich Änderungen in den Parametern

**4.4.1 Sensitivitätskriterien nach THOMASETH UND COBELLI**

Im Mittelpunkt der Untersuchungen steht das spezielle nichtlineare Modell  $f(\theta, t)$  — eine nach den Modellparametern  $\theta_i, i = 1 \dots N_{par}$ , stetig differenzierbare Funktion der Zeit  $t$ . Ausgangspunkt der Sensitivitätsanalyse bilden zu Sampling-Zeitpunkten  $t_k, k = 1 \dots N_{dat}$ , erhobene Daten  $y_k$ , die mit Hilfe des Modells beschrieben wurden und auf den Parametervektor  $\tilde{\theta}$  führten. Als Fehlermodell der Daten sind normalverteilte Fehler mit Erwartungswert Null und Varianz  $\sigma^2(t)$  in die Sensitivitätsanalyse einbezogen, die für die Parameterschätzung die Wichtigung  $w_k = 1/\sigma^2(t)$  der Meßwerte implizieren (Bickel, P. J. und Doksum, K. A., 1977).

Die in Tabelle 4.13 auf Seite 66 zusammengestellten Kriterien (Thomaseth, K. und Cobelli, C., 1997) unterscheiden sich im Vergleich zur traditionellen Sensitivitätsanalyse durch lineare Transformationen und Normierungen des Vektors der Sensitivitätsfunktionen,

$$\nabla_{\theta} f(\theta, t) = \left[ \frac{\partial f(\theta, t)}{\partial \theta_i} \right] \tag{4.33}$$

Sie sind Funktionen-Vektoren der Dimension  $(N_{par} \times 1)$ , in denen sich jede Element-Funktion auf einen Modellparameter bezieht. Alle Matrizen sind  $(N_{par} \times N_{par})$ -dimensional.

Das *Modell-Sensitivitäts-Kriterium* entspricht der klassischen Sensitivitätsanalyse. Es spiegelt den zeitlichen Verlauf der partiellen Ableitungen des Modells hinsichtlich der Modellparameter wider und charakterisiert damit den Einfluß geringer Änderungen der Parameter  $\tilde{\theta}$  auf das Modellverhalten. Zusätzlich werden das spezielle Sampling-Schema sowie die Datenwichtung der Parameterschätzung berücksichtigt.

Dagegen basiert das *Parameter-Sensitivitäts-Kriteriums* auf einem Verfahren zur Bestimmung der Kovarianzmatrix (Thomaseth, K. und Cobelli, C., 1997; Seber, G. A. F. und Wild, C. J., 1989), so daß sich für die Parameter-Sensitivitäten ein Zusammenhang zur Kovarianzmatrix ergibt (Tab. 4.13), während die Modell-Sensitivitäten in Beziehung zur normierten Fisher Informationsmatrix stehen (Thomaseth, K. und Cobelli, C., 1997; Bickel, P. J. und Doksum, K. A., 1977). In beiden Fällen ermöglichen geeignete Normierungen die Vergleichbarkeit der Sensitivitäten unterschiedlicher Parameter.

Da es der pharmakokinetischen Modellierung neben der reinen Beschreibung des zeitlichen Verlaufes der erhobenen Daten um eine realistische Schätzung physiologisch interpretierbarer Modellparameter geht, gilt dem dritten Kriterium, der *Parameter-Information-Sensitivität* des Modells, besonderes Interesse. Es faßt die ersten beiden Sensitivitätskriterien gemäß Abb. 4.12 zusammen und steht in Beziehung zum D-optimalen experimentellen Design (siehe (Thomaseth, K. und Cobelli, C., 1997): Maximierung  $\log J(\theta)$ ). Dadurch ermöglichen die Parameter-Information-Sensitivitäten eine Unterteilung des Beobachtungszeitraumes in Zeitbereiche, die für die Identifikation der einzelnen Parameter relevant sind.

	Modell-Sensitivität	Parameter-Sensitivität	Parameter-Informationen-Sensitivität
<b>Matrixdefinitionen</b>	$J(\vec{\theta}) = \sum_{k=1}^{N_{dat}} \sigma^{-1}(t_k) \nabla_{\theta} f(\vec{\theta}; t_k) \nabla_{\theta} f^T(\vec{\theta}; t_k)$	$Cov = J^{-1}(\vec{\theta})$	$J_N(\vec{\theta}) = S_J J(\vec{\theta}) S_J$
<b>Sensitivitätskriterien</b>	$S_J[i, j] = \begin{cases} J^{-\frac{1}{2}}(\vec{\theta})[i, j] & : i = j \\ 0 & : i \neq j \end{cases}$	$S_C[i, j] = \begin{cases} Cov^{-\frac{1}{2}}(\vec{\theta})[i, j] & : i = j \\ 0 & : i \neq j \end{cases}$	$Cov(\vec{\theta}) = S_C Cov(\vec{\theta}) S_C$
<b>Eigenschaften</b>	$s_1(t) = \frac{S_J \nabla_{\theta} f(\vec{\theta}; t)}{\sigma(t)}$	$s_2(t) = \frac{S_C Cov(\vec{\theta}) \nabla_{\theta} f(\vec{\theta}; t)}{\sigma(t)}$	$s_3(t) = \frac{[Cov(\vec{\theta}) \nabla_{\theta} f(\vec{\theta}; t)] \bullet \nabla_{\theta} f(\vec{\theta}; t)}{\sigma^2(t)}$
	$J_N(\vec{\theta}) = \sum_{k=1}^{N_{dat}} s_1(t_k) s_1^T(t_k)$	$Cov(\vec{\theta}) = \sum_{k=1}^{N_{dat}} s_2(t_k) s_2^T(t_k)$	$\sum_{k=1}^{N_{dat}} s_3(t_k) = \mathbf{1}$

Tabelle 4.13: Sensitivitätskriterien (Thomaseth, K. und Cobelli, C., 1997) und ihre Eigenschaften („•“ steht für elementweise Multiplikation)

## 4.4.2 Identifizierbarkeit der Modellparameter — Modellvergleich

### 4.4.2.1 Implementation der Sensitivitätskriterien

Die Sensitivitätskriterien wurden im Rahmen dieser Arbeit in  $C^{++}$  programmiert, nachdem sich eine erste Implementation unter Maple V, Version 4, für komplexere, im Laplace-Raum vorliegende Modelle als unzulänglich erwies: Selbst Großrechnerkapazitäten (Dec Alpha, 512 MB Arbeitsspeicher) reichten für die Berechnungen nicht aus, der abzusehende Zeitaufwand von mehreren Tagen bis Wochen war sehr groß und der Erfolg nicht sicher.

Im Gegensatz dazu ist das  $C^{++}$ -Programm auf einem herkömmlichen PC unter Linux einsetzbar und braucht z. B. für das Diffusionsmodell, je nach Computerleistung und Datenanzahl, bis zu wenigen Minuten. Die im Ergebnis der Berechnungen vorliegenden Daten sind anschließend mit Hilfe eines beliebigen graphischen Programmes (z.B. Gnuplot oder SigmaPlot) aufzubereiten.

Nähere Informationen zur Programmbedienung und Modellinstallation finden sich im Anhang D, S. XXff.

### 4.4.2.2 Sensitivitätsanalysen

Am Beispiel des Diffusions- und Bindungsmodells (Kuhlmann, O., 1998) geht es in den nachfolgenden Untersuchungen um den Modellvergleich anhand der Sensitivitätsanalysen. Beiden Modellen liegt das stochastische 2-Phasen-Modell, Glg. (3.25) und (3.26), zugrunde; sie unterscheiden sich jedoch in der Gewebe-Verweilzeitdichte (Bindungsmodell siehe Anhang D). Während das Diffusionsmodell von augenblicklich stattfindenden Bindungsprozessen innerhalb der Zelle ausgeht und die intrazelluläre Verteilung durch langsame Diffusion gekennzeichnet ist, nimmt das Bindungsmodell die sofortige Verteilung der Substanz innerhalb der Zelle an, der sich Bindungsprozesse an Proteine bzw. zytoplasmatische Membranen anschließen und die Dynamik der Gewebeverteilung bestimmen.

Von besonderem Interesse ist deshalb, wie sich diese unterschiedlichen Prozesse in den für die Parameteridentifikation verantwortlichen, veränderten Zeitbereichen widerspiegeln. Darüber hinaus interessiert der Einfluß spezieller Veränderungen des Sampling-Schemas (SS) auf den verbleibenden Informationsgehalt der Daten.

Den Ausgangspunkt der Sensitivitätsanalyse bilden das Sampling-Schema und eine für das jeweilige Modell ermittelte Parameterkombination. Im Mittelpunkt der Untersuchungen standen die Substanzen Diclofenac (Kuhlmann, O., 1998) und Trijodthyroxin (T3) (Luxon, B. A. und Weisiger, R. A., 1992), deren Modellparameter in Tabelle 4.14 zusammengestellt sind. Neben einer Organdurchlässigkeit zwischen 95 und 97% (Diffusions- und Bindungsmodell) unterscheidet sich Diclofenac von T3 durch eine sehr viel geringere Organverweilzeit (12 vs. 210 sec).

Die beim Bindungsmodell zusätzlich zu  $k$ ,  $v$  und  $k_e$  auftretenden Parameter  $k_{12}$ ,  $k_{21}$  und  $v_c$  charakterisieren die Bindungs- und Freilassungsraten sowie das durch die Bindungsprozesse innerhalb der Zelle entstehende relative Initialverteilungsvolumen.

### Diclofenac

Das für Diclofenac vorliegende Sampling-Schema umfaßt 78 Probennahmen im Zeitbereich bis 150 sec (Markierungen auf der Zeit-Achse in Abb. 4.13). Zur Untersuchung des Einflusses eines veränderten Sampling-Designs wurde jeweils, ausgehend vom ursprünglichen SS, die Sampling-Frequenz halbiert, der Sampling-Beginn verzögert und der Zeitbereich verkürzt.

Parameter	Diclofenac		Trijodthyroxin	
	Diff-Mod	Bind-Mod	Diff-Mod	Bind-Mod
<i>Extrazelluläre Parameter (fix)</i>				
$p$		0.13		0.80
$MT_1$ (sec)		14.73		7.00
$MT_2$ (sec)		5.75		18.00
$CV_1^2$		8.21		0.20
$CV_2^2$		0.48		0.70
<i>Parameter der Sensitivitätsanalyse → Basis-Sampling-Schema</i>				
$d$ (sec)	197.20	—	49.90	—
$v$	2.00	2.89	21.69	21.80
$k$ (sec <sup>-1</sup> )	0.090	0.125	0.128	0.128
$k_e$ (sec <sup>-1</sup> )	0.006	0.003	—	—
$k_{12}$ (sec <sup>-1</sup> )	—	0.022	—	0.354
$v_c$	—	1.25	—	2.81
<i>Parameter der Sensitivitätsanalyse → verändertes Sampling-Schema</i>				
$d$ (sec)	27.57	—	49.90	—
$v$	1.18	1.77	21.69	21.63
$k$ (sec <sup>-1</sup> )	0.118	8.437	0.128	0.124
$k_e$ (sec <sup>-1</sup> )	0.00003	0.005	—	—
$k_{12}$ (sec <sup>-1</sup> )	—	0.169	—	0.144
$v_c$	—	0.343	—	6.619

Tabelle 4.14: Parameter des Diffusions- (Diff-Mod) und Bindungsmodells (Bind-Mod) für die Substanzen Diclofenac (Katheterparameter:  $p = 0.99$ ,  $MT_1 = 1.76$ ,  $MT_2 = 5.69$ ,  $CV_1^2 = 0.06$ ,  $CV_2^2 = 2.06$ ,  $Q = 30$  ml/min) und Trijodthyroxin.

**Diclofenac: Basis-Sampling-Schema** Während das Diffusionsmodell seine maximalen Modell-Sensitivitäten im wesentlichen im Anfangsbereich bis 30 sec erreicht (nur für die Eliminationsratenkonstante  $k_e$  ist auch der übrige Zeitbereich von Bedeutung), vergrößern sich die Sensitivitätsbereiche beim Bindungsmodell und überdecken fast den gesamten Sampling-Bereich. In beiden Modellen verringert sich die Modellempfindlichkeit gegenüber Änderungen des Parameters  $k_e$  nur langsam, so daß nach 148 sec noch eine Empfindlichkeit  $\geq 30\%$  des bereits nach 17 bzw. 22 sec erreichten Sensitivitätsmaximums vorhanden ist. Die ersten Empfindlichkeitsspitzen für  $d$  und  $k$  werden zwischen 3 bzw. 5 sec erreicht. Im Vergleich zum Diffusionsmodell erscheint das Maximum bez.  $v$  beim Bindungsmodell sehr viel später (6  $\rightarrow$  40 sec). Die Maxima der Sensitivitäten hinsichtlich  $v_c$  und  $k_{12}$  liegen im Anfangsbereich bei 9 und 17 sec.

Ihre höchsten Korrelationen zeigen die beiden Modelle für  $v$  und  $k$  bzw.  $v$  und  $k_e$  mit Absolutwerten zwischen 0.8 und 0.9 (Tab. 4.15). Diese in beiden Fällen negativen Korrelationen werden in den spiegelbildlichen Zeitverläufen (vgl. Abb. 4.13 Mitte) der Parametersensitivitäten sichtbar. Entsprechend der Vorzeichen der Sensitivitäten am Ende des Sampling-Zeitbereiches kommt es entweder zur Über- oder Unterschätzung der Parameter (positive bzw. negative Parametersensitivitäten) (Thomaseth, K. und Cobelli, C., 1997), die im Bindungsmodell für  $v$  und  $k_e$  im Vergleich zu den übrigen Parametern besonders stark sind.

Das dritte Sensitivitätskriterium (Abb. 4.13 unten) unterstreicht und spezifiziert die Aussagen des ersten durch eine klare Unterteilung des Gesamt-Sampling-Bereiches in einzelne Teilbereiche entsprechend des Informationsgehaltes zur Schätzung der Parameter. Demzufolge sind beim Diffusionsmodell die Zeitbereiche [0, 5], [4, 8], [6, 20] und [13, 148] zur Identifikation der Parameter  $d$ ,  $k$ ,  $v$  und  $k_e$  vorrangig von Bedeutung. Die Maxima werden bei 3, 5, 9 und 26 sec erreicht. Trotz des langgestreckten Intervalls des Parameters  $k_e$  können aufgrund der Empfindlichkeitsspitzen die ersten 50 sec als die entscheidenden angesehen werden. Im Vergleich dazu ergeben sich für das Bindungsmodell Maxima der Parameter  $k$ ,  $v_c$ ,  $k_{12}$ ,  $v$  und  $k_e$  bei 4, 9, 22, 46 und 129 sec. Neben der stärkeren Verteilung über den gesamten Sampling-Bereich sind auch die umschließenden Zeitintervalle i. A. größer. Besonders auffällig sind die Veränderungen bez. der Parameter  $v$  und  $k_e$  (Max.: 9  $\rightarrow$  46 sec bzw. 26  $\rightarrow$  129 sec; Bereiche: [6, 20]  $\rightarrow$  [26, 82] sec bzw. [13, 148]  $\rightarrow$  [69, 148] sec).

Am relativen Verteilungsvolumen  $v$  wird besonders gut deutlich, daß die Modelle sich in den im Gewebe stattfindenden Prozessen unterscheiden. Während das Diffusionsmodell von sofortiger Bindung und langsamer Diffusion innerhalb der Zelle ausgeht, findet beim Bindungsmodell eine sofortige Verteilung der Substanz innerhalb der Zelle statt, der sich Bindung an Proteine und zytoplasmatische Membranen anschließt. Da  $v$  durch die freie Fraktion im Gewebe wesentlich bestimmt wird, kann dieser Parameter im Fall des Diffusionsmodells bereits im Anfangszeitbereich bestimmt werden, während er beim Bindungsmodell erst später identifizierbar ist. Statt dessen wird der Parameter  $v_c$ , der die zu Beginn stattfindende schnelle Gewebeverteilung charakterisiert, wie  $v$  durch die Informationen des Anfangszeitbereiches bestimmt.

	$d$	$v$	$k$	$k_e$		$v$	$k$	$k_e$	$k_{12}$	$v_c$
$d$	1	0.666	-0.684	-0.244						
$v$	0.666	1	<b>-0.847</b>	-0.467	$v$	1	-0.227	<b>-0.876</b>	0.0003	0.464
$k$	-0.684	<b>-0.847</b>	1	0.455	$k$	-0.227	1	0.211	0.431	-0.495
$k_e$	-0.244	-0.467	0.455	1	$k_e$	<b>-0.876</b>	0.211	1	-0.242	-0.333
					$k_{12}$	0.0003	0.431	-0.242	1	-0.604
					$v_c$	0.464	-0.495	-0.333	-0.604	1

Tabelle 4.15: Korrelationen der Parameter des Diffusions- (links) und Bindungsmodells (rechts) für Diclofenac

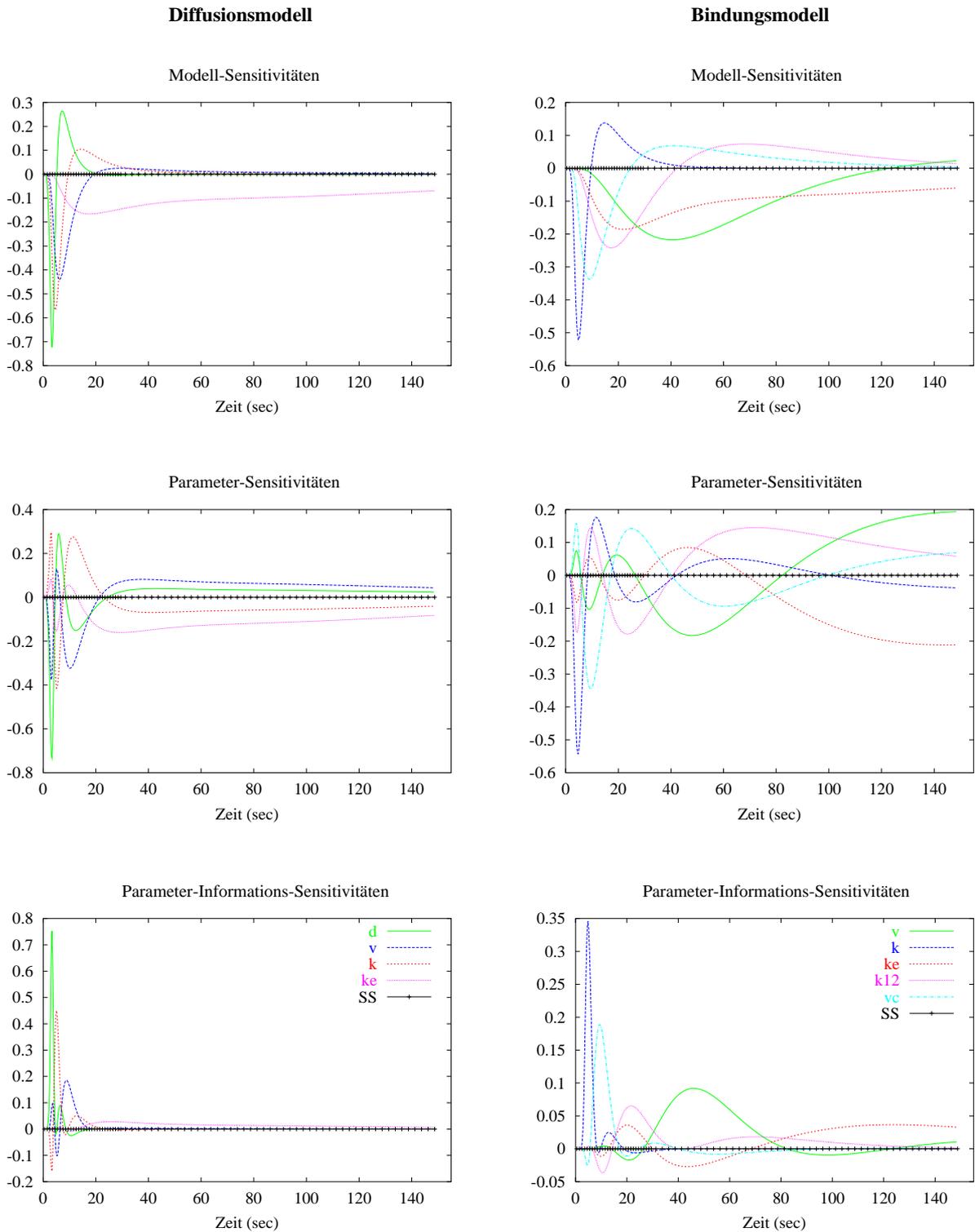


Abbildung 4.13: Diclofenac – Sensitivitätsanalysen ausgehend vom Basis-Sampling-Schema. Zu beachten sind die unterschiedlichen Skalierungen und Färbungen der Sensitivitäten gleicher Parameter.

**Diclofenac: verändertes Sampling-Schema** Während die Halbierung der Sampling-Frequenz keine wesentlichen Veränderungen der Sensitivitäten hinsichtlich beider Modelle zur Folge hatte, führten fehlende Datenpunkte innerhalb der ersten 6 sec (verzögerter Samplingstart) besonders für den in diesem Zeitbereich zu identifizierenden Parameter  $d$  zu einem extremen Anstieg der Sensitivität als Zeichen des Informationsmangels in den vorhandenen Daten.

Abbildung 4.14 zeigt die Sensitivitätsanalysen bei Verkürzung des Sampling-Bereiches von 150 auf 100 sec, dem bisher in der Literatur angegebenen maximalen Zeitbereich (Evans, A. M. et al., 1993). Die Analyse basiert auf den in Tabelle 4.14 unten angegebenen Parametern, die sich z. T. wesentlich von denen des Basis-Sampling-Bereiches unterscheiden: Während sich im Diffusionsmodell die Größenordnungen der Diffusionszeit- und Eliminationsratenkonstante verändern, ist beim Bindungsmodell die Schätzung der Permeabilitätsratenkonstante im Vergleich zum Diffusionsmodell unrealistisch hoch. Dies beeinflusst die Ergebnisse der Sensitivitätsanalysen, deren Parameteridentifikations-Bereiche in den Anfangszeitbereich gedrängt werden.

Die Parameterinformations-Sensitivitäten des Diffusionsmodells erreichen für die Parameter  $k$ ,  $d$  und  $v$  Maximalwerte von 20.1, 3.6 bzw. 0.4, die nach 0.8, 1.0 bzw. 1.6 sec erreicht werden. Diese Ergebnisse stehen nicht im Widerspruch zur Eigenschaft des Sensitivitätskriteriums, nach der der Informationsgehalt aller Sampling-Zeitpunkte Eins ist, da negative Werte möglich sind. Die sehr hohen Parameter-Informationssensitivitäten für  $k$  und  $d$  machen deutlich, daß der Informationsgehalt der Daten für diese Parameter zu gering ist. Entsprechend des zugehörigen Zeitbereiches basiert die Schätzung auf zwei am Rand liegenden Datenpunkten. Darüber hinaus besteht zwischen diesen zwei Parametern eine starke Korrelation (Tab. 4.16). Für  $k_e$  wird der maximale Wert 0.08 bei positivem Anstieg am Ende des Sampling-Bereiches erreicht (vgl. Modellsensitivität). Das Maximum liegt somit außerhalb des Beobachtungszeitraumes, d. h. die Daten enthalten zu wenig Informationen für die Identifizierbarkeit der Eliminationsratenkonstante. Dieses Ergebnis deckt sich mit den Erfahrungen der Parameterschätzung des Parameters, die sehr instabil war und auf einen Schätzwert nahe Null führte.

Auch die Sensitivitäten des Bindungsmodells konzentrieren sich stärker auf den Anfangsbereich. Nur  $k_e$  erreicht das Maximum der Parameter-Informationssensitivität erst bei etwa 50 sec. Der zugehörige Identifikationsbereich erstreckt sich von 25–100 sec. Die höchste Korrelation mit einem Wert von -0.82 besteht zwischen  $k_{12}$  und  $v_c$  (Basissampling:  $v$  und  $k_e$ ).

Im Gegensatz zu diesen stark veränderten Sensitivitätsverläufen ergeben sich bei Verkürzung des Sampling-Bereiches und Beibehaltung des Basis-Parametervektors nur unwesentliche Veränderungen in den Sensitivitätsanalysen.

	$d$	$v$	$k$	$k_e$		$v$	$k$	$k_e$	$k_{12}$	$v_c$
$d$	1	0.408	<b>-0.909</b>	-0.234						
$v$	0.408	1	-0.481	-0.349	$v$	1	-0.141	-0.683	-0.270	0.371
$k$	<b>-0.909</b>	-0.481	1	0.322	$k$	-0.414	1	0.155	0.573	-0.637
$k_e$	-0.234	-0.349	0.322	1	$k_e$	-0.683	0.155	1	0.069	-0.198
					$k_{12}$	-0.270	0.573	0.069	1	<b>-0.822</b>
					$v_c$	0.371	-0.637	-0.198	<b>-0.822</b>	1

Tabelle 4.16: Korrelationen der Diclofenac-Parameter bei verkürzter Sampling-Zeit von 100 sec; im Falle des Diffusionsmodells links und des Bindungsmodells rechts

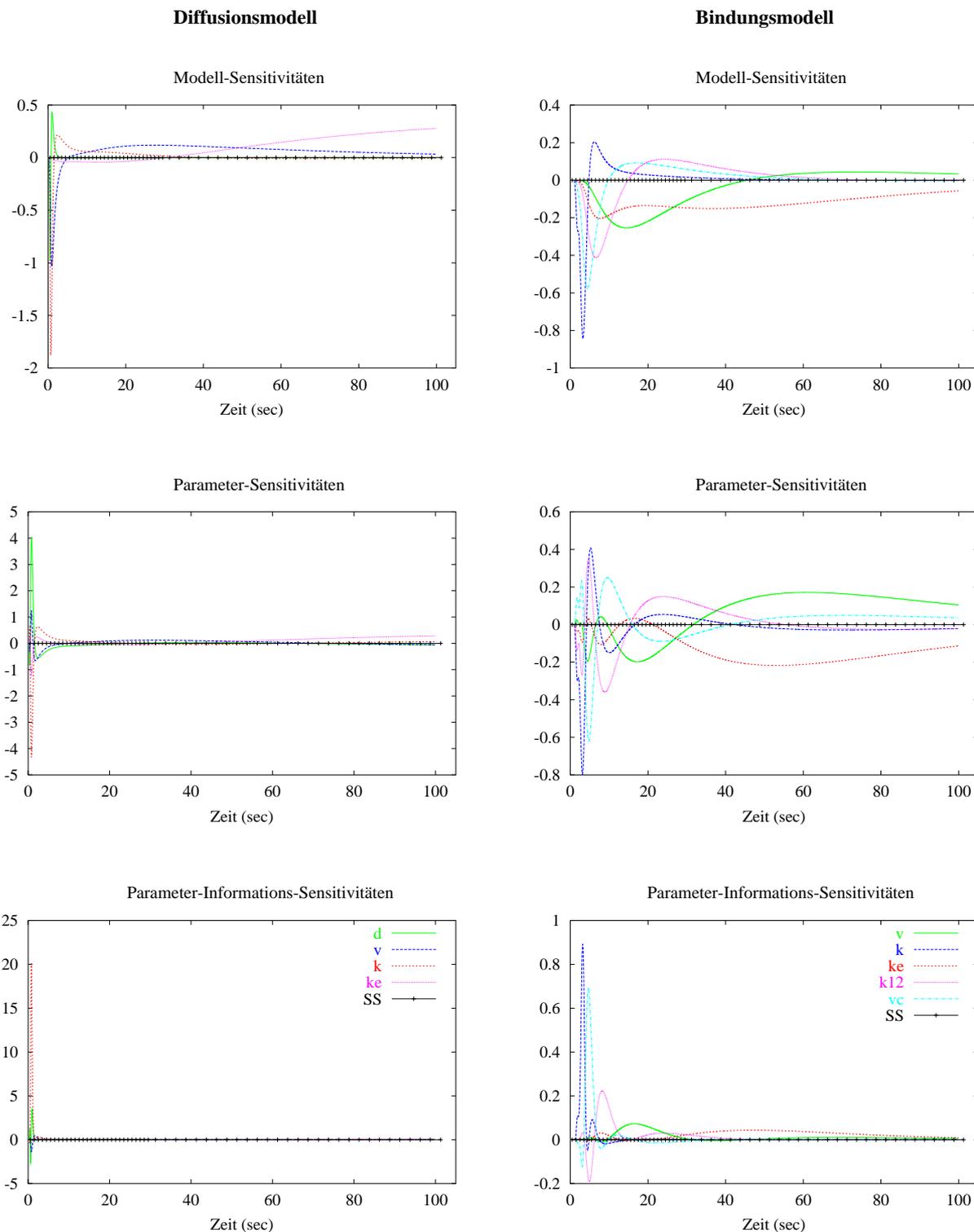


Abbildung 4.14: Diclofenac – Sensitivitätsanalyse beim verkürzten Zeitbereich von 100 sec. Zu beachten sind die unterschiedlichen Skalierungen und Färbungen der Sensitivitäten gleicher Parameter.

**Trijodthyroxin**

Trijodthyroxin liegt ein Sampling-Schema mit 42 Datenpunkten zugrunde, die einen Zeitbereich von 90 sec überdecken. Die Parameter des Diffusionsmodells sind der Literatur (Luxon, B. A. und Weisiger, R. A., 1992) entnommen. Auf ihrer Basis wurden Daten simuliert, die anschließend durch das Bindungsmodell angepaßt wurden. Vor dem Hintergrund einer geeigneten Modellwahl interessiert, ob die Sensitivitätsanalyse des Bindungsmodells Hinweise auf eine Modellmißspezifikation gibt oder nicht. Darüber hinaus sollte geprüft werden, ob die Datenerhebung über den Zeitpunkt von 90 sec hinaus den pharmakokinetischen Informationsgehalt der Outflow-Profile erhöht.

**Trijodthyroxin: Sampling-Zeitbereich bis 90 sec** Beide Modelle zeigen ihre höchste Empfindlichkeit gegenüber Parameteränderungen (Abb. 4.13 oben) mit steil ansteigenden und abfallenden Sensitivitäts-Peaks im Anfangsbereich bis 20 bzw. 30 sec. Die einzige Ausnahme ergibt sich für den Parameter  $v$ , der insbesondere im Fall des Bindungsmodells einen sich über den gesamten restlichen Bereich erstreckenden langsamen Abfall der Sensitivität aufweist.

Während beim Diffusionsmodell keine Korrelationen zu verzeichnen sind (siehe Tab. 4.18), korrelieren im Bindungsmodell die Permeabilitätsratenkonstanten  $k$  und die Bindungsratenkonstanten  $k_{12}$  mit dem Verteilungsvolumen  $v_c$ . Aufgrund der negativen Vorzeichen wird dies am nahezu spiegelbildlichen Verlauf der Parameter-Sensitivitäten für  $k$  bzw.  $k_{12}$  gegenüber der von  $v_c$  deutlich (Abb. 4.13 Mitte rechts).

