

Aus dem Universitätsklinikum Münster
Klinik und Poliklinik für Kinder- und Jugendmedizin
- Pädiatrische Hämatologie und Onkologie -
- Direktor: Univ.-Prof. Dr. med. H. Jürgens -

Etoposid im Neuroblastomprotokoll

Eine PBPK-basierte Auswertung relevanter Einflussfaktoren und Dosierungsregime

INAUGURAL-DISSERTATION

zur

Erlangung des doctor medicinae

der Medizinischen Fakultät

der Westfälischen Wilhelms-Universität Münster

vorgelegt von Kallenbach, Maximilian Caspar

aus Aachen

- 2013 -

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der Westfälischen Wilhelms-
Universität Münster

Dekan: Univ.-Prof. Dr. med. Dr. hc. W. Schmitz

1. Berichterstatter: Univ.-Prof. Dr. med. J. Boos

2. Berichterstatter: Apl. Prof. Dr. G. Hempel

Tag der mündlichen Prüfung: 02.12.2013

Aus dem Universitätsklinikum Münster

Klinik und Poliklinik für Kinder- und Jugendmedizin - Pädiatrische Hämatologie und Onkologie

- Direktor: Univ.-Prof. Dr. med. H. Jürgens -

Referent: Univ.-Prof. Dr. med. J. Boos - Koreferent: Apl. Prf. Dr. G. Hempel

ZUSAMMENFASSUNG

Etoposid im Neuroblastomprotokoll

Eine PBPK-basierte Auswertung relevanter Einflussfaktoren und Dosierungsregime

Kallenbach, Maximilian Caspar

Einleitung: In der pädiatrischen Onkologie sind exakte Dosierungsregime von besonderer Bedeutung, um in einer stark diversifizierten Patientengruppe therapeutisch wirksame aber nicht toxische Plasmaspiegel zu erreichen. Ziel der Arbeit ist die Untersuchung verschiedener Einflussgrößen auf die Pharmakokinetik von Etoposid in einer pädiatrischen Kohorte.

Material und Methoden: Mithilfe der physiologiebasierten Pharmakokinetik (PBPK, Software PK-Sim®, Bayer Technology Services) wurden Daten von 38 Patienten mit insgesamt 127 Etoposidmesswerten ausgewertet, welche im Rahmen der "kooperativen multizentrischen Therapieoptimierungsstudie für die Behandlung von Säuglingen, Kindern und Jugendlichen mit Neuroblastom" (1997-2002) erhoben worden waren.

Ergebnisse: Individuelle Simulationen konnten retrospektiv die gemessenen Plasmaspiegel nur ungenügend wiedergeben (Pearson $r=0,395$; Verteilungskoeffizient $\pm 44\%$). Eine populationspharmakokinetische Simulation erzeugte aber eine nahezu identische Plasmaspiegelverteilung verglichen mit der untersuchten Kohorte. Auf die Simulationsergebnisse zeigte die freie Fraktion den größten Einfluss, mehr als renale und hepatische Funktionsschwankungen oder unterschiedliche Körperzusammensetzungen. Das Modell konnte höhere gemessene Etoposidspiegel bei adipösen Patienten bestätigen. Im Modell senkt eine Dosierung nach kg Körpergewicht die interindividuelle Variabilität im Vergleich zu einer fixen Dosis nach Alter nicht.

Diskussion: Auch für Kinder $< 1\text{LJ}$ liegt laut Modell eine ausreichende Therapiesicherheit bei Dosierung nach m^2 KOF vor. Ein therapeutisches Drugmonitoring mit Bestimmung der freien Fraktion sollte besonders bei adipösen Patienten in betracht gezogen werden.

Tag der mündlichen Prüfung: 02.12.2013

Eidesstattliche Erklärung

Ich erkläre hiermit an Eides statt, dass ich die Dissertation mit dem Titel „Etoposid im Neuroblastomprotokoll - Eine PBPK-basierte Auswertung relevanter Einflussfaktoren und Dosierungsregime“

im Institut für pädiatrische Hämatologie und Onkologie

unter der Anleitung von Prof. Dr. J. Boos

1. selbständig angefertigt,
2. nur unter Benutzung der im Literaturverzeichnis angegebenen Arbeiten angefertigt und sonst kein anderes gedrucktes oder ungedrucktes Material verwendet,
3. keine unerlaubte fremde Hilfe in Anspruch genommen,
4. sie weder in der gegenwärtigen noch in einer anderen Fassung einer in- oder ausländischen Fakultät als Dissertation, Semesterarbeit, Prüfungsarbeit, oder zur Erlangung eines akademischen Grades, vorgelegt habe.

Die Promotionsordnung des Fachbereichs 5 in der Fassung vom 23.10.2008 sowie die Ordnungen zur Änderung der Promotionsordnung vom 31.05.2010, 23.07.2010 und 26.08.2011 sind mir bekannt.

Münster, den

.....

(Unterschrift)

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung.....	1
1.1	Das Neuroblastom	3
1.1.1	Epidemiologie	3
1.1.2	Stadieneinteilung.....	3
1.1.3	Klinik	4
1.1.4	Diagnostik	5
1.1.5	Therapie und Prognose.....	5
1.2	Das Neuroblastom-Studienprotokoll NB 97	7
1.2.1	Beobachtungspatienten	8
1.2.2	Standardrisikopatienten	8
1.2.3	Hochrisikopatienten	9
1.3	Polychemotherapie des N5-Block.....	11
1.3.1	Etoposid	12
1.3.2	Cisplatin	17
1.3.3	Vindesin	18
1.4	Polychemotherapie des N6-Block.....	20
1.4.1	Dacarbazin	20

1.4.2	Ifosfamid	21
1.4.3	Doxorubicin.....	21
1.4.4	Vincristin.....	22
1.5	Entwicklungsphysiologie im Kindesalter.....	23
1.5.1	Absorption	24
1.5.2	Distribution.....	26
1.5.3	Metabolisierung.....	27
1.5.4	Renale Funktion	29
1.5.5	Pharmakodynamik.....	30
1.6	Medikamentöse Therapie im Kindesalter	31
1.6.1	Dosierungsregime.....	32
1.6.2	Körperoberfläche.....	34
1.6.3	Körpergewicht.....	36
1.6.4	Körpergewichtsbezogene Dosierung im NB-97-Regime.....	37
1.7	Physiologiebasierte Pharmakokinetik (PBPK)	38
1.7.1	PK-Sim®	40
1.7.2	Generierung eines virtuellen Individuums	42
1.7.3	Populationspharmakokinetik im PK-POP-Modul von PK-Sim®	43
1.8	Das Etoposidmodell nach G. Kersting	47

1.9	Ziel der Arbeit	50
2	Methodik.....	51
2.1	Patientenauswahl.....	51
2.2	Modellanpassungen	53
2.2.1	Vindesin und Vincristin	53
2.2.2	Cisplatin	54
2.2.3	Ifosfamid	55
2.2.4	Doxorubicin.....	56
2.2.5	Dacarbazin	56
2.2.6	Anpassungen unabhängig von der Polychemotherapie.....	56
2.3	Individuelle Simulationen	57
2.4	Populationspharmakokinetische Simulationen.....	59
2.5	Statistische und graphische Auswertung	62
3	Ergebnisse.....	64
3.1	Simulation der NB-97-Kohorte	64
3.1.1	Individuelle Simulationsergebnisse	66
3.1.2	Zyklusabhängigkeit	73
3.2	Der Standardsimulationspatient	76
3.3	Simulation hepatischer Funktionsschwankungen	78

3.4	Simulationen renaler Einflüsse.....	82
3.5	Einfluss der Proteinbindung	85
3.6	Einflüsse der simulierten Körperzusammensetzung.....	88
3.7	Populationspharmakokinetische Simulationen.....	90
3.7.1	Einfluss unterschiedlicher Körperzusammensetzungen.....	92
3.7.2	Variation von Enzymkinetiken und freier Fraktion	93
3.7.3	Adipöse und kachektische Patienten.....	97
3.7.4	Ungebundenes Etoposid.....	99
3.7.5	Exkretions- und Metabolisationsfraktionen	101
3.8	Dosierungsregime bei Kleinkindern.....	102
3.8.1	Dosierung für Kinder < 1 Lebensjahr im NB-97-Regime.....	104
3.8.2	Dosierung bei eingeschränkter Nierenfunktion	106
4	Diskussion.....	108
4.1	Die Kohorte	108
4.2	Modellanpassung	110
4.2.1	Zyklusabhängigkeit	111
4.3	PK-Sim®	112
4.3.1	Fehlerquellen stoffunabhängiger Parameter	112
4.3.2	Fehlerquellen stoffabhängiger Parameter.....	113

4.4	Individuelle Simulationen	115
4.4.1	Bilirubin.....	116
4.4.2	Exkretionsfraktionen.....	117
4.5	Untersuchung einzelner Einflüsse.....	119
4.5.1	Hepatische Funktionsschwankungen	119
4.5.2	Renale Funktionsschwankungen	121
4.5.3	Einfluss der Proteinbindung	123
4.5.4	Einfluss der Körperzusammensetzung	126
4.6	Populationspharmakokinetik	127
4.6.1	Variabilität der Transporterkinetiken und der freien Fraktion	127
4.6.2	Ungebundenes Etoposid.....	128
4.6.3	Exkretionsfraktionen der simulierten Population	129
4.7	Dosierungsregime.....	130
4.8	Zusammenfassung.....	134
	Literaturverzeichnis.....	137
	Lebenslauf.....	148
	Danksagung.....	149
	Anhang.....	I

Glossar

(e)RPF	(geschätzter) renaler Plasmafluss
5-JÜR	Fünffjahresüberlebensrate
ADME	Administration, Distribution, Metabolisation und Exkretion
ADR	Adriamycin = Doxorubicin
AUC	Area under the curve
BMI	Body Mass Index
CL	Clearance
C_{max}	Maximale Plasmakonzentration
cMOAT	canalicular multispecific organic anion transporter
C_{ss}	Konzentration im Steady-State
D	Dosis
DDP	Cisplatin
DNS	Desoxyribonukleinsäure
DTIC	Dacarbazin
EMA	European Medicine Agency
ETO	Etoposid
F	Bioverfügbarkeit
FAEP	Frühe akustisch evozierte Potentiale
FDA	Food and Drug Administration (USA)
FF	Filtrationsfraktion
fu	Freie Fraktion = ungebundene Fraktion
G-CSF	Granulocyte-Colony Stimulating Factor
GFR	Glomeruläre Filtrationsrate
GPOH	Gesellschaft für pädiatrische Onkologie und Hämatologie
H	Größe = Körperlänge = KL
ICH	International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use
ICRP	International Commission on Radiation Protection

IFO	Ifosfamid
IIV	Interindividuelle Variabilität
INSS	International Neuroblastoma Staging System
IOV	Intraindividuelle Variabilität
K_a	Absorptionskonstante
KG	Körpergewicht
KL	Körperlänge = Größe = H
K_m	Halbmaximale Stoffkonzentration einer Michaelis-Menten-Kinetik
KOF	Körperoberfläche
LDH	Laktatdehydrogenase
MIBG	Metaiodbenzylguanidin
MW	Mittelwert
NB	Neuroblastom
p	Prüfwert
PBPK	Physiologiebasierte Pharmakokinetik
P-gp	P-Glykoprotein
PIP	Paediatric investigation plan
r	Pearson-Korrelationskoeffizient
SD	Standardabweichung
SPECT	Einzelphotonenemissionscomputertomographie
t_½	Halbwertszeit
UAW	Unerwünschte Arzneimittelwirkung
VCR	Vincristin
Vd_{cent}	Zentrales Verteilungsvolumen
Vd_{peri}	Peripheres Verteilungsvolumen
VDS	Vindesin
VK	Variationskoeffizient
V_{max}	Maximale Reaktionsgeschwindigkeit
V_{ss}	Verteilungsvolumen im Steady-State

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Histogramm der Neuerkrankungen pro 100.000 Kindern und Jahr je nach Altersgruppe, Daten aus dem Kinderkrebsregister Mainz, 2003-2007 ⁷²	3
Abbildung 2: Gesamtübersicht des Therapieplans aus dem NB97-Studienprotokoll in der Fassung vom 1.12.2002 ¹²	7
Abbildung 3: Beobachtungspatienten, aus dem NB97-Studienprotokoll in der Fassung vom 1.12.2002 ¹²	8
Abbildung 4: Standardrisikopatienten, siehe NB97-Studienprotokoll in der Fassung vom 1.12.2002 ¹²	9
Abbildung 5: Hochrisikopatienten, aus dem NB97-Studienprotokoll in der Fassung vom 1.12.2002 ¹²	10
Abbildung 6: Schematische Darstellung des Therapieverlaufes des N5-Blockes (DDP: Cisplatin, ETO: Etoposid, VDS: Vindesin; G-CSF: Granulocyte-Colony-Stimulating-Factor; HR: Hochrisikogruppe) ¹²	11
Abbildung 7: Schematische Darstellung des Therapieverlaufes des N6-Blockes (VCR: Vincristin; DTIC: Dacarbazin; IFO: Ifosfamid; ADR: Adriamycin/Doxorubicin; G-CSF: Granulocyte-Colony-Stimulating-Factor; HR: Hochrisikogruppe) ¹²	20
Abbildung 8: graphische Darstellung der Entwicklung von Körperoberfläche zu Körpergewicht gegen das Alter, KOF berechnet nach Mosteller ⁹⁰ anhand von Daten amerikanischer Jungen zwischen 0 und 20 Jahren (jeweils 50te Perzentile), entnommen aus Datentabellen der CDC ²⁰	25
Abbildung 9: Entwicklung von CYP3A4, CYP2A2, CYP2D6 und UGT2B7 vom Neugeborenen bis zum Kind im Vergleich zur Aktivität bei Erwachsenen, nach Kearns et al. 2003 (Review) ⁶⁹	27