Hinsichtlich der Parameteridentifikation unterscheidet das dritte Kriterium (Abb. 4.13 unten) bis zu drei wesentliche Zeitintervalle. Die Diffusionszeitkonstante  $d$  ist hauptsächlich in den ersten 5 sec identifizierbar; insgesamt sind, wie für die Permeabilitätsratenkonstante  $k$ , die ersten 15 sec entscheidend. Das Bindungsmodell unterteilt diesen Bereich, im Gegensatz zum Diffusionsmodell, in zwei Teilintervalle. Beide Modelle erreichen die maximale Sensitivität für  $k$  jedoch bei 4–5 sec. Im Gegensatz dazu erfolgt die Identifizierung des Parameters  $v$  über einen sehr viel größeren Zeitbereich. Während das Maximum beim Diffusionsmodell bei 11 sec liegt, wird es im Falle des Bindungsmodelles bei 30 sec erreicht. Für die Parameter  $k_{12}$  und  $v_c$  ist bei drei ähnlichen Teilintervallen (0→5→10→25 sec) der Anfangsbereich bis etwa 25 sec von Bedeutung.

	$d$	$v$	$k$		$v$	$k$	$k_{12}$	$v_c$
$d$	1	0.315	-0.180					
$v$	0.315	1	-0.570	$v$	1	-0.128	-0.278	-0.212
$k$	-0.180	-0.570	1	$k$	-0.128	1	0.820	<b>-0.922</b>
				$k_{12}$	-0.278	0.820	1	<b>-0.962</b>
				$v_c$	-0.212	<b>-0.922</b>	<b>-0.962</b>	1

Tabelle 4.17: Korrelationen der Parameter des Trijodthyroxin; im Falle des Diffusionsmodells links und des Bindungsmodells rechts

**Trijodthyroxin: Sampling bis 150 sec** Trotz des um 60 sec verlängerten Sampling-Bereiches waren für das Diffusionsmodell keine Veränderungen zu erwarten, da der Basissampling-Parametervektor dieses Modells wiederum zur Datensimulation genutzt wurde. Auf Basis dieses verlängerten Konzentrations-Zeit-Profiles erfolgte die erneute Schätzung der Bindungsmodellparameter.

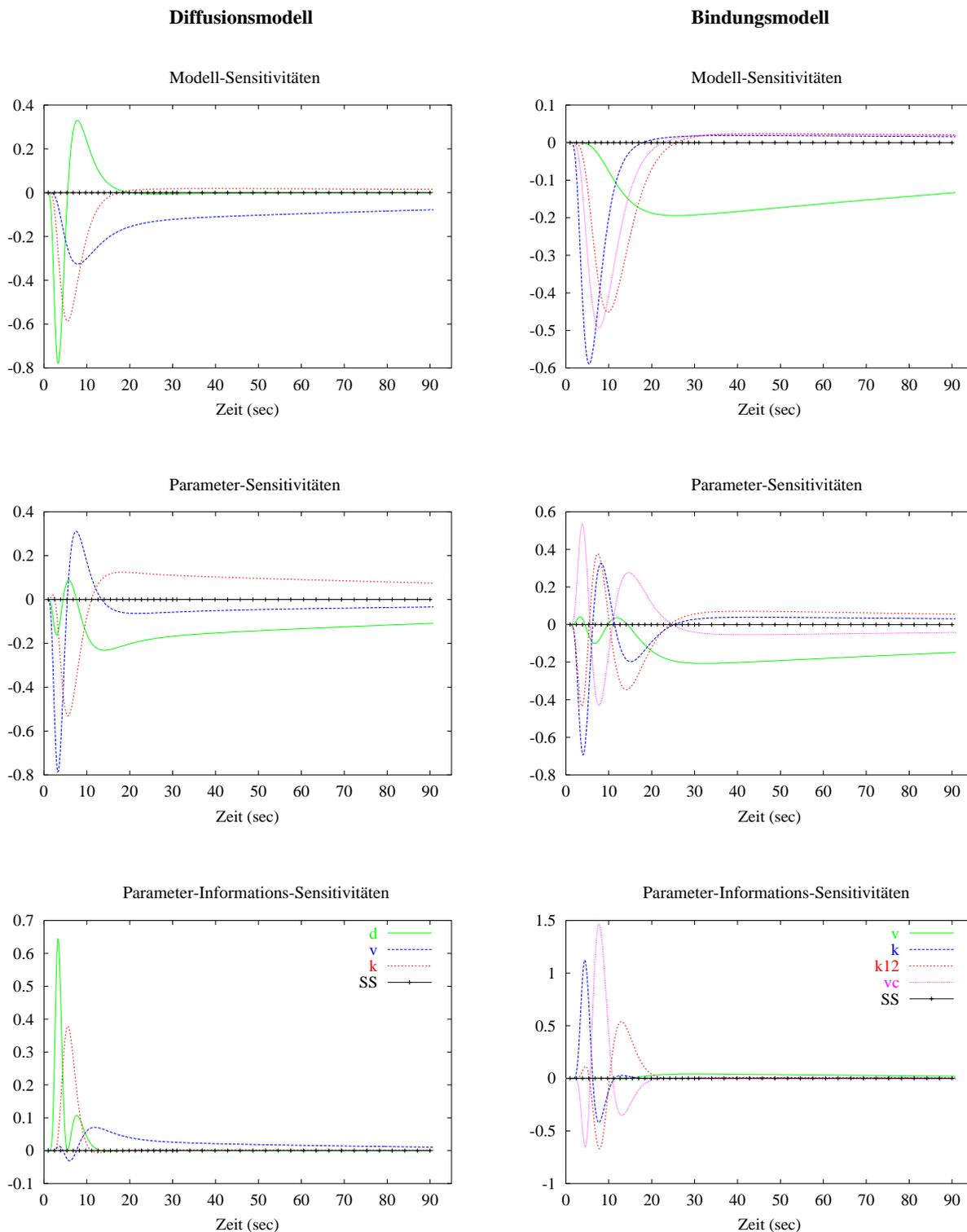


Abbildung 4.15: Trijodthyroxin – Sensitivitätsanalysen im Zeitbereich bis 90 sec. Zu beachten sind die unterschiedlichen Skalierungen und Färbungen der Sensitivitäten gleicher Parameter.

Die modifizierten Parameterwerte des Bindungsmodells bewirken in den ersten beiden Sensitivitätskriterien nur minimalste quantitative Veränderungen, die optisch kaum erkennbar sind. Quantitative Unterschiede der Parameter-Informations-Sensitivitäten sind vor allem auf die spezielle Eigenschaft dieses Sensitivitätskriteriums zurückzuführen (Tab. 4.13), nach der sich der auf Eins normierte Informationsgehalt auf eine größere Anzahl Sampling-Zeitpunkte verteilt. Wie bereits aus den Untersuchungen bis 90 sec ersichtlich ist, enthalten die Daten der ersten 50 sec die für die Parameterschätzung wesentlichsten Informationen, so daß die Erweiterung des Zeitintervalls keinen Informationszuwachs bewirkt.

Im Gegensatz zum Diffusionsmodell treten beim Bindungsmodells in jeweils zwei Fällen sehr hohe Korrelationen auf. Zusammen mit den höheren Parameter-Informations-Sensitivitäten des Bindungsmodells könnten sie Hinweis auf einen zu geringen Informationsgehalt der Daten oder Zeichen einer Modellmißspezifikation sein.

	$d$	$v$	$k$		$v$	$k$	$k_{12}$	$v_c$
$d$	1	0.296	-0.157					
$v$	0.296	1	-0.529	$v$	1	<b>-0.968</b>	-0.278	-0.214
$k$	-0.157	-0.529	1	$k$	<b>-0.968</b>	1	0.744	-0.850
				$k_{12}$	-0.278	0.744	1	<b>-0.951</b>
				$v_c$	-0.214	-0.850	<b>-0.951</b>	1

Tabelle 4.18: Korrelationen der Parameter des Trijodthyroxin bei verlängerter Sampling-Zeit von 150 sec; im Falle des Diffusionsmodells links und des Bindungsmodells rechts

### 4.4.3 Zusammenfassung

Experimentelle Untersuchungen ermöglichen durch definierte Versuchsbedingungen die gezielte Analyse spezieller Zusammenhänge und Hypothesen. Ein adäquates Versuchsdesign wird von der Zielstellung bestimmt und ist Voraussetzung für die Gewinnung valider und umfassender Erkenntnisse.

Pharmakokinetische Fragestellungen untersuchen die zeitlichen Änderungen der Substanz-Konzentrationen im biologischen System als Folge der innersystemischen Verteilungs- und Stoffumwandlungsprozesse. Dabei sind die Gesamtbeobachtungsdauer und Verteilung der Meßzeitpunkte über den Beobachtungszeitraum wesentliche Komponenten des experimentellen Designs, die den Informationsgehalt der Konzentrations-Zeit-Profile bestimmen.

Zur Ermittlung der pharmakokinetischen Parameter auf Grundlage des gewählten Modells ist deshalb von besonderem Interesse, wie Veränderungen des „Systemverhaltens“, d. h. der Konzentrations-Zeit-Verläufe, verursacht durch Meßfehler oder unzureichende Sampling-Schemata, die Parameterschätzungen beeinflussen.

Das von THOMASETH UND COBELLI vorgestellte Parameter-Informations-Sensitivitätskriterium ermöglicht die Darstellung dieses Einflusses für die einzelnen Modellparameter. Zeitbereiche hoher absoluter Sensitivitäten sind für die Parameteridentifikation entscheidend. Da sie vom Sampling-Schema bestimmt werden, vermitteln sie gleichzeitig einen Eindruck von dessen Güte. Der Vergleich der Sensitivitäten unterschiedlicher Sampling-Schemata mit gleicher Anzahl von Datenpunkten kann Ausgangspunkt einer Optimierung des Sampling-Schemas sein. Allerdings stellt das Sensitivitätskriterium kein direktes Verfahren zur Optimierung des Versuchsdesigns dar. Der Nachteil der Sensitivitätsanalyse besteht darin,

daß sie sich auf einen speziellen Parametervektor bezieht, der *a priori* unbekannt ist und über die Modelanpassung erst bestimmt werden soll. Wie stark Veränderungen dieses Vektors die Sensitivitätsanalyse beeinflussen, wurde am Beispiel von Diclofenac deutlich.

Der Vergleich des Diffusions- und des Bindungsmodells zeigt, wie sich die den Modellen zugrundeliegenden unterschiedlichen Prozesse in veränderten Zeitbereichen der Parameteridentifikation widerspiegeln.

Beiden Modellen ist gemeinsam, daß bereits die ersten Sekunden für die Parameterschätzung entscheidend sind. Um dieser Bedeutung des Anfangsbereiches gerecht zu werden, ist die experimentelle Proben-sammlung der ersten Sekunden zu verbessern. Bisher ist gerade dieser Zeitbereich besonders störanfällig: Dadurch, daß der Probenkollektor nicht fest auf dem Untergrund installiert ist (siehe Kapitel 2.1), kommt es beim Einschalten des rotierenden Kollektors vielfach zur Verschiebung, die durch eine erneute manuelle Adjustierung möglichst schnell behoben wird. In der Zwischenzeit gehen Proben jedoch teilweise oder vollständig verloren, so daß die Meßwerte verfälscht werden bzw. nicht vorhanden sind.

Obwohl das Diffusionsmodell im Gegensatz zum Bindungsmodell die Informationen der meisten Parameter aus den Daten der ersten 50 sec bezieht, ist für die Identifizierbarkeit der Eliminationsratenkonstante ein wesentlich längerer Zeitbereich notwendig. Aus Sicht der Parameterschätzung bestehen die Anforderungen an experimentelle Durchführung und Analytik a) in der genauestmöglichen Bestimmung der Kinetik der ersten Sekunden und b) in der möglichst vollständigen Erfassung des Teilbereiches des Konzentrations-Zeit-Verlaufes.

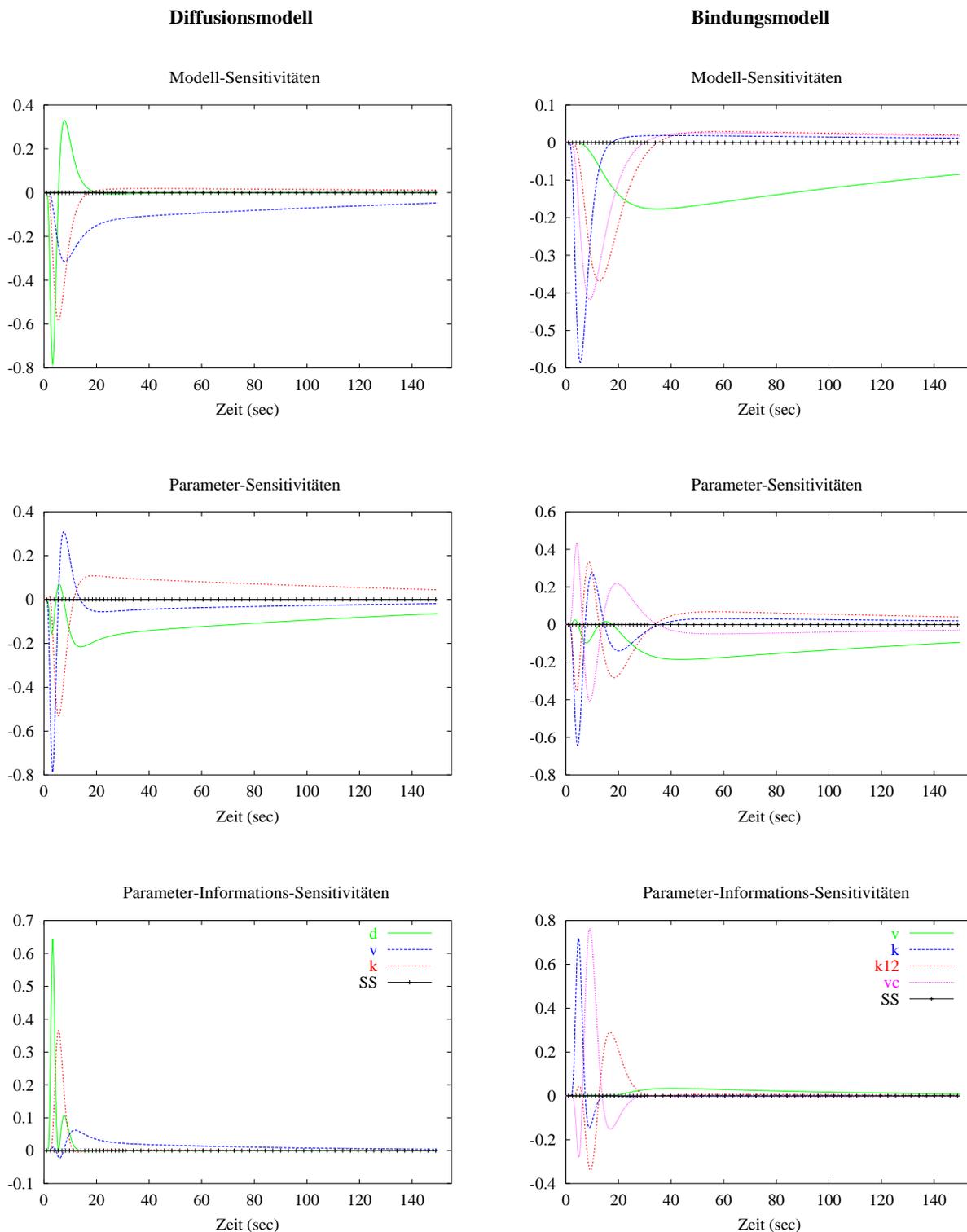
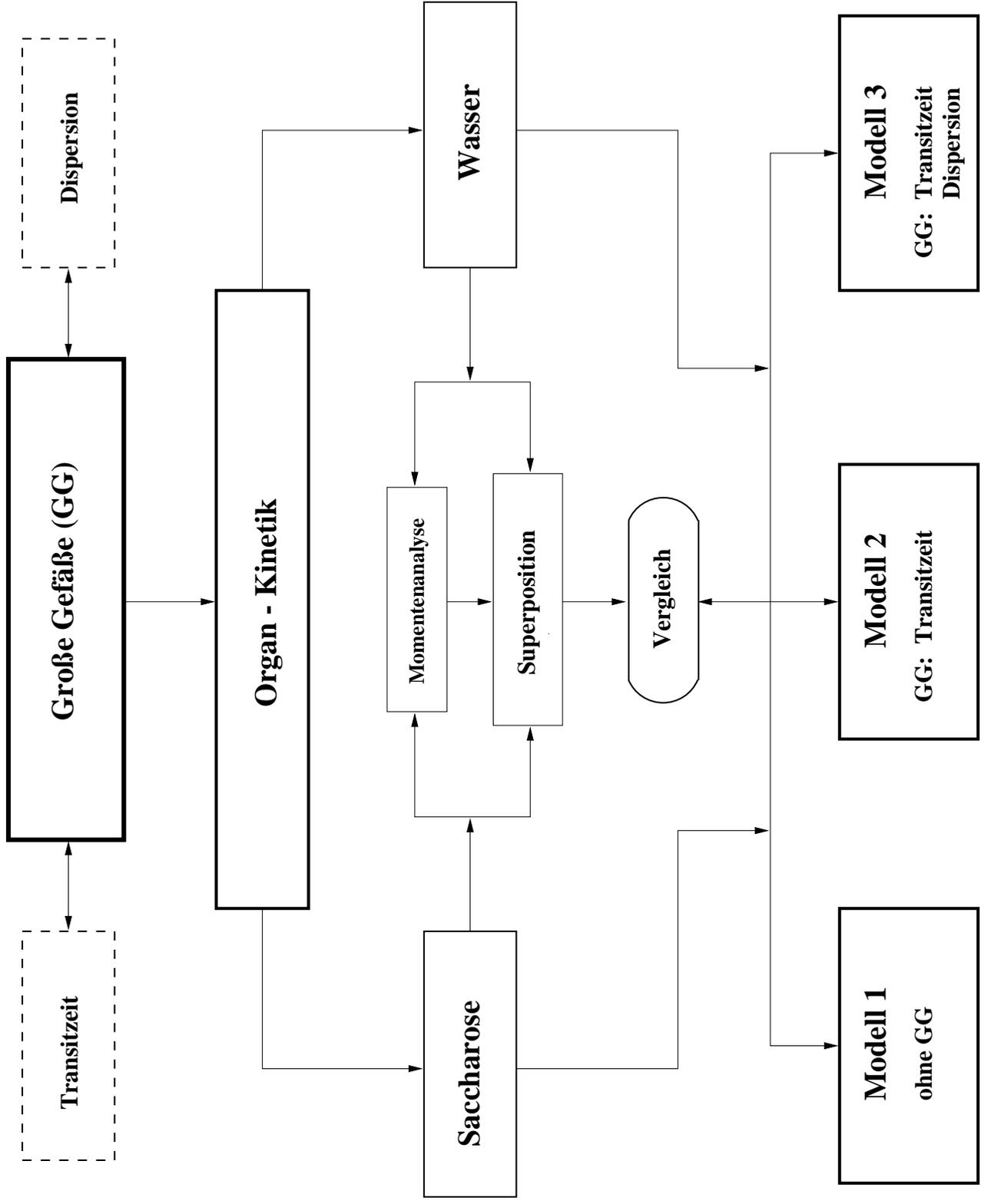


Abbildung 4.16: Trijodthyroxin – Sensitivitätsanalyse im verlängerten Zeitbereich. Zu beachten sind die unterschiedlichen Skalierungen und Färbungen der Sensitivitäten gleicher Parameter.



## Kapitel 5

# Einfluß der Großen Gefäße auf die Gesamtkinetik der Leber

Im Mittelpunkt aller bisher vorgestellten Lebermodelle stand die Verteilung im Mikrogefäßsystem und dem angrenzenden Organgewebe. Unerwähnt blieben dabei alle im Vergleich zu den Kapillaren des Mikrogefäßsystems sogenannten „Großen Gefäße“, die die Stoffzufuhr und den Abtransport aus den einzelnen Acini, der kleinsten funktionellen Einheit der Leber, realisieren und nicht von Gewebezellen umschlossen sind (siehe Anhang A, Abb. A.2). Ihre Transitzeit wurde in Modellen, wie dem Dispersions- oder Diffusionsmodell, *a priori* als zur Gesamt-Organtransitzeit vergleichsweise schnell angenommen und bei der Modellierung vernachlässigt. Folglich wurden alle aus den Dispositionskurven ermittelten Transitzeiten und Verteilungsvolumina in diesen Modellen als Charakteristika des Mikrokapillar- und Gewebesystems aufgefaßt (substanzabhängig).

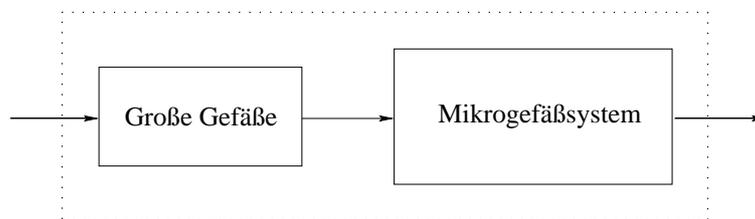


Abbildung 5.1: Große Gefäße als Subsystem der Leber

Eine Ausnahme bildet das Goresky-Modell (Goresky, C. A., 1963; Goresky, C. A. et al., 1973), welches die Transitzeit der Großen Gefäße als Verzögerungszeit (Lag-Time) berücksichtigt (Abb. 5.1). Bereits 1963 führte GORESKY bei der Berechnung des sinusoidalen und extravaskulären Volumens der Leber einen Zeitparameter  $T_0$  ein, der die Transitzeiten aller zuführenden Gefäße, wie der portalen und hepatischen Venen, zusammenfaßte (Goresky, C. A., 1963). Im Hinblick auf die Verteilungsunterschiede simultan injizierter Marker stellte  $T_0$  den Null-Zeitpunkt dar, ab dem sich die Marker in ihrer Verteilung unterscheiden; denn erst im Mikrogefäßsystem spielen zusätzliche extravaskuläre Verteilungsräume (Dissé-Raum, Hepatozyten) eine Rolle.

Weiterführende Untersuchungen beschäftigten sich mit Auswirkungen der Vernachlässigung des Katheter-Einflusses (exponentieller Dispositionsverlauf angenommen) auf die Schätzung obiger Verteilungsvolumina (Goresky, C. A. und Silverman, M., 1964). Im Gegensatz zum realistisch bestimmten extravaskulären Volumen kam es bei unberücksichtigtem Katheter zur Überschätzung des vaskulären Volumens.

Vor dem Hintergrund dieser Ergebnisse setzten sich LUXON UND FORKER fast zwanzig Jahre später erneut mit der Bedeutung der Großen Gefäße auseinander (Luxon, B. A. und Forker, E. L., 1982):

Die Vernachlässigung einer Dispersion in den Großen Gefäßen, wie sie im Goresky-Modell trotz Einbeziehung der Transitzeit vorliegt, war aus ihrer Sicht aufgrund der Größe dieser Gefäße in jedem Fall unrealistisch. Deshalb untersuchten sie im Rahmen einer Simulationsstudie den möglichen Einfluß nicht berücksichtigter Dispersion auf die Schätzung der Gewebeverteilungs- und Eliminationsparameter des Mikrogefäßsystems. Nach der Simulation fehlerbehafteter Daten — unter Annahme der Exponentialfunktion als empirischer Transitzeitdichte der Großen Gefäße — zeigten sich bei anschließenden Modellanpassungen *ohne* dieses Subsystem signifikante Fehler in den ermittelten Verteilungs- und Eliminationsparametern.

Die Resultate wiesen zwar auf die möglicherweise entscheidende Bedeutung der Großen Gefäße hin und stellten damit die Zuverlässigkeit bisheriger Parameterschätzungen bei unberücksichtigter Kinetik in Frage, konnten jedoch keinen Weg zur Bestimmung der Transitzeitverteilung bzw. Dispersion in diesem Teilsystem der Leber aufzeigen; im Gegensatz zum Katheter sind diese Gefäße im Inneren des Organs nicht isoliert perfundierbar.

Den folgenden Untersuchungen geht es deshalb um die Frage, ob *simultane* Auswertungen der Konzentrations-Zeit-Verläufe mikrovaskulärer und zellulärer Marker (Kapitel 2.2) die Schätzung der Dispersion in den Großen Gefäßen ermöglichen.

Wie bereits erwähnt, unterscheiden sich diese Substanzen zwar in ihrer Verteilungskinetik im Mikrogefäßbereich, unterliegen jedoch in gleicher Weise der Verteilung in den Großen Gefäßen. Da die Konzentrations-Zeit-Verläufe der einzelnen Marker zur Identifikation des Gesamtmodells nicht ausreichen, soll geprüft werden, ob die gemeinsame Auswertung gemäß Abbildung 5.2 eine indirekte Bestimmung der Verteilungsparameter des Systems der Großen Gefäße ermöglicht.

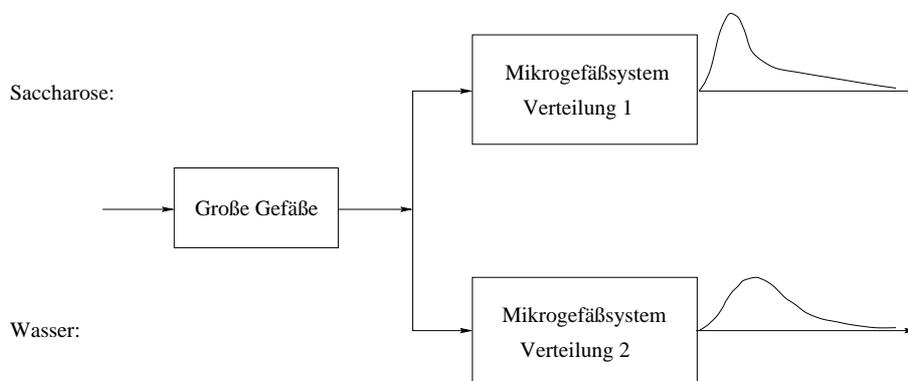


Abbildung 5.2: Modelle der simultanen Schätzung der Verteilungskinetik der Großen Gefäße

Die Untersuchungen erfolgten an jeweils sechs  $^{14}\text{C}$ -Saccharose und  $^3\text{H}$ -Wasser Konzentrations-Zeit-Profilen, die durch Simultaninjektionen an drei isoliert perfundierten Rattenlebern bei einem Fluß von 20 ml/min erhoben wurden (unveröffentlicht; Prof. Roberts, Brisbane). Für jeden Marker stehen in den ersten zwei Sekunden insgesamt sieben Datenpunkte zur Verfügung, davon vier innerhalb der ersten Sekunde, drei in der zweiten und danach pro Sekunde zwei Datenpunkte.

Im Gegensatz zu früheren Ergebnissen konnten die zusätzlich zur Verfügung stehenden Katheter Konzentrations-Zeit-Profile aufgrund eines steilen Abfalls im Anfangsbereich nicht durch die Inverse Gauss-Funktion angepaßt werden. Als geeignet erwies sich stattdessen eine zeitverzögerte Triexponentialfunktion, die in das Modell der  $^{14}\text{C}$ -Saccharose und  $^3\text{H}$ -Wasser-Verteilung einbezogen wurde.

## 5.1 Superpositionseigenschaft — Transitzeitabschätzung

Erste Informationen zur mittleren Transitzeit der Großen Gefäße ermöglicht die Superpositionseigenschaft der  $^{14}\text{C}$ -Saccharose und  $^3\text{H}$ -Wasser-Konzentrations-Zeit-Profile (Goresky, C. A., 1963), nach der der Unterschied in der Verteilungskinetik des Mikrogefäßsystems allein durch die veränderten Verteilungsvolumina bestimmt wird.

Eine geeignete Skalierung führt zur Überlagerung der Zeitverläufe, wobei unter Verwendung des Volumenverhältnisses  $v = V_T/V_B$  folgender Zusammenhang besteht:

$$C_S(t) = (1 + v) C_W \left( \frac{t}{1 + v} \right) \quad \forall t \in \mathcal{R}^+ \quad (5.1)$$

Diese Beziehung gilt zum einen speziell für die maximalen Konzentrationswerte,

$$1 + v = \frac{C_S^{max}}{C_W^{max}} \quad (5.2)$$

andererseits ergibt sich für die mittleren Transitzeiten des Mikrogefäßsystems ( $MGS$ ) die Beziehung

$$\frac{MTT_W^{MGS}}{MTT_S^{MGS}} = 1 + v \quad (5.3)$$

Da sich die mittleren Transitzeiten des Gesamtorgans als Summe der mittleren Transitzeit der Großen Gefäße ( $T_0$ ) und der jeweiligen mittleren Transitzeit des Mikrogefäßsystems ( $MTT_*$ ,  $* \in \{S, W\}$ ) ergeben, gilt  $MTT_*^{MGS} = MTT_* - T_0$  und es folgt für Gleichung (5.3)

$$\frac{MTT_W - T_0}{MTT_S - T_0} = 1 + v \quad (5.4)$$

Als Bestimmungsgleichung der mittleren Transitzeit der Großen Gefäße ergibt sich somit (Luxon, B. A. und Forker, E. L., 1982)

$$T_0 = \frac{MTT_W - (1 + v) MTT_S}{v} \quad (5.5)$$

**Im Fall der vorliegenden  $^{14}\text{C}$ -Saccharose und  $^3\text{H}$ -Wasser-Daten** ergaben sich nach der numerischen Bestimmung der mittleren Transitzeiten  $T_0$ -Werte **im Bereich von 0.7 bis 3.0 sec (Median 2.14 sec, n=6)**. Allerdings sind diese Ergebnisse nur bedingt vertrauenswürdig, da zum einen die verwendeten maximalen Konzentrationen vom Sampling-Schema abhängen und deshalb mit großer Wahrscheinlichkeit fehlerbehaftet sind, und zum anderen die Güte der numerisch berechneten mittleren Transitzeiten sehr stark von Länge und Datenqualität des Tailbereiches bestimmt werden. Zu kurze Sampling-Bereiche und stark fehlerbehaftete Daten bilden eine unzureichende Grundlage der Extrapolation und verfälschen dadurch die numerisch ermittelten Kenngrößen.

Die Abbildungen C.2 (im Anhang) und 5.3 zeigen den Vergleich der Superposition ohne und mit Berücksichtigung der Transitzeit durch die Großen Gefäße.  $T_0$  wurde dabei so gewählt, daß bei Superposition eine Überlagerung der maximalen Konzentrationen erreicht wurde. Der sich auf diesem Wege ergebende  $T_0$ -Wert ist doppelt bzw. halb so groß wie der mittels Gleichung (5.5) bestimmte. Die sehr gute Übereinstimmung der Konzentrations-Zeit-Profile in Abbildung C.2 läßt Zweifel daran aufkommen, daß Dispersion in den Großen Gefäßen entweder überhaupt von Bedeutung ist oder anhand der vorliegenden Daten identifiziert

werden kann. Allerdings zeigen drei weitere der insgesamt sechs Datensätze trotz guter Überlagerung des Peaks Abweichungen im Tailbereich. Absolut gesehen sind diese Unterschiede jedoch sehr klein, so daß Fehler auch durch die Nähe zur Bestimmungsgrenze des Meßverfahrens verursacht sein können. Die Unterschiede in den auf verschiedenen Wegen ermittelten  $T_0$ -Werten liegen zwischen Null und einer Sekunde.

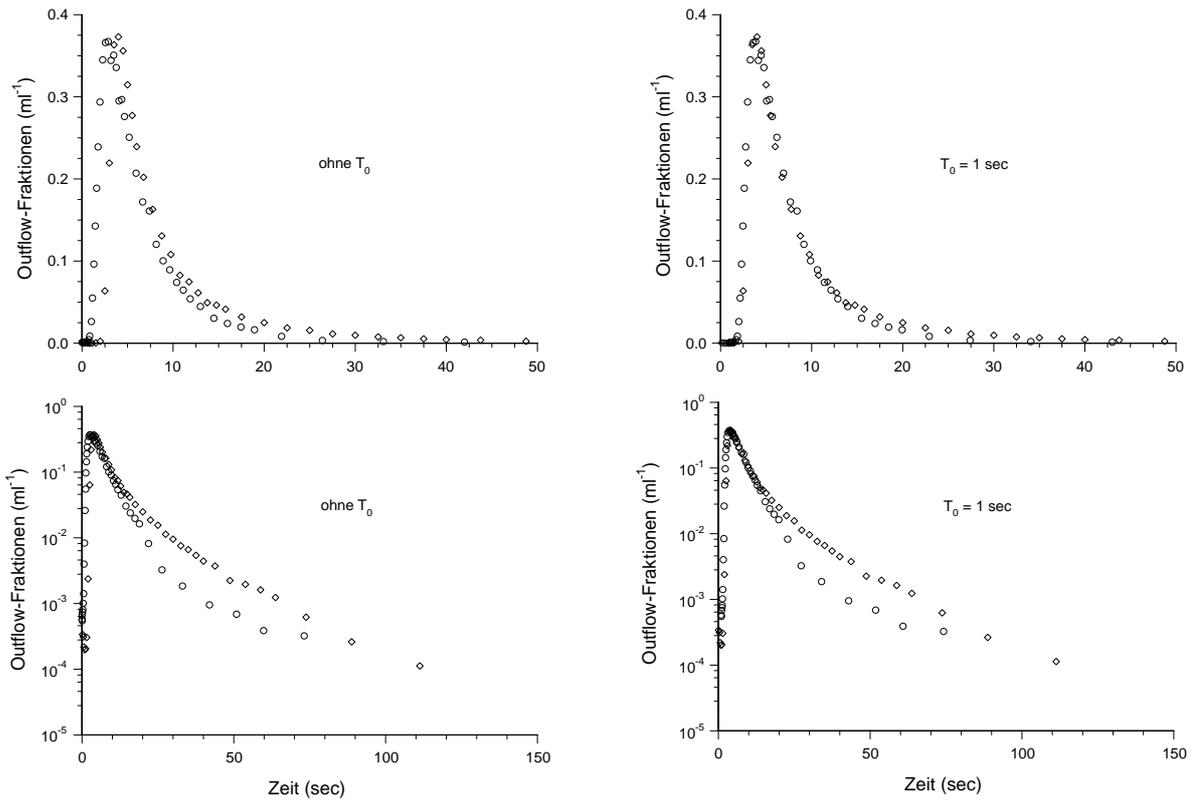


Abbildung 5.3: Superposition mit und ohne Berücksichtigung der Transitzeit durch die Großen Gefäße,  $T_0$  (Datensatz 1a;  $\circ$ :  $^{14}\text{C}$ -Saccharose,  $\diamond$ :  $^3\text{H}$ - Wasser). Beispiel für Unterschiede im Tailbereich trotz guter Überlagerung des Peaks (rechts; vgl. Abb. C.2).

## 5.2 Modellanpassungen

Um zum einen die Frage, inwieweit Dispersion in den Großen Gefäßen eine Rolle spielt, beantworten zu können und darüber hinaus zu beurteilen, wie sie sich ggf. auf die Schätzung der Verteilungsparameter des Mikrogefäßsystems auswirkt, erfolgte die modellbasierte Auswertung der Daten in drei Schritten:

Zuerst wurde angenommen, der Anteil der Großen Gefäße an der Organkinetik sei vernachlässigbar. Entsprechend Kapitel 4.2 wurde in diesem Fall die gewichtete Summe zweier Inverser Gauss-Funktionen an die  $^{14}\text{C}$ -Saccharose und  $^3\text{H}$ -Wasser Konzentrations-Zeit-Profile angepaßt (Modell 1). Danach erfolgte die

Einbindung der Großen-Gefäße-Transitzeit  $T_0$  als Verzögerungszeit in das Modell (Modell 2), und anschließend ging es im dritten Schritt um die Identifizierbarkeit der Dispersion in den Großen Gefäßen (Abb. 5.2). Als empirische Transitzeitdichte der Großen Gefäße wurde eine einfache Inverse Gauss-Funktion gewählt und durch Faltung in das Gesamtmodell einbezogen (Modell 3).

Die Ergebnisse der **Modellanpassungen 1 und 2** (Tabelle C.5 und C.6) zeigen beim Vergleich der Werte des Modellsselektionskriteriums  $MSC$ , von  $2.45 (\pm 0.35)$  vs.  $2.55 (\pm 0.35)$  für  $^{14}\text{C}$ -Saccharose und  $2.80 (\pm 0.22)$  vs.  $2.77 (\pm 0.21)$  für  $^3\text{H}$ -Wasser, keinen signifikanten Unterschied. Prinzipiell ist es möglich, daß  $T_0$  zu so geringfügig besseren Anpassungen führt, daß der  $MSC$ -Wert nahezu unverändert bleibt, obwohl der Einfluß relevant ist: Die Inverse Gauss-Funktion ist flexibel genug, die Auswirkungen des fehlenden Subsystems bis zu einem gewissen Grad durch veränderte, möglicherweise signifikant fehlerhafte Parameterwerte zu kompensieren. Diese Tatsache bliebe für das Modellsselektionskriterium, das sich auf die Summe der Abweichungsquadrate, die Anzahl der Modellparameter sowie die Anzahl der Datenpunkte stützt, jedoch verborgen.

Optische Veränderungen sind in Abbildung 5.4 am Beispiel des  $^{14}\text{C}$ -Saccharose-Datensatzes 1a dargestellt.

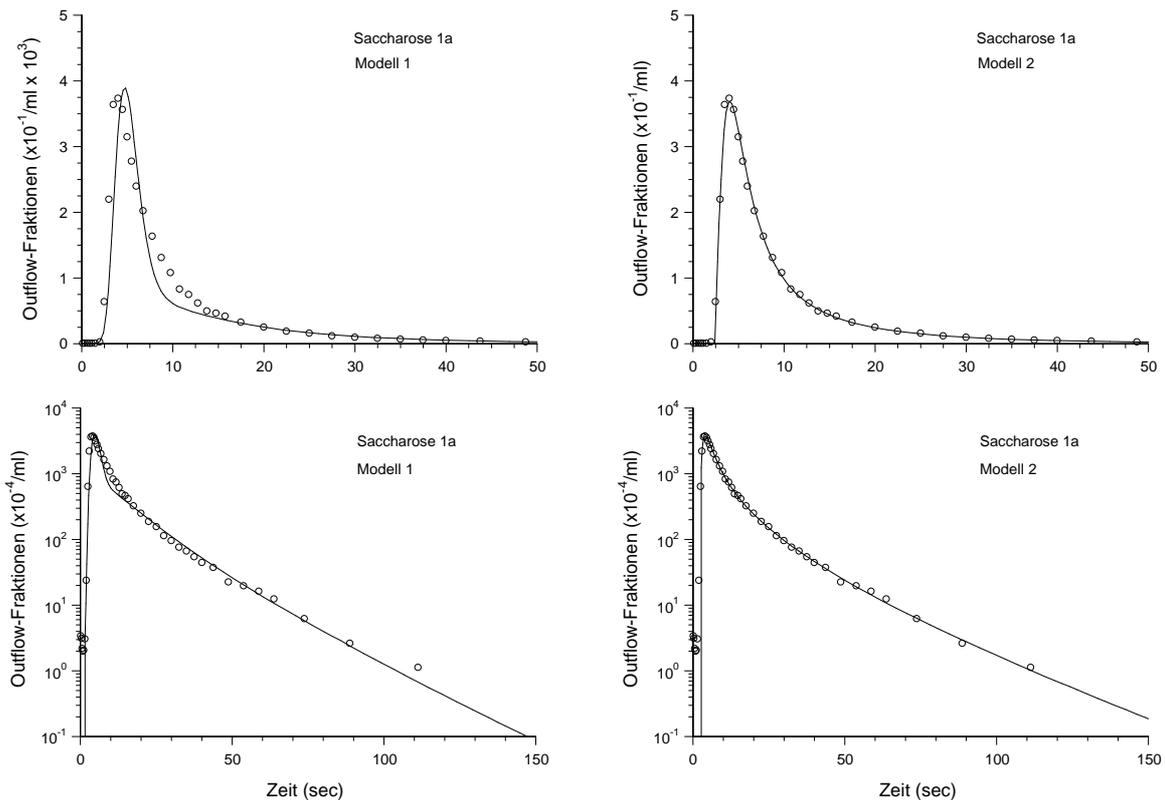


Abbildung 5.4: Modellanpassungen 1 und 2 für  $^{14}\text{C}$ -Saccharose 1a. Die Berücksichtigung der Transitzeit durch die Großen Gefäße (rechts) führt zur besseren Datenbeschreibung, obwohl die Veränderung im Modellsselektionskriterium minimal sind.

Obwohl sich der  $MSC$ -Wert nur geringfügig ändert, ergibt sich bei Berücksichtigung der Transitzeit durch die Großen Gefäße eine optisch bessere Anpassung. Dies betrifft speziell den Bereich des Peaks, der aufgrund einer geringeren Wichtung, entsprechend  $1/C(t)^2$ , das  $MSC$ -Kriterium nur unwesentlich beeinflusst.

Beim Vergleich der beiden Marker war zu erwarten, daß sich Einflüsse der Großen Gefäße stärker bei  $^{14}\text{C}$ -Saccharose zeigen:

$^{14}\text{C}$ -Saccharose besitzt eine etwa um zwei Drittel verringerte Mikrogefäßsystem-Transitzeit, so daß der Anteil der Verweilzeit in den Großen Gefäßen an der Organtransitzeit größer ist als bei  $^3\text{H}$ -Wasser. Er liegt bei den gegebenen Daten zwischen 8 und 15% (Tabelle C.5). Die auf Grundlage der  $^3\text{H}$ -Wasser Zeit-Profile im Gegensatz zu  $^{14}\text{C}$ -Saccharose sehr viel geringer geschätzte Transitzeit der Großen Gefäße (Tabelle C.6) weist deshalb auf einen mangelnden Informationsgehalt dieser Daten zur Charakterisierung der Verteilung in der Großen Gefäßen hin. Aufgrund der simultanen Injektion beider Marker und den gleichen Verteilungseigenschaften in den Großen Gefäßen wären übereinstimmende  $T_0$ -Schätzungen zu erwarten gewesen.

Die **simultane Auswertung** der  $^{14}\text{C}$ -Saccharose und  $^3\text{H}$ -Wasser Daten gemäß Abbildung 5.2 blieb bei gleichzeitiger Schätzung aller Parameter erfolglos. Ausgehend von Voruntersuchungen (Abb. 5.6, Tab. C.7) sollte abschließend die Anwendbarkeit des folgenden iterativen Verfahrens geprüft werden:

1. Schätzung der  $^{14}\text{C}$ -Saccharose und  $^3\text{H}$ -Wasser Verteilungsparameter des Mikrogefäßsystems bei fixierten Parametern der Großen Gefäße
2. Schätzung der Parameter des Systems der Großen Gefäße unter Verwendung der unter 1. bestimmten und fixierten Ergebnisparameter
3. Abbruch, wenn 1. und 2. keine Veränderungen in den Parameterschätzungen im Vergleich zur vorhergehenden Iteration ergaben. Andernfalls Wiederholung des Schrittes 1 unter Ausnutzung der im zweiten Schritt ermittelten mittleren Transitzeit und relativen Dispersion der Großen Gefäßen.

Konvergiert das Verfahren, kommt es zum Abbruch, und der Endparametervektor gilt als der gesuchte.

Zur Validierung des Verfahrens wurden für alle Kombinationen von  $T_0 = 1, 2, 3$  sec mit  $CV_{GG}^2 = 0.3, 0.8, 1.3$  fehlerfreie Daten simuliert und das Verfahren mit maximal 20 Iterationen zur Parameterschätzung angewandt. Als Startparameter dienten  $T_0 = 2$  sec und  $CV_{GG}^2 = 0.8$  und die für  $^{14}\text{C}$ -Saccharose und  $^3\text{H}$ -Wasser angenommenen Parameter waren

$$\begin{array}{ll}
 p_S & = 0.7 & p_W & = 0.8 \\
 MT_{1,S} & = 4.8 \text{ sec} & MT_{1,W} & = 19.0 \text{ sec} \\
 MT_{2,S} & = 22.3 \text{ sec} & \text{bzw.} & MT_{2,W} = 67.9 \text{ sec} \\
 CV_{1,S}^2 & = 0.1 & CV_{1,W}^2 & = 0.5 \\
 CV_{2,S}^2 & = 1.0 & CV_{2,W}^2 & = 3.4
 \end{array}$$

In vier der neun Fälle konnte mit weniger als 11 Iterationen Konvergenz erzielt werden, in allen anderen lag nach 20 Iterationen noch kein endgültiges Ergebnis vor. Trotz optisch guter Datenbeschreibungen (Abb. 5.5) ergaben sich keine validen Parameterschätzungen. Der Bias in den Parametern der Großen Gefäße zum Beispiel war mit Absolutwerten von bis zu 41% für  $T_0$  und 85% für  $CV_{GG}^2$  sehr hoch. Das Verfahren erwies sich demzufolge als ungeeignet, so daß es nicht weiter auf die experimentellen Daten angewandt wurde. Die in den Voruntersuchungen erzielten Ergebnisse sind folglich als nicht valide anzusehen.

Die Ausgangsfrage, ob simultane Auswertungen der Konzentrations-Zeit-Verläufe mikrovaskulärer und zellulärer Marker die Schätzung der Dispersion in den Großen Gefäßen ermöglichen, kann anhand des vorliegenden Datenmaterials somit nicht positiv beantwortet werden.

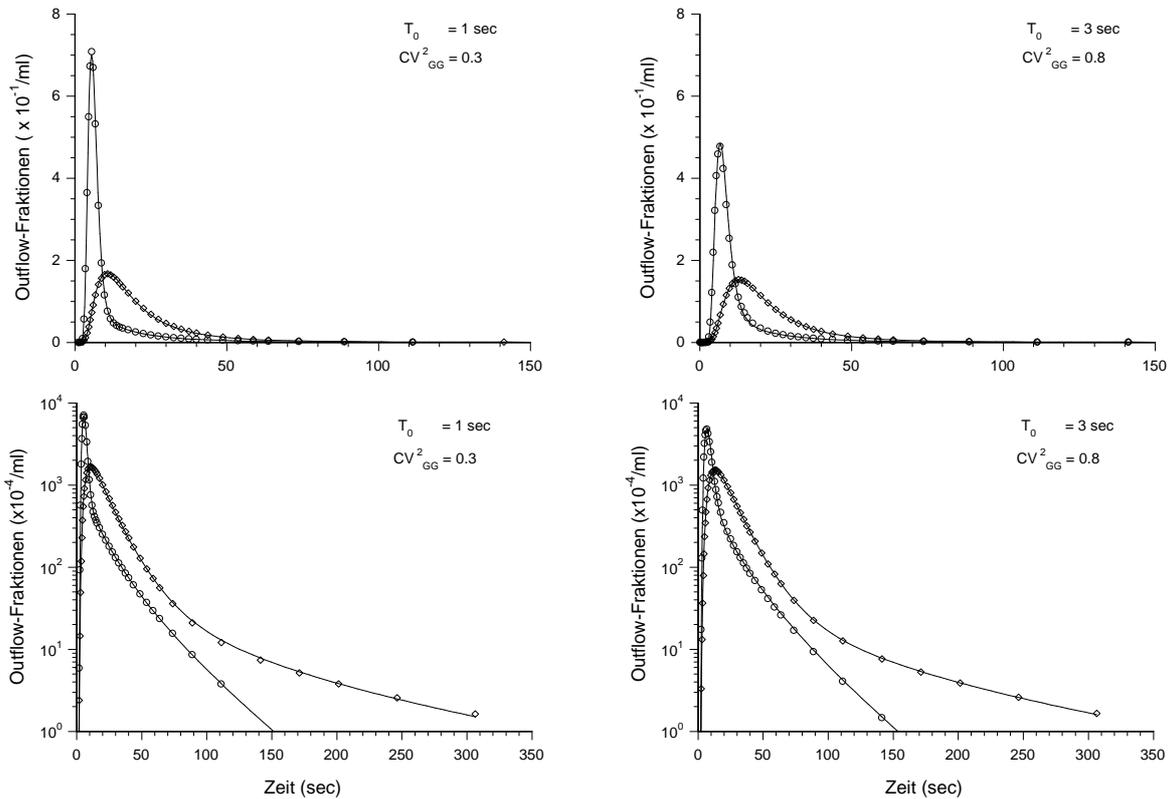


Abbildung 5.5: Validierung des Iterationsverfahrens: Modellanpassung der simulierten Daten bei Konvergenz des Verfahrens ( $\circ$ :  $^{14}\text{C}$ -Saccharose,  $\diamond$ :  $^3\text{H}$ -Wasser). Die beiden Beispiele stellen bez. des Bias in den Parameterschätzungen die Extremfälle dar. Während die absoluten relativen Abweichungen für die Parameter  $T_0$  und  $CV_{GG}^2$  im linken Fall 41% bzw. 58% betragen, ergeben sich rechts 7% und 9%. Die unteren Abbildungen in halblogarithmischer Darstellung zeigen den gesamten Simulationszeitbereich, während sich die oberen Darstellungen zur besseren Sichtbarkeit des Peaks auf den Anfangszeitbereich beschränken.

### 5.3 Zusammenfassung

Den Anlaß für die Untersuchungen dieses Kapitels gab eine Simulationsstudie von LUXON UND FORKER, die zeigte, daß eine Vernachlässigung der Dispersion in den Großen Gefäßen, wie sie aufgrund der Gefäßgröße angenommen werden kann, Fehler in den Schätzungen der Mikrogefäßparameter bewirkt (Luxon, B. A. und Forker, E. L., 1982). Deshalb sollte geprüft werden, ob die Verteilung in den Großen Gefäßen, die nicht isoliert bestimmbar ist, unter gleichzeitiger Nutzung mehrerer Informationsquellen — unterschiedlicher Marker der Kapillarsystemverteilung — indirekt charakterisiert werden kann.

Dazu wurde das Ausgangsmodell ohne Große Gefäße schrittweise erweitert: Bei Berücksichtigung der Transitzeit durch die Großen Gefäße konnten für Saccharose optisch bessere Datenbeschreibungen erzielt werden. Im Gegensatz dazu war der Informationsgehalt der Wasser-Zeitprofile zur Schätzung dieses zusätzlichen Parameters zu gering. Dementsprechend blieb auch die simultane Auswertung der Saccharose- und Wasser-Zeitprofile zur Ermittlung der Transitzeit und Dispersion in den Großen Gefäßen auf Basis der Inversen Gauss-Funktion erfolglos.

Eine zukünftige Möglichkeit besteht darin, statt des extravaskulär verteilten Wassers die ausschließlich in den Sinusoiden verbleibenden roten Blutkörperchen (RBC) als zweiten Marker zu verwenden, bei denen der Anteil der Transitzeit der Großen Gefäße an der Gesamtorgantransitzeit höher ist.

Die Anzahl der Datenpunkte in den ersten Sekunden kann aus experimenteller und analytischer Sicht nicht weiter erhöht werden. Von größerer Bedeutung als eine höhere Anzahl an Meßpunkten ist jedoch die Optimierung der experimentellen Durchführung (Adjustierung des Probenkollektors) und analytische Methoden, die geringste Konzentrationen mit hoher Genauigkeit und Zuverlässigkeit bestimmen.

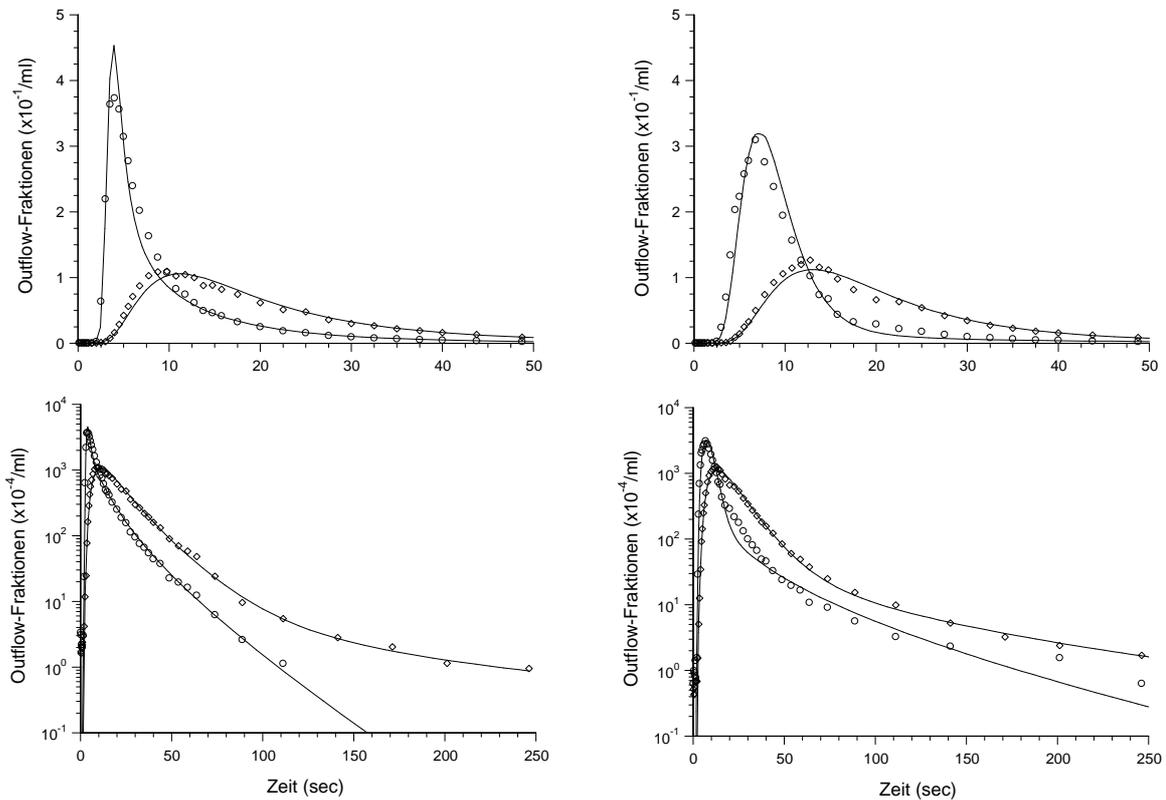
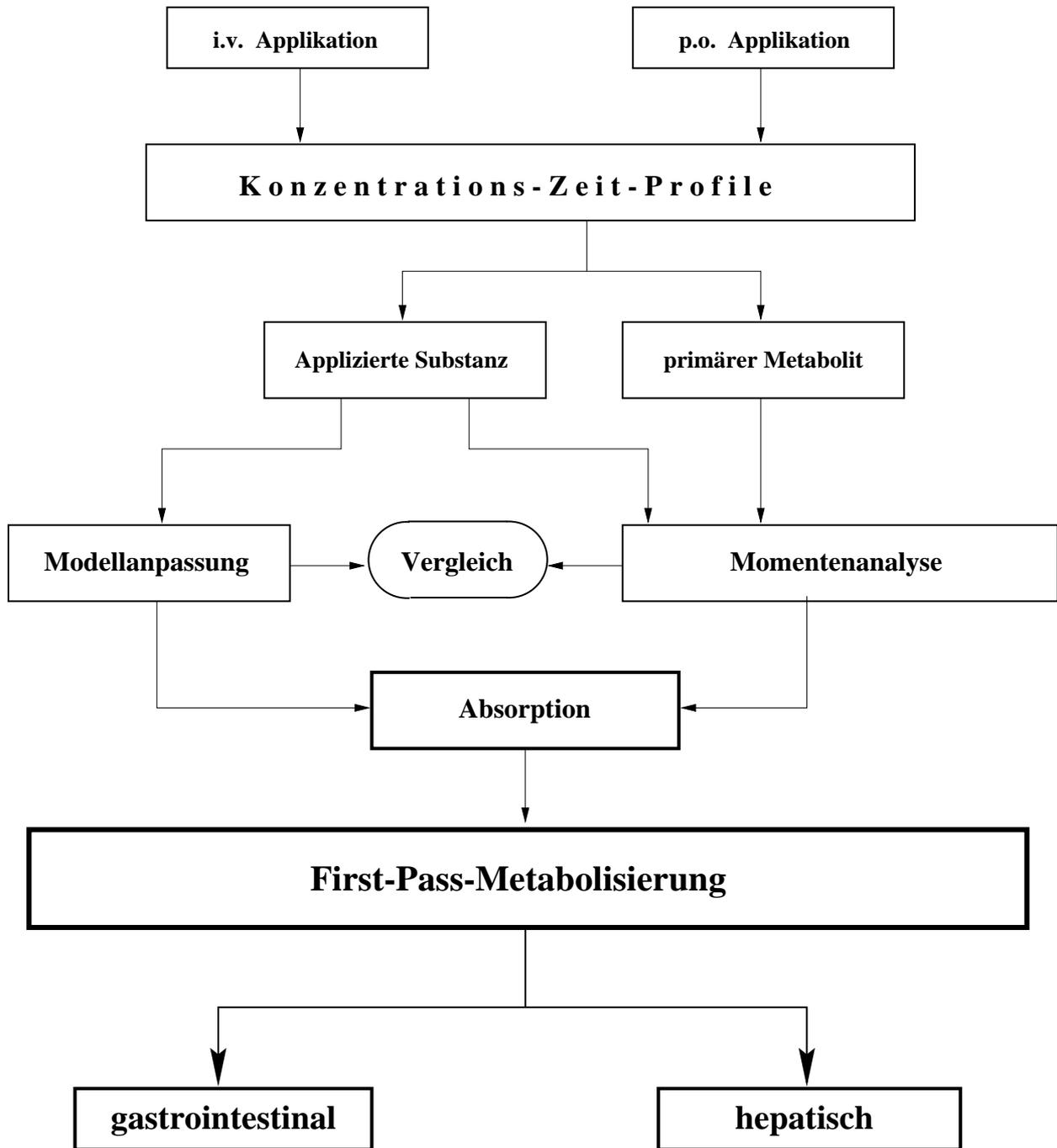


Abbildung 5.6: Modell 3: Anpassung der experimentellen Daten nach der ersten Iteration (links: 1a, rechts: 3a;  $\circ$ :  $^{14}\text{C}$ -Saccharose,  $\diamond$ :  $^3\text{H}$ - Wasser). Zur besseren Sichtbarkeit des Peaks beschränken sich die oberen Abbildungen auf den Anfangsbereich von 50 sec.



## Kapitel 6

# Die Leber als First-Pass-Organ bei oraler Applikation

Während die Leber in den bisherigen Untersuchungen als *isoliertes* Organ — herausgelöst aus der Funktionalität des Organismus — im Mittelpunkt stand, spannt dieses abschließende Kapitel den Bogen zurück zu ihrer eingangs beschriebenen Bedeutung im Gesamtorganismus.

Als herausragendes Organ der Biotransformation leistet die Leber einen wesentlichen Beitrag zur Verbesserung der Exkretionsfähigkeit xenobiotischer Stoffe. Abgesehen von sogenannten Pro-Drugs, deren Metabolite die eigentliche Wirkform darstellen, führt diese Stoffumwandlung lipophiler in hydrophilere Substanzen häufig zur Inaktivierung der chemischen Verbindung. So lebenswichtig diese Funktion auch ist, führt sie bei extravaskulärer Applikation jedoch zu einem mehr oder weniger ausgeprägten First-Pass-Effekt (FPE), d. h. der Verminderung der systemischen Verfügbarkeit der applizierten Dosis und damit zur Herabsetzung der angestrebten therapeutischen Wirksamkeit.

Da sich in den letzten Jahren verstärkt zeigte, daß neben der Leber auch im Gastrointestinaltrakt Metabolisierung stattfindet (Fromm, M. F., 1998), geht es am Beispiel der vorliegenden Bioverfügbarkeitsstudie um den Beitrag der Leber am First-Pass-Effekt und die damit verbundene Bestimmung pharmakokinetischer Parameter der Gesamtkörperverteilung. Von besonderem Interesse ist, welche zusätzlichen Informationen durch die Konzentrations-Zeit-Profile eines primären Metaboliten bereitgestellt werden.

### 6.1 Verteilungsprozesse und pharmakokinetische Parameter des Gesamtorganismus

Im Gegensatz zu intravenös (i.v.) injizierten Pharmaka, die dem Systemkreislauf direkt zur Verfügung stehen, unterliegen extravaskulär applizierte Substanzen zuvor Prozessen der Invasion und Disposition (Abb. 6.1).

Da rektale, intramuskuläre oder subkutane Applikationen in der praktischen Arzneimittel-Therapie eine eher untergeordnete Rolle spielen (Weiss, M., 1990a), liegt der Schwerpunkt des Interesses auf der Verteilungs- und Eliminationskinetik nach oraler (p.o.) Applikation.

Dem Organismus auf diesem Wege zugeführte Substanzen gelangen zunächst in den Gastrointestinaltrakt (GI), werden dort absorbiert und nach einer ersten Leber-Passage mit dem Blutkreislauf zum Wirkort transportiert (Pfeiffer, S. et al., 1995). Die Bioverfügbarkeit der Wirksubstanz wird dabei neben der Absorptions-

quote durch die First-Pass- Metabolisierung bestimmt, die zum einen in der Leber, darüber hinaus aber auch im Gastrointestinaltrakt (in der Darmwand) stattfinden kann.