Abbildung 10: graphische Darstellung der errechneten theoretischen Etoposiddosierung nach Alter, verwendete KOF und KG zur Berechnung entsprechen den 50. Perzentilen der CDC-Growth-Charts für Jungen ²⁰ , links wurde zur besseren Anschaulichkeit der zutreffende Altersbereich des NB-97-Regimes vergrößert, in dem Etoposid nach KG dosiert wird (0,5-1 Jahr)	37
Abbildung 11: Allgemeine Modellstruktur eines PBPK-Modells (entnommen aus Lüpfer et al. ⁸²)	38
Abbildung 12: Schematische Darstellung der PK-Sim [®] -Modellstruktur mit dem Blutfluss entsprechenden Verteilungswegen (Abbildung entnommen aus PK-Sim [®] User Manual Version 4.2 ⁹).....	40
Abbildung 13: Darstellung des Algorithmus zu Generierung einer virtuellen Population, nach Willmann et al. 2007 ¹²⁵ , entnommen aus dem PK-Sim [®] -Manual Version 4.2	46
Abbildung 14: Flowchart zum Probeneinschluss.....	52
Abbildung 15: Punkteschar der gemessenen und simulierten Etoposidplasmaspiegel, dargestellt ist ebenfalls die Regressionsgrade ($r = 0,395$, $p < 0,001$) und Winkelhalbierende	67
Abbildung 16: a: graphische Darstellung der Verteilung der Mess- und Simulationsergebnisse, zur besseren Übersicht logarithmisch aufgetragen; b: Darstellung des Fehlers in % (Formel siehe oben); c: Darstellung des Fehlers in mg/L (Formel siehe oben) (Boxen: 25. und 75. Perzentile um den Median, Fühler 10. und 90. Perzentile, Punkte zeigen außerhalb liegende Werte)	68
Abbildung 17: Prozentualer Fehler gegen Alter, dargestellt ist die Regressionsgrade ($r = 0,137$, $p = 0,125$) sowie das entsprechende 95%-Konfidenzintervall der Regressionsgraden.....	69

Abbildung 18: a: als Boxplots dargestellte Verteilung der prozentualen Fehler zwischen Simulation und Messwerten (Formel siehe oben) aufgeteilt nach normalem (< 21 U/L) und erhöhten GPT (> 21 U/L), b: GPT gegen prozentualer Fehler, dargestellt ist die Regressionsgrade ($r = -0,138$, $p = 0,210$) sowie das entsprechende 95%-Konfidenzintervall.....	69
Abbildung 19: a: Kreatininspiegel gegen Simulationsfehler in %, schwarz ist die Regressionsgrade mit 95%-Konfidenzintervall eingezeichnet ($r = -0,086$, $p = 0,423$); b: Kreatininspiegel gegen gemessene Etoposidspiegel, ebenfalls mit Regressionsgrade ($r = 0,314$, $p = 0,003$).....	70
Abbildung 20: a: Harnstoffspiegel gegen Simulationsfehler in %, schwarz ist die Regressionsgrade mit 95%-Konfidenzintervall eingezeichnet ($r = -0,083$, $p = 0,515$); b: Harnstoffspiegel gegen gemessene Etoposidspiegel, ebenfalls mit Regressionsgrade ($r = 0,198$, $p = 0,120$).....	70
Abbildung 21: a: Simulationsfehler gegen Bilirubin, schwarz ist die Regressionsgrade mit 95%-Konfidenzintervall eingezeichnet ($r = 0,256$, $p = 0,034$); b: Harnstoffspiegel gegen gemessene Etoposidspiegel, ebenfalls mit Regressionsgrade ($r = -0,252$, $p = 0,038$).....	71
Abbildung 22: a: Punkteschar der simulierten gegen gemessene Plasmaspiegel des freien Etoposids mit Regressionsgrade ($r = 0,324$, $p < 0,001$), b: die aus den Simulationsergebnissen berechnete freie Fraktion ($E_{to_{ungebunden}} / E_{to_{gesamt}}$) gegen die im Modell implementierte, gemessene freie Fraktion ($E_{to_{ungebunden}} / E_{to_{gesamt}}$) ($r = 0,796$, $p < 0,001$).....	72
Abbildung 23: Verteilung der Messwerte je nach Zyklus, schwarze Linie: Median, Boxen: 25. bis 75. Perzentile, Fühler: 10. und 90. Perzentile, Punkte: 5. und 95. Perzentile.....	73
Abbildung 24: Verteilung der prozentualen Fehler der Messwerte je nach Zyklus, schwarze Linie: Median, Boxen: 25. - 75. Perzentile, Fühler: 10. - 90. Perzentile, Punkte: Ausreißer	74

-
- Abbildung 25: Auftragung des prozentualen Fehlers der 24h- und 96h-Werte (Fehler = simuliert – gemessen; siehe vorherige Erläuterung) je Zyklus für sechs Beispielpatienten..... 75
- Abbildung 26: Simulierte Plasmaspiegel für gesamtes und freies Etoposid des SSP-Modells in halblogarithmischer Darstellung, Boxplots (oben Gesamtetoposid, unten ungebundenes Etoposid) zeigen die Messwerte der untersuchten Patientenkohorte an (normalisiert auf eine Dosis von $100\text{mg}/\text{m}^2$), aufgetrennt nach 24h- und 96h-Messwerten; durchgehender Strich: Median, Box: 25. und 75. Perzentile, Fühler: 10. und 90. Perzentile, Punkte: 5. und 95. Perzentile, gestrichelt: Mittelwert..... 77
- Abbildung 27: Konzentrationsverläufe für gesamtes (volle Linie) und freies Etoposid (gestrichelte Linie) (Blau: SM; Schwarz: SSP; Rot: FM)..... 79
- Abbildung 28: Exkretions- und Metabolisationsfraktionen für erhöhte (FM), normale (SSP) und erniedrigte (SM) Leberfunktion, Farbcodierung siehe Legende 80
- Abbildung 29: Simulierte Plasmaspiegel für gesamtes (solide) und ungebundenes (gestrichelt) Etoposid in mg/L ; blau: erniedrigte Nierenfunktion, schwarz: durchschnittliche Nierenfunktion (SSP), rot: erhöhte Nierenfunktion..... 83
- Abbildung 30: links Histogramm der individuellen freien Fraktionen der NB-97-Kohorte ($n = 102$), rechts Box Plot, Box mit Median sowie 25. und 75. Perzentile, Fühler zeigen 10. und 90. Perzentile an 85
- Abbildung 31: Simulierte Plasmaspiegelverläufe für gesamtes (solide) und ungebundenes (gestrichelt) Etoposid in mg/L ; blau: $f_u=7,15\%$, schwarz: $f_u=4,56\%$ (SSP), rot: $f_u=3,06\%$ 86
- Abbildung 32: Simulierte Plasmaspiegelverläufe für gesamtes (solide) und ungebundenes (gestrichelt) Etoposid in mg/L ; blau: VI-B (kachektisch) , schwarz: SSP, rot: VI-A (adipös)..... 89
-

Abbildung 33: Histogramme der Alters-, Gewichts-, Größen- und BMI-Verteilung der Population, n = 500, Frauen:Männer = 1:1.....	90
Abbildung 34: Histogramme der Verteilung von exemplarischen Organvolumen und – Durchblutungen.....	91
Abbildung 35: Gesamtes Etoposid der simulierten Population; rot: Maximal- und Minimalwert, Dunkelblau: Median, Blau: 10., 25., 75. und 90. Perzentile	92
Abbildung 36: simulierte (a) und gemessene (b) freie Fraktion, Verteilungen dargestellt als Histogramm.....	93
Abbildung 37: Verteilung der Enzym-/Transporterkinetiken sowie GFR und biliärer Exkretion.....	94
Abbildung 38: Gesamtes Etoposid der simulierten Population; rot: Maximal- und Minimalwert, Dunkelblau: Median, Blau: 10., 25., 75. und 90. Perzentile	95
Abbildung 39: Darstellung der Streubreite als Boxplots, Fühler geben 10. und 90. Perzentilen, Punkte Maxima und Minima, Box 25. bis 75. Perzentile und der graue Strich den Median wieder	96
Abbildung 40: Zur besseren Vergleichbarkeit als Boxplots aufgetragen sind: Verteilung der Plasmaspiegel einer adipösen und einer kachektischen Patientenkohorte (je n=100) sowie die Messwerte der eingeschlossenen Patienten zum Vergleich.....	98
Abbildung 41: Freies Etoposid der simulierten Population; rot: Maximal- und Minimalwert, Dunkelblau: Median, Blau: 10., 25., 75. und 90. Perzentile	99
Abbildung 42: Darstellung der freien Etoposidkonzentrationen als Boxplots, Fühler zeigen 10. bis 90. Perzentilen, Punkte Maxima und Minima, Box 25. bis 75. Perzentile und graue Striche den Median	100

Abbildung 43: Simulationsergebnisse: Exkretions- und Metabolisationsfraktionen der Population, wie zuvor gibt rot die Maxima und Minima der Population wieder, dunkelblau den Median und blau die 10., 25., 75. und 90. Perzentile..... 101

Abbildung 44: Darstellung der Perzentilen als Boxplots zur besseren graphischen Beurteilung 103

Abbildung 45: Zur besseren Anschaulichkeit Perzentilen der Tabelle 25 als Boxplots dargestellt 105

Abbildung 46: Als Boxplots aufgetragene Verteilung der maximal simulierten Etoposidkonzentrationen unter ursprünglicher und reduzierter Dosierung, rechts Messwerte der NB-97-Kohorte..... 107

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Stadieneinteilung des Neuroblastoms entsprechend dem „International Neuroblastoma Staging System“ (INSS) ¹⁷	4
Tabelle 2: Überleben von Neuroblastompatienten in Abhängigkeit von Alter und Stadium. Ergebnisse der Therapiestudien NB90 und NB97 der Gesellschaft für Pädiatrische Onkologie und Hämatologie (GPOH) für 488 Kinder < 1 Jahr und 889 Kinder > 1 Jahr. Angegeben ist die 5-Jahres-Überlebensrate (5-JÜR) mit Standardabweichung ^{13, 93}	6
Tabelle 3: Vergleich pharmakokinetischer Parameter aus verschiedenen Studien für Kinder und Erwachsene, Mittelwert und Standardabweichung wenn vorhanden, sonst ist der Bereich angegeben	12
Tabelle 4: Variationskoeffizienten für die jeweilige IIV (interindividuelle Variabilität) bei Erwachsenen anhand von 100 Patienten mit 1044 gemessenen Etoposidkonzentrationen, berechnet mithilfe eines populationskinetischen Ansatzes; CL Clearance, $V_{d_{cent}}/V_{d_{peri}}$ zentrales/peripheres Verteilungsvolumen, K_a Absorptionsrate, lag time of absorption, F orale Bioverfügbarkeit ⁹²	13
Tabelle 5: Definition der Altersgruppen nach ICH, Clinical Investigation of Medicinal Products in the Pediatric Population, E11 ⁵⁹	24
Tabelle 6: geschätzte Enzymaktivität im Vergleich zu adulten Werten ³⁵	49
Tabelle 7: Aufzählung möglicher Signifikanztests, fett markiert sind die hier verwendeten Tests	63
Tabelle 8: Überblick über die Populationscharakteristika für alle erhobenen Messwerte	64

Tabelle 9: Übersicht der simulierten Patienten der NB-97-Kohorte, Größe, Gewicht und Alter wurden für jeden Patienten gemittelt, die Perzentilen entsprechen der den CDC-Growth-Charts²⁰ 65

Tabelle 10: Alter, Größe und Gewicht der Patienten, für die das jeweilige Gewicht zur Modellgenerierung erhöht werden musste, die Perzentilen entsprechen der Wertelage innerhalb der CDC-Growth-Charts²⁰ 66

Tabelle 11: Bereich der individuellen Exkretionsfraktionen der simulierten Neuroblastomkohorte 72

Tabelle 12: Simulationsergebnisse des SSP 77

Tabelle 13: erzeugte Veränderungen der hepatischen Enzymkinetiken 78

Tabelle 14: Pharmakokinetische Parameter der hepatischen Einflussmodelle..... 80

Tabelle 15: Simulierte erhöhte und erniedrigte renale Funktion mit pharmakokinetischen Ergebnissen und Exkretionsfraktionen 84

Tabelle 16: Pharmakokinetische Simulationsergebnisse für gesamtes und ungebundenes Etoposid je nach simulierter freier Fraktion (f_u) 86

Tabelle 17: Berechnete Körperlängen und Gewichte zu einer angenommen Körperoberfläche von $0,57 \text{ m}^2$ unter Anwendung der Formel nach Mosteller..... 88

Tabelle 18: SSP, VI-A und VI-B mit berechneten pharmakokinetischen Werten 89

Tabelle 19: Werte der entsprechenden Plasmaspiegelverläufe aus Abbildung 35 93

Tabelle 20: Werte der entsprechenden Plasmaspiegelverläufe aus Abbildung 38 96

Tabelle 21: Vergleiche der gemessenen und beobachteten Werte..... 97

Tabelle 22: Perzentilen der Simulationsergebnisse für adipöse (> 95. BMI-Perzentile) und kachektische Patienten (<5. BMI-Perzentile), zum Vergleich die Messwerte der NB-97-Kohorte 98

Tabelle 23: Vergleiche der gemessenen und beobachteten Werte für ungebundenes Etoposid 100

Tabelle 24: Perzentilen der maximalen simulierten Etoposidkonzentrationen in mg/L 102

Tabelle 25: Werte der Perzentilen, zum einen der simulierten Spiegel nach 4,2mg/kg und reduzierter 3,3 mg/kg Dosierung, zum anderen der Messwerte der eingeschlossenen Patienten 105

Tabelle 26: Perzentilen der Simulationsergebnisse bei reduzierter Nierenfunktion (25%), je n=100 107

1 Einleitung

Der Forschungsstand in der pädiatrischen Onkologie und Hämatologie hat in den letzten Jahrzehnten enorme Fortschritte gemacht, gerade was die Aspekte Therapiesicherheit und Effektivität betrifft. Das immer weiter anwachsende Wissen über die Entwicklung von altersabhängigen Stoffwechselprozessen und anderen physiologischen Unterschieden von der Konzeption über die Entbindung bis zur Adoleszenz sowie die Einbeziehung pharmakokinetischer und pharmakodynamischer Erkenntnisse konnte die Therapiequalität zunehmend weiter steigern.