Wichtigste pharmakokinetische Kenngrößen der Gesamtkörperverteilung sind neben der Bioverfügbarkeit  $F$  die mittlere Verweilzeit  $MTRT$  (Mean Total Residence Time) und die systemische Clearance  $CL$  (Weiss, M., 1990a).

Alle drei Parameter können sowohl modellunabhängig über die Momentenanalyse als auch unter Verwendung parametrischer Modelle bestimmt werden. Voraussetzung sind in beiden Fällen die Konzentrations-Zeit-Profile oraler *und* intravenöser Applikation.

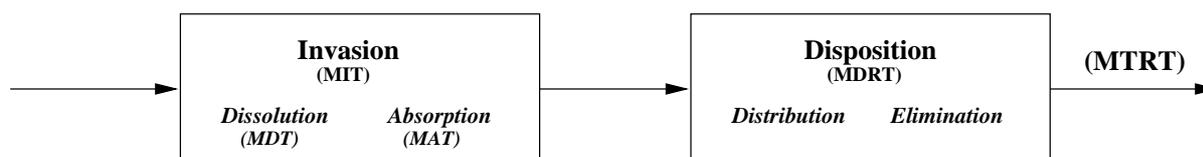


Abbildung 6.1: Prozesse, denen ein Pharmakon im Organismus unterliegt, und deren Zeitparameter

### Momentenanalyse

Entsprechend ihrer Definition (S. 10f.) berechnet sich die Clearance über die i.v. applizierte Dosis und das nullte Moment der Konzentrations-Zeit-Kurve (Weiss, M., 1990a; Rowland, M. und Tozer, T. N., 1995),

$$CL = \frac{D_{i.v.}}{AUC_{i.v.}} \quad (6.1)$$

Unter Annahme einer zeitlich unveränderten systemischen Clearance,  $CL_{i.v.} = CL_{p.o.}$  bestimmt sich die (absolute) Bioverfügbarkeit als das  $AUC$ -Verhältnis oraler und intravenöser Applikation unter Berücksichtigung der Dosierungen:

$$F = \frac{AUC_{p.o.} \cdot D_{i.v.}}{AUC_{i.v.} \cdot D_{p.o.}} \quad (6.2)$$

Diese Annahme gleicher Clearance-Werte stellt in jedem Fall eine Vereinfachung dar, die höchstens näherungsweise erfüllt ist.

Der Begriff mittlere *Gesamtkörperverweilzeit*  $MTRT$  bezieht sich auf extravaskuläre Applikationsarten. Wie aus Abbildung 6.1 ersichtlich, ergibt sich die  $MTRT$  als Summe der Verweilzeiten der einzelnen konsekutiven Teilprozesse (Weiss, M., 1990a),

$$MTRT = MDT + MAT + MDRT \quad (6.3)$$

Da Invasion bei i.v. Applikation entfällt, ist die intravenös ermittelte Verweilzeit die mittlere Dispositionsverweilzeit  $MDRT$ . Folglich bestimmt sich die Invasionszeit  $MIT$  als Differenz der mittleren Verweilzeiten nach oraler und intravenöser Applikation,  $MTRT - MDRT$ , und ist bei oral applizierter Lösung die mittlere Absorptionszeit  $MAT$ .

## Modellanpassung

Eine Alternative zur Momentenanalyse besteht in der Datenbeschreibung mittels parametrischer Modelle. Ausgangspunkt bildet wiederum die Unterteilung der Gesamtkinetik in einzelne *Teilprozesse* (Abb. 6.1), die sich im Modell als Faltung der *Teilmodelle* widerspiegelt,

$$f(t) = f_{Invasion}(t) \star f_{Disposition}(t) \quad (6.4)$$

Die Beschreibung der Disposition nach Bolus-Applikation erfolgt, wie bei der Momentenanalyse, auf Basis der i.v. ermittelten Konzentrations-Zeit-Profile, wobei als einfachstes empirisches Modell eine Multiexponentialfunktion verwendet wird. Im Anschluß an die Identifikation dieses Subsystems kann der Invasionsprozeß über die Kinetik nach oraler Applikation bestimmt werden. Handelt es sich wie in der nachfolgenden Bioverfügbarkeitsstudie um eine oral applizierte Lösung, entfällt der Dissolutionsprozeß, und der Absorptionsprozeß wird charakterisiert. In der Regel wurde bisher häufig von einer Absorptionskinetik 1. Ordnung ausgegangen, die die Monoexponentialfunktion als Absorptionsmodell impliziert. Im Gegensatz dazu verwendete WEISS für Präparate mit verzögerter Wirkstoff-Freisetzung (extended release) die Inverse Gauss-Funktion (IG) (Weiss, M., 1996) als Absorptionsmodell. Neben der mittleren Absorptionszeit  $MAT$  enthält dieses Modell als zusätzlichen Gestaltparameter die relative Dispersion  $CV_{abs}^2$ .

Liegen Dosis-normierte Konzentrations-Zeit-Profile vor, kann die Absorptionsquote direkt im Modell als Skalierungsparameter bestimmt werden (Weiss, M., 1996),

$$f_{Absorption}(t) = F_{abs} IG(t; MAT, CV_{abs}^2) \quad (6.5)$$

## 6.2 Ergebnisse einer Bioverfügbarkeitsstudie

Im Rahmen einer Bioverfügbarkeitsstudie, die von der pharmazeutischen Industrie durchgeführt wurde<sup>1</sup>, standen Plasma-Konzentrationen vier verschiedener Applikationsarten zur Verfügung, deren Dosis jeweils 50 mg der untersuchten Substanz betrug. Neben einer 15-minütigen i.v. Infusion wurde der Arzneistoff als orale bzw. rektale Lösung sowie rektales Zäpfchen appliziert. Von insgesamt 18 lagen für zehn Probanden die i.v. Daten und nur in zwei Fällen (Proband 7 und 10) die Daten aller Applikationsarten vor. Darüber hinaus waren die Konzentrations-Zeit-Profile des erzeugten Metaboliten gegeben.

Alle Daten wurden auf der Basis von PURVES publizierter Algorithmen (Purves, R. D., 1992b; Purves, R. D., 1992a; Purves, R. D., 1994) der Momentenanalyse unterzogen. Die berechneten pharmakokinetischen Parameter ( $AUC_{(m)}$ ,  $MRT_{(m)}$ ,  $F$  und  $CL$ ) sind in Tabelle C.8 – C.9 und C.11 (Anhang C.3) zusammengestellt.

### 6.2.1 Applizierte Substanz

Im Ergebnis der Momentenanalyse ergab sich für die applizierte Substanz eine systemische Clearance von 474 ( $\pm$  126) ml/min; die orale Bioverfügbarkeit liegt im Bereich von 20 bis 40%. Im Vergleich dazu zeigt sich in allen Fällen eine geringere rektale Bioverfügbarkeit, die zwar durch unvollständige Absorption und geringere First-Pass-Metabolisierung verursacht sein kann, zu einem gewissen Anteil jedoch auf zu kurze Tailbereiche und damit verbundene Fehler in der Momentenanalyse zurückzuführen ist. Dasselbe Problem tritt bei der Bestimmung der mittleren Verweilzeiten auf, so daß bis auf zwei Ausnahmen die numerisch

<sup>1</sup>Aus patentrechtlichen Gründen darf der Substanzname in dieser Arbeit nicht veröffentlicht werden.

bestimmte p.o. mittlere Verweilzeit geringer als die der i.v. Applikation ist und negative Schätzungen der Absorptionszeiten die Folge sind. Diese unterschiedlichen Ergebnisse werden in Abbildung 6.2 und 6.3 am Beispiel der Probanden 7 und 10 deutlich.

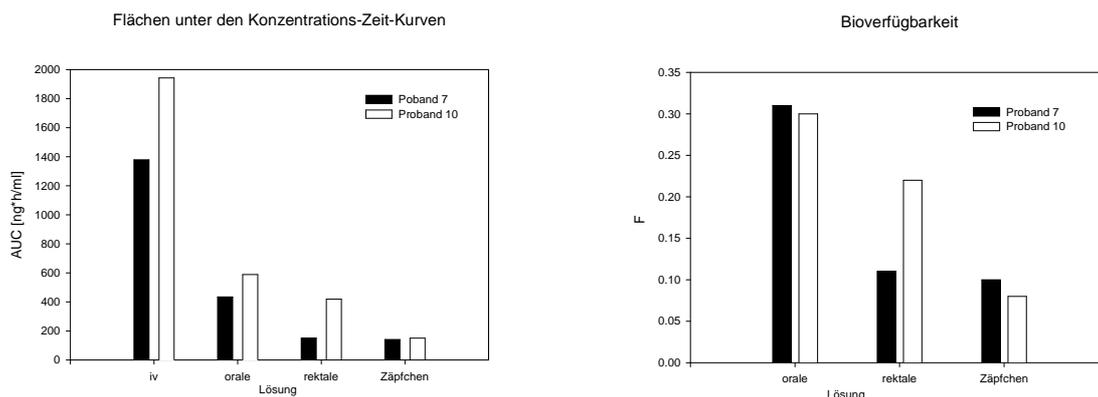


Abbildung 6.2: Vergleich der modellunabhängig berechneten Flächen unter den Konzentrations-Zeit-Verläufen  $AUC$  und Bioverfügbarkeiten  $F$  zweier ausgewählter Probanden bei unterschiedlichen Applikationsarten

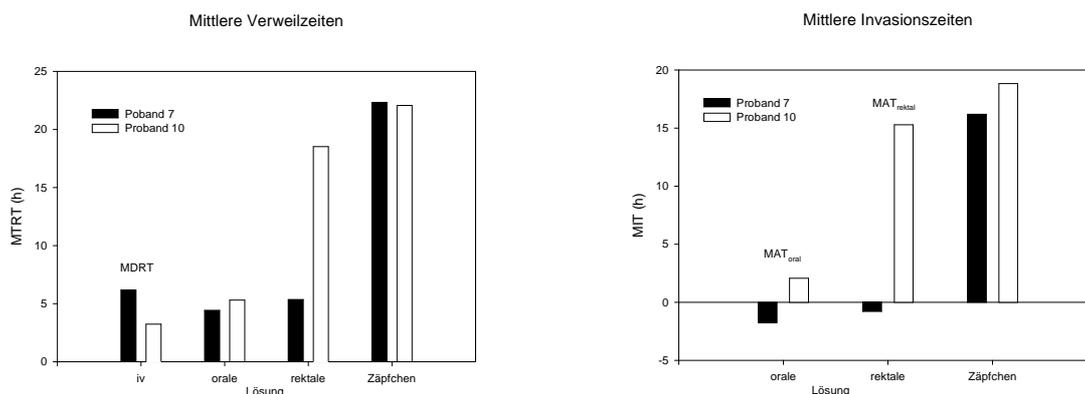


Abbildung 6.3: Vergleich der modellunabhängig berechneten mittleren Transitzeiten  $MDRT$  und  $MTRT$  sowie abzuleitender mittlerer Invasions- bzw. Absorptionszeiten der verschiedenen Applikationsarten.

Im Vergleich zu Proband 10 stehen die p.o. Daten bei Proband 7 über einen sehr viel kürzeren Zeitraum zur Verfügung (16 vs. 12 h, Abb. 6.4). Obwohl die Anzahl der Datenpunkte dadurch nur um *einen* Meßwert verringert ist, reicht der Informationsgehalt offensichtlich nicht aus, die Momente exakt genug zu bestimmen. Da die numerische Berechnung der Momente u. a. durch Extrapolation auf Basis der letzten vorhandenen Datenpunkte erfolgt, ist eine ausreichende Beschreibung des Tailbereiches Voraussetzung für die erfolgreiche Anwendung der Methode. Bei einem zu kurzen Meßzeitraum ist die der Extrapolation zugrunde liegende Annahme, daß die letzten analysierten Datenpunkte ausschließlich den Eliminationsprozeß als langsamsten Prozeß charakterisieren, nicht erfüllt. Die Konzentrations-Zeit-Kurve enthält in einem solchen Fall keine ausreichenden Informationen über die Eliminationsphase; statt dessen überwiegt am Ende des Samplingintervalls noch immer ein schnellerer Verteilungsprozeß, dessen Geschwindigkeit bei Berechnung der Momente als Elimination angesehen wird. Dies führt zur Unterschätzung der mittleren Gesamtverweilzeit *MTRT*, so daß negative Schätzungen der Absorptionszeit die Folge sein können.

Im Vergleich zur modellunabhängigen Analyse erfolgte für die i.v. und p.o. Daten zusätzlich die Anpassung eines parametrischen Modells, wie im Abschnitt 6.1 beschrieben. Dabei war bei der intravenösen Auswertung die Langzeitinfusion von 15 min zu berücksichtigen. Außerdem erwies sich die *Triexponentialfunktion* als geeignetes Dispositionsmodell, so daß sich das folgende Gesamtmodell ergab

$$C(t) = \begin{cases} \sum_{i=1}^3 \frac{A_i}{\lambda_i T_{inf}} (1 - e^{-\lambda_i t}) & : t \leq T_{inf} \\ \sum_{i=1}^3 \frac{A_i}{\lambda_i T_{inf}} (e^{\lambda_i T_{inf}} - 1) e^{-\lambda_i t} & : t > T_{inf} \end{cases} \quad (6.6)$$

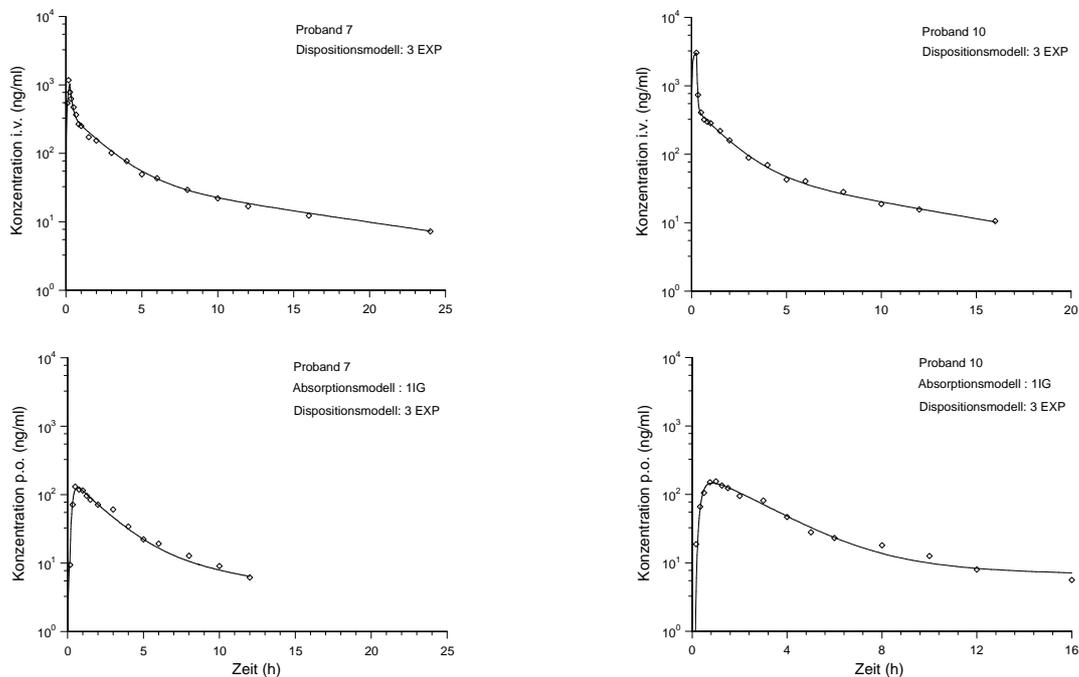


Abbildung 6.4: Modellanpassungen der i.v. (oben) und p.o. Daten (unten) bei halblogarithmischer Darstellung und unterschiedlichen Zeitskalen.

Bei Anpassung der p.o. Daten ermöglichte die Exponentialfunktion als Absorptionsmodell keine ausreichende Beschreibung der experimentell ermittelten Konzentrations-Zeit-Verläufe (Abb. 6.5 oben). Statt dessen zeigt die Inverse Gauss-Funktion aufgrund des zusätzlichen Formparameters größere Flexibilität und führt zu einer guten Modellanpassung (Abb. 6.5 und 6.4 unten). Sie wurde erstmals von WEISS als empirisches Modell des Absorptionsprozesses vorgeschlagen (Weiss, M., 1996).

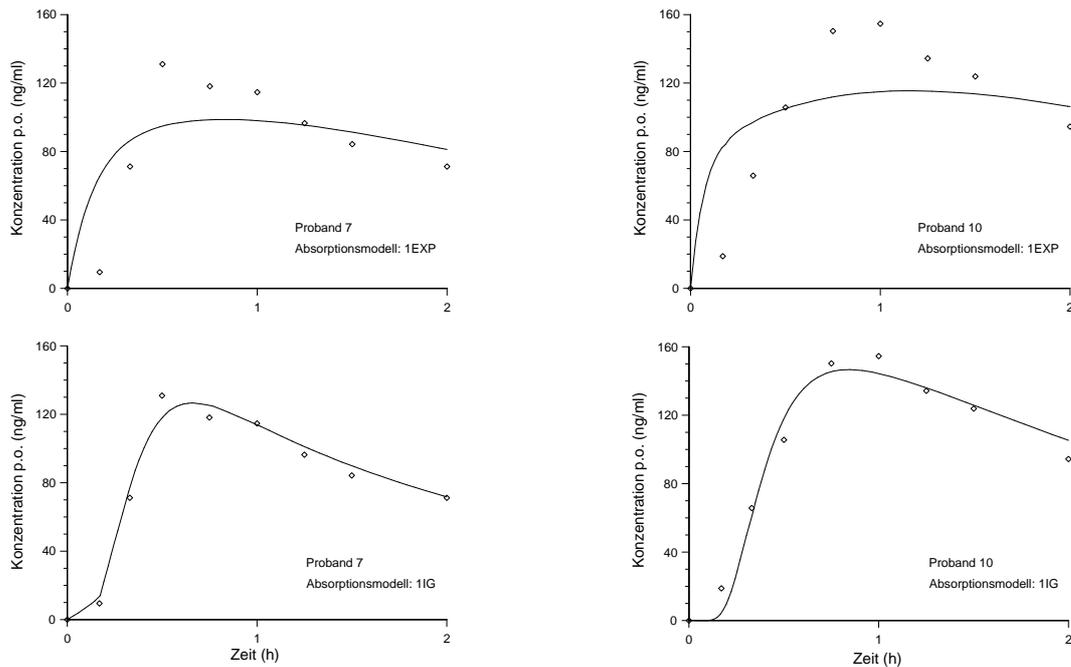


Abbildung 6.5: Vergleich der Modellanpassung im Anfangsbereich von zwei Stunden bei Verwendung unterschiedlicher Absorptionsmodelle: Exponentialfunktion (1EXP) oben, Inverse Gauss-Funktion (1IG) unten.

Am Beispiel der beiden Probanden zeigt Abbildung 6.6 die Gegenüberstellung der modellabhängig und durch numerische Integration ermittelten pharmakokinetischen Kenngrößen. Während das parametrische Modell im Gegensatz zur Momentenanalyse die Bestimmung der *MAT* für die unvollständig gemessenen Daten erst ermöglicht, unterscheiden sich die geschätzten Bioverfügbarkeiten nur unwesentlich voneinander. Mit etwa 30% gelangt ein relativ geringer Anteil der applizierten Substanz in den Blutkreislauf, deshalb stellt sich die Frage, inwieweit neben dem First-Pass-Effekt auch unvollständige Absorption für die Verluste verantwortlich ist. Da die Kinetik der applizierten Substanz keine weiteren Aussagen ermöglicht, geht es im Folgenden um den Informationsgehalt des zusätzlich gemessenen primären Metaboliten.

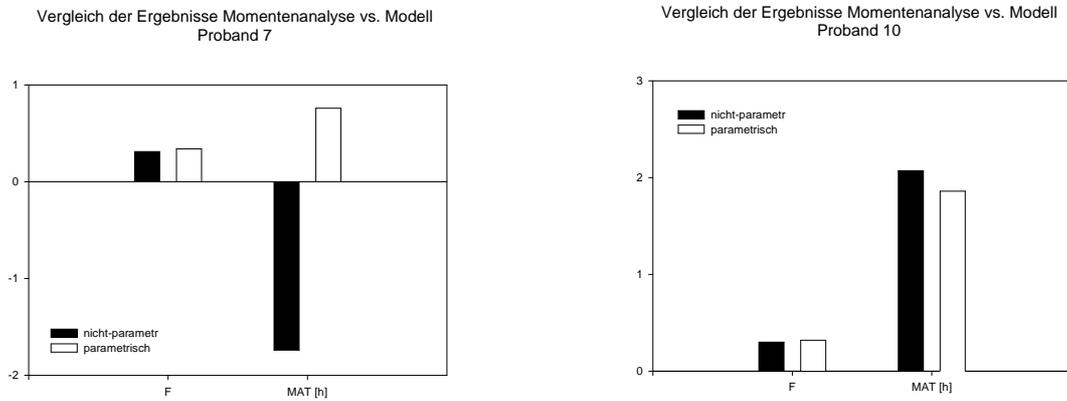


Abbildung 6.6: Gegenüberstellung der Ergebnisse nicht-parametrischer und parametrischer Auswertung; Probanden 7 (links) und Proband 10 (rechts)

### 6.2.2 Metabolit

Wie anfangs bereits erwähnt, wurden die Metabolit-Konzentrations-Zeitprofile der Momentenanalyse unterzogen. Dabei ergaben sich bei i.v. und p.o. Applikation  $AUC_m$ -Werte im Bereich von 223–516 h·ng/ml bzw. 290–805 h·ng/ml (Median: 359 bzw. 618 h·ng/ml, n=5 bzw. 6) sowie mittlere Verweilzeiten von 11–27 h bzw. 15–26 h (Median: 14 bzw. 23 h). Die Ergebnisse sind im Detail in Tabelle C.11 zusammengestellt und umfassen auch die übrigen extravaskulären Applikationsformen.

Besonderes Interesse galt dem Verhältnis der Metabolit- $AUC$  nach p.o. und i.v. Applikation, für welches bei ausschließlich hepatischer First-Pass-Metabolisierung ( $F = F_{abs} F_H$ ) die Gleichung

$$R_m := \frac{AUC_{p.o.}^m}{AUC_{i.v.}^m} = F_{abs} \left( F_H + \frac{1 - F_H}{f_m} \right) = F_{abs} \left( 1 - E_H + \frac{E_H}{f_m} \right) \quad (6.7)$$

gilt (Weiss, M., 1988), wobei  $f_m$  den Anteil der Leber an der systemischen Elimination charakterisiert. Vorausgesetzt ist zusätzlich, daß die Elimination der systemisch verfügbaren Substanzmenge allein in Niere (Index  $R$ ) und Leber stattfindet ( $CL = CL_R + CL_H$ ). Gleichung (6.7) ermöglicht die Berechnung der Absorptionsquote (Weiss, M., 1990b):

$$F_{abs} = F + f_m (R_m - F) \quad (6.8)$$

Dazu sind neben der Bioverfügbarkeit ( $F$ ) und dem  $AUC$ -Verhältnis des Metaboliten ( $R_m$ ) Informationen zum Anteil der Leber an der systemischen Elimination ( $f_m$ ) Voraussetzung. Der Parameter  $f_m$  kann indirekt über die renale Clearance berechnet werden ( $f_m = 1 - CL_R/CL$ ).

Die gegebene Bioverfügbarkeitsstudie enthielt diesbezüglich jedoch keine Angaben. Aufgrund früherer tierexperimenteller Biotransformations-Untersuchungen ist davon auszugehen, daß sowohl renale Metabolisierung als auch Exkretion stattfinden.

Trotzdem erwies sich eine nähere Untersuchung der Ausgangsgleichung (6.7) — Bestimmungsgleichung des Parameters  $R_m$  — als interessant:

Betrachtet sei der Anteil der Leber an der Gesamtelimination. Dieser ergibt sich als Quotient der hepatischen und systemischen Clearance,

$$f_m = \frac{CL_H}{CL} \quad (6.9)$$

und führt über den Zusammenhang  $CL_\star = E_\star Q_\star$  mit  $\star \in \{H, R\}$  auf die Gleichung

$$f_m = \frac{E_H Q_H}{E_H Q_H + E_R Q_R} \quad (6.10)$$

Durch die Einführung der physiologischen Konstante

$$q := \frac{Q_H}{Q_R} \quad (6.11)$$

folgt für  $f_m$  die Darstellung

$$f_m = \frac{q E_H}{q E_H + E_R} \quad (6.12)$$

und unter Berücksichtigung dieses Ergebnisses stellt sich  $R_m$  gemäß Gleichung (6.7) wie folgt dar:

$$R_m = F_{abs} \left( 1 - E_H + \frac{q E_H + E_R}{q} \right) \quad (6.13)$$

Da sowohl die Werte der Absorptionsquote  $F_{abs}$  als auch der Extraktionsquoten  $E_H$  und  $E_R$  auf den Bereich  $[0, 1]$  beschränkt sind, gilt für  $R_m$

$$F_{abs} \leq R_m \leq \frac{q+1}{q} \quad (6.14)$$

denn einerseits ist

$$\begin{aligned} 0 &\leq E_R \\ q E_H &\leq q E_H + E_R \\ E_H &\leq \frac{q E_H + E_R}{q} \\ 1 &\leq 1 - E_H + \frac{q E_H + E_R}{q} = \frac{R_m}{F_{abs}} \end{aligned}$$

und andererseits gilt

$$\begin{aligned} E_R &\leq 1 \\ q + E_R &\leq q + 1 \\ q - q E_H + q E_H + E_R &\leq q + 1 \\ R_m &\leq 1 - E_H + \frac{q E_H + E_R}{q} \leq \frac{q+1}{q} \end{aligned}$$

Die obere Schranke des Wertebereiches von  $R_m$  wird allein durch die physiologische Konstante  $q$  bestimmt, die in Abhängigkeit von Alter, Geschlecht und Gewicht interindividuellen Schwankungen unterliegt. Aus den bei (Rowland, M. und Tozer, T. N., 1995) angegebenen Blutflüssen  $Q_H = 1350$  ml/min und  $Q_R = 1100$  ml/min folgen Werte von  $q = 1.23$  und  $(q + 1)/q = 1.81$ . Im Vergleich zu anderen Literaturquellen, wie z. B. (Wada, D. R. et al., 1997), wo unterschiedliche Alter und Gewichte berücksichtigt sind, stellt 1.81 den größten  $(q + 1)/q$ -Wert dar und kann unter den anfangs getroffenen Annahmen einer ausschließlich hepatischen First-Pass-Metabolisierung sowie der allein in Leber und Niere stattfindenden systemischen Elimination als obere Schranke für  $R_m$  angesehen werden.

Für die vorliegenden Metabolit-Daten ergaben sich für  $R_m$  Werte zwischen 1.3 und 3.1 (Median: 1.5, n=5). Dabei lagen zwei der fünf Werte deutlich über 1.8, was insbesondere für den Maximalwert (siehe Abb. 6.7) mit großer Wahrscheinlichkeit Hinweis auf eine Verletzung der obigen Annahmen ist. Da es keine tierexperimentellen Hinweise auf extrahepatische bzw. -renale systemische Elimination der untersuchten Substanz gab, könnte die Annahme alleiniger hepatischer First-Pass-Metabolisierung unzulässig sein. Im folgenden Abschnitt soll deshalb zusätzlich gastrointestinale First-Pass-Metabolisierung in die Gleichung (6.8) einbezogen werden.

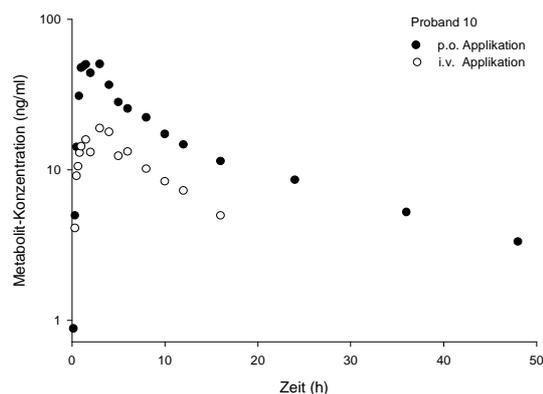


Abbildung 6.7: Konzentrations-Zeit-Verläufe des primären Metaboliten nach i.v. und p.o. Applikation für den Probanden mit maximalem  $R_m$ -Wert von 3.1 (halblogarithmische Darstellung).

### 6.3 Gastrointestinaler und hepatischer First-Pass-Effekt

Dieser Abschnitt erweitert den von WEISS (Weiss, M., 1988; Weiss, M., 1990b) für hepatische First-Pass-Metabolisierung hergeleiteten Zusammenhang (6.7), der zusätzliche Informationen der Kinetik des  $i$ ten primären Metaboliten  $mi$  nach i.v. und p.o. Applikation der Muttersubstanz (Precursor) nutzt, um Aussagen zur Absorptionsquote des Precursors zu ermöglichen. Neben dem hepatischen First-Pass-Effekt wird im Folgenden *zusätzlich gastrointestinale Metabolisierung* in die Modellierung einbezogen. Vorausgesetzt bleibt, daß die Elimination der applizierten Substanz ausschließlich in Leber und Niere stattfindet, es sich um ein lineares pharmakokinetisches System handelt und somit das Clearance-Konzept Gültigkeit besitzt. Die Vorteile (a) keine (restriktiven) Annahmen zum Absorptionsprozeß und (b) Kompartiment-unabhängige Modellierung bleiben erhalten.

Im Mittelpunkt der Betrachtungen steht das  $AUC$ -Verhältnis des primären Metaboliten ( $mi$ )

$$R_{mi} := \frac{AUC_{po}^{mi}}{AUC_{iv}^{mi}} \quad (6.15)$$

Ausgehend vom Clearance-Konzept, Glg. (1.25), wird die  $AUC$  durch die im Zeitraum  $[0, \infty)$  eliminierte Menge der betrachteten Substanz und ihrer systemischen Clearance bestimmt:

$$AUC = \frac{A_{el}(\infty)}{CL} \quad (6.16)$$

Demzufolge entspricht  $R_{mi}$  unter Annahme gleicher Clearancewerte,  $CL_{iv}^{mi} = CL_{po}^{mi}$ , dem Verhältnis der i.v. und p.o. eliminierten Metabolit-Mengen  $A_{el, \star}^{mi}$ ,  $\star \in \{iv, po\}$ ,

$$R_{mi} = \frac{A_{el, po}^{mi}(\infty)}{A_{el, iv}^{mi}(\infty)} \quad (6.17)$$

die über Massebilanzgleichungen bestimmt werden können.

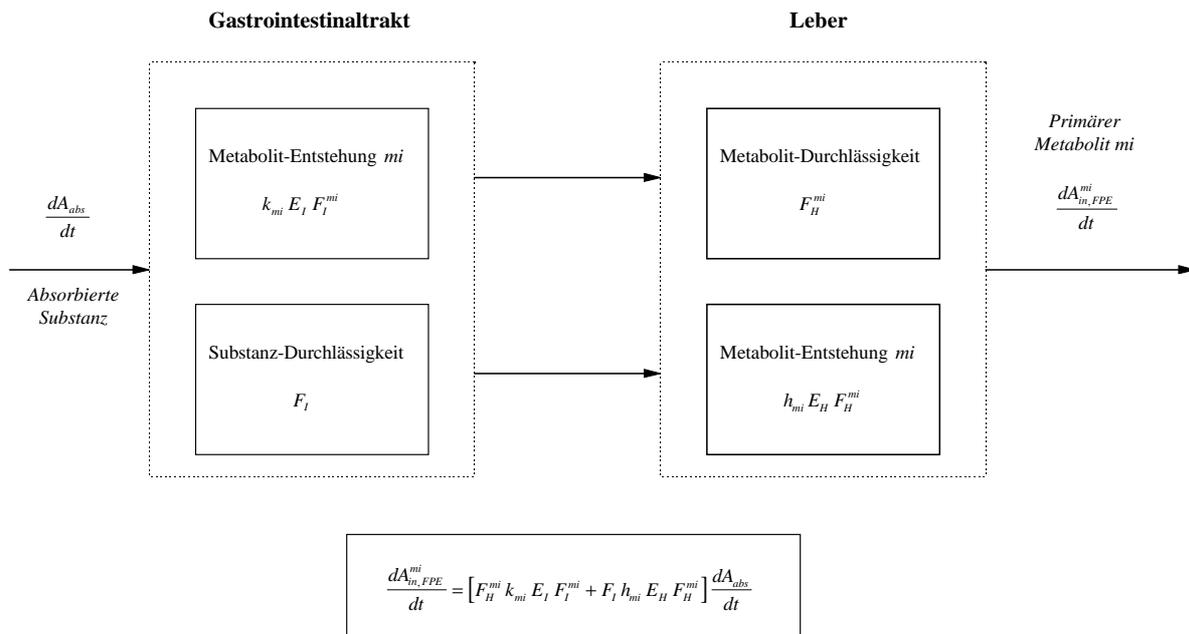


Abbildung 6.8: Gastrointestinale und hepatische First-Pass-Metabolisierung der absorbierten Substanz in primären Metaboliten ( $mi$ )

Während die Inputrate des Metaboliten  $mi$  in den Systemkreislauf bei i.v. Applikation allein durch die hepatische Metabolisierung bestimmt ist, kommt im p.o. Fall First-Pass-Metabolisierung hinzu, die neben der Leber auch im Gastrointestinaltrakt stattfindet (siehe Abbildung oben). Es ergeben sich die folgenden Inputraten:

**i.v. Applikation:**

$$\frac{dA_{in, iv}^{mi}(t)}{dt} = -f_m h_{mi} F_H^{mi} \frac{dARE(t)}{dt} \quad (6.18)$$

**p.o. Applikation:**

$$\frac{dA_{in,po}^{mi}(t)}{dt} = [E_I k_{mi} F_I^{mi} F_H^{mi} + F_I E_H h_{mi} F_H^{mi}] \frac{A_{abs}(t)}{dt} - f_m h_{mi} F_H^{mi} \frac{dARE(t)}{dt} \quad (6.19)$$

Dabei charakterisiert  $f_m h_{mi}$  den in der Leber erzeugten Anteil an Metabolit  $mi$ , von dem wiederum der Anteil  $F_H^{mi}$  keiner weiteren Metabolisierung unterliegt.  $ARE(t)$  ist die der Elimination zum Zeitpunkt  $t$  im Körper zur Verfügung stehende Substanzmenge und  $f_m$  bezeichnet den hepatisch eliminierten Anteil nach i.v. Applikation. — First-Pass-Elimination nach oraler Applikation bezieht sich auf die absorbierte Menge  $A_{abs}$  und wird neben der nachfolgenden hepatischen Metabolisierung durch den im Gastrointestinaltrakt entstehenden Anteil  $k_{mi}$  des Metaboliten  $mi$  an der Gesamtextraktion  $E_I$  mit der Verfügbarkeit  $F_I^{mi}$  bestimmt. Der im Gastrointestinaltrakt nicht metabolisierte Precursor-Anteil  $F_I$  unterliegt bei anschließender Leber-Passage der Extraktionsquote  $E_H$ .

Da der erzeugte Metabolit  $mi$  wieder vollständig aus dem Körper eliminiert wird, ist die insgesamt eliminierte Menge  $A_{el}^{mi}(\infty)$  gleich der entstandenen Metabolitmenge  $A_{in}^{mi}(\infty)$ , d. h. es gilt

$$A_{el}^{mi}(\infty) = \int_0^{\infty} \frac{dA_{in}^{mi}}{dt} dt \quad (6.20)$$

Für die **intravenöse Applikation** ergibt sich entsprechend Gleichung (6.18) die Beziehung

$$A_{el,iv}^{mi}(\infty) = f_m h_{mi} F_H^{mi} \int_0^{\infty} -\frac{dARE}{dt} dt \quad (6.21)$$

Zusätzlich gilt für den Integralterm

$$\int_0^{\infty} -\frac{dARE}{dt} dt = A_{el,iv}(\infty) = D_{iv} \quad (6.22)$$

so daß die Normierung hinsichtlich der Precursor-Dosis  $D_{iv}$  auf den folgenden Zusammenhang führt

$$\frac{A_{el,iv}^{mi}(\infty)}{D_{iv}} = f_m h_{mi} F_H^{mi} \quad (6.23)$$

Analog ergibt sich bei **oraler Applikation** aus den Gleichungen (6.19) und (6.20) die Beziehung

$$A_{el,po}^{mi}(\infty) = [E_I k_{mi} F_I^{mi} F_H^{mi} + F_I E_H h_{mi} F_H^{mi}] \int_0^{\infty} \frac{A_{abs}}{dt} dt + f_m h_{mi} F_H^{mi} \int_0^{\infty} -\frac{dARE}{dt} dt \quad (6.24)$$

Für den linken Integralterm, die insgesamt absorbierte Menge, gilt

$$\int_0^{\infty} \frac{dA_{abs}}{dt} dt = F_{abs} D_{po} \quad (6.25)$$

Der rechte Integralterm entspricht wiederum der insgesamt eliminierten Menge Precursor, die durch die First-Pass-Metabolisierung bestimmt ist

$$\int_0^{\infty} -\frac{dARE}{dt} dt = A_{el,po}(\infty) = F_{abs} F_I F_H D_{po} \quad (6.26)$$

Somit ergibt sich für Gleichung (6.24) nach Dosisnormierung die folgende Gestalt

$$\begin{aligned} \frac{A_{el,po}^{mi}(\infty)}{D_{po}} &= [E_I k_{mi} F_I^{mi} F_H^{mi} + F_I E_H h_{mi} F_H^{mi}] F_{abs} + f_m h_{mi} F_H^{mi} F_{abs} F_I F_H \\ &= F_{abs} F_I h_{mi} F_H^{mi} [E_H + f_m F_H] + E_I k_{mi} F_I^{mi} F_H^{mi} F_{abs} \end{aligned} \quad (6.27)$$

Ziel der Untersuchungen war die Bestimmung des Metabolit- $AUC$ -Verhältnisses, das bei gleicher Clearance gemäß Gleichung (6.17) über die eliminierten Metabolit-Mengen nach i.v. und p.o. Applikation bestimmbar ist. Unter der zusätzlichen Annahme gleicher Dosierungen,  $D_{iv} = D_{po}$ , folgt aus den Gleichungen (6.23) und (6.27):

$$R_{mi} = F_{abs} F_I \left[ F_H + \frac{1 - F_H}{f_m} \right] + \frac{F_{abs} (1 - F_I) k_{mi} F_I^{mi}}{f_m h_{mi}} \quad (6.28)$$

Als Bestimmungsgleichung der Absorptionsquote bei hepatischer *und* gastrointestinaler First-Pass-Metabolisierung ergibt sich durch äquivalente Umformungen und unter Verwendung der Beziehung  $F = F_{abs} F_I F_H$ :

$$F_{abs} = \frac{F + f_m [R_{mi} - F]}{F_I + (1 - F_I) \frac{k_{mi} F_I^{mi}}{h_{mi}}} \quad (6.29)$$

Der Spezialfall vollständiger gastrointestinaler Durchlässigkeit  $F_I = 1$  führt auf den bekannten Zusammenhang Gleichung (6.7). Neben dem Anteil der Leber an der Gesamtelimination  $f_m$  und der hepatischen Durchlässigkeit  $F_H$  sind für die praktische Anwendbarkeit des erweiterten Zusammenhangs (6.29) nicht nur die gastrointestinale Durchlässigkeit  $F_I$  sondern auch sehr spezifische Kenngrößen zur Entstehung des primären Metaboliten erforderlich, die in bisherigen Studien nicht bestimmt wurden.

## 6.4 Zusammenfassung

Oral applizierte Pharmaka unterliegen vor ihrem Eintritt in die systemische Zirkulation neben Prozessen der Aufnahme und Verteilung in den meisten Fällen auch der Biotransformation. Unvollständige Absorption der Pharmaka und/oder First-Pass-Metabolisierung, die neben der Leber auch in der gastrointestinalen Mukosa stattfinden kann (Thummel, K. E. et al., 1996; Paine, M. F. et al., 1996; Gramatte, T. et al., 1996; Hebert, M. F. et al., 1992), verringern die Bioverfügbarkeit der applizierten Substanz.

Am Beispiel einer Bioverfügbarkeitsstudie wurde die Bestimmung des Anteils der Leber am First-Pass-Effekt untersucht. Während die Berechnung der Bioverfügbarkeit standardmäßig über die Konzentrations-Zeit-Profile der p.o. und i.v. applizierten Substanz erfolgt, sollten Informationen zur Absorptionsquote, wie bei (Weiss, M., 1990b) vorgeschlagen, durch zusätzlich erhobene Konzentrations-Zeit-Profile eines primären Metaboliten gewonnen werden.

Die Auswertung der applizierten Substanz erfolgte neben der Momentenanalyse modellbasiert. Als wichtigste Parameter wurden die Bioverfügbarkeit, die systemische Clearance und verschiedene Zeit-Parameter berechnet. Während die Momentenanalyse zur Schätzung negativer mittlerer Absorptionszeiten führte, ergaben sich durch Modellanpassung sinnvolle Parameterschätzungen. Gleichzeitig erwies sich die Inverse Gauss-Funktion im Gegensatz zur Exponentialfunktion (Kinetik 1. Ordnung) als geeignetes Absorptionsmodell.

Bei der Auswertung der Daten des Metaboliten stand  $R_{mi}$ , das  $AUC$ -Verhältnis des Metaboliten nach p.o. und i.v. Applikation des Precursor, im Mittelpunkt. Fehlende Informationen zum Anteil der Leber an der systemischen Elimination verhinderten die Berechnung der Absorptionsquote und damit die Bestimmung der hepatischen Durchlässigkeit. Zusätzliche Informationen ergaben sich durch die Abschätzung des beim Menschen aus physiologischen Gründen maximal möglichen  $R_{mi}$ -Wertes von etwa 1.8 bei Annahme ausschließlich hepatischer First-Pass-Metabolisierung. In zwei der fünf Fälle traten wesentlich höhere Werte auf, die möglicherweise Hinweis auf gastrointestinale First-Pass-Metabolisierung sind. Die geringe Anzahl zur Verfügung stehender Ergebnisse läßt jedoch keine eindeutigen Schlußfolgerungen zu.

Vor diesem Hintergrund stand abschließend die Erweiterung der von WEISS für ausschließlich hepatische First-Pass-Metabolisierung hergeleiteten Bestimmungsgleichung der Absorptionsquote im Mittelpunkt der Untersuchungen. Dabei zeigte sich, daß neben allen bisherigen Informationen nicht nur die gastrointestinale Durchlässigkeit, sondern zusätzlich auch spezifische Kenngrößen zur Metabolit-Entstehung vorhanden sein müssen, um quantitative Bestimmungen zu ermöglichen.

# Kapitel 7

## Ausblick

Im Mittelpunkt dieser Arbeit stand die Modellierung der Pharmakokinetik auf Organebene als wesentlicher Komponente der Gesamtkörperkinetik. Sie diente der Schätzung physiologischer Parameter und Vorhersagen der Auswirkung von Parameteränderungen (Kap. 4.3.2), wie sie z. B. als Folge pathophysiologischer Veränderungen auftreten.

Die unabhängige experimentelle Bestimmung der Organkinetik erfolgt durch isolierte Perfusion, bei der das Organ herausgelöst aus der systemischen Zirkulation untersucht wird (Kap. 2.1).

Das besondere Interesse lag auf der Kinetik der Leber als dem wichtigsten Organ der Biotransformation, in welchem körperfremde und körpereigene Substanzen neben Verteilungs- auch Stoffumwandlungsprozessen unterliegen. Während Metabolisierung einerseits Teil des allgemeinen Stoffwechsels ist, dient sie andererseits als Schutzmechanismus (Detoxifikation), verringert darüber hinaus aber auch die Bioverfügbarkeit insbesondere oral applizierter Pharmaka.

Zentrales Ergebnis der Arbeit ist das um Metabolisierung erweiterte Diffusionsmodell (Kap. 4.1.1). Mit der Modellerweiterung stehen die Vorteile dieses 2-Phasen-Modells:

- (a) die freie Wahl des Teilmodells zur Charakterisierung der Mischung in der inneren Phase (z. B. im Gefäßsystem)
- (b) Diffusion als Verteilungsprozeß innerhalb der äußeren Phase (z.B. dem Organgewebe)

auch Untersuchungen der hepatischen Pharmakokinetik zur Verfügung. Dadurch wurde es möglich, die dem Dispersionsmodell inhärente Inverse Gauss-Funktion durch die gewichtete Summe zweier Inverser Gauss-Funktionen zur Beschreibung der intravaskulären Mischung zu ersetzen. Wie bereits am Hinterbein der Ratte (Weiss, M. und Roberts, M. S., 1996), erwies sich dieses empirische Modell auch in den Untersuchungen der isoliert perfundierten Leber als geeigneter (Kap. 4.2). Zusätzliche Simulationen machten deutlich, daß eine inadäquate Anwendung der einfachen Inversen Gauss-Funktion zu signifikanten Fehlern in den Schätzungen der Gewebeverteilungs- und Eliminationsparametern führen kann.

Im Rahmen der Modellvalidierung zeigte sich für verschiedene Phenol-Derivate, daß intrazelluläre Diffusion oder ein vergleichbarer Prozeß die Gewebeverteilung bestimmt (Kap. 4.3.2). Aufgrund der geringen Anzahl verfügbarer Datensätze und dem unzureichenden Informationsgehalt der Daten zur simultanen Schätzung aller Parameter, sind diese Ergebnisse als ein erster Hinweis zu werten. — Aufgabe zukünftiger Untersuchungen wird es sein, die Validierung des erweiterten Diffusionsmodells fortzuführen und die experimentelle Planung stärker an der speziellen Fragestellung auszurichten.

Aus den Ergebnissen der Parameteridentifikations-Analysen (Kap. 4.4) ergeben sich als Anforderung an das experimentelle Design:

- (1) eine Erhöhung der Sampling-Frequenz innerhalb der ersten Sekunden bei gleichzeitiger Verbesserung der Zuverlässigkeit der erhobenen Daten und
- (2) eine Datenerhebung über den aus analytischer Sicht maximal möglichen Zeitbereich, um die Verteilungsprozesse und insbesondere Metabolisierung vollständig zu erfassen.

Ein weiterer Schwerpunkt lag auf Untersuchungen zur indirekten Identifizierbarkeit der Großen Gefäße (Kap. 5), den Zu- und Abflüssen der kleinsten funktionellen Einheiten der Leber. Grundlage bildeten Konzentrations-Zeit-Verläufe der Marker Wasser und Saccharose. Zu Beginn der Untersuchungen wurden beide Substanzen unabhängig voneinander ausgewertet. Während Saccharose dabei Schätzungen der Transitzeit durch die Großen Gefäße ermöglichte, erwies sich der Informationsgehalt der Wasserdaten für die Bestimmung dieses Parameters bereits als unzureichend. Folglich blieb auch die Schätzung der Dispersion, die nur durch die simultane Analyse mehrerer Marker erwartet werden konnte, erfolglos. In Ergänzung dieser Ergebnisse sollte zukünftig noch geklärt werden, ob analoge Untersuchungen auf der Basis eines extrazellulären und eines intravaskulären Marker, wie z. B. Saccharose und roten Blutzellen, die Identifizierbarkeit der Dispersion ermöglichen.

In den abschließenden Betrachtungen aus Sicht des Gesamtorganismus ging es um den Anteil der Leber am First-Pass-Effekt (Kap. 6). Die Kenngrößen der applizierten Substanz wurden sowohl modellunabhängig als auch modellbasiert bestimmt. Negative Parameterschätzungen in der Momentenanalyse veranschaulichten sehr gut, daß die Länge des Beobachtungszeitraumes den Informationsgehalt der erhobenen Daten wesentlich bestimmt. Gleichzeitig erwies sich die modellbasierte Parameterschätzung als zuverlässiger und die Inverse Gauss-Funktion als geeignetes Absorptionsmodell.

Informationen zur Absorption und der First-Pass-Metabolisierung nach oraler Applikation sind anhand zusätzlich ermittelter i.v. und p.o. Kinetiken eines primären Metaboliten möglich, wenn ausschließlich hepatische First-Pass-Metabolisierung vorliegt und der Anteil der Leber an der hepatisch und renal stattfindenden systemischen Elimination bekannt ist. Die gegebene Bioverfügbarkeitsstudie stellte diese Information jedoch nicht bereit, so daß die Quantifizierung der Absorptionsquote und der hepatischen Durchlässigkeit nicht möglich war. Trotzdem ergaben sich durch die Abschätzung der oberen Schranke des Verhältnisses der Metabolit- $AUC$  (p.o. vs. i.v.) und durch den Vergleich mit den aus den Daten bestimmten Werten Hinweise auf gastrointestinale First-Pass-Metabolisierung. Gleichzeitig war dies Anlaß, die bisherige Bestimmungsgleichung der Absorptionsquote um gastrointestinale First-Pass-Metabolisierung zu erweitern. Dabei stellte sich heraus, daß neben der gastrointestinalen Extraktionsquote weitere Kenngrößen zum primären Metaboliten erforderlich sind.

Die experimentelle Bestimmung und Modellbeschreibung der Metabolitkinetik bei isolierter Organperfusion wird durch die Weiterentwicklung analytischer Methoden immer besser möglich. Da entstehende Metaboliten zum Teil toxische Wirkung zeigen, ist neben der Precursor-Kinetik auch die Metabolitkinetik von Interesse. Bisher stehen für die bekanntesten Lebermodelle die zugehörigen Metabolitmodelle zur Verfügung (Mellick, G. D. et al., 1997) (Strukturvergleich im Anhang B). Eine Ausnahme bildet das Diffusionsmodell, dessen Metabolitkinetik nächstes Ziel der Modellierung sein wird.

## Anhang A

# Modellierungsgegenstand — Organ Leber

Mit einem Gewicht von 1,5 kg und einem mittleren Blutfluß von 1,5 l/min ist die Leber das größte und bedeutendste Stoffwechselorgan des Organismus. GORESKY bezeichnet sie als die *Chemie-Fabrik des menschlichen Körpers*. Ihre Blutversorgung beträgt in Ruhe etwa 1/3 des Cardiac Output (Goresky, C. A. et al., 1993). Obwohl die Funktionsfähigkeit des Gesamtorganismus ohne den spezifischen Beitrag vieler anderer Organe nicht möglich wäre, ist die Vielzahl und Mannigfaltigkeit der Prozesse, in die die Leber eingebunden ist, einzigartig.

Die Leber ist das zentrale Organ der Metabolisierung und ermöglicht durch Biotransformationsprozesse, wie der Umwandlung von Glukose in Glykogen und umgekehrt, die Bereitstellung energiereicher Substanzen für den Energiehaushalt des gesamten Organismus. Sie erfüllt zentrale Aufgaben im Kohlenhydrat-, Fett- und Proteinstoffwechsel und ist für die Biosynthese zahlreicher Stoffe, wie Proteine und Lipoproteine des Blutplasmas, Cholesterol und Gallensäuren, verantwortlich. Eisen, Folsäure und Vitamin B12 werden in der Leber gespeichert. Durch die Inaktivierung der meisten Hormone spielt die Leber eine Schlüsselrolle bei der Regulation des Plasmahormonspiegels (Pfeiffer, S. et al., 1995; Jungermann, K., 1986).

Darüber hinaus ist sie durch Metabolisierung und biliäre Exkretion das zentrale Organ der Entgiftung endogener und exogener Substanzen. Toxische Xenobiotika werden in wasserlösliche und damit ausscheidbare Metaboliten umgewandelt.

Nur eine komplexe und in vielen Beziehungen heterogene Struktur ermöglicht die Realisierung der Vielfalt dieser Aufgaben.

Durch ihre besondere Lage zwischen Gastrointestinaltrakt und Systemkreislauf beeinflusst die Leber die Bioverfügbarkeit extravaskulär applizierter Pharmaka (*First-Pass-Effekt*). Biliärer Exkretion unterliegende lipophile Substanzen (z.B. Digoxin, Morphin, Penicillin) können dem Organismus über den *enterohepatischen Kreislauf* — bei dem die Substanz mit der Galle in den Darm gelangt, dort reabsorbiert und der Leber über die Pfortader wieder zugeführt wird — länger zur Verfügung stehen.

## Anatomie

Die Leber ist die größte Drüse des Organismus. Sie besteht aus zwei Leberlappen, einem größeren rechten und einem kleineren linken, die von einer festen kollagenen Kapsel umgeben sind.

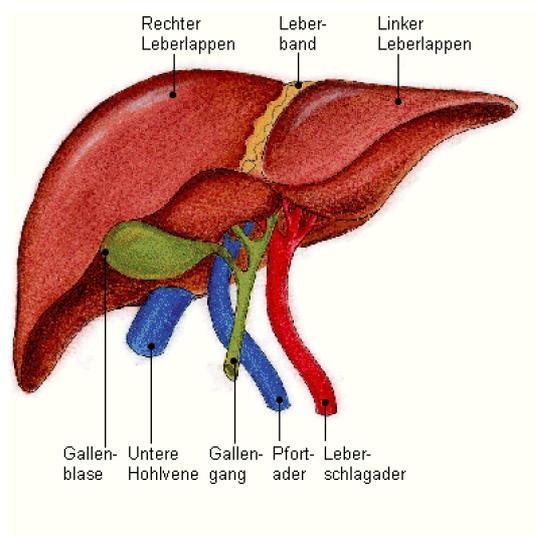


Abbildung A.1: Leber mit zu- und wegführenden Gefäßen. Aus: Mensch3D. Mit freundlicher Genehmigung von MegaSystems GmbH.

Die Blutzufuhr der Leber ist dual und erfolgt über Pfortader und Leberarterie. Über den Gastrointestinaltrakt absorbierte und anschließend in die Eingeweidezirkulation gelangte Stoffe erreichen die Leber über die Pfortader. Substanzen, die sich im Systemkreislauf befinden, werden der Leber über die Leberarterie zugeführt (Gumucio, J. J. und Guibert, E. E., 1993). Etwa 75–80% der Gesamtblutzufuhr erreicht die Leber als sauerstoffarmes venöses Blut über die Pfortader; der übrige Anteil stammt aus der Leberarterie und ist sauerstoffreich (Jungermann, K. und Katz, N., 1982; LeBouton, A. V., 1986).

Mit zwei Gallengängen, die sich zum Ductus hepaticus zusammenschließen, sowie Lymphgefäßen und Nerven bilden Pfortader und Leberarterie die sogenannte Leberpforte. Während letztere in die Leber eintreten, verlassen Gallengänge und Lymphgefäße die Leber.

Nach Eintritt von Pfortader bzw. Leberarterie findet eine immer stärkere Verästelung der anfangs parallel verlaufenden Abzweige statt, die schließlich in die Sinusoide (Leberkapillaren) einmünden. Im Netzwerk der Sinusoide kommt es zur Mischung des venösen und arteriellen Blutes.

Das durch die Sinusoide transportierte Blut wird in terminalen hepatischen Venen, sogenannten Zentralvenen, gesammelt und gelangt über größere hepatische Venen zur unteren Hohlvene.

Die Hauptzellpopulation der Leber bilden die Hepatozyten, die etwa 60% der Gesamtzellpopulation ausmachen und ungefähr 80% des Organvolumens einnehmen (McCuskey, R.S., 1993). Sie sind in Schichten einer Zellstärke angeordnet und bilden ein drei-dimensionales Gitter. In dem dabei entstehenden Labyrinth von Zwischenräumen befindet sich das Netzwerk der Sinusoide, das die Versorgung jedes einzelnen Hepatozyten gewährleistet. Ein Netzwerk sehr kleiner Tunnel, die sich zwischen je zwei angrenzenden Hepatozyten befinden, bilden die Gallenkanälchen.

## Morphologie — Der Acinus

Das Konzept des Leber-Acinus wurde 1954 von RAPPAPORT ET AL. (Rappaport, A. M. et al., 1954) zur Definition der kleinsten funktionellen Einheit vorgeschlagen (McCuskey, R.S., 1993; Sasse, D., 1986). Die Bezeichnung erfolgte zu Ehren von M. MALPIGHI, der die mikroskopische Struktur der Leber 1666 als acini bezeichnete (Macchiarelli, G. und Motta, P. M., 1993).

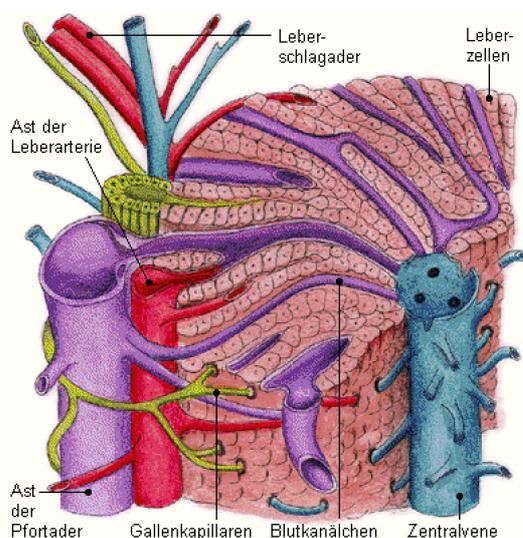


Abbildung A.2: Innere Struktur der Leber — Bestandteile des Acinus. Aus: Mensch3D. Mit freundlicher Genehmigung von MegaSystems GmbH.

Der Acinus besitzt keine definierte morphologische Grenze. Er ist die kleinste Menge an Lebergewebe, die in der Lage ist, alle Funktionen des Organs zu erfüllen. Seine Achse bildet ein aus terminal portaler Vene, hepatischer Arteriole, Gallenkanälchen, Lymphgefäß und Nerven bestehendes Portalfeld.

Die Peripherie kennzeichnen die benachbarten zentralen Venen, die als Abflüsse des aus dem Portalfeld stammenden Blutes wirken.

Innerhalb des Acinus können 3 Zonen, unterschiedlich in Sauerstoffgehalt und Metabolisierungsaktivität, unterschieden werden. Auch das Sinusoidnetzwerk, welches das Portalfeld und die Zentralvene verbindet, zeigt Heterogenität.

Zone 1 befindet sich im Bereich des Portalfeldes (periportale Zone). Das besonders stark verzweigte Netzwerk der Sinusoide ermöglicht eine optimale Versorgung des angrenzenden Lebergewebes mit Sauerstoff und Nährstoffen.

Um die Zentralvenen (perivenös) erstreckt sich Zone 3. Hier verlaufen die Sinusoide fast parallel und sind wenig verzweigt. Sie transportieren sauerstoffarmes, mit Kohlendioxid und Produkten der Metabolisierung angereichertes Blut. Zone 2 befindet sich dazwischen.

### Stoffaustausch zwischen Sinusoid und Hepatozyt

Die Sinusoide stehen über den sogenannten Dissé-Raum mit den Hepatozyten in Verbindung. Die zu Siebplatten gruppierten Endothel-Zellen mit dünnem, stark durchbrochenem Zytoplasma, bilden die hochdurchlässige Sinusoidwand. Ihre Poren besitzen Durchmesser von 100–150 nm, die sich unter dem Einfluß bestimmter Faktoren, wie luminalem Blutdruck, vasoaktiven Substanzen, Pharmaka und Toxika, verändern (McCuskey, R.S., 1993). Sie ermöglichen einen freien Stoffaustausch zwischen Sinusoid und Dissé-Raum. In der Sinusoidwand sind weitere Nicht-Parenchymzellen, wie Kupfer- und Fettspeicherzellen, verankert. Für weniger lipophile Substanzen wirkt die Membran der Hepatozyten als Permeationsbarriere.

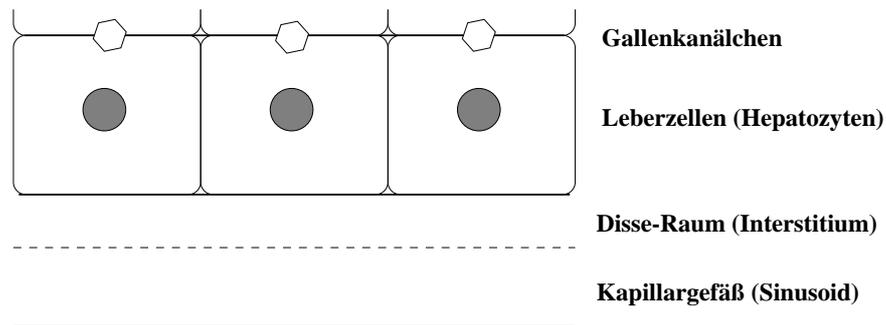


Abbildung A.3: Prinzipielle mikroskopische Struktur: Sinusoid—Dissé-Raum—Hepatozyt

### Heterogenität

Die im periportalen Bereich befindlichen Sinusoide sind enger und verschlungener, mit vielen Anastomosen (Verbindungen zwischen jeweils zwei Sinusoiden, Abb. A.4). Das dadurch entstehende, im Vergleich zur perivenösen Zone größere Oberflächen-Volumen-Verhältnis ermöglicht einen besonders guten Stoffaustausch. Außerdem ist das insgesamt durch die Sinusoide eingenommene Lebert Volumen aufgrund der Dichte des Netzwerkes größer als im Bereich der Zentralvene (McCuskey, R.S., 1993).