Dennoch mangelt es bis heute in vielen Fällen an speziellen Dosierungsempfehlungen für Kinder. Die in klinischen Studien an Erwachsenen gewonnenen pharmakokinetischen und pharmakodynamischen Daten können aufgrund der großen Unterschiede zum kindlichen Organismus nicht direkt auf das pädiatrische Kollektiv übertragen werden. Kinderspezifische pharmakokinetische Studien sind nach Ansicht vieler Autoren zur Verbesserung der pädiatrischen Pharmakotherapie notwendig (siehe Review: Groninger 2004⁴⁴). Dies gestaltet sich aber als schwierig, da nicht einwilligungsfähige Individuen die Studiengrundlage darstellen. Auch wurden spezielle pädiatrische Studien aufgrund fehlenden finanziellen Interesses seitens der Pharmaindustrie lange Zeit kaum durchgeführt.

Die EMA (European Medicines Agency) setzte daher eine Richtlinie in Kraft, nach der zu jeder Zulassung eines neuen Arzneimittels ein pädiatrisches Prüfkonzept (paediatric investigation plan, PIP) vorzulegen ist. In den PIPs muss das geplante Entwicklungsprogramm für eine Anwendung an Kindern beschrieben werden. Seitdem wird von der Pharmaindustrie immer mehr auf verschiedene Simulationsprogramme zurückgegriffen, um von den an Erwachsenen über die Arznei gewonnenen Erkenntnissen auf die kindliche Pharmakokinetik zu schließen. In diesem Feld hat sich zuletzt mehr und mehr die physiologiebasierte Pharmakokinetik als wichtiges Werkzeug etabliert.

In dieser Arbeit soll mit Hilfe dieses neuen Ansatzes, der physiologiebasierten Pharmakokinetik, ein kindliches Kollektiv untersucht werden. Verwendet wird dabei PK-Sim[®] der Firma *Bayer Technology Services*. Mit Daten aus der “kooperativen multizentrischen Therapieoptimierungsstudie für die Behandlung von Säuglingen, Kindern und Jugendlichen mit Neuroblastom“¹² werden verschiedene Einflussfaktoren der Etoposidpharmakokinetik untersucht. Dabei wird ein bereits validiertes Modell genutzt und an die Kohorte adaptiert.

In den folgenden Abschnitten wird auf das Neuroblastom und auf seine Therapie gemäß dem Neuroblastom-Studienprotokoll eingegangen. Pharmakokinetik und –dynamik von Etoposid sowie seine Dosierungsproblematik werden erläutert. Es folgt eine Zusammenfassung der kindlichen Entwicklungsphysiologie speziell im Hinblick auf die Pharmakokinetik sowie die daraus resultierenden Grundlagen der medikamentösen Therapie im Kindesalter.

Außerdem werden die physiologiebasierte Pharmakokinetik (PBPK) sowie das hier verwendete Simulationsprogramm PK-Sim[®] erläutert. Das bestehende Modell von G. Kersting⁷⁰ wird beschrieben und die nötigen Anpassungen an das hier untersuchte Patientenkollektiv werden genau dargelegt.

1.1 Das Neuroblastom

Beim Neuroblastom handelt es sich um den häufigsten extrakraniellen soliden Tumor im Kindesalter. Er manifestiert sich primär in den paravertebralen Ganglien von Hals und Thorax sowie in den prä- und paravertebralen Ganglien des Abdomens. Es kann zu lokaler Ausbreitung, Metastasierung sowie spontaner Remission kommen. Lymphogene und hämatogene Metastasen siedeln bevorzugt in benachbarten Lymphknoten, Leber, Knochen, Knochenmark und Meningen.

1.1.1 Epidemiologie

8,5% aller malignen Erkrankungen im Kindesalter (<15 Jahre) sind Neuroblastome. Ein Drittel der Patienten ist bis zur Vollendung des ersten Lebensjahres erkrankt, bis zum sechsten Lebensjahr sind es 90%. Die Inzidenz beträgt etwa 11/1.000.000 Kinder ⁷⁴, Abbildung 1 stellt diese je nach Altersgruppe als Histogramm dar. Es besteht ein Geschlechterverhältnis von 1,1:1 (Jungen zu Mädchen) ⁷².

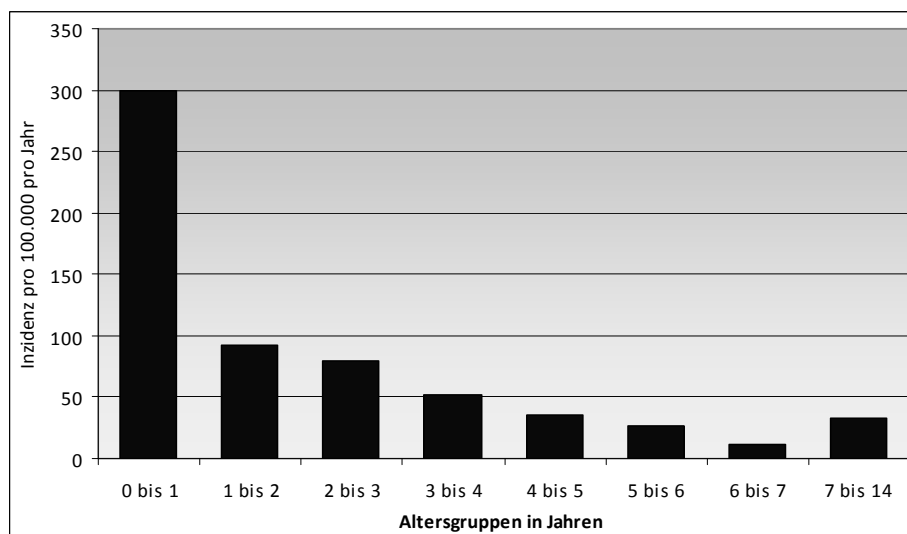


Abbildung 1: Histogramm der Neuerkrankungen pro 100.000 Kindern und Jahr je nach Altersgruppe, Daten aus dem Kinderkrebsregister Mainz, 2003-2007 ⁷²

1.1.2 Stadieneinteilung

Die Stadieneinteilung erfolgt nach dem International Neuroblastoma Staging System (INSS) in vier Stadien (siehe Tabelle 1). In den ersten drei Stadien bleibt der Tumor

lokalisiert, in Stadium 4 kommt es zu Metastasierung in Knochenmark, nichtregionale Lymphknoten oder andere Organe. Säuglinge im Stadium 1 oder 2 mit Metastasen in Haut, Leber oder Knochenmark, jedoch eindeutig ohne Skelettmetastasen werden gesondert in das Stadium 4-S eingeteilt. Mehr als 50% der Neuroblastome sind bei Diagnose bereits metastasiert ⁷⁴.

Stadium	Ausbreitung
1	Lokalisierter Tumor mit makroskopisch kompletter Entfernung, kein mikroskopischer Lymphknotenbefall über Tumorgrenzen hinaus
2A	Lokalisierter Tumor mit makroskopisch kompletter Entfernung, kein mikroskopischer Lymphknotenbefall über Tumorgrenzen hinaus
2B	Lokalisierter Tumor mit/ohne makroskopisch kompletter Entfernung, Befall benachbarter ipsilateraler Lymphknoten, kontralateral kein Lymphknotenbefall
3	Unilateraler Tumor mit Befall der Lymphknoten der Gegenseite oder nichtresektabler unilateraler Tumor mit Überschreiten der Mittellinie mit/ohne Lymphknotenbefall
4	Tumor mit Fernmetastasen in Haut, Knochen, Leber, Knochenmark oder entfernten Lymphknoten
4S	Lokalisierter Primärtumor (Stadium 1-2B) bei Säuglingen mit Dissemination in Haut/Leber/Knochenmark ohne Knochenmetastasen

Tabelle 1: Stadieneinteilung des Neuroblastoms entsprechend dem „International Neuroblastoma Staging System“ (INSS) ¹⁷

1.1.3 Klinik

Unterschiedliche Lokalisationen des Primärtumors und seiner Metastasen bedingen ein heterogenes Krankheitsbild. Abdominaltumoren präsentieren sich häufig als bereits große Vorwölbungen, da eine lokale Tumorausdehnung oft erst spät zu Komplikationen wie z.B. Harnabflussstörungen führt. Zervikal oder thorakal im hinteren Mediastinum gelegene Tumoren fallen durch Schwellung, Horner-Syndrom, Luftnot oder als radiologischer Zufallsbefund auf. Es kann zur Invasion der foramina intervertebralia mit Expansion in den Spinalkanal (Sanduhrtumoren) mit daraus resultierenden Parästhesien, Blasen- und Mastdarmstörungen sowie konsekutiver Lähmung kommen ¹¹¹. Kopfschmerzen können auf einen intrakraniellen Befall hindeuten. Retrobulbäre Metastasen führen zu Protrusio bulbi und periorbitalen Einblutungen. Säuglinge im Stadium 4S fallen meist durch eine Hepatomegalie infolge der Lebermetastasen auf.

Besonders in den niedrigen Stadien können sich paraneoplastisch opsomyoklonische Syndrome mit Myoklonien, schnellen Augenbewegungen und zerebellärer Ataxie entwickeln. Obwohl das Neuroblastom Katecholamine produziert, kommt es nur selten zu Hypertonie oder chronischer Diarrhö. Je nach Schwere der Erkrankung und Grad der Metastasierung zeigen sich erhebliche Skelettschmerzen und allgemeine Symptome wie Fieber, Blässe, Inappetenz und Schwäche ⁷⁴.

1.1.4 Diagnostik

Eine Früherkennung wäre aufgrund des erhöhten Katecholamingehalts im Urin (Vanillinmandelsäure, Homovanillinsäure) bei etwa 90-95% der Patienten möglich. Eine Studie zum Einsatz des Neuroblastomscreenings im Alter von einem Jahr konnte in Deutschland keinerlei Senkung der Mortalität durch das Screening belegen. Bei den entdeckten Fällen handelte es sich um Patienten, die nicht von einer früheren Diagnose und Therapie profitierten ¹⁰⁹. Eine ähnliche prospektive Studie zur Screeningdiagnostik in Kanada zeigte zwar eine Zunahme der Inzidenz niedriger Stadien, die Inzidenz der metastasierten Stadien konnte durch die Früherkennung jedoch nicht gesenkt werden (siehe Kommentar: Woods 2003 ¹²⁶).

Serologisch treten veränderte Laborparameter auf, der LDH-Spiegel kann ansteigen, NSE-, Ferritin-, sowie Hämoglobin- und Thrombozytenspiegel können sinken ⁷⁴. Die Diagnose ist klinisch durch Symptomatik, Labor und Bildgebung möglich, zur weiteren Therapieplanung ist hingegen die histologische Tumordiagnostik mit N-Myc-Quantifizierung und Bestimmung weiterer Anomalien entscheidend. Das Staging erfolgt durch Computer- oder Magnetresonanztomographie, teils durch ¹²³MIBG-SPECT unterstützt. Weiterhin sind zwei bis vier Knochenmarksbiopsien an unterschiedlichen Stellen erforderlich. Bei Verdacht auf eine Skelettbeteiligung wird zusätzlich eine Technetium-Szintigraphie angeschlossen ⁷⁴.

1.1.5 Therapie und Prognose

Die Therapie erfolgt stadienadaptiert. Bei Säuglingen und Kindern im Stadium 1 oder 2 ohne N-Myc-Amplifikation kann eine alleinige chirurgische Entfernung zur Heilung

führen. Oft differenziert der Tumor selbstständig und verliert demzufolge seine Malignität. Im Stadium 3 und 4 wird primär chemotherapeutisch behandelt, um eine präoperative Tumorregression zu erreichen. Die Sonderform des Stadiums 4S bildet sich regelhaft spontan zurück, weshalb die Prognose hier mit über 80% 5-Jahres-Überlebens-Rate (5-JÜR) auch ohne Therapie besonders gut ist ¹¹¹. Auch Säuglinge im Stadium 3 und 4 haben eine ähnlich günstige Prognose, da die Neuroblastome hier noch häufiger zu Ganglioneuromen ausreifen. Bei älteren Kindern sind Neuroblastome dieser Stadien oft therapieresistent. Die bei etwa einem fünftel der Patienten vorliegende N-Myc-Amplifikation trägt hierzu bei und erklärt die mit 20% sehr ungünstige Überlebensrate von Patienten im Stadium 4 mit N-Myc-Amplifikation ¹¹¹.

Alter	Stadium	Anteil der Neuroblastome (%)	5-JÜR (%)
< 1 Jahr	1-3	56	94 ± 2
	4	15	64 ± 6
	4S	29	86 ± 3
> 1 Jahr	1-3	50	87 ± 2
	4	50	39 ± 3

Tabelle 2: Überleben von Neuroblastompatienten in Abhängigkeit von Alter und Stadium. Ergebnisse der Therapiestudien NB90 und NB97 der Gesellschaft für Pädiatrische Onkologie und Hämatologie (GPOH) für 488 Kinder < 1 Jahr und 889 Kinder > 1 Jahr. Angegeben ist die 5-Jahres-Überlebensrate (5-JÜR) mit Standardabweichung ^{13, 93}

Bei Kindern aller Altersgruppen (Stadium 1-3) liegt die Wahrscheinlichkeit des ereignisfreien Überlebens über 5 Jahre ohne N-Myc-Amplifikation in den Tumorzellen bei 84%. Bei Kindern mit N-Myc-Amplifikation halbiert sich diese auf 42% ^{13, 93}.