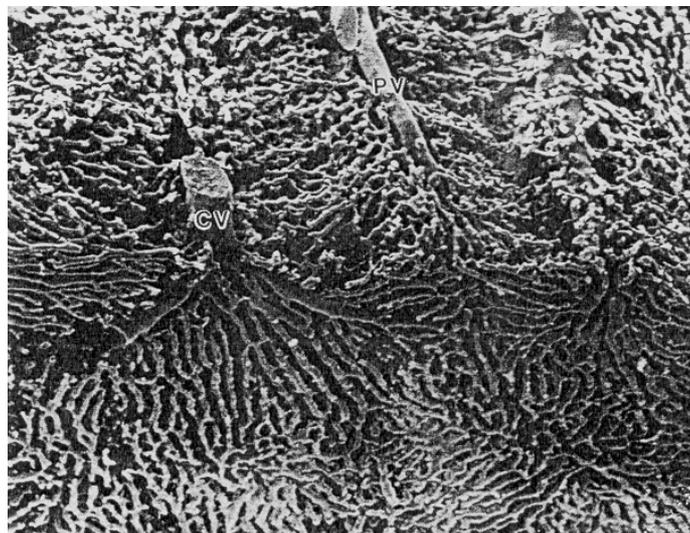


Abbildung A.4: Elektronenmikroskopische Darstellung der Heterogenität des Kapillargefäßsystems (McCuskey, R.S., 1993): stark verzweigtes Sinusoidnetzwerk um die Portalvene (PV), parallel verlaufendere Leberkapillaren um die Zentralvene (CV).

Signifikante Unterschiede finden sich auch zwischen den periportal und perivenös gelegenen Hepatozyten. Sie betreffen insbesondere Größe und Gestalt der subzellulären Strukturen und Unterschiede in der Enzymverteilung und führen u. a. zu unterschiedlicher Metabolisierungsaktivität.

## Anhang B

# Modelle der Metabolitkinetik

Für die bekanntesten Lebermodelle, wie das Zwei-Kompartiment-, das Röhren- und das Dispersionsmodell, stehen auch die zugehörigen Modelle des erzeugten primären Metaboliten zur Verfügung. Ein detaillierter Überblick mit zugrundeliegenden Differentialgleichungen findet sich bei MELLICK ET AL. (Mellick, G. D. et al., 1997). Er bildet die Grundlage des nachfolgenden Modellvergleichs, bei dem sich die im obigen Artikel gewählte übersichtliche und kompakte Darstellungsweise als vorteilhaft erweist. Gleichzeitig geht es darum, den Bezug zur Parametrisierung der vorliegenden Arbeit herzustellen.

Im Mittelpunkt der nachfolgenden Betrachtungen stehen die Modellgleichungen des Röhren- ( $RM$ ) und Dispersionsmodells ( $DM$ ), die jeweils für den Precursor ( $\hat{c}_p$ ) und Metaboliten ( $\hat{c}_m$ ) im Laplace-Raum (Laplace-Variable:  $\tilde{s}$ ) vorliegen. Im Falle des Dispersionsmodells werden neben den gemischten Randbedingungen ( $DM1$ ) zusätzlich sogenannte Danckwerts-Randbedingungen ( $DM2$ ) betrachtet. MELLICK ET AL. geben diese Modelle in folgender Form an:

### Röhrenmodell:

$$\hat{c}_p^{RM} = \exp\left(-\frac{g_{1,p}}{g_{2,p}}\right) \quad (\text{B.1})$$

$$\hat{c}_m^{RM} = \frac{\lambda}{g_{1,m} g_{2,p} - g_{1,p} g_{2,m}} \left[ \exp\left(-\frac{g_{1,p}}{g_{2,p}}\right) - \exp\left(-\frac{g_{1,m}}{g_{2,m}}\right) \right] \quad (\text{B.2})$$

mit

$$\lambda = P_m f u_{mc} \gamma P_p f u_{pp} k_{pm} f u_{pc}$$

$$g_{1,z} = P_z f u_{zp} k_{zm} f u_{zc} + \tilde{s} (P_z f u_{zp} + \gamma P_z f u_{zc} + k_{zm} f u_{zc}) + \tilde{s}^2$$

$$g_{2,z} = \gamma P_z f u_{zc} + k_{zm} f u_{zc} + \tilde{s} \quad z \in \{p, m\}$$

### Dispersionsmodell — gemischte Randbedingungen:

$$\hat{c}_p^{DM1} = \exp\left(\frac{1-r_p}{2D_N}\right) \quad (\text{B.3})$$

$$\hat{c}_m^{DM1} = \frac{\lambda}{g_{1,m} g_{2,p} - g_{1,p} g_{2,m}} \left[ \exp\left(\frac{1-r_p}{2D_N}\right) - \exp\left(\frac{1-r_m}{2D_N}\right) \right] \quad (\text{B.4})$$

mit  $\lambda$ ,  $g_{1,z}$  und  $g_{2,z}$  wie oben sowie

$$r_z = \sqrt{1 + 4 D_N \frac{g_{1,z}}{g_{2,z}}}, \quad z \in \{p, m\}$$

**Dispersionsmodell — Danckwerts Randbedingungen:**

$$\hat{c}_p^{DM2} = \frac{4 r_p}{\exp\left(\frac{r_p-1}{2 D_N}\right) (1+r_p)^2 - \exp\left(\frac{1-r_p}{2 D_N}\right) (1-r_p)^2} \quad (\text{B.5})$$

$$\hat{c}_m^{DM2} = \frac{\lambda}{g_{1,m} g_{2,p} - g_{1,p} g_{2,m}} \left[ \frac{4 r_p}{\exp\left(\frac{r_p-1}{2 D_N}\right) (1+r_p)^2 - \exp\left(\frac{1-r_p}{2 D_N}\right) (1-r_p)^2} - \frac{4 r_m}{\exp\left(\frac{r_m-1}{2 D_N}\right) (1+r_m)^2 - \exp\left(\frac{1-r_m}{2 D_N}\right) (1-r_m)^2} \right] \quad (\text{B.6})$$

Im Gegensatz zu der bisher in dieser Arbeit verwendeten Parametrisierung handelt es sich hier um ausschließlich *dimensionslose Variablen*. Es gelten die folgenden Definitionen und Zusammenhänge:

$$\tilde{s} = s V_p / Q \quad (\text{B.7})$$

$$\gamma = \frac{V_p}{V_c} = \frac{f u_{zp}}{f u_{zc}} \frac{1}{v_z} \quad (\text{B.8})$$

$$P_z = \frac{P_z S}{Q} = \frac{k_z}{f u_{zp}} \frac{V_p}{Q} \quad (\text{B.9})$$

$$k_{zm} = \frac{CL_{int}}{V_c} \frac{V_p}{Q} = \frac{k_{e,z}}{f u_{zc}} \frac{V_p}{Q} \quad (\text{B.10})$$

Dabei kennzeichnet der Index  $z \in \{p, m\}$  die Parameter des Precursors ( $p$ ) bzw. Metaboliten ( $m$ ). Die Parameter  $V_p$  ( $= V_B$ ) und  $V_c$  kennzeichnen das Plasma- bzw. Gewebeverteilungsvolumen ( $= V_T$ ) und  $f u_{zp}$  bzw.  $f u_{zc}$  sind die freien Fraktionen im Plasma ( $p$ ) und der Zelle ( $c$ ). (An dieser Stelle sei auf die mehrdeutige Verwendung des Indexes  $p$  hingewiesen, die jedoch entsprechend der Nomenklatur in (Mellick, G. D. et al., 1997) beibehalten wurde.) Alle übrigen Parameter sind aus dem Hauptteil der Arbeit bekannt.

Beim Vergleich der Metabolitmodelle ( $\hat{c}_m$ ) zeigt sich eine prinzipiell gleiche Struktur:  $\hat{f}_1(\tilde{s}) \cdot [\hat{f}_2(\tilde{s}) - \hat{f}_3(\tilde{s})]$ . Die erste Funktion — später  $\hat{K}(s)$  — ist in beiden Modellen dieselbe und wird sowohl von Precursor- als auch Metabolitparametern bestimmt. Die Differenz ergibt sich aus dem Precursor-Modell und einer gleichlautenden Funktion mit Metabolitparametern, die der Organverweilzeitdichte des primären Metaboliten entspricht, wenn dieser als Precursor (preformed metabolite) injiziert würde.

Zur Umparametrisierung der Metabolitmodelle werden  $\lambda$ ,  $g_{1,z}$  und  $g_{2,z}$  und deren Kombinationen betrachtet. Es ergeben sich die folgenden Beziehungen:

$$\begin{aligned}
 \lambda &= P_m f u_{mc} \gamma P_p f u_{pp} k_{pm} f u_{pc} \\
 &= \frac{k_m V_p}{f u_{mp} Q} f u_{mc} \frac{f u_{mp}}{f u_{mc} v_m} \frac{k_p V_p}{f u_{pp} Q} f u_{pp} \frac{k_{e,p} V_p}{f u_{pc} Q} \\
 &= MTT_B^3 \frac{k_m}{v_m} k_p k_{e,p}
 \end{aligned} \tag{B.11}$$

$$\begin{aligned}
 g_{1,z} &= P_z f u_{zp} k_{zm} f u_{zc} + s (P_z f u_{zp} + \gamma P_z f u_{zc} + k_{zm} f u_{zc}) + s^2 \\
 &= MTT_B^2 \left[ k_z k_{e,z} + s \left( k_z + \frac{k_z}{v_z} + k_{e,z} \right) + s^2 \right]
 \end{aligned} \tag{B.12}$$

$$\begin{aligned}
 g_{2,z} &= \gamma P_z f u_{zc} + k_{zm} f u_{zc} + s \\
 &= \frac{f u_{zp}}{f u_{zc} v_z} \frac{k_z V_p}{f u_{zp} Q} f u_{zc} + \frac{k_{e,z} V_p}{f u_{zc} Q} f u_{zc} + \frac{V_p}{Q} s \\
 &= MTT_B \left[ \frac{k_z}{v_z} + k_{e,z} + s \right]
 \end{aligned} \tag{B.13}$$

mit  $MTT_B = V_p/Q$ . Für den Quotienten  $g_{1,z}/g_{2,z}$  sind folgende äquivalente Umformungen vorzunehmen:

$$\begin{aligned}
 \frac{g_{1,z}}{g_{2,z}} &= \frac{MTT_B \left[ k_z k_{e,z} + s \left( k_z + \frac{k_z}{v_z} + k_{e,z} \right) + s^2 \right]}{\left( \frac{k_z}{v_z} + k_{e,z} + s \right)} \\
 &= MTT_B \left[ s + \frac{k_z k_{e,z} + s k_z}{\frac{k_z}{v_z} + k_{e,z} + s} \right] \\
 &= MTT_B \left[ s + \frac{k_z v_z (s + k_{e,z})}{k_z + v_z (s + k_{e,z})} \right] \\
 &= MTT_B (s + \hat{\rho}_z(s))
 \end{aligned} \tag{B.14}$$

Außerdem gilt für die nachfolgend als  $\hat{K}(s)$  bezeichnete Funktion

$$\begin{aligned}
 \frac{\lambda}{g_{1,m} g_{2,p} - g_{1,p} g_{2,m}} &= k_m k_p k_{e,p}/v_m \times \\
 &\quad \left\{ \left[ k_m k_{e,m} + s (k_m + k_m/v_m + k_{e,m}) + s^2 \right] \left[ k_p/v_p + k_{e,p} + s \right] \right. \\
 &\quad \left. - \left[ k_p k_{e,p} + s (k_p + k_p/v_p + k_{e,p}) + s^2 \right] \left[ k_m/v_m + k_{e,m} + s \right] \right\}^{-1} \\
 &= v_p k_m k_p k_{e,p} \times \\
 &\quad \left\{ \left[ v_m k_m (s + k_{e,m}) + s (k_m + v_m (s + k_{e,m})) \right] \left[ k_p + v_p (s + k_{e,p}) \right] \right. \\
 &\quad \left. - \left[ v_p k_p (s + k_{e,p}) + s (k_p + v_p (s + k_{e,p})) \right] \left[ k_m + v_m (s + k_{e,m}) \right] \right\}^{-1} \\
 &=: \hat{K}(s)
 \end{aligned} \tag{B.15}$$

Entsprechend dieser Beziehungen ergeben sich für die Metabolitransitzeitfunktionen des Röhren- und Dispersionsmodells *im Falle dimensionsbehafteter Parameter* die folgenden Bestimmungsgleichungen:

$$\hat{c}_m^{RM} = \hat{K}(s) \left[ \exp(-MTT_B(s + \hat{\rho}_p(s))) - \exp(-MTT_B(s + \hat{\rho}_m(s))) \right] \quad (\text{B.16})$$

$$\hat{c}_m^{DM1} = \hat{K}(s) \left[ \exp\left(\frac{1-r_p}{2D_N}\right) - \exp\left(\frac{1-r_m}{2D_N}\right) \right] \quad (\text{B.17})$$

$$\hat{c}_m^{DM2} = \hat{K}(s) \left[ \frac{4r_p}{\exp\left(\frac{r_p-1}{2D_N}\right)(1+r_p)^2 - \exp\left(\frac{1-r_p}{2D_N}\right)(1-r_p)^2} - \frac{4r_m}{\exp\left(\frac{r_m-1}{2D_N}\right)(1+r_m)^2 - \exp\left(\frac{1-r_m}{2D_N}\right)(1-r_m)^2} \right] \quad (\text{B.18})$$

wobei

$$r_z = \sqrt{1 + 4D_N MTT_B(s + \hat{\rho}(s))} \quad (\text{B.19})$$

und aufgrund der Beziehung  $2D_N = CV^2$

$$\frac{1-r_z}{2D_N} = \frac{1}{CV^2} \sqrt{\frac{2MTT_B}{CV^2} \left[ s + \hat{\rho}_z(s) + \frac{1}{2MTT_B CV^2} \right]} \quad (\text{B.20})$$

gilt.

Im Kapitel 3 wurde festgestellt, daß das Röhren- und Dispersionsmodell Spezialfälle des allgemeinen stochastischen 2-Phasen-Modells sind. Deshalb liegt es nahe, auch die Metabolitmodelle aus Sicht dieses Modells zu betrachten. Das führt auf die folgende gemeinsame Darstellung der Metabolitverweilzeitdichte  $\hat{f}_m$

$$\hat{f}_m(s) = \hat{K}(s) \left[ \hat{f}_X(s + \hat{\rho}_p(s)) - \hat{f}_X(s + \hat{\rho}_m(s)) \right] \quad (\text{B.21})$$

mit

$$\hat{\rho}_z(s) = \frac{k_z v_z (s + k_{e,z})}{k_z + v_z (s + k_{e,z})} \quad (\text{B.22})$$

wobei sich die einzelnen Modelle hinsichtlich der intravaskulären Verweilzeitdichte  $\hat{f}_X(s)$  unterscheiden:

$$\hat{f}_X^{RM}(s) = \exp(-MTT_B s) \quad (\text{B.23})$$

$$\hat{f}_X^{DM1}(s) = \exp\left(\frac{1}{CV^2} \sqrt{\frac{2MTT_B}{CV^2} \left[ s + \frac{1}{2MTT_B CV^2} \right]}\right) \quad (\text{B.24})$$

$$\hat{f}_X^{DM1}(s) = \frac{4\hat{r}}{\exp\left(\frac{\hat{r}-1}{CV^2}\right)(1+\hat{r})^2 - \exp\left(\frac{1-\hat{r}}{CV^2}\right)(1-\hat{r})^2} \quad (\text{B.25})$$

Wie eingangs bereits erwähnt, liegt die Transitzeitdichte des primären Metaboliten auch für das 2-Kompartimentmodell ( $KM$ ) vor. Sie unterscheidet sich auf den ersten Blick in ihrer Struktur jedoch wesentlich von denen des Röhren- und Dispersionsmodells. Trotzdem kann gezeigt werden, daß auch dieses Modell der Gleichung (B.21) genügt. Um den direkten Vergleich mit der bei MELLICK ET AL. angegebenen Bestimmungsgleichung zu ermöglichen, sei im folgenden nochmals die dimensionslose Parametrisierung verwandt. Ausgehend vom Precursor-Modell

$$\hat{c}_p^{KM}(s) = \frac{1}{1 + \frac{g_{1,p}}{g_{2,p}}} \quad (\text{B.26})$$

und der für die anderen beiden Modelle erkannten Struktur soll gezeigt werden, daß

$$\hat{c}_m^{KM}(s) = \frac{\lambda}{g_{1,m}g_{2,p} - g_{1,p}g_{2,m}} \left[ \frac{1}{1 + \frac{g_{1,p}}{g_{2,p}}} - \frac{1}{1 + \frac{g_{1,m}}{g_{2,m}}} \right] \quad (\text{B.27})$$

gilt. Die äquivalenten Umformungen

$$\begin{aligned} \hat{c}_m^{KM}(s) &= \frac{\lambda}{g_{1,m}g_{2,p} - g_{1,p}g_{2,m}} \left[ \frac{g_{2,p}}{g_{1,p} + g_{2,p}} - \frac{g_{2,m}}{g_{1,m} + g_{2,m}} \right] \\ &= \frac{\lambda}{g_{1,m}g_{2,p} - g_{1,p}g_{2,m}} \frac{g_{2,p}(g_{1,m} + g_{2,m}) - g_{2,m}(g_{1,p} + g_{2,p})}{(g_{1,p} + g_{2,p})(g_{1,m} + g_{2,m})} \\ &= \frac{\lambda}{(g_{1,p} + g_{2,p})(g_{1,m} + g_{2,m})} \frac{g_{2,p}(g_{1,m} + g_{2,m}) - g_{2,m}(g_{1,p} + g_{2,p})}{g_{1,m}g_{2,p} - g_{1,p}g_{2,m}} \\ &= \frac{\lambda}{(g_{1,p} + g_{2,p})(g_{1,m} + g_{2,m})} \end{aligned} \quad (\text{B.28})$$

führen auf das Metabolitmodell des 2-Kompartimentmodells, Glg. (B.28), wie es in (Mellick, G. D. et al., 1997) angegeben ist. Für die dimensionsbehaftete Darstellung gilt Gleichung (B.21) mit der intravaskulären Verweilzeitdichte

$$\hat{f}_X^{KM}(s) = \frac{1}{1 + MTT_B s}$$

Damit ist nachgewiesen, daß auch für das 2-Kompartimentmodell die gemeinsame Struktur, die sich zuerst für das Röhren- und Dispersionsmodell zeigte, gilt.

Abschließend sei darauf hingewiesen, daß mit Gleichung (B.21) kein dem stochastischen 2-Phasen-Modell zugehöriges allgemeines Metabolitmodell zur Verfügung steht. Sollte sich zu einem späteren Zeitpunkt bei der Modellierung der Transitzeitdichte des primären Metaboliten im erweiterten Diffusionsmodell die gleiche Struktur zeigen, so ist zu erwarten, daß die intrazelluläre Diffusion die Funktion  $\hat{K}(s)$  verändert. Die hier betrachteten Modelle unterscheiden sich allein in der intravaskulären Mischung, jedoch nicht in den Prozessen der Gewebeverteilung, wie das beim Diffusionsmodell der Fall ist.

# Anhang C

## Ergebnistabellen

### C.1 Modellvalidierung

#### Ergebnisse des Dispersionsmodells nach MELLICK UND ROBERTS

	A <sub>3</sub>	B <sub>1</sub>	B <sub>3</sub>	C <sub>1</sub>	C <sub>3</sub>	D <sub>1</sub>	D <sub>2</sub>	D <sub>3</sub>
<i>MTT<sub>B</sub></i> (sec)	3.89	7.68	4.16	7.69	4.17	7.15	5.45	4.30
<i>D<sub>N</sub></i>	0.102	0.093	0.103	0.104	0.139	0.129	0.075	0.103
<i>k<sub>12</sub></i> (sec <sup>-1</sup> )	3.44	1.34	2.25	1.48	3.65	0.75	1.11	9.99
<i>k<sub>21</sub></i> (sec <sup>-1</sup> )	0.13	0.11	0.15	0.21	1.01	0.24	0.08	3.90
<i>k<sub>e</sub></i> (sec <sup>-1</sup> )	0.21	0.14	0.23	0.31	1.11	0.13	0.12	0.32
<i>V<sub>B</sub></i>	1.95	3.84	2.08	3.85	2.09	3.58	2.73	2.15
<i>V<sub>T</sub></i>	51.47	46.78	31.20	27.10	7.53	11.17	37.81	5.51
<i>f<sub>uB</sub></i>	0.73	0.30	0.30	0.19	0.19	0.74	0.74	0.74
<i>PS</i> (ml/sec)	9.17	17.15	15.60	29.95	40.05	3.62	4.09	29.03
<i>F</i>	0.005	0.016	0.018	0.010	0.008	0.209	0.052	0.076
<i>MTT</i> (sec)	9.06	14.56	7.60	8.45	3.25	11.77	12.12	8.96
<i>CV</i> <sup>2</sup>	0.61	0.49	0.60	0.35	0.25	0.45	0.67	0.17

Tabelle C.1: Parameter der Modellanpassung des Dispersionsmodells (Mellick, G. D., 1995; Mellick, G. D. und Roberts, M. S., 1999). Für die Volumina und das Permeabilitätsflächenprodukt gilt:  $V_B = MTT_B Q$ ,  $V_T = k_{12} V_B / k_{21}$  ( $V_T / V_B = v$ ) und  $PS = k_{12} V_B / f_{uB}$ . Die Parameter der Organverteilung (unten) wurden über die Momente des Dispersionsmodells berechnet (siehe S. 8)

**2-Phasen-Modell vs. Dispersionsmodell****Evans Blue**

1IG vs. 2IG	A <sub>3</sub>	B <sub>1</sub>	B <sub>3</sub>	C <sub>1</sub>	C <sub>3</sub>	D <sub>1</sub>	D <sub>2</sub>	D <sub>3</sub>
$MT_B$ (%)	-27	-23	-18	-16	-23	-18	-14	-21
$CV_B^2$ (%)	-49	-51	-67	-58	-50	-16	-70	-64

Tabelle C.2: Modellanpassung Evans Blue: Prozentuale Abweichungen der Parameterschätzungen der 1IG (Tab. C.1;  $CV^2 = 2D_N$ ) von denen der 2IG (Tab. 4.7, S. 53). Ergebnis: Beide Parameter werden bei Anwendung der 1IG unterschätzt.

**Phenole**

	A <sub>3</sub>	B <sub>1</sub>	B <sub>3</sub>	C <sub>1</sub>	C <sub>3</sub>	D <sub>1</sub>	D <sub>2</sub>	D <sub>3</sub>
$k_{12}$								
DispM	3.44	1.34	2.25	1.48	3.65	0.75	1.11	9.99
2PhM	2.47	0.88	1.51	1.11	1.92	0.55	0.46	1.17
$k_{21}$								
DispM	0.13	0.11	0.15	0.21	1.01	0.24	0.08	3.90
2PhM	0.16	0.13	0.14	0.26	0.11	0.55	0.19	0.36
$k_e$								
DispM	0.21	0.14	0.23	0.31	1.11	0.13	0.12	0.32
2PhM	0.22	0.10	0.14	0.24	0.22	0.001	0.02	0.03

Tabelle C.3: Modellanpassung Phenol-Derivate: Vergleich der Parameterschätzungen des Dispersionsmodells (DispM) (Mellick, G. D., 1995) und des 2-Phasen-Modell mit 2IG (2PhM). Um ausschließlich den Einfluß der Modellmisspezifikation im intravaskulären Modell (1IG vs. 2IG) zu zeigen, wurden die Gewebeverteilungsparameter wie beim Dispersionsmodell ohne Wichtung bestimmt. Zur besseren Beschreibung des Tails wird die Parameterschätzung in der Regel mit Wichtung durchgeführt, so daß insbesondere die in den meisten Fällen durch das Dispersionsmodell überschätzte Eliminationsratenkonstante realitätsnaher bestimmt wird.

### C.2 Identifikation der Großen Gefäße

Daten	$MT_W$	$MT_S$	$C_{max,W}$	$C_{max,S}$	$1 + \gamma$	$T_0$
1a	21.59	7.94	0.11	0.37	3.36	2.17
1b	28.34	10.46	0.10	0.34	3.40	3.01
2a	20.00	8.70	0.13	0.37	2.85	2.58
2b	19.65	9.12	0.12	0.30	2.50	2.10
3a	25.29	10.41	0.12	0.31	2.58	1.01
3b	29.61	12.49	0.11	0.27	2.45	0.72
$\bar{x}$	24.08	9.85	0.12	0.33	2.86	1.93
<i>s.d.</i>	4.30	1.62	0.01	0.04	0.43	0.89
$\tilde{x}_{0.5}$	23.44	9.77	0.12	0.33	2.72	2.14

Tabelle C.4: Berechnung der durch die Großen Gefäße verursachten Verzögerungszeit  $T_0$  auf Grundlage numerisch bestimmter Momente und maximaler Konzentrationswerte (Goresky, C. A., 1963; Luxon, B. A. und Forker, E. L., 1982)

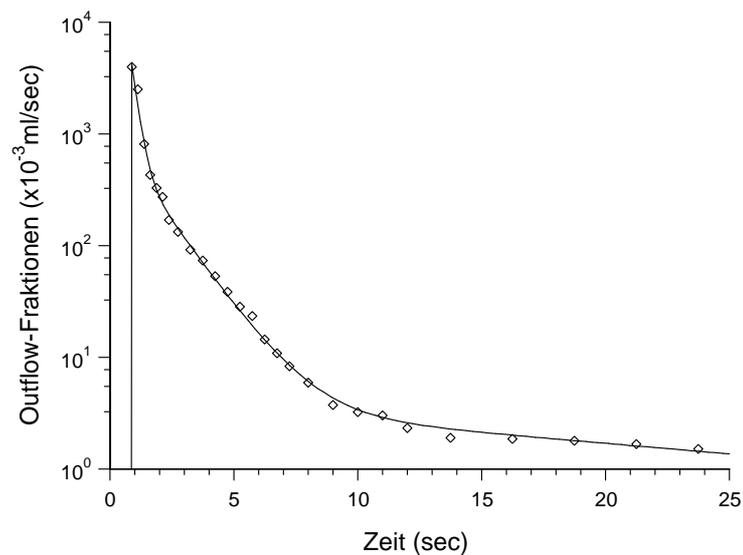


Abbildung C.1: Anpassung des Katheterprofils (◇) durch eine Triexponentialfunktion mit Verzögerungszeit

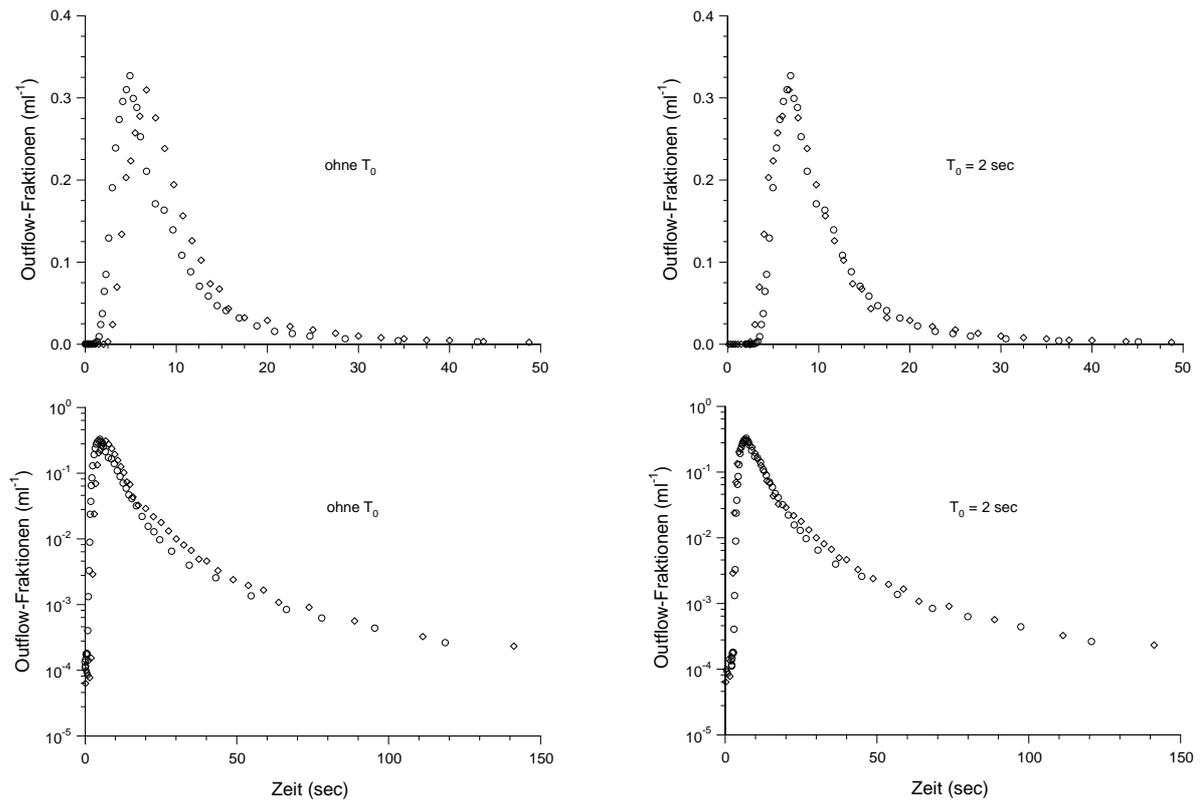


Abbildung C.2: Superposition mit und ohne Berücksichtigung der Transitzeit durch die Großen Gefäße  $T_0$  (Datensatz 3a;  $\circ$ : <sup>14</sup>C-Saccharose,  $\diamond$ : <sup>3</sup>H- Wasser). Beispiel für die sehr gute Überlagerung der Zeitverläufe (rechts; vgl. Abb. 5.3).