1.2 Das Neuroblastom-Studienprotokoll NB 97

Die "kooperative multizentrische Therapieoptimierungsstudie für die Behandlung von Säuglingen, Kindern und Jugendlichen mit Neuroblastom" ¹² wurde 1997 von der Gesellschaft für Pädiatrische Hämatologie und Onkologie gestartet. Erstmals wurde ein optionales Drugmonitoring eingeführt. Den stark gestiegenen therapiebedingten Nebenwirkungen, insbesondere Knochenmarksdepression, Neutropenie und Sepsis, wurde mit Dosisreduktion begegnet. Durch Therapieanpassungen erwartete man nicht nur eine verbesserte Verträglichkeit, sondern auch eine Verkürzung der Therapiedauer durch geringere zeitliche Abstände der Blöcke ¹².

Das NB97-Protokoll sieht eine adaptierte Therapie abhängig vom individuellen Risiko vor, welches sich aus N-Myc-Amplifikation, Alter, Stadium, Symptomatik und Tumolvolumen ergibt. Die Einteilung der Patienten erfolgt in Standardrisiko-, Hochrisiko- und Beobachtungsgruppen (siehe Abbildung 2).

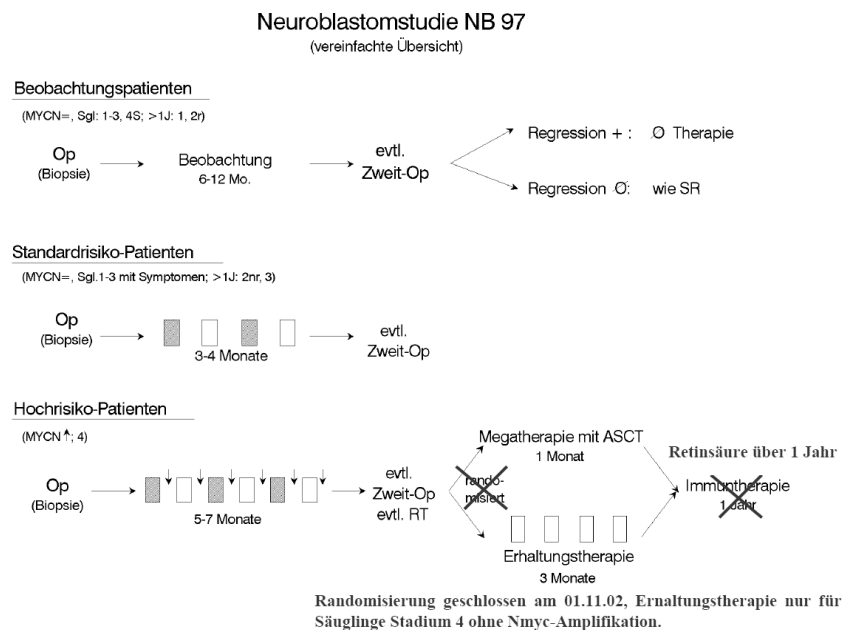


Abbildung 2: Gesamtübersicht des Therapieplans aus dem NB97-Studienprotokoll in der Fassung vom 1.12.2002 ¹²

1.2.1 Beobachtungspatienten

In der Beobachtungsgruppe (siehe Abbildung 3) wird die Tumorprogression nur abwartend verfolgt. Je nach N-Myc-Amplifikation wird behandelt, bei Eintreten einer bedrohlichen Symptomatik oder nach unvollständiger Regression nach sechs bis zwölf Monaten. Falls eine von klinischer Symptomatik begleitete Progression auftritt, werden die Säuglinge und Kinder wie Standardrisikopatienten mit vier Blöcken Chemotherapie behandelt (2x N5 und N6; Dosierung auf kg-Basis bis 1 Jahr; < 6 Monate: N4 Blöcke).

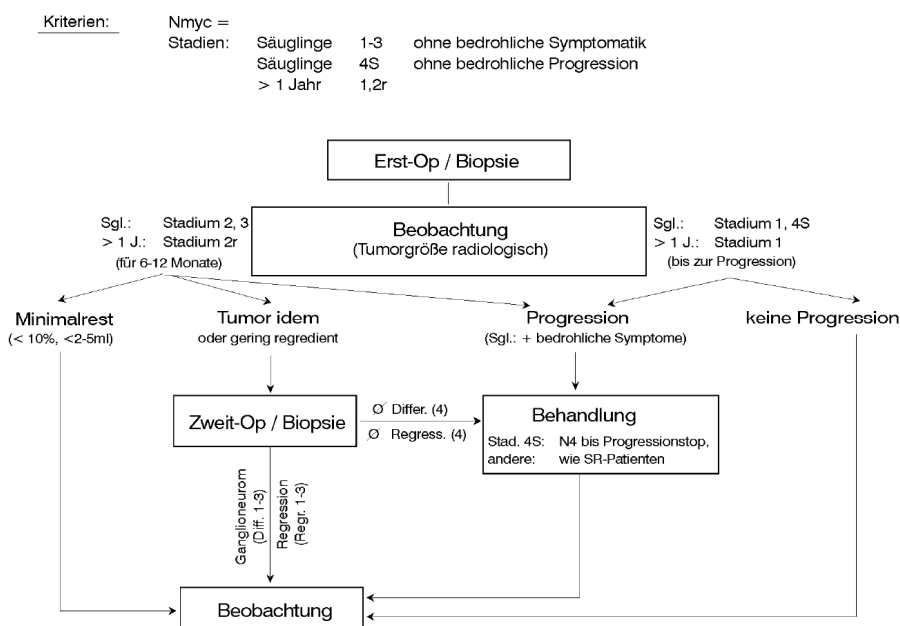


Abbildung 3: Beobachtungspatienten, aus dem NB97-Studienprotokoll in der Fassung vom 1.12.2002 ¹²

1.2.2 Standardrisikopatienten

In die Standardrisikogruppe werden Säuglinge der Stadien 2, 2nr (nicht weitgehend resektabel; > 10% Tumorrest) und 3 mit bedrohlicher Symptomatik und Patienten der Beobachtungsgruppe mit Progression eingeteilt, wobei jeweils keine N-Myc-Amplifikation vorliegen darf (siehe Abbildung 4).

Standardrisikopatienten werden nach Biopsie innerhalb von 12 Wochen mit je 2 N5- und N6-Blöcken therapiert. Die Etoposiddosis wird von ehemals 125 mg/m²/d im N1-Block des NB90-Protokolls auf 100 mg/m²/d im neuen N5-Block reduziert. Bei weiterhin

systemische Therapie besteht aus je drei N5- und N6-Blöcken (siehe Abbildung 5) im Abstand von 21 bis 25 Tagen, lokaler Bestrahlung des Primärtumors, der Gabe von 5 µg/kg KG G-CSF am achten Tag des N5-Block und am neunten Tag des N6-Blocks und einer Konsolidierung durch Megatherapie samt Stammzelltransplantation mit anschließender Retinsäurekonsolidierung.

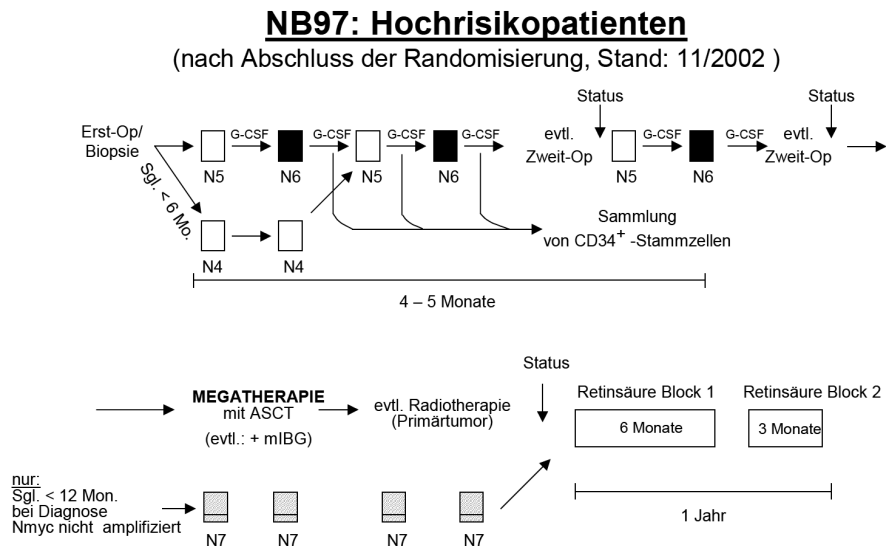


Abbildung 5: Hochrisikopatienten, aus dem NB97-Studienprotokoll in der Fassung vom 1.12.2002 12

1.3 Polychemotherapie des N5-Block

Auf den Etoposid enthaltenen N5-Block wird hier genauer eingegangen. Behandelt werden Patienten der Standard- und Hochrisikogruppen jenseits des sechsten Lebensmonats bei gutem Allgemeinzustand ohne derzeitige Infektionen oder Toxizitäten (Leukozyten > 2,0/nL, Ototoxizität audiometrisch nicht > Grad 2 (FAEP), Nephrotoxizität nicht > Grad 1).

Die Patienten erhalten je zwei respektive drei Zyklen dieses Blockes mit oder ohne zwischenzeitliche G-CSF-Stimulation (siehe Abbildung 6). Am Tag 1 werden 3 mg/m² (Säuglinge 0,1 mg/kg) Vindesin als einstündige Infusion gegeben. Im Verlauf der nächsten vier Tage werden parallel Etoposid (100 mg/m²/d) und Cisplatin (40 mg/m²/d) als 96-stündige Dauerinfusion verabreicht. Bei Säuglingen werden die Dosen auf der Basis von 125mg/m² nach Körpergewicht berechnet (4,2 mg/kg pro Tag Etoposid, 1,3 mg/kg pro Tag Cisplatin). Als Parallelinfusion erhalten die Kinder zusätzlich 3000 ml/m² Elektrolyte pro Tag (Säuglinge 100 ml/kg pro Tag) sowie 1g/kg Mannit pro Tag.

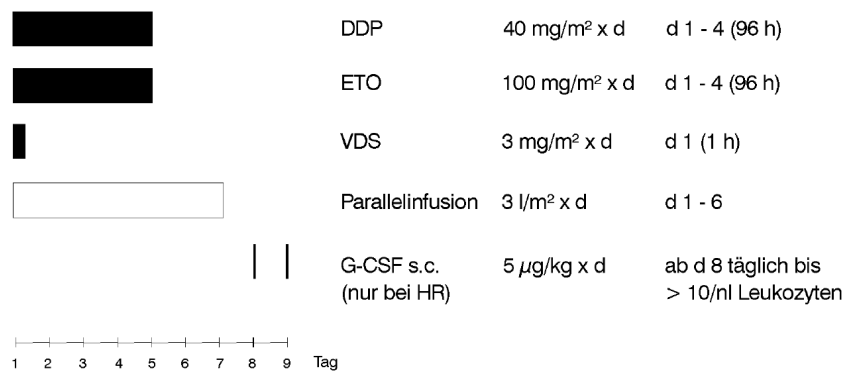


Abbildung 6: Schematische Darstellung des Therapieverlaufes des N5-Blockes (DDP: Cisplatin, ETO: Etoposid, VDS: Vindesin; G-CSF: Granulocyte-Colony-Stimulating-Factor; HR: Hochrisikogruppe)¹²

Bei ungenügendem Leukozytennadir kann die Etoposiddosis zum nächsten N5-Block um 20% erhöht werden. Unter einem ungenügenden Leukozytennadir versteht man dabei Leukozytenwerte von mehr als 2,5 /nl, auch bei mehr als 50 Thrombozyten /nl gilt das Kriterium als erfüllt. Beim Auftreten von Knochenmarksdepressionen

(Leukopenie Grad 4 oder Leukopenie > 7 Tage oder fieberhafte Infektion bei < 1,0 /nl Granulozyten, > 2x Grad oder > 1x Grad 3 oder 4) wird die Dosis vergleichend um 20% reduziert ¹².

1.3.1 Etoposid

Etoposid, ein Podophyllotoxinderivat, ist ein stark genutztes Zytostatikum im klinischen Gebrauch. Es interagiert mit der Topoisomerase II und der DNS über die Colchicinbindungsstelle des Tubulins und stabilisiert sie. Dies führt zu späteren DNS-Strangbrüchen in der G2 und S-Phase und verhindert folglich den Eintritt in die Mitose ⁹². Ein weiterer Faktor scheint die Bildung freier Radikale zu sein, die in gut oxigenierten Zellen erhöht ist ¹²¹.

1.3.1.1 Pharmakokinetik

Nach intravenöser Gabe kann der Verlauf des Etoposidplasmaspiegels gut durch ein biexponentielles pharmakokinetisches Modell beschrieben werden. Für die terminale Plasmahalbwertszeit Erwachsener fanden Arbuck et al. Werte um $8,1 \pm 2,8$ h, die Clearance lag bei $21,4 \pm 7,4$ mL/min/m² und das Verteilungsvolumen im Steady-State lag zwischen $6,6$ L/m² und $14,8$ L/m². Die Etoposidclearance korrelierte am stärksten mit der Kreatininclearance ($r^2=0,408$) ⁶. Bei Kindern fanden Eksborg et al. terminale Halbwertszeiten von 2 - 7,8 h ³⁸. Weitere pharmakokinetische Parameter sind in Tabelle 3 dargestellt.