<sup>14</sup> C-Saccharose	1a	1b	2a	2b	3a	3b
<b>Modell 1: 2IG</b>						
<i>p</i>	0.512	0.657	0.833	0.696	0.805	0.797
<i>MT</i> <sub>1</sub> (sec)	4.930	8.011	9.303	7.754	8.258	9.248
<i>MT</i> <sub>2</sub> (sec)	17.648	27.716	32.913	20.183	27.288	35.401
<i>CV</i> <sub>1</sub> <sup>2</sup>	0.074	0.178	0.181	0.067	0.140	0.179
<i>CV</i> <sub>2</sub> <sup>2</sup>	0.656	1.099	0.869	0.416	0.677	0.977
<i>MT</i> (sec)	11.140	14.775	13.258	11.534	11.960	14.564
<i>CV</i> <sup>2</sup>	1.137	1.763	1.413	0.654	1.136	1.753
<i>MSC</i>	2.795	2.548	2.184	1.897	2.773	2.482
<b>Modell 2: 2IG mit <i>T</i><sub>0</sub></b>						
<i>T</i> <sub>0</sub> (sec)	1.624	1.130	1.130	1.699	1.083	1.627
<i>p</i>	0.194	0.678	0.672	0.578	0.731	0.685
<i>MT</i> <sub>1</sub> (sec)	3.496	6.997	5.667	6.008	7.691	9.180
<i>MT</i> <sub>2</sub> (sec)	10.199	24.389	16.586	15.144	21.849	24.681
<i>CV</i> <sub>1</sub> <sup>2</sup>	0.367	0.491	0.238	0.137	0.276	0.450
<i>CV</i> <sub>2</sub> <sup>2</sup>	1.513	1.618	1.041	0.716	1.368	2.679
<i>MT</i> (sec)	8.901	12.590	9.247	9.862	11.500	14.063
<i>CV</i> <sup>2</sup>	1.701	2.472	1.465	0.951	1.717	2.993
<i>MSC</i>	2.779	2.754	2.397	1.932	2.890	2.521

Tabelle C.5: Ergebnisse der Modellanpassungen 1 und 2 für <sup>14</sup>C-Saccharose

<sup>3</sup> H-Wasser	1a	1b	2a	2b	3a	3b
Modell 1:	2IG					
$p$	0.914	0.847	0.928	0.881	0.817	0.780
$MT_1$ (sec)	21.679	23.034	19.014	19.550	20.122	21.303
$MT_2$ (sec)	125.696	127.581	84.653	51.361	64.857	68.072
$CV_1^2$	0.462	0.509	0.325	0.250	0.294	0.296
$CV_2^2$	5.564	4.547	2.796	1.243	1.701	1.888
$MT$ (sec)	30.579	38.979	23.741	23.349	28.303	31.597
$CV^2$	9.163	8.510	3.264	1.068	2.128	2.409
$MSC$	2.869	2.877	2.937	2.356	2.928	2.834
Modell 2:	2IG mit $T_0$					
$T_0$ (sec)	0.390	0.257	0.600	1.139	0.083	0.255
$p$	0.912	0.749	0.922	0.866	0.824	0.767
$MT_1$ (sec)	21.275	21.676	18.449	18.201	20.078	20.979
$MT_2$ (sec)	439.591	57.008	80.973	44.918	71.241	64.702
$CV_1^2$	0.518	0.505	0.383	0.326	0.302	0.304
$CV_2^2$	23.228	2.033	3.502	1.548	1.961	1.936
$MT$ (sec)	58.214	30.548	23.348	21.773	29.067	31.179
$CV^2$	121.181	2.220	4.039	1.252	2.637	2.402
$MSC$	2.829	2.865	2.933	2.351	2.886	2.778

Tabelle C.6: Ergebnisse der Modellanpassungen 1 und 2 für <sup>3</sup>H-Wasser

1. Iteration	1a	1b	2a	2b	3a	3b
Große Gefäße						
<i>MT</i> (sec)	2.14	2.48	2.2	2.24	2.02	2.07
<i>CV</i> <sup>2</sup>	0.89	1.12	0.93	0.99	0.80	0.84
Mikrogefäßsystem						
<sup>3</sup> H-WASSER						
<i>p</i>	0.89	0.80	0.92	0.86	0.79	0.77
<i>MT</i> <sub>1</sub> (sec)	19.45	21.90	17.13	17.32	18.21	20.06
<i>MT</i> <sub>2</sub> (sec)	72.05	69.77	90.86	43.60	61.04	70.00
<i>CV</i> <sub>1</sub> <sup>2</sup>	0.61	0.74	0.44	0.32	0.38	0.39
<i>CV</i> <sub>2</sub> <sup>2</sup>	5.00	3.82	4.70	1.39	2.39	2.97
<i>MT</i> (sec)	25.17	31.42	22.98	21.13	26.99	31.38
<i>CV</i> <sup>2</sup>	5.20	4.40	6.81	1.23	3.06	3.92
<sup>14</sup> C-SACCHAROSE						
<i>p</i>	0.48	0.52	0.73	0.70	0.82	0.76
<i>MT</i> <sub>1</sub> (sec)	2.63	2.75	4.36	5.57	6.48	7.18
<i>MT</i> <sub>2</sub> (sec)	14.21	20.80	18.22	18.01	32.02	30.77
<i>CV</i> <sub>1</sub> <sup>2</sup>	0.02	0.03	0.08	0.05	0.18	0.23
<i>CV</i> <sub>2</sub> <sup>2</sup>	0.97	1.46	0.75	0.60	1.41	1.29
<i>MT</i> (sec)	8.62	11.41	8.05	9.36	10.95	12.73
<i>CV</i> <sup>2</sup>	1.82	2.96	1.61	1.07	2.95	2.45

Tabelle C.7: Ergebnisse der ersten Iteration

### C.3 Bioverfügbarkeitsstudie

Die folgenden Tabellen stellen die Ergebnisse der Untersuchungen des Kapitels 6 zusammen.

Im Rahmen einer Bioverfügbarkeitsstudie der pharmazeutischen Industrie standen Plasma-Konzentrationen vier verschiedener Applikationsarten zur Verfügung, deren Dosis jeweils 50 mg der untersuchten Substanz betrug. Neben einer 15-minütigen i.v. Infusion wurde der Arzneistoff als orale bzw. rektale Lösung sowie rektales Zäpfchen appliziert.

Die Auswertung erfolgte für die applizierte Substanz modellunabhängig über die Momentenanalyse und zusätzlich durch die Anpassung eines Modells, bestehend aus der IIG als Absorptionsmodell und einer Triexponentialfunktion zur Beschreibung der Disposition nach i.v. Applikation.

Die Metabolit Daten wurden ausschließlich der Momentenanalyse unterzogen.

#### Applizierte Substanz — Momentenanalyse

$P_{Nr.}$	$AUC_{i.v.}$	$AUC_{p.o.}$	$AUC_{r.L.}$	$AUC_{r.Z.}$	$MDRT$	$MTRT_{p.o.}$	$MTRT_{r.L.}$	$MTRT_{r.Z.}$
1	2047.8	838.9	—	191.58	15.99	10.27	—	11.64
2	1442.8	310.2	—	153.06	12.42	6.47	—	12.09
3	1645.6	658.7	—	171.30	10.17	9.40	—	10.22
4	2401.7	273.8	—	115.00	7.74	4.11	—	17.30
5	1385.5	537.9	—	—	11.93	9.02	—	—
6	1392.0	567.9	—	106.81	7.10	6.58	—	11.64
7	1379.8	433.3	150.1	140.69	6.16	4.42	5.36	22.34
8	1927.7	763.6	130.1	—	4.98	14.76	5.63	—
10	1943.5	587.6	418.8	150.51	3.25	5.31	18.53	22.07
12	3545.5	858.3	—	—	45.72	23.87	—	—
$\bar{x}$	1911.2	583.0	—	180.16	12.54	9.42	—	15.33
$s.d.$	670.8	204.0	—	94.11	12.27	6.01	—	5.20
$\tilde{x}_{0.5}$	1786.7	577.7	—	150.51	8.95	7.80	—	12.09

Tabelle C.8:  $AUC$  (h·ng/ml) und mittlere Transitzeiten (h) bei intravenöser (i.v.), oraler (p.o.) sowie rektaler Applikation als Lösung (r.L.) und als Zäpfchen (r.Z.)

$P_{Nr.}$	$CL$	$F_{p.o.}$	$F_{r.L.}$	$F_{r.Z.}$	$MAT_{p.o.}$	$MAT_{r.L.}$	$MIT_{r.Z.}$
1	406.9	0.41	—	0.09	-5.72	—	-4.35
2	577.6	0.21	—	0.11	-5.95	—	-0.32
3	506.4	0.40	—	0.10	-0.76	—	0.06
4	347.0	0.11	—	0.05	-3.63	—	9.57
5	601.5	0.39	—	—	-2.91	—	—
6	598.7	0.41	—	0.08	-0.52	—	4.55
7	604.0	0.31	0.11	0.10	-1.74	-0.80	16.19
8	432.3	0.40	0.07	—	9.79	0.66	—
10	428.8	0.30	0.22	0.08	2.07	15.29	18.83
12	235.0	0.24	—	—	-21.85	—	—
$\bar{x}$	473.8	0.32	—	0.09	—	—	—
$s.d.$	125.6	0.10	—	0.02	—	—	—
$\tilde{x}_{0.5}$	469.3	0.35	—	0.09	—	—	—

Tabelle C.9: Clearance ( $CL = D_{i.v.}/AUC_{i.v.}$  ml/min), Bioverfügbarkeiten ( $F_{\star} = AUC_{\star}/AUC_{i.v.}$ ) und mittlere Input- bzw. Absorptionszeiten (h) unterschiedlicher Applikationsarten (intravenös – i.v., oral – p.o., rektale Lösung – r.L. und rektales Zäpfchen – r.Z.)

**Applizierte Substanz — Modellanpassung**

$P_{Nr.}$	$A_1$	$A_2$	$A_3$	$\lambda_1$	$\lambda_2$	$\lambda_3$	$F_{po}$	$MAT_{po}$	$CV^2$
1	4523	254.0	49.32	25.22	0.40	0.04	0.48	1.62	0.42
2	3501	320.0	23.94	21.74	0.49	0.05	0.26	1.31	0.77
3	6735	321.5	25.82	19.60	0.48	0.05	0.38	1.35	0.42
4	763	557.4	16.53	5.74	0.41	0.03	0.16	0.73	0.55
5	1265	238.4	28.57	6.75	0.46	0.05	0.45	1.06	0.58
6	5511	416.9	71.00	40.54	0.86	0.11	0.46	1.28	0.46
7	1436	327.9	41.72	7.57	0.54	0.08	0.34	0.76	0.57
8	9041	366.4	111.80	22.97	0.68	0.12	0.36	2.68	2.50
10	16480	423.0	58.81	25.35	0.72	0.11	0.32	1.86	0.86
12	4525	541.0	30.39	15.08	0.49	0.02	0.31	1.16	0.44
$\bar{x}$	5378	376.7	45.76	19.06	0.55	0.06	0.35	1.38	0.76
$s.d.$	4682	108.7	28.80	10.74	0.15	0.04	0.10	0.57	0.63
$\tilde{x}_{0.5}$	4524	347.2	36.06	20.67	0.49	0.05	0.35	1.30	0.56

Tabelle C.10: Parameterschätzungen bei Anpassung einer Triexponentialfunktion, Glg. (6.6), an die Konzentrations-Zeit-Profile nach i.v. Applikation (links). Schätzung der Absorptionsparameter durch Anpassung des Gesamtmodells Glg. (6.4) mit (6.5) als Invasionsmodell an die Konzentrations-Zeit-Profile nach oraler Applikation (rechts).

**Primärer Metabolit — Momentenanalyse**

$P_{Nr.}$	$AUC_{i.v.}^m$	$AUC_{p.o.}^m$	$AUC_{r.L.}^m$	$AUC_{r.Z.}^m$	$MDRT^m$	$MTRT_{p.o.}^m$	$MTRT_{r.L.}^m$	$MTRT_{r.Z.}^m$	$R_m$
7	332.5	495.6	29.34	31.48	17.50	23.19	7.46	13.09	1.49
8	367.6	555.2	15.70	98.87	14.18	22.27	5.33	36.82	1.51
9	515.8	681.2	—	—	26.74	24.93	—	—	1.32
10	223.3	684.0	266.84	17.70	11.95	21.63	67.47	11.12	3.06
11	—	290.5	—	—	—	14.74	—	—	—
12	359.2	805.0	—	—	11.20	25.52	—	—	2.24
$\bar{x}$	359.7	585.2	—	—	16.31	22.05	—	—	1.92
$s.d.$	104.6	180.6	—	—	6.32	3.88	—	—	0.73
$\tilde{x}_{0.5}$	359.2	618.2	—	—	14.18	22.73	—	—	1.51

Tabelle C.11:  $AUC_m$  (h·ng/ml) und mittlere Transitzeiten (h) des erzeugten Metaboliten bei intravenöser (i.v.), oraler (p.o.) Applikation sowie rektaler Applikation der Substanz als Lösung (r.L.) und als Zäpfchen (r.Z.);  $R_m = AUC_{p.o.}^m / AUC_{i.v.}^m$ .

## Anhang D

# Bedienungsanleitung: Programm zur Sensitivitätsanalyse

Das Programm zur Sensitivitätsanalyse besteht in seiner Rohform aus einzelnen Teilen (Abb. D.1), die bei Übersetzung durch den  $C^{++}$  Compiler in geeigneter Weise zu *einem* Programm verbunden werden. Im Ergebnis entsteht das ausführbare Programm<sup>1</sup> *sensit*, das im ersten Abschnitt vorgestellt wird. Der zweite Abschnitt gibt Hinweise zur Neucompilierung des Programms, die zur Veränderung der Wichtung und zur Auswahl eines neuen Modells notwendig ist.

Dateien zur Modell-Definition	Haupt-/Steuerdatei	Dateien zur Berechnung der Sensitivitätskriterien
<b>function.C</b> Modell (für evtl. Wichtung)  <b>abltg.C</b> Ableitungen der Modellfunktion	<b>body.C</b> Speicherreservierung und Initialisierung der Matrizen und Vektoren  Einlesen der Daten (Parameter, Sampling)  Ausgabe der Sensitivitäts-"Plots" (Zeit-Sensitivitäts-Daten)	<b>matrixin.C</b> Matrixinversion Determinante  <b>invlap.C</b> inverse Laplace-Transformation (TALBOT-Algorithmus)  <b>sensitiv.C</b> Sensitivitätskriterien

Abbildung D.1: Klassifizierung der Programm-Files und kurze Funktionalitätsbeschreibung. Alle \*.C-Dateien besitzen zugehörige Header-Files (\*.h). Darüberhinaus existieren weitere jeweils fünf *function.C*.\* und *abltg.C*.\*-Dateien mit Header-Files, die die verschiedenen Modellimplementationen ( $* \in \{IG, IGkum, diffmod, protmod, protmod.oke\}$ ) enthalten.

<sup>1</sup>Bezeichnung kann im *Makefile* verändert werden!

## Vereinfachter Programmaufruf mittels Shell-Skript

Zur vereinfachten Handhabung steht dem Benutzer das Shell-Skript „sensitiv“ zur Verfügung, in dem neben dem benutzerdefinierten Plotbereich auch der gleichlautende Dateiname der Parameterfiles beim Aufruf nur einmal genannt werden müssen.

### Das Programm *sensit*

Das Programm benötigt *drei verschiedene Eingabedateien*:

1. die Datei *\*.fpar* der festen Modellparameter (z. B. Katheterparameter)<sup>2</sup>
2. die Datei *\*.npar* der („freien“) Parameter  $p_1 \dots p_n$ , für die die Sensitivitätsanalyse durchgeführt werden soll (aus der Modellanpassung realer Daten oder zur Simulation ausgewählte Parameter)
3. die Datei *\*.txt* der Meßzeitpunkte (Sampling-Schema) als Textfile in zweispaltiger Form — Zeit und Konzentrationswert — von denen zur Analyse allerdings nur die Zeitwerte ausgewertet werden.

Im Ergebnis der Auswertung dieser Informationen und anschließender Sensitivitätsanalyse werden zwei Ergebnisdateien, *error.sen* und *data.dat*, erzeugt.

*error.sen* enthält neben Informationen zu den Eingabedateien (Anzahl der Parameter, Sampling-Schema) alle für die Sensitivitätsanalyse berechneten wesentlichen Matrizen, erwähnt sei die Korrelationsmatrix.

*data.dat* beinhaltet die Daten zur graphischen Darstellung des Sensitivitätsverhaltens der einzelnen Parameter, die mit einem, dem Benutzer zur Verfügung stehenden graphischen Programm (z. B. Gnuplot, SigmaPlot) weiter aufbereitet werden können.

Der Zeitbereich und die Anzahl der jeweils erzeugten Datenpunkte sind benutzerdefinierbar (siehe nächster Abschnitt) und stehen spaltenweise in *data.dat* als Textfile zur Verfügung:

Zeit 1. Kriterium:  $p_1 \dots p_n$  2. Kriterium:  $p_1 \dots p_n$  3. Kriterium:  $p_1 \dots p_n$ .

Der **Programmaufruf** erfolgt über den Programmnamen *sensit* und anschließender Nennung der Eingabedateien. Die Angabe der Plotparameter ist optional (siehe Abschnitt D, S. XXIV).

`sensit fp-Datei np-Datei Sampling [Plotstart Plotende Plotpunkteanzahl]`  
dabei sind fp und np-Datei die Namen der Dateien fester und freier Parameter und Sampling ist die Datei der Zeit- und Konzentrationswerte.

### Modelle und Parameter

*sensit* bezieht sich bei der Sensitivitätsanalyse auf ein spezielles Modell, das während des Compilervorganges (siehe Kapitel D) aus den vorhandenen Modellen ausgewählt und eingebunden wurde.

Durch die Implementation des Modells ist die Reihenfolge der in den Parameter-Dateien anzugebenden Parameter festgelegt. Die Tabelle D.1 auf Seite XXVII gibt einen Überblick über die Modelle und deren Parameter-Reihenfolge.

Im Nachfolgenden eine kurze Beschreibung der zur Verfügung stehenden Modelle.

---

<sup>2</sup>Die Reihenfolge der anzugebenden Parameter ist für alle Parameterfiles durch die Modellimplementation festgelegt (siehe nächster Abschnitt)

### Inverse Gauss-Funktion (-DIG)

Die Inverse Gauss-Funktion ist die First-Passage-Time der Brownschen Bewegung mit Drift (Chhikara, R. S. und Folks, J. L., 1989). Sie ergibt sich außerdem als Lösung des in der Pharmakokinetik bekannten Dispersionsmodells und hat im Zeitbereich die Gestalt

$$IG(t) = \sqrt{\frac{MT}{2\pi CV^2 t^3}} \exp\left(-\frac{(t - MT)^2}{2MT CV^2 t}\right) \quad (D.1)$$

Da komplexere Modelle im Laplace-Bereich vorliegen, ist zusätzlich ihre Laplace-Transformierte

$$\widehat{IG}(s) = A \exp\left(\frac{1}{CV^2} - \sqrt{\frac{2MT}{CV^2} \left(s + \frac{1}{2MT CV^2}\right)}\right) \quad (D.2)$$

von Bedeutung. Neben den Funktionsparametern *mittlere Transitzeit MTT* und *relative Dispersion CV<sup>2</sup>* wurde ein zusätzlicher *Skalierungsfaktor A* implementiert. (Weiss, M. und Roberts, M. S., 1996; Weiss, M., 1996)

Als **kumulative Inverse Gauss-Funktion (-DIGkum)**, d. h.  $\int_0^\infty IG(t) dt$ , ergibt sich nach den Gesetzmäßigkeiten der Laplace-Transformation

$$\widehat{IG}_{kum}(s) = \frac{F C_A}{s} \exp\left(\frac{1}{CV^2} - \sqrt{\frac{2MT}{CV^2} \left(s + \frac{1}{2MT CV^2}\right)}\right) \quad (D.3)$$

Dabei ist  $F$  die *Verfügbarkeit* und  $C_A$  die *Anfangskonzentration*, so daß die Funktion als Absorptionsmodell genutzt werden kann.

### Permeations-Diffusionsmodell

Das Permeations-Diffusionsmodell mit Elimination basiert auf dem 1996 von WEISS UND ROBERTS (Weiss, M. und Roberts, M. S., 1996) in die Pharmakokinetik eingeführten stochastischen 2-Phasen Modell. Es wurde zur Anwendung auf Organe, wie die Leber, um den Eliminationsprozeß erweitert (Kapitel 4.1.1).

Charakterisiert werden verschiedene Prozesse (siehe Kapitel 3, Abb. 3.1)

1. Makroskopische Mischung, verursacht durch die Gefäßsystem-Mischung (Verzweigung und Rekombination der Gefäße)
2. Mikroskopische Mischung durch Permeation und anschließende eindimensionale Diffusion und
3. Elimination z. B. durch Metabolisierung.

Die Modellgleichung

$$\hat{f}(s) = p \widehat{IG}_1(s + \hat{\rho}(s)) + (1 - p) \widehat{IG}_2(s + \hat{\rho}(s)) \quad (D.4)$$

beschreibt durch Kombination zweier Inverser Gauss-Funktionen  $\widehat{IG}_1$  und  $\widehat{IG}_2$  (unterschiedlicher mittlerer Transitzeit und relativer Dispersion) die makroskopische Mischung und bezieht durch die zusätzliche Funktion  $\hat{\rho}(s)$  die übrigen Prozesse ein.

Dabei gilt

$$\hat{\rho}(s) = k \left[ 1 - \hat{f}_Y(s) \right] \quad (\text{D.5})$$

mit

$$\hat{f}_Y(s) = \frac{1}{1 + \frac{v}{dk} \sqrt{d(s+k_e)} \tanh\left(\sqrt{d(s+k_e)}\right)} \quad (\text{D.6})$$

wobei  $k$ ,  $d$ ,  $k_e$  und  $v$  Permeabilitätsratenkonstante, intrazelluläre Diffusionszeit, Eliminationsratenkonstante und Verteilungsvolumen kennzeichnen.

fx gut gemischt

Die Verwendung von Kathetern bei der Erhebung experimenteller Daten macht die zusätzliche Einbindung der Katheterverweilzeitdichte  $\hat{f}_{cath}(s)$ , z. B. in Form einer IIG oder 2IG, erforderlich. Das führt allgemein auf die Gesamtverweilzeitdichte

$$\hat{f}_{ges}(s) = \hat{f}_{cath}(s) \hat{f}(s) \quad (\text{D.7})$$

die sich im Laplace-Raum als einfache Multiplikation der Verweilzeiten der Subsysteme Katheter und Organ darstellt.

### Bindungsmodell

Das Bindungsmodell (Weiss, M. et al., 1998) basiert wie das Permeations-Diffusionsmodell auf dem stochastischen 2-Phasen Modell mit den Gleichungen (D.4) und (D.5) als den grundlegenden mathematischen Beziehungen. Anstelle der zuvor modellierten Diffusion tritt der intrazelluläre Bindungsprozeß als langsamster und damit die Gewebeverteilung bestimmender Prozeß. Das führt zu der modifizierten Funktion  $\hat{f}_Y(s)$

$$\hat{f}_Y(s) = \frac{a_1}{l_1 + s + k_e} + \frac{a_2}{l_2 + s + k_e} \quad (\text{D.8})$$

mit

$$k_{ou} = \frac{k}{v_c} \quad (\text{D.9})$$

$$k_{21} = \frac{k_{12}}{v/v_c - 1} \quad (\text{D.10})$$

$$a_1 = \frac{k_{ou} (l_1 - k_{21})}{l_1 - l_2} \quad (\text{D.11})$$

$$a_2 = \frac{k_{ou} (k_{21} - l_2)}{l_1 - l_2} \quad (\text{D.12})$$

$$l_1 = \frac{1}{2} (k_h + \sqrt{k_h^2 - 4 k_{21} k_{ou}}) \quad (\text{D.13})$$

$$l_2 = \frac{1}{2} (k_h - \sqrt{k_h^2 - 4 k_{21} k_{ou}}) \quad (\text{D.14})$$

$$k_h = k_{12} + k_{21} + k_{ou} \quad (\text{D.15})$$

Neben den aus dem Diffusionsmodell bekannten Parametern  $k$ ,  $v$  und  $k_e$  beschreibt  $k_{12}$  die Bindungsrate und  $v_c$  das relative Initialverteilungsvolumen der Zelle.

### Fehlermodell – Wichtung

Experimentelle Daten sind in jedem Fall fehlerbehaftet. Die Wahl des Fehlermodells bestimmt i. A. die zur Modellanpassung gewählte Wichtung<sup>3</sup> (Barlow, R. E. und Proschan, F., 1978).

Das gewählte Fehlermodell kann in die Sensitivitätsanalyse einbezogen werden. Das geschieht über die Compilervariable DSIGM, der die Werte 0, 1 oder 2 mit folgender Bedeutung zugewiesen werden können:

- DSIGM=0: Annahme fehlerfreier Daten → Wichtung 1 — dieser Fall wird auch angenommen, wenn für DSIGM keine explizite Wertzuweisung erfolgt
- DSIGM=1: Fehlervarianzmodell  $\sigma^2 = C(t)$  → Wichtung  $1/C(t)$
- DSIGM=2: Fehlervarianzmodell  $\sigma^2 = C(t)^2$  → Wichtung  $1/C(t)^2$

$\sigma$  bezeichnet dabei die Standardabweichung des Fehlers und die zeitlich abhängige Konzentration  $C(t)$  wird für einen beliebigen Zeitpunkt durch das Modell  $f(t)$  vorhergesagt.

### Plotbereich

Der Plotbereich der Sensitivitätskriterien kann bei Programmaufruf festgelegt werden. Dazu sind die *Intervallgrenzen* sowie die *Anzahl der Plotpunkte* in der Reihenfolge

```
... Plotstart Plotende Plotpunkteanzahl
```

anzugeben, so daß der Programmaufruf für Berechnungen im Intervall [0,10] mit 100 Stützpunkten zum Beispiel

```
sensit fp-Datei np-Datei Sampling 0 10 100}
```

wäre (siehe Programmaufruf, S. XXI). Nutzt der Anwender diese Option nicht, erfolgt die Ausgabe von 500 Plotpunkten im Intervall [0.05, 100]. Für im Laplace-Bereich installierte Modelle wird aufgrund des Algorithmus zur inversen Laplace-Transformation 0 auf 0.001 verändert.

## Compilierung

### Das Makefile

Das Makefile ist ein die Compilierung wesentlich erleichterndes Steuerfile. Es enthält alle notwendigen Compileroptionen, Linkanweisungen, den Namen des entstehenden ausführbaren Programms (im vorliegenden Fall *sensit*), Pfadangaben etc.

Die Bezeichnung dieses Files ist definiert und erfolgt *mit großem Anfangsbuchstaben!*

<sup>3</sup>In der pharmakokinetischen Modellierung kann Wichtung auch zur Korrektur von Modellmißspezifikationen erforderlich sein. In einem solchen Fall wäre die Wichtung nicht in die Sensitivitätsanalyse einzubeziehen.

Es kann über einen beliebigen Editor (z. B. emacs, joe) jederzeit aufgerufen und modifiziert werden (Kommentare sind mit # am Zeilenanfang zu kennzeichnen). Das macht sich erforderlich, wenn Wichtung oder Modell verändert werden sollen (siehe nächster Abschnitt).

Vor jeder neuen Compilierung ist das Löschen alter, bei der letzten Compilierung entstandener Dateien zu empfehlen. Dazu steht der Aufruf `make clean` zur Verfügung. Im Anschluß daran kann die neue Programmübersetzung mittels `make` erfolgen. Im Ergebnis entsteht das neu übersetzte Programm *sensit*, mit dem, wie in Kapitel D beschrieben, gearbeitet werden kann.

## Compilervariablen

Compilervariablen, wie die in Kapitel D zur Festlegung des Fehlermodells beschriebene Variable `DSIGM`, werden in Zeile 5 des Makefiles gesetzt:

```
CCFLAG=-O2 -Wall -DUNIX -DDEBUG -DLINUX -DSIGM=2
```

Im Beispielfall wäre die Wichtung  $1/C(t)^2$  für die Sensitivitätsberechnungen berücksichtigt.

Die Sensitivitätsanalyse bezieht sich auf ein spezielles Modell. Als vordefinierte Modelle stehen dem Nutzer die folgenden mit entsprechender Compilervariable zur Verfügung:

Inverse Gauss-Funktion	-DIG
Kumulative Inverse Gauss-Funktion	-DIGkum
Permeations-Diffusionsmodell (mit Metabolisierung)	-DDIFF
Bindungsmodell (mit Metabolisierung)	-DBIND
Bindungsmodell ohne Metabolisierung	-DBINDNOM

Die Einbindung des Diffusionsmodells würde demnach mittels

```
CCFLAG=-O2 -Wall -DUNIX -DDEBUG -DLINUX -DDIFFMOD }
```

erfolgen. Die Wichtung wäre dabei (aufgrund der nicht explizit definierten Variable `DSIGM`) Eins. Da die betrachteten komplexeren Modelle im Laplace-Raum vorliegen, ist zur Einbindung eines im Zeitbereich installierten Modells (siehe nachfolgendes Kapitel) zusätzlich `-DTIMEDOMAIN` zu setzen:

```
CCFLAG=-O2 -Wall -DUNIX -DDEBUG -DLINUX -DTIMEDOMAIN }
```

Kathetermodelle sind explizit über eine Compilervariable einzubeziehen. Die zur Verfügung stehende `2IG` und `1IG` werden mittels `-DCATH` bzw. `-DIGCATH` eingebunden.

Die Zeile `PROGRAM=\$(HOME)/bin/sensit` legt den Namen des ausführbaren Programmes fest und bestimmt, in welchem Verzeichnis es abgelegt wird. `\$(HOME)/bin` kennzeichnet das *bin*-Verzeichnis des aktuellen Nutzers auf dem aktuellen Rechner.

## Installation benutzereigener Modelle

Neben den bereits vorhandenen Modellen ist es möglich, weitere benutzereigene zu implementieren. Dazu sind grundlegende Programmierkenntnisse zu empfehlen.

Zu installieren sind das gewünschte Modell (in der Datei *function.C*) zur Einbindung des Fehlermodells sowie dessen Ableitungen nach den einzelnen Modellparametern (in *function.C* bzw. *abltg.C*), die die Grundlage der Sensitivitätsanalyse bilden.

Die Implementation von Modellen **im Zeitbereich** erfolgt ausschließlich in *function.C*, wobei das Modell in `COMPLEX SIGMA(...)` und die Ableitungen nach den Modellparametern innerhalb einer case-Anweisung in `COMPLEX M(...)` zu implementieren sind. Achtung! beide Funktionen existieren durch die `#IFDEF TIMEDOMAIN — #ELSE — #ENDIF`-Anweisung zweimal.

Die partiellen Ableitungen der **im Laplace-Raum** vorliegenden Modellfunktion<sup>4</sup> sind in der case-Anweisung der Funktion `COMPLEX ABLTG(...)` zu installieren, das Modell selbst wieder in `COMPLEX SIGMA(...)` (*function.C*).

In beiden Fällen ist zu beachten, daß die Reihenfolge der Definition der Ableitungen in den case-Anweisungen die Reihenfolge der Parameterwerte in den Parameter-Dateien *\*.npar* und *\*.fpar* festlegt!