	Erwachsene			Kinder		
	CL (ml/min/m ²)	V _{ss} (L/m ²)	t _½ (h)	CL (ml/min/m ²)	V _{ss} (L/m ²)	t _½ (h)
Gröninger 04 ⁴⁴				19,5 – 25,9		4,8 – 7,2
Arbuck 86 ⁶	21,9 ± 8,2	8,3 ± 3,2	12,1 ± 8,2			
Sinkule 84 ¹¹⁵	27,1 ± 12,5	10,6 ± 3,2	6,6 ± 3,6	23,9 ± 4,1	7,8 ± 1,8	5,9 ± 1,4
D’Incalci 82 ²⁸	26,8 ± 2,4	7,05 ± 0,67	15,7 ± 1,8	39,34 ± 6,6	3,37 ± 0,5	9,97 ± 3,7
Evans 82 ⁴⁰				17,8 ± 11,2	4,8 ± 2,8	5,8 ± 3,2

Tabelle 3: Vergleich pharmakokinetischer Parameter aus verschiedenen Studien für Kinder und Erwachsene, Mittelwert und Standardabweichung wenn vorhanden, sonst ist der Bereich angegeben

Etoposid weist eine Plasmabindung von 76-96% auf ⁹², bei Kindern findet sich eine noch stärkere Plasmabindung ⁷⁹.

Insgesamt unterliegt die Pharmakokinetik intraindividuellen sowie großen interindividuellen Schwankungen. So verzeichneten Millward et al. intra- und interindividuelle Schwankungen bei Brustkrebspatientinnen von 20% und 45% ⁸⁸. Die interindividuelle Variabilität für die AUC bei Kindern lag in einer Untersuchung von Eksborg et al. bei 23% (AUC normalisiert auf mg/m²) und 32% (AUC normalisiert auf mg/kg) ³⁸. Boos et al. dokumentierten intraindividuelle Variabilitäten von 10,8% und interindividuelle Variabilitäten von 22% bei Neuroblastompatienten der Neuroblastomstudie NB 90, die damit niedriger lagen als allgemein in der Literatur beschrieben ¹⁴. Die Tabelle 4 zeigt die interindividuellen Schwankungen verschiedener pharmakokinetischer Parameter unter 100 erwachsenen Tumorpatienten in einer Untersuchung von Nguyen et al. ⁹², inwieweit diese normalverteilt sind lies sich der Veröffentlichung nicht entnehmen.

	CL (mL/min)	Vd _{cent} (L)	Vd _{peri} (L)	K _a (h ⁻¹)	Lag time (min)	F (%)
Gesamtes Etoposid	32%	35%	70%	11%	93%	37%
Ungebundenes Etoposid	36%	29%	87%	86%	175%	92%

Tabelle 4: Variationskoeffizienten für die jeweilige IIV (interindividuelle Variabilität) bei Erwachsenen anhand von 100 Patienten mit 1044 gemessenen Etoposidkonzentrationen, berechnet mithilfe eines populationskinetischen Ansatzes; CL Clearance, Vd_{cent}/Vd_{peri} zentrales/peripheres Verteilungsvolumen, K_a Absorptionsrate, lag time of absorption, F orale Bioverfügbarkeit ⁹²

Nach einer intravenösen Injektion von Etoposid lassen sich etwa 30-50% der Dosis im Urin nachweisen. Es sind aber auch davon abweichende Angaben zu finden. Radioaktiv markiertes Etoposid und seine Metabolite werden zu 46% fäkal und 54% renal ausgeschieden ^{28, 61, 115}.

Hepatisch wird Etoposid hauptsächlich über CYP3A4 abgebaut ^{29, 133}, CYP1A2 und CYP2E1 sind nur für etwa 10% der Etoposidmetabolisierung zuständig ⁶⁸. Durch Enzyminduktion unter Cortison kommt es demzufolge zu höheren systemischen

Clearanceraten (siehe Review: Groninger 2004 ⁴⁴). Unter cytochromhemmender Medikation (z.B. Cyclosporin) resultiert eine verlangsamte Metabolisierung, was zu einer Dosisreduktion führen sollte. Nach Vorbehandlung mit Platinverbindungen ist eine verminderte renale Elimination aufgrund der Nephrotoxizität dieser Substanzen möglich. Da CYP3A4 bei Kleinkindern eine erhöhte Aktivität aufweist ist die hepatische Metabolisierung gesteigert ⁵. Bei Patienten mit Ikterus oder Hyperbilirubinämie konnte keine Veränderung von totaler Clearance, Halbwertszeit und Verteilungsvolumen gefunden werden ^{6, 29, 51}. Hypalbuminämien führen zu stärkeren toxischen Effekten, da der freie Etoposidanteil im Blut erhöht ist ⁶.

Renal wird Etoposid glomerulär filtriert sowie tubulär sezerniert. Guo et al. stellten anhand einer *in vitro* Studie fest, dass Etoposid via P-gp (P-Glykoprotein) und cMOAT (canalicular multispecific organic anion transporter) renal konzentrationsabhängig ausgeschieden wird. Auch konnte gezeigt werden, dass Etoposid via P-gp in die Gallengänge sezerniert und somit biliär ausgeschieden wird ⁴⁵.

1.3.1.2 Pharmakodynamik

Etoposid wird aufgrund seiner synergistischen Effekte mit Platinverbindungen in vielen Kombinations-Zytostatikatherapien eingesetzt. Die bedeutendste unerwünschte Arzneimittelwirkung ist eine ausgeprägte Knochenmarksdepression. Als kutane Symptome lassen sich Haarausfall, allergische Hypersensitivitätsreaktionen sowie ein Hand-Fuß-Syndrom mit schmerzhaftem Palmarerythem, Blasenbildung und Desquamation benennen. Weiterhin können Übelkeit, Erbrechen, Mukositis, Durchfall und akuter Blutdruckabfall bei zu schneller Infusion auftreten. Im Dauertherapiearm der NB-90-Studie wurde ein erhöhtes Myelodysplasie- und Leukämierisiko nachgewiesen ¹². Andere Studien zeigten bei 10% der Patienten eine therapieinduzierte akute myeloische Leukämie ⁶⁴.

Die Tumoraktivität ist dosis- und therapieschemaabhängig, Dauerinfusionen sind Kurzinfusionen überlegen ^{62, 116}. Die Gesamtdosis (gemessen als AUC) korreliert deutlich mit der Toxizität ⁸⁷. Mehrere Studien konnten außerdem eine veränderte

Pharmakokinetik bei Patienten mit Organminderleistungen der Leber oder der Nieren aufzeigen^{6, 29, 61}.

Patienten mit erhöhtem Serumkreatinin weisen eine reduzierte Clearance für gesamtes und freies Etoposid auf, was auch mit höherer Toxizität korreliert (gemessen am Leukozytennadir). Dabei korrelierte der Leukozytennadir besser mit der AUC des freien Etoposids. Bei Patienten mit Albuminwerten unter 35 g/L wurde keine Veränderung der totalen Clearance festgestellt. Jedoch war die Clearance des ungebundenen Etoposids vermindert, was zu höheren freien Etoposidfraktionen und Toxizitäten führte⁶¹.

Die Etoposidclearance ist für Bilirubinspiegeln unter wie über 1 mg/dL nicht verändert. Allerdings konnten bei erhöhten Bilirubinwerten höhere freie Fraktionen gemessen werden, die mit verstärkten Effekten einhergingen¹¹⁹. Es konnte außerdem ein Zusammenhang zwischen Überlebensfraktion der Leukozyten und Steady-State-Spiegeln gezeigt werden ($r = -0,89$)¹⁰. Durch ein Monitoring des Leukozytennadirs und der Etoposidspiegel und Anpassung der Dosis in späteren Zyklen können signifikant höhere Gesamtdosen bei gleicher Toxizität erreicht werden¹⁰¹. Ebenfalls korreliert die Dauer der Etoposidplasmaspiegel über 1 mg/L gut mit der Entwicklung einer Neutropenie ($r^2 = 0,77$)⁸⁸. Zuletzt finden sich bei erhöhten Bilirubin- und erniedrigten Albuminspiegeln größere Effekte einer festen Etoposiddosis⁶⁶.

Daher wurde eine allgemeine Empfehlung zur Dosisreduktion bei Niereninsuffizienz gegeben²⁹. Eine Dosisreduktion bei Leberfunktionsstörungen wurde als nicht zwingend erforderlich betrachtet^{6, 29}.

Bei Erwachsenen mit kleinzelligem Lungenkarzinom konnte eine Beziehung zwischen der Zeit über einem Mindestplasmaspiegeln und der Toxizität bzw. dem Tumorsprechen gezeigt werden²⁵. Für Kinder konnte ein Zusammenhang zwischen Zeit über einem Plasmaspiegel von $> 1 \mu\text{g/ml}$ und Neutropenie belegt werden (siehe Review: Groninger 2004⁴⁴).

1.3.1.3 Dosierungsproblematik von Etoposid

Etoposid weist eine relativ geringe intraindividuelle Variabilität auf, die interindividuelle Variabilität ist aber wie in Kapitel 1.3 beschrieben größer. Mit Verteilungskoeffizienten von Clearance und Verteilungsvolumen im Mittel von mehr als 30% und einem VK der AUC von ca. 45% ist das Einhalten von Zielspiegeln nicht einfach^{88, 92}. Mehrere Autoren diskutierten daher bereits den Bedarf eines therapeutischen Drugmonitoring¹⁰¹.

Etoposid wird allgemein anhand der Körperoberfläche (KOF) dosiert. In der Praxis sind dabei Dosierungen zwischen 50 mg/m² KOF und 1750 mg/m² KOF gebräuchlich. Bei Säuglingen greift man in der klinischen Praxis oft zu einer Dosierung nach Körpergewicht (KG). Es besteht allerdings keine klare Korrelation zwischen der Etoposidclearance und einem Parameter, der zur Dosisberechnung herangezogen wird. So konnten Ratain et al. keine Korrelation zwischen Etoposidclearance und Dosis bei der Dosierung nach Körperoberfläche nachweisen und stellten somit eine einheitliche Etoposiddosis ohne Berücksichtigung der Körperoberfläche bei Erwachsenen zur Diskussion, falls kein Drugmonitoring erfolgen könne¹⁰¹. Bennett et al. gelangen in einer Phase-I-Studie nur der Nachweis einer signifikanten Abhängigkeit der Plasmaclearance vom Alter¹⁰.

Mehrere Studien zur Pharmakokinetik und Pharmakodynamik von Etoposid dokumentierten Korrelationen zwischen pharmakokinetischen Parametern wie Steady-State-Plasmakonzentration (C_{ss}) oder AUC und pharmakodynamischen Größen wie Response und Toxizität^{25, 61, 66, 88}. Um innerhalb von Studienregimen ermittelte und untersuchte Serumkonzentrationen bei jedem Patienten zu erreichen bedarf es einer entsprechend genauen Methode der Dosisfindung. Eine Pharmakotherapie bleibt aufgrund der großen interindividuellen Varianz ungenau, die bis jetzt durch kein logisch begründetes Dosierungsregime oder Surrogatparameter verkleinert werden konnte.

1.3.2 Cisplatin

Bei Cisplatin handelt es sich um ein instabiles Molekül mit einem zentralen Platin-Atom, welches durch zwei Chloridionen sowie zwei Aminfunktionen komplexiert wird. Nur 10% werden proteingebunden transportiert, die ungebundene Fraktion ist zytotoxisch. Über organische Kationentransporter (*human organic cation transporter 2*, *hOCT2*) reichert es sich besonders im Nierengewebe an, woraus sich die dosislimitierende Nephrotoxizität erklärt ²³. Weiterhin wird es verstärkt in Leber und Darm aufgenommen. Neurotoxizität tritt ebenfalls auf. Die instabile Verbindung reagiert sowohl mit niedermolekularen Substanzen wie Gluthation, Methionin oder Cystein als auch mit Albumin und Nukleotiden, wo sie zu Quervernetzungen der DNS-Stränge zwischen zwei Guaninbasen führt ⁴⁸. Es konnte gezeigt werden, dass das Ausmaß intrazellulärer Reaktionen mit Organellen stark mit der beobachteten Nephrotoxizität korreliert ⁴⁹. Dosislimitierend sind die kumulative renale Toxizität, Übelkeit und Erbrechen sowie Ototoxizität. Es kann zu anaphylaxie-ähnlichen Reaktionen kommen ⁸⁶. Der Hauptort der renalen Schädigung ist der proximale Tubulus. Die gefundenen histologischen Veränderungen reichten von fokalem Zilienverlust des proximalen Tubulus über Zellschwellungen bis hin zu Nekrosen und anschließender Regeneration mit dilatiertem Tubuluslumen. Dieses Muster der Zellschädigung ähnelt somit dem Muster experimenteller Modelle zur Untersuchung einer ischämisch induzierten tubulären Nekrose ⁹⁸.

Hamilton beschrieb 1989 einen Abfall der GFR von 132 ml/min auf 107 ml/min, also um im Mittel 19% während des BEP-Schemas (Bleomycin 3*30mg, Etoposid 120 mg/m²/d über drei Tage, Cisplatin 20 mg/m²/d über fünf Tage, drei Zyklen). Im späteren Follow-up sank die GFR sogar um 21% zum Ausgangswert ohne Anzeichen für Erholung ⁴⁷.

Benoehr konnte zeigen, dass bereits nach einmaliger Gabe von 50 mg/m² Cisplatin (zusammen mit Etoposid (500 mg/m²), Ifosfamid (4 g/m²) und Epirubicin (50 mg/m²)) die GFR nach fünf Tagen um im Schnitt 21% (11 - 31%) gefallen war ¹¹.

Meijer beschrieb weiterhin einen Abfall des renalen Plasmaflusses (RPF). Die Patienten erhielten 20 mg/m²/d Cisplatin über jeweils vier Stunden an fünf aufeinander folgenden Tagen. Es wurden je drei bis vier Zyklen durchgeführt. Nach der Induktionstherapie sowie sechs Wochen danach zeigten sich Veränderungen des renalen Plasmaflusses (als ¹³¹I-Hippuran gemessen) sowie der GFR (¹²⁵I-Iothalamat) von jeweils 23%. Da keine Mikroalbuminurie beobachtet wurde und die Filtrationsfraktion (FF) erhöht war, wurde eine vaskuläre Komponente als Ursache postuliert ⁸⁵.

Eine hierauf folgende Studie von Offermann et al. beschrieb einen Abfall des effektiven renalen Plasmaflusses (eRPF) während einer vierstündigen Cisplatininfusion von im Mittel 15,5% (n=10) nach bereits drei bis fünf Stunden. Dabei nahm die GFR initial nur um 1,7% ab (+8,8% bis -13%). Somit konnte gezeigt werden, dass es unter Cisplatintherapie zu einer akuten Erhöhung des vaskulären Widerstandes kommt ⁹⁴. Mehrere Studien fanden weitere Anhaltspunkte für eine vasomotorische Wirkung von Cisplatin. Vermehrt beobachtet wurden unter anderem koronare Verschlusskrankheit und das Raynaud-Phänomen ⁸⁵.

Kakahara konnte eine signifikante Abnahme der tubulären Sekretion (Paraaminohippurat-Clearance) bei 73% der kindlichen Patienten (n = 30) nach verschiedenen Polychemotherapieregimen feststellen. Diese Reduktion konnte nicht allein auf eine verminderte Nierendurchblutung zurückgeführt werden ⁶⁵.

Der effektive RPF, gemessen als PAH-Exkretion, lässt Rückschlüsse auf die tubuläre Sekretion zu. Für PAH (Paraaminohippurat) konnte eindeutig gezeigt werden, dass MRP2 an seiner Exkretion zu großen Teilen beteiligt ist ⁷⁷.

1.3.3 Vindesin

Vindesin, welches an Tag 1 jedes N5-Blockes verabreicht wurde, sowie Vincristin, Teil jedes N6-Blockes, gehören zur Familie der Vinca-Alkaloide. Diese Mitosespindelgifte wirken über die Bindung an Tubulin und zerstören dieses, wodurch die Zelle in der Metaphase der Mitose verbleibt und eine Teilung unterbrochen wird. Nebenwirkungen

umfassen zu allererst Neurotoxizität und gastrointestinale Beschwerden, weiterhin kann es zu Leberfunktionsstörungen und Erhöhungen von Leberenzymen kommen. Vindesin und Vincristin erreichen die höchsten Konzentrationen in Leber, Gallenblase und Milz; Fettgewebe oder ZNS werden nur unzureichend penetriert. Die Metabolisation findet hauptsächlich über CYP3A4 statt, ohne dass es zu Enzyminduktion oder Enzymhemmung kommt. Unter Koadministration von CYP3A4-Hemmern muss verstärkt auf Nebenwirkungen der Vincaalkaloide geachtet werden. Beide werden hauptsächlich über die Leber in die Galle ausgeschieden. Nur etwa ein Zwölftel der Elimination findet renal statt, 80% der Dosis kann im Fäzes wiedergefunden werden ⁸⁶.

1.4 Polychemotherapie des N6-Block

Der mit dem N5-Block abwechselnd verabreichte N6-Block enthält Vincristin, Doxorubicin (Adriamycin), Ifosfamid und Dacarbazin. Therapiert wurden ebenfalls Patienten jenseits des sechsten Lebensmonats in gutem Allgemeinzustand ohne Anzeichen für signifikante Infektionen oder Toxizitäten wie z.B. Leukopenie. Aufgrund der Ifosfamiddauerinfusion durfte die Kreatininclearance nicht dauerhaft erniedrigt sein (< 70 ml/min) und keine abnormen Natrium-, Kalium- oder Phosphatausscheidungen vorliegen. Bei ungenügendem Leukozytennadir konnte die Ifosfamiddosis im nachfolgenden N6-Block um 20% gesteigert werden, bei Knochenmarktoxizität wurde die Ifosfamiddosis im ersten Schritt um ein Drittel gesenkt, im zweiten Schritt wurde zusätzlich Dacarbazin ersatzlos gestrichen. Abbildung 7 zeigt die verabreichten Dosen, Infusionsdauern und Zeitpunkte der Gabe.

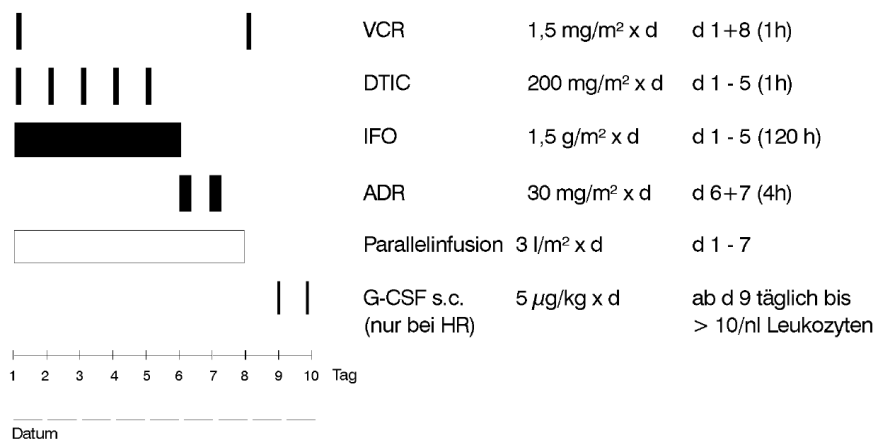


Abbildung 7: Schematische Darstellung des Therapieverlaufes des N6-Blockes (VCR: Vincristin; DTIC: Dacarbazin; IFO: Ifosfamid; ADR: Adriamycin/Doxorubicin; G-CSF: Granulocyte-Colony-Stimulating-Factor; HR: Hochrisikogruppe) ¹²

1.4.1 Dacarbazin

Dacarbazin ist ein strukturelles Analogon zu 5-Aminoimidazol-4-Carboxamid, einem Zwischenschritt der Purinsynthese. Als Mismatch-Nucleotid hemmt es die DNS-, RNS- und Proteinsynthese. Außerdem besitzt es gewisse Alkylantieneigenschaften und induziert Einzelstrangbrüche. Der genaue Wirkmechanismus konnte noch nicht geklärt

werden. Es zeigt keine nennenswerte Proteinbindung (0-5%) und wird hauptsächlich in der Leber metabolisiert und über die Galle sowie renal ausgeschieden. Neben Übelkeit und Erbrechen kann es zu Myelotoxizität und Leberschäden mit ALT/AST-Erhöhung kommen.

1.4.2 Ifosfamid

Ifosfamid, eine Stickstoff-Lost-Verbindung, gehört wie Cyclophosphamid zu den Alkylantien. Sein aktiver Metaboliten 4-Hydroxyifosfamid entsteht durch CYP3A-abhängige Oxidierung in der Leber. Es wirkt phasenunspezifisch über Alkylierung von DNS- und RNS-Molekülen und führen so zu einer starken Myelodepression. Im Blut wird es zu einem Fünftel an Albumin gebunden transportiert. Die in der Leber entstehenden aktiven und inaktiven Metabolite werden renal ausgeschieden und können zu Tubulusschäden sowie einer hämorrhagischen Zystitis führen. Eine parallele Infusion von Mesna kann die Metaboliten in der Blase neutralisieren, die renale Schädigung wird hierdurch jedoch nicht verhindert. Der tubuläre Schaden kann klinisch stumm bleiben, potentiell aber bis zum Fanconi-Syndrom reichen ⁸⁶.

Stöhr untersuchte 593 pädiatrische Sarkompatienten auf tubuläre Schädigung unter Ifosfamidtherapie. Dabei zeigten nur 0,4% der Patienten eine Tubulopathie bei Gesamtdosen unter 24 g/m², für Dosen zwischen 24 und 60 g/m² fand sich diese bei 6,5% der Patienten ¹²⁰.

1.4.3 Doxorubicin

Doxorubicin, auch Adriamycin genannt, interkaliert mit der DNS und blockiert so die Matrizenfunktion. Weiterhin wirkt es als Topoisomerase-II-Inhibitor. Außerdem entstehen freie Radikale sowie Mitochondrien- und Membranschäden, die zu Wirkung und Toxizität beitragen (nach Review: Speth 1988 ¹¹⁷). Es zeigt kardiotoxische Nebenwirkungen von Herzrhythmusstörungen bis hin zu irreversiblen Kardiomyopathien. Ca. 75% werden ungebunden transportiert. Doxorubicin wird in einen hydrophilen Hauptmetaboliten Doxorubinol sowie zwei schlecht wasserlösliche

Metaboliten umgewandelt. Daran sind vorrangig die Aldoketoreduktase sowie CYP2D6 beteiligt. Doxorubicin und seine Metaboliten werden primär über die Galle ausgeschieden. Etwa 5% werden renal eliminiert, es zeigt sich keine Nephrotoxizität. Doxorubicin kann die CYP2D6-Aktivität kompetitiv hemmen¹²⁰.

1.4.4 Vincristin

Siehe 1.3.3 (Vindesin)

1.5 Entwicklungsphysiologie im Kindesalter

Pharmakokinetik und -dynamik einer Substanz sind immer von individuellen Einflussgrößen abhängig. Eine dem Körper zugeführte Substanz muss zuerst absorbiert werden, entweder gastrointestinal, über Schleimhäute, die Haut oder nach intramuskulärer oder subkutaner Injektion. Nach der Absorption gelangt die Substanz ins Blut, per Diffusion oder aktiv, wodurch sie weiter transportiert und in verschiedene Gewebe verteilt wird, wieder passiv oder aktiv. In den entsprechenden Effektorzellen erzeugt es dann seine Wirkung, toxische Effekte und Nebenwirkungen entstehen auch in anderen Geweben. Der Stoff wird durch verschiedene Prozesse aus dem Körper ausgeschieden, insgesamt wird dies als Clearance bezeichnet, hier dominieren für die allermeisten Substanzen renale Exkretion, passiv und/oder aktiv, sowie hepatische Metabolisation und Exkretion. Bei jedem dieser Schritte haben neben Anderem Gewebezusammensetzung und Transporterausstattung großen Einfluss.

Im kindlichen Körper zeigen sich während ihrer Entwicklung aufgrund der physiologischen Reifungsprozesse große Veränderungen der Pharmakokinetik und Pharmakodynamik. Wesentliche Rollen spielen dabei die Entwicklung und Maturation der Organe mit begleitender Veränderung von Aufbau und Perfusion sowie die sich ändernde Organleistung und Enzymausstattung.

Entsprechend ist eine Pharmakotherapie im Kindesalter diffiziler als bei Erwachsenen (nach Review: Kearns et al. ⁶⁹), da je nach Alter des Kindes ein unterschiedliches pharmakokinetisches Verhalten einer Substanz vorliegen kann. Die physiologischen Veränderungen und damit einhergehenden Änderungen der kindlichen Pharmakokinetik werden im Folgenden genauer erläutert. Besonders in den ersten Lebenswochen und Lebensmonaten bestehen deutliche Unterschiede.

Nach ICH-Kriterien werden Kinder und Jugendliche in folgende Alterskategorien eingeteilt (siehe Tabelle 5) ⁵⁹.

ICH-Begriff	Deutsch	Alter
preterm newborn neonates	Frühgeborene	Gestationsalter < 36 SSW
term newborn infants	Neugeborene	0-27 Tage postpartal
infants and toddlers	Säuglinge/Kleinkinder	28 Tage bis 23 Monate
children	Kinder	2 bis 11 Jahre
adolescents	Jugendliche	12 bis 16-18 (je nach Region) Jahre
adults	Erwachsene	> 18 Jahre

Tabelle 5: Definition der Altersgruppen nach ICH, Clinical Investigation of Medicinal Products in the Pediatric Population, E11 ⁵⁹

1.5.1 Absorption

Jedes nicht intravenös applizierte Therapeutikum muss chemische, physikalische, mechanische sowie biologische Hürden überwinden, um absorbiert zu werden und in die Blutbahn zu gelangen. Entwicklungsabhängige Veränderungen des respiratorischen und gastrointestinalen Traktes sowie der Haut haben somit Einfluss auf die Absorption.

Die meisten verabreichten Medikamente erhalten Kinder oral, der pH-Wert von Magen und Darm hat dabei großen Einfluss auf die Stabilität und Ionisation des Stoffes. Durch den hohen intragastralen pH-Wert beim Neugeborenen kommt es bei schwachen Säuren zu verminderter, bei säurelabilen schwachen Basen zu größerer Bioverfügbarkeit. Auch die Unausgereiftheit des biliären Systems kann bei lipophilen Substanzen zu verminderter Aufnahme führen (nach Review: Kearns et al. ⁶⁹).

Da die Absorptionsrate stark davon abhängt, wie lange sich der Stoff an der Darmmukosa aufhält, haben Magenentleerung und Darmperistaltik ebenfalls einen großen Einfluss. In der frühen Kindheit reifen die intestinalen Motorneurone weiter heran und die Frequenz, Amplitude und Dauer der Kontraktionen nehmen zu. Gastrointestinale Entwicklung und zelluläre Differenzierung geschehen mehrheitlich in der ersten Hälfte der Schwangerschaft, so dass zum Zeitpunkt der Geburt die Darmmukosa histologisch bereits ausgereift ist (nach Review: Kearns et al. ⁶⁹).

Die gastrointestinale Durchblutung ändert sich aber noch stark innerhalb der ersten 3 Lebenswochen. Ferner konnte anhand von renal ausgeschiedenen Digoxinmetaboliten, welche im Darm durch bakterielle Zersetzung entstehen, die altersabhängige Entwicklung der Darmflora gezeigt werden (nach Review: Kearns et al. ⁶⁹).