Zusätzlich sind in den zugehörigen Header-Files all diejenigen Funktionsköpfe zu übernehmen, für die der Zugriff aus anderen Dateien heraus möglich sein soll. Das gilt bez. *abltg.h* z. B. für die Funktion `COMPLEX ABLTG(...)` und evtl. einige benutzerdefinierte Funktionen.

---

<sup>4</sup>Die Laplace-Transformation hat keinen Einfluß auf die Berechnung partieller Ableitungen nach Funktionsparametern.

MODELL	fixe Parameter	„freie“ Parameter
Inverse Gauss-Funktion	$A$	$MT$ $CV^2$
kumulative Inverse Gauss-Funktion	$C_A$	$F$ $MT$ $CV^2$
Permeations-Diffusionsmodell	$A_{cath}$ $p_{cath}$ $MT1_{cath}$ $MT2_{cath}$ $CV1_{cath}$ $CV2_{cath}$  $Q$ $A$ $p$ $MT1$ $MT2$ $CV1^2$ $CV2^2$	$d$ $v$ $k$ $k_e$
Bindungsmodell	$A_{cath}$ $p_{cath}$ $MT1_{cath}$ $MT2_{cath}$ $CV1_{cath}$ $CV2_{cath}$  $Q$ $A$ $p$ $MT1$ $MT2$ $CV1^2$ $CV2^2$	$v$ $k$ $k_e$ $k_{12}$ $v_c$

Tabelle D.1: Implementierte Modelle und zugehörige Parameter in der vordefinierten Reihenfolge

# Abbildungsverzeichnis

1.1	Charakterisierung des Systemverhaltens . . . . .	5
1.2	Möglichkeiten der Kopplung zweier Systeme . . . . .	7
2.1	Prinzipieller Aufbau der Single-Pass Perfusion einer isolierten Leber . . . . .	13
3.1	Hepatische Mischungsprozesse . . . . .	15
3.2	Ein-Kompartiment-Modell . . . . .	17
3.3	Modellvorhersagen zur hepatischen Durchlässigkeit $F_H$ . . . . .	18
3.4	Zwei-Kompartiment-Modell . . . . .	18
3.5	Einfaches Röhrenmodell . . . . .	20
3.6	Verteilungsmodell . . . . .	20
3.7	Verteilungsprozesse im Dispersionsmodell . . . . .	21
3.8	Zwei-Kompartiment-Dispersionsmodell . . . . .	22
3.9	Stochastisches 2-Phasen-Modell . . . . .	23
3.10	Verteilungsprozesse im Diffusionsmodell . . . . .	25
4.1	$^{125}\text{I}$ -Albumin-Daten: Modellanpassungen 2IG vs. 1IG . . . . .	39
4.2	2IG-simulierte intravaskuläre Verteilung: 1IG-Anpassung mit und ohne Wichtung . . . . .	43
4.3	Simulierte Fluß-limitierte Verteilung: Anpassung des Ein-Kompartiment-Dispersionsmodells	44
4.4	Simulierte Barriere-limitierte Verteilung: Anpassung des Zwei-Kompartiment-Dispersionsmodells . . . . .	45
4.5	Durchlässigkeit $F_H$ : Dispersionsmodell vs. stochastisches 2-Phasen-Modell mit 2IG . . . . .	47
4.6	Einfluß intrazellulärer Diffusion auf die Transitzeitdichte . . . . .	49
4.7	Durchlässigkeit und mittlere Transitzeit in Abhängigkeit von Permeabilitäts- und Eliminationsrate bei schneller und langsamer intrazellulärer Diffusion . . . . .	51
4.8	Relative Dispersion in Abhängigkeit des relativen Verteilungsvolumens und der Eliminationsrate bei unterschiedlicher intrazellulärer Diffusion . . . . .	52
4.9	Relative Dispersion in Abhängigkeit der Permeabilitätsrate bei unterschiedlicher intrazellulärer Diffusion . . . . .	52
4.10	Anpassung des Diffusionsmodells an Phenol-Daten: Startparameter-Bestimmung . . . . .	54
4.11	Phenol-Outflow-Profil: Anpassung des Diffusionsmodells . . . . .	57
4.12	Schematische Darstellung der Aussagen der Sensitivitätskriterien nach THOMASETH . . . . .	64
4.13	Diclofenac – Sensitivitätsanalysen ausgehend vom Basis-Sampling-Schema . . . . .	70
4.14	Diclofenac – Sensitivitätsanalyse beim verkürzten Zeitbereich von 100 sec . . . . .	72
4.15	Trijodthyroxin – Sensitivitätsanalysen im Zeitbereich bis 90 sec . . . . .	74
4.16	Trijodthyroxin – Sensitivitätsanalyse im verlängerten Zeitbereich . . . . .	77
5.1	Große Gefäße als Subsystem der Leber . . . . .	79

5.2	Modelle der simultanen Schätzung der Verteilungskinetik der Großen Gefäße . . . . .	80
5.3	Superposition mit und ohne Berücksichtigung der Transitzeit durch die Großen Gefäße . . .	82
5.4	Modellanpassungen 1 und 2 für $^{14}\text{C}$ -Saccharose 1a . . . . .	83
5.5	Validierung des Iterationsverfahrens . . . . .	85
5.6	Modell 3: Anpassung der experimentellen Daten nach der ersten Iteration . . . . .	86
6.1	Prozesse der Pharmakonverteilung im Organismus und zugehörige Zeitparameter . . . . .	89
6.2	Vergleich der modellunabhängig berechneten $AUC$ und Bioverfügbarkeit $F$ der verschiedenen Applikationsarten . . . . .	91
6.3	Vergleich der modellunabhängig berechneten $MDRT$ und $MTRT$ sowie daraus abgeleiteter mittlerer Invasions- bzw. Absorptionszeiten der verschiedenen Applikationsarten . . . . .	91
6.4	Modellanpassungen der i.v. und p.o. Daten . . . . .	92
6.5	Vergleich der Anpassung unterschiedlicher Absorptionsmodelle im Anfangsbereich (2h) . .	93
6.6	Gegenüberstellung der Ergebnisse nicht-parametrischer und parametrischer Auswertung . .	94
6.7	Konzentrations-Zeit-Verläufe des primären Metaboliten nach i.v. und p.o. Applikation für den Probanden mit maximalem $R_m$ -Wert von 3.1 (halblogarithmische Darstellung). . . . .	96
6.8	Gastrointestinale und hepatische First-Pass-Metabolisierung der absorbierten Substanz in primären Metaboliten ( $mi$ ) . . . . .	97
A.1	Leber mit zu- und wegführenden Gefäßen . . . . .	II
A.2	Innere Struktur der Leber — Bestandteile des Acinus . . . . .	III
A.3	Prinzipielle mikroskopische Struktur: Sinusoid—Dissé-Raum—Hepatozyt . . . . .	IV
A.4	Elektronenmikroskopische Darstellung der Heterogenität des Kapillargefäßsystems . . . . .	IV
C.1	Anpassung des Katheterprofils durch eine Triexponentialfunktion mit Verzögerungszeit . .	XII
C.2	Superposition mit und ohne Berücksichtigung der Transitzeit durch die Großen Gefäße . . .	XIII
D.1	Klassifizierung der Programm-Files und kurze Funktionalitätsbeschreibung . . . . .	XX

# Tabellenverzeichnis

3.1	Spezifikation der Transportgleichung zur Beschreibung der intravaskulären Mischung in unterschiedlichen Lebermodellen . . . . .	16
3.2	Funktion der vaskulären Mischung in unterschiedlichen Lebermodellen . . . . .	26
4.1	Modellierungsprozesse und Annahmen des stochastischen 2-Phasen-Modells . . . . .	29
4.2	Grenzfälle des Permeations-Diffusionsmodells mit Elimination . . . . .	32
4.3	Anpassung der 1IG an <sup>125</sup> I-Albumin Outflow-Daten der isoliert perfundierten Rattenleber mit und ohne Wichtung . . . . .	40
4.4	Anpassung der 2IG an <sup>125</sup> I-Albumin Outflow-Daten der isoliert perfundierten Rattenleber bei Datenwichtung . . . . .	40
4.5	Parameter des Dispersionsmodells (%Bias) bei Anpassung an 2IG-simulierte Daten . . . . .	46
4.6	Prozentuale Abweichungen der Durchlässigkeit <i>F</i> des Dispersionsmodells von der des 2-Phasen-Modells mit der 2IG als vaskulärer Transitzeitdichte . . . . .	47
4.7	Evans Blue Verteilungsparameter dreier isoliert perfundierter Rattenlebern . . . . .	53
4.8	Korrelationen bei Anpassung des Diffusionsmodells an Phenol 1B mit (links) und ohne Schätzung ( <i>d</i> fix) des Diffusionszeitparameters . . . . .	55
4.9	Modellgeschätzte Gewebeverteilungsparameter der Phenole A...D in drei verschiedenen Rattenlebern . . . . .	56
4.10	Pharmakokinetische Parameter der Phenole A...D in drei verschiedenen Rattenlebern . . . . .	58
4.11	Dimensionslose Verhältnisparameter, die die Fluß- und Diffusions-limitierte Verteilung der Phenole A...D in den verschiedenen Rattenlebern charakterisieren . . . . .	58
4.12	Aus den Modellparametern abgeleitete Verteilungs- und Bindungsparameter . . . . .	60
4.13	Sensitivitätskriterien und ihre Eigenschaften . . . . .	66
4.14	Parameter des Diffusions- und Bindungsmodells für die Substanzen Diclofenac und Trijodthyroxin . . . . .	68
4.15	Korrelationen der Parameter des Diffusions- und Bindungsmodells für Diclofenac . . . . .	69
4.16	Korrelationen der Diclofenac-Parameter bei verkürzter Sampling-Zeit von 100 sec . . . . .	71
4.17	Korrelationen der Parameter des Trijodthyroxin . . . . .	73
4.18	Korrelationen der Parameter des Trijodthyroxin bei verlängerter Sampling-Zeit von 150 sec . . . . .	75
C.1	Parameter der Modellanpassung des Dispersionsmodells (Mellick, G. D., 1995; Mellick, G. D. und Roberts, M. S., 1999) . . . . .	X
C.2	Modellanpassung Evans Blue: Prozentuale Abweichungen der Parameterschätzungen der 1IG von denen der 2IG . . . . .	XI
C.3	Modellanpassung Phenol-Derivate: Vergleich der Parameterschätzungen des Dispersionsmodells (Mellick, G. D., 1995) und des 2-Phasen-Modell mit 2IG . . . . .	XI

C.4	Berechnung der durch die Großen Gefäße verursachten Verzögerungszeit $T_0$ auf Grundlage numerisch bestimmter Momente und maximaler Konzentrationswerte . . . . .	XII
C.5	Ergebnisse der Modellanpassungen 1 und 2 für $^{14}\text{C}$ -Saccharose . . . . .	XIV
C.6	Ergebnisse der Modellanpassungen 1 und 2 für $^3\text{H}$ -Wasser . . . . .	XV
C.7	Ergebnisse der ersten Iteration . . . . .	XVI
C.8	$AUC$ und mittlere Transitzeiten für die verschiedenen Applikationsarten . . . . .	XVII
C.9	Clearance, Bioverfügbarkeiten und mittlere Input- bzw. Absorptionszeiten für die verschiedenen Applikationsarten . . . . .	XVIII
C.10	Parameterschätzungen bei Anpassung einer Triexponentialfunktion an die Konzentrations-Zeit-Profile nach i.v. Applikation . . . . .	XVIII
C.11	$AUC_m$ und mittlere Transitzeiten des erzeugten Metaboliten für verschiedenen Applikationsarten . . . . .	XIX
D.1	Implementierte Modelle und zugehörige Parameter in der vordefinierten Reihenfolge . . . .	XXVII

# Bibliography

- Akaike, H. (1974). A new look at the statistical model identification. *IEEE Trans. Automat. Contr.*, 19:716–723.
- Barlow, R. E. und Proschan, F. (1978). *Statistische Theorie der Zuverlässigkeit — Wahrscheinlichkeitstheoretische Modelle*. Akademie-Verlag, Berlin.
- Bass, L., Roberts, M. S. und Robinson, P. J. (1987). On the relation between extended forms of the sinusoidal perfusion and of the convection-dispersion models of hepatic elimination. *J. Theor. Biol.*, 126:457–482.
- Bickel, P. J. und Doksum, K. A. (1977). *Mathematical Statistics — Basic Ideas and Selected Topics*. Prentice Hall.
- Carson, E. R., Cobelli, C. und Finkelstein, L. (1983). *The Mathematical Modeling of Metabolic and Endocrine Systems*. Wiley, New York.
- Chhikara, R. S. und Folks, J. L. (1977). The inverse gaussian distribution as a lifetime model. *Technometrics*, 19:461–468.
- Chhikara, R. S. und Folks, J. L. (1989). *The Inverse Gaussian Distribution. Theory, Methodology, and Applications*. Marcel Dekker, New York.
- Chinard, F. P., Vosburgh, G. J. und Enns, T. (1955). *Am. J. Physiol.*, 183:221.
- Chou, Ch.-H., McLachlan, A. J. und Rowland, M. (1995). Membrane permeability and lipophilicity in the isolated perfused rat liver: 5-ethyl barbituric acid and other compounds. *J. Pharm. Exp. Ther.*, 275:933–940.
- D’Argenio, D. Z. und Schumitzky, A. (1992). *ADAPT II User’s Guide: Mathematical Software for Pharmacokinetic/Pharmacodynamic Systems Analysis*. Biomedical Simulation Resource, University of Southern California, Los Angeles.
- Diaz-Garzia, J. M., Evans, A. M. und Rowland, M. (1992). Application of the axial dispersion model of hepatic drug elimination to the kinetics of diazepam in the isolated perfused rat liver. *J. Pharmacokin. Biopharm.*, 20:171–193.
- Evans, A. M., Hussein, Z. und Rowland, M. (1993). Influence of albumin on the distribution and elimination kinetics of diclofenac in the isolated perfused rat liver: Analysis by the impulse-response technique and the dispersion model. *J. Pharm. Sci.*, 82:421–428.
- Fromm, M. F. (1998). Intestinal Metabolismus von Arzneistoffen. In Gramatte, T. und Weiss, M. (Hrsg.), *Aspekte der intestinalen Absorption und der Modellentwicklung in Pharmakokinetik und Pharmakodynamik*, Seite 56–61. W. Zuckschwerdt.

- Goresky, C. A. (1963). A linear method for determining liver sinusoidal and extravascular volumes. *Am. J. Physiol.*, 204(4):626–640.
- Goresky, C. A. (1983). Kinetic interpretation of hepatic multiple-indicator dilution studies. *Am. J. Physiol. (Gastrointest. Liver Physiol. 8)*, 245:G1–G12.
- Goresky, C. A., Bach, G. G. und Nadeau, B. E. (1973). On the uptake of materials by the intact liver: The transport and net removal of galactose. *J. Clin. Invest.*, 52:991–1009.
- Goresky, C. A., Schwab, A. J. und Pang, K. S. (1993). Kinetic models of hepatic transport at the organ level. In Tavoloni, N. B. P. (Hrsg.), *Hepatic Transport and Bile Secretion: Physiology and Pathophysiology*, Kapitel 2, Seite 11–39. Raven Press 1993.
- Goresky, C. A. und Silverman, M. (1964). Effect of correction of catheter distortion on calculated liver sinusoidal volumes. *Am. J. Physiol.*, 4(207):883–892.
- Goresky, C. A., Ziegler, W. H. und Bach, G. G. (1970). Capillary exchange modeling, barrier-limited and flow-limited distribution. *Circ. Res.*, 27:739–764.
- Gramatte, T., Oertel, R., Terhaag, B. und Kirch, W. (1996). Direct demonstration of small intestinal secretion and site-dependent absorption of the  $\beta$ -blocker talinolol in humans. *Clin. Pharmacol. Ther.*, 59:541–549.
- Gray, M. R. and Tam, Y. K. (1987). The series-compartment model for hepatic elimination. *Drug Metab. Dispos.*, 15:27–31.
- Gumucio, J. J. und Guibert, E. E. (1993). Zonal transport and functional compartmentation of the liver acinus. In Tavoloni, N. B. P. (Hrsg.), *Hepatic Transport and Bile Secretion: Physiology and Pathophysiology*, Kapitel 5, Seite 71–82. Raven Press.
- Hebert, M. F., Robert, J. P., Prueksaritanont, T. und Benet, L. Z. (1992). Bioavailability of cyclosporine with concomitant rifampin administration is markedly less than predicted by hepatic enzyme induction. *Clin. Pharmacol. Ther.*, 52:453–457.
- Heinzel, G., Woloszczak, R. und Thomann, P. (1993). *TOPFIT 2.0*. G. Fischer, Stuttgart, Jena, New York.
- Hsu, J. T. und Dranhoff, J. S. (1986). On the initial condition problems for reactor dispersion model. *Chem. Eng. Sci.*, 41:1930–1934.
- Hussein, Z., McLachlan, A. J. und Rowland, M. (1994). Distribution kinetics of salicylic acid in the isolated perfused rat liver assessed using moment analysis and the two-compartment axial dispersion model. *Pharm. Res.*, 11:1337–1345.
- Jungermann, K. (1986). Functional heterogeneity of periportal and perivenous hepatocytes. *Enzyme*, 35:161–180.
- Jungermann, K. und Katz, N. (1982). Functional hepatocellular heterogeneity. *Hepatology*, 2(3):385–395.
- Kuhlmann, O. (1998). *Trennverfahren für die Wirkstoffanalyse und deren Einsatz in der Pharmakokinetik*. Dissertation, Martin-Luther-University Halle-Wittenberg.

- LeBouton, A. V. (1986). Protein synthesis and secretion. In Thurman, R. G., Kauffman, F. C. und Jungermann, K., Editors, *Regulation of Hepatic Metabolism: Intra- and Intercellular Compartmentation*, Kapitel 14, Seite 363–410. Plenum Press.
- Luxon, B. A. und Forker, E. L. (1982). Simulation and analysis of hepatic indicator dilution curves. *Am. J. Physiol. (Gastrointest. Liver Physiol. 6)*, 243:G76–G89.
- Luxon, B. A. und Weisiger, R. A. (1992). A new method for quantitating intracellular transport: Application to the thyroid hormone 3,5,3'-triiodothyronine. *Am. J. Physiol.*, 263:G733–G741.
- Luxon, B. A. und Weisiger, R. A. (1993). Extending the multiple indicator dilution method to include slow intracellular diffusion. *Math. Biosci.*, 113:211–230.
- Macchiarelli, G. und Motta, P. M. (1993). Ultrastructure of the hepatocyte. In Tavoloni, N. B. P. (Hrsg.), *Hepatic Transport and Bile Secretion: Physiology and Pathophysiology*, Kapitel 7, Seite 103–116. Raven Press.
- McCuskey, R.S. (1993). Functional morphology of the liver with emphasis on microvasculature. In Tavoloni, N. B. P. (Hrsg.), *Hepatic Transport and Bile Secretion: Physiology and Pathophysiology*, Kapitel 1, Seite 1–10. Raven Press.
- Mellick, G. D. (1995). *Studies on the disposition of solutes in the perfused rat liver & the influence of physicochemical properties*. PhD Thesis, University of Queensland, Brisbane (Australia): Department of Medicine.
- Mellick, G. D., Anissimov, Y. G., Bracken, A. J. und Roberts, M. S. (1997). Metabolite mean transit times in the liver as predicted by various models of hepatic elimination. *J. Pharmacokin. Biopharm.*, 25(4):477–505.
- Mellick, G. D. und Roberts, M. S. (1996). The disposition of aspirin and salicylic acid in the isolated perfused rat liver: The effect of normal and retrograde flow on availability and mean transit time. *J. Pharm. Pharmacol.*, 48:738–743.
- Mellick, G. D. und Roberts, M. S. (1999). Structure-hepatic disposition relationships for phenolic compounds. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 158(1):50–60.
- Micromath Scientific Software (1995). *Scientist Handbook*. Salt Lake City.
- Murli, A. und M. Rizzardi (1990). Algorithm 682 — Talbot's method for the laplace inversion problem. *ACM Trans. Math. Softw.*, 16:158–168.
- Paine, M. F., Shenn, D. D., Kunze, K. L., Perkins, J. D., Marsh, C. L., McVicar, J. P., Barr, D. M., Gillies, B. S. und Thummel, K. E. (1996). First-pass metabolism of midazolam by the human intestine. *Clin. Pharmacol. Ther.*, 60:14–24.
- Pfeiffer, S., Pfofel, P. und Borchert, H.-H. (1995). *Biopharmazie: Pharmakokinetik, Bioverfügbarkeit, Biotransformation*. Ullstein Mosby, Berlin, Wiesbaden, Zweite Auflage.
- Purves, R. D. (1992a). Bias and variance of extrapolated tails for area-under-the-curve (AUC) and area-under-the-moment-curve (AUMC). *J. Pharmacokin. Biopharm.*, 20(5):501–510.
- Purves, R. D. (1992b). Optimum numerical integration methods for estimation of area-under-the-curve (AUC) and area-under-the-moment-curve (AUMC). *J. Pharmacokin. Biopharm.*, 20(3):211–226.

- Purves, R. D. (1994). Numerical estimation of the noncompartmental pharmacokinetic parameters variance and coefficient of variation of residence times. *J. Pharm. Sci.*, 83(2):202–205.
- Rappaport, A. M., Borowy, Z. J., Longheed, W. M. und Lotto, W. N. (1954). Subdivision of hexagonal liver lobules into a structural and functional unit: Role in hepatic physiology and pathology. *Anat. Rec.*, 119:11–34.
- Roberts, M. S., Donaldson, J. D. und Rowland, M. (1988). Models of hepatic elimination: Comparison of stochastic models to describe residence time distributions and to predict the influence of drug distribution, enzyme heterogeneity, and systemic recycling of hepatic elimination. *J. Pharmacokin. Biopharm.*, 16:41–83.
- Roberts, M. S., Fraser, S., Wagner, A. und McLeod, L. (1990). Residence time distributions of solutes in the perfused rat liver using a dispersion model of hepatic elimination: 1. Effect of changes in perfusate flow and albumin concentration on sucrose and taurocholate. *J. Pharmacokin. Biopharm.*, 18:209–234.
- Roberts, M. S. und Rowland, M. (1985). Hepatic elimination — dispersion model. *J. Pharm. Sci.*, 74(5):585–587.
- Roberts, M. S. und Rowland, M. (1986). A dispersion model of hepatic elimination: 1. Formulation of the model and bolus considerations. *J. Pharmacokin. Biopharm.*, 3(14):228–259.
- Rowland, M. und Tozer, T. N. (1995). *Clinical Pharmacokinetics — Concepts and Applications*. William and Wilkens, Baltimore, Dritte Auflage.
- Sachs, L. (1998). *Angewandte Statistik*. Springer, Berlin, Achte Auflage.
- Sasse, D. (1986). Liver structure and innervation. In Thurman, R. G., Kauffman, F. C. und Jungermann, K., (Hrsg.), *Regulation of Hepatic Metabolism: Intra- and Intercellular Compartmentation*, Kapitel 1, Seite 3–25. Plenum Press.
- Schalla, M. und Weiss, M. (1999). Pharmacokinetic curve fitting using numerical inverse Laplace transformation. *Eur. J. Pharm. Sci.*, 7:305–309.
- Schwab, A. J., Barker III F, Goresky, C. A. und Pang, K. S. (1990). Transfer of enalaprilat across rat liver cell membranes is barrier limited. *Am. J. Physiol.*, 258:G461–G475.
- Seber, G. A. F. und Wild, C. J. (1989). *Nonlinear Regression*. John Wiley, New York.
- Seshadri, V. (1999). *The Inverse Gaussian Distribution. Statistical Theory and Applications*. Springer, Berlin.
- Sheppard, C. W. (1962). *Basic Principles of the Tracer Method*. Wiley, New York.
- Shinnar, R., Naor, P. und Katz, S. (1972). Interpretation and evaluation of multiple tracer experiments. *Chem. Engin. Sci.*, 27:1627–1642.
- Thomaseth, K. und Cobelli, C. (1997). Parameter information content during model identification experiments. In Linkens, D. A. und Carson, E. (Hrsg.), *Modelling and Control in Biomedical Systems*, Seite 107–112. Elsevier.

- Thummel, K. E., O'Shea, D., Paine, M. F., Shen, D. D., Kunze, K. L., Perkins, J. D. und Wilkinson, G. R. (1996). Oral first-pass elimination of midazolam involves both gastrointestinal and hepatic CYP3A-mediated metabolism. *Clin. Pharmacol. Ther.*, 59(5):491–502.
- Tweedie, M. C. K. (1941). A mathematical investigation of some electrophoretic measurements on colloids. Master's thesis, University of Reading, England.
- Tweedie, M. C. K. (1957). Statistical properties of inverse gaussian distributions I. *Ann. Math. Statist.*, 28:362–377.
- Wada, D. R., Björkman, S., Ebling, W. F., Harashima, H., Harapat, S. R. und Stanski, D. R. (1997). Computer simulation of the effects of alterations in blood flows and body composition on thiopental pharmacokinetics in humans. *Anesthesiology*, 87(4):884–899.
- Wagner, J. G. (1975). *Fundamentals of Clinical Pharmacokinetics*. Drug Intelligence Publications, Hamilton.
- Waynforth, W. B. und Flecknell (1992). *Experimental and Surgical Technique in Rat*. Academic press, London.
- Weisiger, R. A. (1996). When is a carrier not a membrane carrier? The cytoplasmic transport of amphipatic molecules. *Hepatology*, 24:1288–1295.
- Weisiger, R. A., Mendel, C.M. und Cavalieri, R. R. (1986). The hepatic sinusoid is not well-stirred: Estimation of the degree of axial mixing by analysis of lobular concentration gradients formed during uptake of thyroxine by the perfused rat liver. *J. Pharm. Sci.*, 75:233–237.
- Weiss, M. (1988). A general model of metabolite kinetics following intravenous and oral administration of the parent drug. *Biopharm. Drug Disposit.*, 9:159–176.
- Weiss, M. (1990a). *Theoretische Pharmakokinetik: Modellierung, Datenanalyse, Dosierungsoptimierung*. Verlag Gesundheit, Berlin.
- Weiss, M. (1990b). Use of metabolite AUC data in bioavailability studies to discriminate between absorption and first-pass extraction. *Clin. Pharmacokinet.*, 18(5):419–422.
- Weiss, M. (1992). The relevance of residence time theory to pharmacokinetics. *Eur. J. Clin. Pharmacol.*, 43:571–579.
- Weiss, M. (1996). A novel extravascular input function for the assessment of drug absorption in bioavailability studies. *Pharm. Res.*, 10(13):1545–1551.
- Weiss, M. (1997). On the degree of solute mixing in liver models of drug elimination. *J. Pharmacokin. Biopharm.*, 3(25):363–375.
- Weiss, M. und Geschke, D. (1997). Estimation and model selection in pharmacokinetics: The effect of model misspecification. In Linkens, D. A. und Carson, E. (Hrsg.), *Modelling and Control in Biomedical Systems*, Seite 123–127. Elsevier.
- Weiss, M., Kuhlmann, O., Krauss, G.-J. und Roberts, M. S. (1998). Hepatocellular distribution and elimination kinetics of diclofenac in the isolated perfused rat liver. *Arch. Pharmacol.*, 357:R6.

- Weiss, M. und Roberts, M. S. (1996). Tissue distribution kinetics as determinant of transit time dispersion of drugs in organs: Application of a stochastic model to the rat hindlimb. *J. Pharmacokin. Biopharm.*, 24:173–196.
- Weiss, M., Stedtler, Chr. und Roberts, M. S. (1997). On the validity of the dispersion model of hepatic drug elimination when intravascular transit time densities are long-tailed. *Bull. Math. Biol.*, 59(5):911–929.
- Wolkoff, A. W., Johansen, K. L. und Goeser, T. (1987). The isolated perfused rat liver: Preparation and application. *Analytical Biochemistry*, 167:1–14.
- Yano, Y., Yamaoka, K., Aoyama, Y. und Tanaka, H. (1989). Two-compartment dispersion model for analysis of organ perfusion system of drugs by fast inverse Laplace transform (FILT). *J. Pharmacokin. Biopharm.*, 17:179–202.
- Zucker, S. D., Goessling, W. und Gollan, J. L. (1996). Intracellular transport of small hydrophobic compounds by the hepatocyte. *Sem. Liver Dis.*, 16:159–167.

## Verwendete Hilfsmittel

**Hardware:** PC Pentium 100 MHz, PC Pentium II 266 MHz, SUN Sparc 10

**Betriebssysteme:** DOS, Windows 9x, LINUX, UNIX

**Software:** ADAPT II, Release 2  
Fortran77  
gcc, Version 2.7  
ghostview mit ghostscript 4.03  
 $\text{\LaTeX}2\epsilon$   
Maple V, Release 3 und 4  
Mensch3D  
MS-Office, Version 7.0  
S-Plus, Version 3.3  
Scientist, Version 2.01  
SigmaPlot, Version 3.02  
SigmaStat, Version 1.03  
xfig, Version 3.1 und 3.2

## Publikationen

**Stedtler, Ch.,** Weiss, M. (1996). Modellierung der hepatischen Elimination — Einfluß der Verteilungsdynamik. *Klin. Pharmakol. akt.*, 7(1): 23–24

**Weiss, M.,** Stedtler, Ch., Roberts, M. S. (1997). On the validity of the dispersion model of hepatic drug elimination when intravascular transit time densities are long-tailed. *Bull. Math. Biol.*, 59(5): 911–929

**Stedtler, Ch.,** Weiss, M. (1997). New liver model for analysis of extraction and mean transit time of drug and generated metabolite. *Naunyn Schmiedeberger's Arch. Pharmacol.*, 351: R48

# Lebenslauf

## **Christina Ring geb. Stedtler**

Geburtsdatum : 21.08.1970

Geburtsort : Schmalkalden

### **Schulische Ausbildung**

1979 – 1987 9. Polytechnische Oberschule Suhl

1987 – 1989 Erweiterte Oberschule Suhl

### **Wissenschaftliche Ausbildung**

1989 – 1995 Technische Universität Ilmenau  
Fakultät für Mathematik und Naturwissenschaften  
Diplomstudium Mathematik

1995 – 1999 Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg  
Promotionsstudium im Graduiertenkolleg der DFG  
„Transport von Wirkstoffen in biologischen Systemen“

1997 4monatiger Studienaufenthalt an der University of Queensland, Brisbane

seit 01.02.1999 wissenschaftlicher Mitarbeiter, Universität Ulm  
Abteilung Biometrie und medizinische Dokumentation

Hiermit versichere ich, die vorliegende Arbeit selbständig angefertigt, die verwendeten Hilfsmittel vollständig angegeben und die wissenschaftlichen Werken entnommenen Stellen als solche gekennzeichnet zu haben.

Ulm, im Januar 2000