Auch die perkutane Aufnahme unterscheidet sich während der Entwicklung von der des Erwachsenen. Ein dünneres Stratum corneum sowie eine stärker durchblutete und hydratisierte Epidermis lassen höhere systemische Plasmakonzentrationen bei kutaner Applikation von Arzneistoffen zu. Außerdem ist die Relation von Körperoberfläche zu Körpermasse bei Kindern weitaus größer als bei Erwachsenen, besonders innerhalb des ersten Lebensjahres (siehe Abbildung 8). Daher muss von einer größeren absorptiven Fähigkeit der kindlichen Haut ausgegangen werden, was zu toxischen Effekten durch erhöhte systemische Plasmaspiegel führen kann (nach Review: Kearns et al. ⁶⁹).

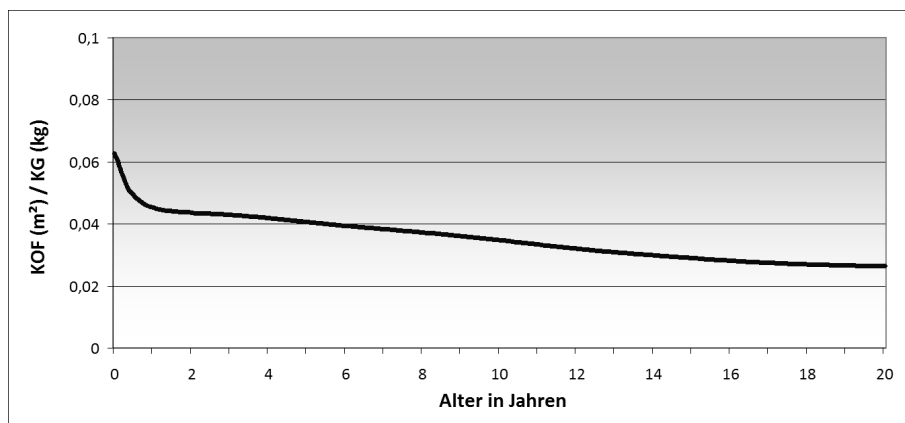


Abbildung 8: graphische Darstellung der Entwicklung von Körperoberfläche zu Körpergewicht gegen das Alter, KOF berechnet nach Mosteller ⁹⁰ anhand von Daten amerikanischer Jungen zwischen 0 und 20 Jahren (jeweils 50te Perzentile), entnommen aus Datentabellen der CDC ²⁰

Der muskuloskeletale Blutfluss ist bei Kindern zwar erniedrigt, allerdings zeigt der kindliche Muskel eine bessere Kapillarisation, was im Allgemeinen zu höheren Absorptionsraten intramuskulär verabreichter Medikamente führt (nach Review: Kearns et al. ⁶⁹).

Auch bei der intrapulmonalen Applikation zur Lokaltherapie werden systemische Expositionen erwirkt. So zeigt sich nach steroidaler Inhalationstherapie eine messbare

Cortisol-suppression. Entwicklungsphysiologische Unterschiede der Respirationsrate, Vitalkapazität oder Mikrozirkulation haben wesentlichen Einfluss auf die Aufnahme pulmonal applizierter Substanzen (nach Review: Kearns et al. ⁶⁹).

Die rektale Gabe von Medikamenten birgt den Vorteil, den enterohepatischen Kreislauf zu umgehen. Allerdings zeigen Kleinkinder eine höhere Frequenz von pulsatilen Kontraktionen des Enddarms als Erwachsene, was zu verminderter Absorption durch frühzeitige Ausscheidung führen kann (nach Review: Kearns et al. ⁶⁹). Anderson et al. fanden bei 20 Kindern starke Schwankungen der Absorptions- und Eliminationszeiten von 0,01 - 1,01 h und 0,07 - 2,65 h mit Standardabweichungen von 79,7 % bzw. 92,4 % bei der rektalen Gabe von Paracetamol ⁴.

1.5.2 Distribution

Altersabhängige Veränderungen der Körperzusammensetzung haben Einfluss auf die physiologischen Räume, in denen sich eine Substanz verteilen kann. Neugeborene haben, im Vergleich zu älteren Kindern einen relativ höheren Anteil an extrazellulärem und totalem Körperwasser sowie eine veränderte Fettzusammensetzung. Daher kommt es bei körperrgewichtbezogenen Dosierungen von hydrophilen im Vergleich zu hydrophoben Substanzen zu niedrigeren Plasmaspiegeln, da für sie das Verteilungsvolumen verhältnismäßig größer ist. Für lipophile Substanzen lässt sich allerdings kein klarer Zusammenhang zeigen (nach Review: Kearns et al. ⁶⁹).

Veränderungen in der Quantität und der Bindungskapazität der Plasmaproteine, vorrangig Albumin und α -1-Glykoprotein, haben Einfluss auf die Verteilung stark proteingebundener Substanzen. Aufgrund von niedrigeren α -1-Glykoprotein-Konzentrationen im neonatalen Plasma lassen sich höhere freie Fraktionen von basischen Arzneistoffen finden. Ferner weist fetales Albumin qualitativ andere Bindungseigenschaften auf, die allerdings schwer zu quantifizieren sind. Hohe Konzentrationen von endogenen Substanzen wie Bilirubin oder freien Fettsäuren, die proteingebunden transportiert werden müssen, können eine Verdrängung des Medikaments aus der Bindungsstelle bewirken. Weitere Veränderungen bei

Entwicklung oder Krankheit wie Variabilitäten im Säure-Basen-Haushalt, Herzminutenvolumen, Organperfusion oder Membranpermeabilität können die Bindung und Distribution einer Substanz beeinflussen (nach Review: Kearns et al. ⁶⁹).

Ein Großteil der Verteilung erfolgt durch passive Diffusion, einen kleineren Beitrag leisten aktive Transporter. Bei P-Glykoprotein (auch MDR1) handelt es sich um einen Effluxtransporter, der in der Blut-Hirn-Schranke, in Hepatozyten, Tubulusepithelzellen und Enterozyten von entscheidender Bedeutung ist. Studien konnten eine geringere P-gp Dichte bei bereits gleichem Verteilungsmuster bei Neugeborenen finden, was mit höheren intrazerebralen Phenobarbitalspiegeln (P-gp-Substrat) bei Frühgeborenen korrelierte (nach Review: Kearns et al. ⁶⁹).

1.5.3 Metabolisierung

Die hepatische Metabolisierung unterliegt in der kindlichen Entwicklung großen Veränderungen. Diese Veränderungen der Biotransformation sind Anlass für die Schaffung altersbezogener Dosierungsschemata für häufig benutzte Medikamente in der Pädiatrie. Die jeweiligen Entwicklungsmuster sind zum Teil für spezifische Phase-I- und Phase-II-Enzyme bekannt (nach Review: Kearns et al. ⁶⁹).

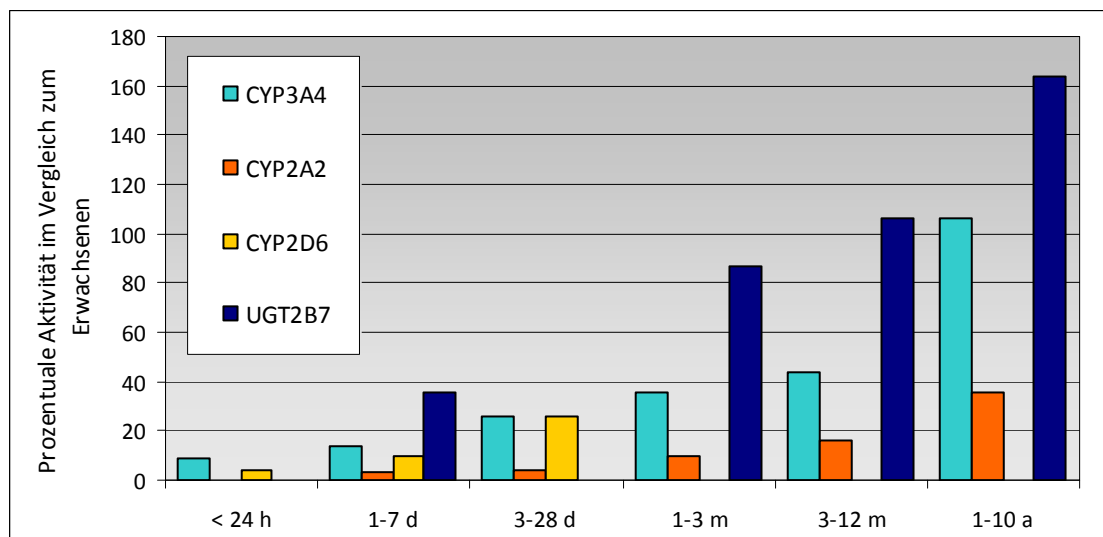


Abbildung 9: Entwicklung von CYP3A4, CYP2A2, CYP2D6 und UGT2B7 vom Neugeborenen bis zum Kind im Vergleich zur Aktivität bei Erwachsenen, nach Kearns et al. 2003 (Review) ⁶⁹

Die Expression der Cytochrom P-450 Enzyme, hauptsächliche Repräsentanten der Phase-I-Enzyme, ändert sich während der Entwicklung gravierend. CYP3A7, die Hauptisoform in der fetalen Leber, erreicht die höchste Aktivität kurz nach der Geburt in der ersten Lebenswoche. Seine Aktivität sinkt nach drei Monaten rapide auf ein Fünftel ab. Bereits nach den ersten Lebensstunden ist eine beginnende CYP2E1-Aktivität messbar. CYP2D6 (siehe Abbildung 9) folgt ebenfalls innerhalb von Stunden nach Geburt. CYP3A4 (siehe Abbildung 9) und CYP2C9/19 erscheinen in der ersten Lebenswoche, CYP1A2 erscheint nach einem bis drei Monaten.

Die Entwicklung der Clearance von Midazolam, einem Substrat von CYP3A4 und CYP3A5, steigt von anfänglich 1,2 auf 9 mL/min/kg KG in den ersten drei Lebensmonaten. Die Carbamazepin-Clearance, auch hauptsächlich über CYP3A4 verstoffwechselt, ist bei Kindern größer als bei Erwachsenen. CYP2C9 und CYP2C19 sind hauptsächlich verantwortlich für die Verstoffwechslung von Phenytoin. Die Halbwertszeit ist bei Frühgeborenen verlängert (75 h), bei Neugeborenen sinkt sie auf etwa 20 Stunden in der ersten Lebenswoche, nach zwei Wochen auf 8 Stunden (nach Review: Kearns et al. ⁶⁹).

Es können noch weitere Beispiele für altersabhängige Expressionsmuster gefunden werden, teils mit geschlechtsspezifischen Unterschieden. So gleicht sich die Demethylierungsrate von Koffein bei Mädchen den Werten Erwachsener an, sobald sie das Tanner-Stadium 2 erreicht haben. Bei Jungen geschieht dies erst ab Tanner-Stadium 4 bis 5 (nach Review: Kearns et al. ⁶⁹).

Bei den Phase-II-Enzymen finden sich ähnliche Entwicklungsmuster. Die Isoformen der Uridin-Diphosphat-Glucuronosyltransferasen (UGT) zeigen individuelle Profile. Die Glucuronidierung von Morphin kann ab der 24. Woche p.c. nachgewiesen werden und vervierfacht sich zwischen der 24. und 40. postkonzeptionellen Woche (nach Review: Kearns et al. ⁶⁹). Onishi et al. konnten zeigen, dass sich der Abbau von Bilirubin via UGT erst innerhalb der ersten drei Lebensmonate entwickelt. Bei Geburt verfügt das Neugeborene noch über eine UGT-Aktivität von unter einem Prozent verglichen mit der

eines Erwachsenen, an dessen Werte sich bis zum dritten Lebensmonat jedoch angeglichen wird ⁹⁵. UGT1A1 und UGT2B7 erreichen adulte Aktivitätslevel nach drei Monaten. UGT1A6 und UGT1A9 können bis zu zehn Jahre benötigen, um entsprechende Aktivitäten zu entwickeln. Obwohl noch nicht genau belegt, wird im Allgemeinen davon ausgegangen, dass Enzyme bei Kindern induzierbarer sind als bei Erwachsenen (siehe Review: Yokoi 2009 ¹²⁸).

1.5.4 Renale Funktion

Die Reifung der Nierenfunktion beginnt bereits mit der Organogenese und ist in der frühen Kindheit abgeschlossen. Der Prozess der glomerulären Filtration beginnt etwa in der neunten bis zwölften postkonzeptionellen Woche, eine normale Nephrogenese vorausgesetzt. Intrauterin steigt die glomeruläre Filtrationsrate (GFR) proportional zum Nierengewicht, direkt nach der Geburt ist allerdings ein sprunghafter Anstieg zu verzeichnen. Es folgen postnatale Veränderungen des extra- und intrarenalen Blutflusses. Die GFR nimmt mit der weiteren Entwicklung zu, bezogen auf die Körperoberfläche werden adulte Werte bereits nach etwa 1 bis 2 Jahren erreicht. Analog dazu erreicht die tubuläre Sekretion pro Körperoberfläche die Kapazität Erwachsener nach etwa einem Jahr (nach Review: Kearns et al. ⁶⁹).

Entwicklungsspezifische Veränderungen der Nierenfunktion haben großen Einfluss auf die Pharmakokinetik von renal ausgeschiedenen Substanzen. Daher werden alterabhängige Dosierungsschemata benötigt, wobei jedoch mögliche aktive Metabolite berücksichtigt werden müssen. So kann beispielsweise die Gabe von Aminoglykosiden zu toxischen Plasmakonzentrationen führen. Da die renale Aminoglykosidexkretion noch nicht vollständig entwickelt ist, muss das Dosierungsintervall bei Frühgeborenen verlängert werden, um bei mehrtägiger antibiotischer Therapie eine Akkumulation zu vermeiden. Auch konnte gezeigt werden, dass bei pränataler Verabreichung von Indometacin an die Mutter signifikant niedrigere glomeruläre Filtrationsraten des Neugeborenen am dritten postpartalen Tag messbar waren. Wurden parallel Betamethason und Indometacin verabreicht, war dies nicht zu beobachten. Bei primär renal ausgeschiedenen Substanzen muss auf eine

altersabhängig individualisierte Therapie geachtet werden (nach Review: Kearns et al.⁶⁹).

1.5.5 Pharmakodynamik

Obwohl allgemein anerkannt ist, dass während der kindlichen Entwicklung veränderte Aktionen von und Reaktionen auf Medikamente vorliegen, gibt es bisher wenig Informationen zum Einfluss der Ontogenie auf die Interaktionen zwischen Substanz und Rezeptor und deren Konsequenzen. Daten einiger Studien unterstützen die Existenz altersabhängiger Unterschiede in der Interaktion zwischen Substanz und Rezeptor sowie in der Relation zwischen Plasmaspiegel und pharmakologischem Effekt. Demnach fehlt bei Frühgeborenen (< 32 SSW) aufgrund der altersabhängigen Expression der Motilin-Rezeptoren eine prokinetische Wirkung von Erythromycin (nach Review: Kearns et al.⁶⁹).

Für die Kardiotoxizität nach Antrazyklintherapie besteht ein klarer Zusammenhang zwischen der Dosis und dem Risiko, eine Kardiomyopathie zu entwickeln. Es lassen sich jedoch keine genauen Schwellendosen ableiten, unter denen sich eine Kardiotoxizität vermeiden ließe. In einem Übersichtsartikel fasste Kremer 2002⁷⁶ zusammen, dass sich bereits bei einigen Patienten unter Therapie mit 300 mg/m² Körperoberfläche Doxorubicin toxische Zeichen zeigen, andere Patienten tolerieren Dosen bis 1000 mg/m² ohne entsprechende Herzbeteiligungen. Mehrere Studien mit multivariaten Analysen konnten teils ein jüngeres Alter wie auch ein älteres Alter bei Beginn der Therapie als Risikofaktor für die Entstehung einer subklinischen Kardiotoxizität und einer Herzinsuffizienz identifizieren (nach Review: Kremer 2002⁷⁶). Die Studienlage ist hier noch nicht eindeutig.

1.6 Medikamentöse Therapie im Kindesalter

Da es sich bei Kindern eben nicht um kleine Erwachsene handelt, sind adaptierte Behandlungsregime notwendig (nach Review: Kearns et al. ⁶⁹). Gewicht, Zusammensetzung und Funktion des Körpers ändern sich während der Kindheit drastisch. Daher muss eine Arzneimitteltherapie klar mit Rücksicht auf die altersabhängigen Veränderungen in Pharmakokinetik und -dynamik erfolgen.

Nicht alle Medikamente, die heutzutage auf pädiatrischen Stationen eingesetzt werden, sind auch für die entsprechende Therapie zugelassen. So waren in Japan laut einer Untersuchung von Yokoi et al. 2009 nur 15,6% der verschriebenen und 24,3% der injizierten Medikamente mit Dosierungsrichtlinien für Kinder ausgestattet. Viele Medikamente trugen die Warnung, dass die Indikation bei Kindern noch nicht untersucht wurde (siehe Review: Yokoi 2009 ¹²⁸).

Die EMA (European Medicines Agency) gab 2004 eine Untersuchung zu unerwünschten Arzneimittelwirkungen (UAW) bei Kindern in Auftrag. Laut dieser wurden 35% der Arzneimittel in Europa „off-label“ oder unlizenziert verabreicht. Dabei kam es in 6% der Fälle zu UAW, bei lizenzierten Medikamenten nur in 3,9% der Fälle ³⁹. Horen et al. fanden ein 3,4-fach erhöhtes Risiko für die Entstehung unerwünschter Arzneimittelwirkungen bei Kindern bei einer „off-label“-Therapie im Vergleich zum beilagenkonformen Gebrauch ^{39,57}.

Die 2009 im Deutschen Ärzteblatt veröffentlichte Untersuchung „Medikamenten-Verordnungsanalyse für Deutschland“ konnte zeigen, dass inzwischen 87% der Medikamente im ambulanten pädiatrischen Bereich zulassungskonform verordnet werden. Allerdings war bei 18% aller untersuchten Wirkstoffe kein klarer Zulassungsstatus für Kinder eruierbar. Bei Neugeborenen erfolgten nur 42% der Verordnungen zulassungskonform.

Allgemein waren die Fachinformationen der Medikamente oft mangelhaft. Der Begriff „Kinder“ wurde oft nicht dem Altersgruppenmodell der EMA und FDA (food and drug administration) entsprechend verwendet (siehe Tabelle 5) ⁹¹.

1.6.1 Dosierungsregime

Bei jeder medikamentösen Therapie ist es wichtig, ausreichende Plasmaspiegel zu erreichen, um den gewünschten Effekt im menschlichen Körper zu erzielen. Dies ist oft nicht möglich, ohne weitere unerwünschte Arzneimittelwirkungen hervorzurufen. Da oft ein verbessertes Ansprechen des Tumors mit höheren Zytostatikakonzentrationen korreliert, bewegen sich gerade in der Onkologie die Zielkonzentrationen knapp unter der maximal tolerierbaren Dosis (MTD). Die anvisierten Serumspiegel möglichst genau zu erreichen, ist daher für Therapieerfolg einerseits und Nebenwirkungsminimierung andererseits von immenser Bedeutung.

Aufgrund der zuvor beschriebenen Veränderungen der kindlichen Physiologie ergibt sich in der Pädiatrie ein sehr heterogenes Patientenkollektiv. Dieses reicht vom Frühgeborenen mit weniger als 3 kg Körpergewicht und etwa 40 cm Körperlänge bis zum jugendlichen adipösen Diabetespatienten mit 90 kg und 1,70 m Körpergröße. Hinzu kommen altersabhängige Veränderungen der ADME-Prozesse und somit der Pharmakokinetik. Auch die Pharmakodynamik kann sich wie bereits erwähnt bei Kindern von der Pharmakodynamik Erwachsener unterscheiden. Dies führt zu Dosierungsempfehlungen für Kinder, die stark von denen Erwachsener abweichen. Wo bei Erwachsenen oft fixe Dosen genügend therapeutische Sicherheit und Effektivität liefern, bedarf es bei Kindern einer angepassten Dosierung nach Körpergröße, Gewicht, Körperoberfläche oder anderen Surrogatparameter, die ausreichend exakt die kindliche Entwicklung widerspiegeln.

In den 50er Jahren wurde der Surrogatparameter Körperoberfläche in die allgemeine Pharmakologie und die Dosierungsberechnung von Medikamenten eingeführt. Dies gründete auf dem Wissen, dass bestimmte physiologische Parameter wie glomeruläre Filtrationsrate, Sauerstoffverbrauch oder Blutvolumen mit der Körperoberfläche

besser korrelierten als mit Körpergewicht oder Körperlänge (nach Pinkel et al. ⁹⁷). Dieser Gedanke bildete die Grundlage für eine Dosierung in Relation zur Körperoberfläche ^{27,97}.

Die meisten aktuellen Dosierungsempfehlungen für Kinder beziehen sich auf Erwachsenenodosierungen und berücksichtigen, falls bekannt, ontogenetische Veränderungen und ihren Einfluss auf die Disposition eines Pharmakons. Laut Review von Kearns et al. ist es aufgrund von Wissenslücken oft nötig auf einfache Dosierungsregime auszuweichen ⁶⁹. Bei manchen Substanzen für ältere Kinder (ab acht bis zehn Jahren) ist es näherungsweise möglich, auf Dosierungsschemata Erwachsener zurückgreifen und diese allometrisch zu skalieren, da sich die Organfunktionen und Körperzusammensetzung der des Erwachsenen immer weiter angleichen. Oft muss dennoch eine passende Näherung gefunden werden, um die Erwachsenenendosis an den kindlichen Körper anzupassen. Dabei hat es sich laut Kearns et al. für viele Medikamente bewährt, die kindliche Dosis im Verhältnis zur Körperoberfläche oder zum Körpergewicht von der Erwachsenenendosis abzuleiten, je nach bekanntem Verteilungsvolumen des Pharmakons. Diesen Näherungen ist nur zu folgen, solange keine veränderte Clearance beim Kind zu erwarten ist. In diesem Falle müsste möglicherweise das Dosierungsintervall angepasst werden, um eine Akkumulation oder ein Abfall unter gewollte Spiegel zu verhindern. Oft werden folgende Gleichungen herangezogen (nach Kearns et al. 2003 ⁶⁹).

- Wenn das Verteilungsvolumen $< 0,3 \text{ L/kg}$: $Dosis_{Kind} = \frac{KOF_{Kind}(m^2)}{1,73m^2} \times Dosis_{Erwachsener}$
- Wenn das Verteilungsvolumen $\geq 0,3 \text{ L/kg}$: $Dosis_{Kind} = \frac{KG_{Kind}(kg)}{70kg} \times Dosis_{Erwachsener}$

In der frühen Kindheit sind jedoch Distribution, Verstoffwechslung und Exkretion noch zu uneinheitlich und unterscheiden sich teilweise stark von den Vorgängen erwachsener Patienten. Eine einfache Umrechnung führt somit nicht zur gewünschten Sicherheit und Effektivität. Vielmehr muss in diesen Altersgruppen pharmakospezifisch

nach Näherungen gesucht werden, oft bei unzureichender Studienlage. So bleibt zumeist keine andere Möglichkeit, als wieder über Surrogatparameter wie Körpergröße, Körpergewicht, Körperoberfläche, Clearance oder Ähnlichem die entsprechende kindliche Dosis von der Erwachsenenendosis abzuleiten (nach Review: Kearns et al. ⁶⁹).

Mithilfe der ontogenetischen Allometrie wird versucht, Wachstum und Entwicklung anhand von leicht erfassbaren Größen wie Alter und Gewicht abzuleiten, um so Rückschlüsse vom adulten auf den kindlichen Körper zu ermöglichen. Nach einem Review von B.J. Anderson und N.H.G. Holford (2008) lässt sich mithilfe allometrischer Berechnungen eine genauere Beschreibung der erwarteten Clearance in Kindern und Erwachsenen erreichen. Der hierbei verwendete Exponent von 0,75 für das Gewicht zur Clearanceberechnung wird durch eine Vielzahl von Untersuchungen aus der Biologie unterstützt ³. Solche Berechnungswege zur Dosisfindung werden in Zukunft möglicherweise auch Eingang in die klinische Praxis finden.

1.6.2 Körperoberfläche

Das Konzept der Dosierung nach Körperoberfläche wurde ursprünglich entwickelt, um auf eine sichere Dosis für Phase-I-Studien aus toxikologischen Tierdaten zu schließen (siehe Review: Sawyer 2001 ¹⁰⁸). Pinkel et al. belegten 1958 den rationellen Hintergrund des klinischen Gebrauchs der Körperoberfläche als Bezugsgröße ⁹⁷. Mehrere Formeln zur Bestimmung der Körperoberfläche wurden bis heute entwickelt. Die folgende Aufzählung gibt einen Überblick, ohne auf Vollständigkeit zu bestehen.

Die Formel von DuBois und DuBois wurde anhand von nur neun Patienten entwickelt, darunter lediglich ein Kind ³⁴. Sie zeigt eine systemische Unterschätzung der Körperoberfläche unter 0,7 m², was für ein kleinkindliches Patientenkollektiv zu berücksichtigen ist ⁵².

- DuBois und DuBois (1916) ³⁴: $BSA(cm^2) = H(cm)^{0,725} \times BW(kg)^{0,425} \times 71,84$

1935 untersuchten Boyd et al. eine Kohorte von 1114 Patienten und entwickelten zwei Formeln. Dabei zeigte die komplexere Formel mit den zwei Variablen Größe und Gewicht eine kaum bessere Anpassung an die Daten als ein reiner Bezug auf das Gewicht ¹⁶.

- Boyd (1935) ¹⁶: $BSA(cm^2) = 4,688 \times BW(g)^{0,8168 - 0,0154 \times \log BW(g)}$

Gehan und George fanden 1970 dagegen eine Tendenz der Formel nach Dubois im Vergleich zur Formel nach Boyd, die Körperoberfläche zu überschätzen. Sie werteten Daten von 401 Patienten der Untersuchung von Boyd aus, wobei die Formel von DuBois und DuBois den Ausgangspunkt für die neue Formel darstellte. Dabei zeigten sich besonders starke Abweichungen zwischen erwarteter und gemessener Körperoberfläche bei Kindern unter 6,8 kg ⁴³.

- Gehan und George (1970) ⁴³: $BSA(m^2) = 0,0235 \times H(cm)^{0,42246} \times BW(kg)^{0,51456}$

Mosteller et al. veröffentlichten 1987 eine vereinfachte Formel, die auf Gehan und George aufbaut. Sie machten keine Angaben, wie die Formel entwickelt wurde oder inwieweit sie für Kinder zutreffend ist ⁹⁰.

- Mosteller (1987) ⁹⁰: $BSA(m^2) = \sqrt{\frac{BW(kg) \times H(cm)}{3600}}$

Sharkey et al. griffen auf 146 Patienten mit Körpergewichten zwischen 11 und 86 kg des Datensatzes von Boyd zurück. Kinder unter 10 kg wurden ausgeschlossen, da bei ihnen valide Messungen für die Körpergröße nicht möglich waren. Auch kachektische und übergewichtige Kinder wurden nicht eingeschlossen. Nach Vergleich der Formeln von Mosteller und DuBois mit der boydschen Formel stellte sich die vereinfachte Form von Mosteller als die mit den geringeren Abweichungen zu der von Boyd heraus ¹¹³.

Ahn et al. verglichen die Formeln nach DuBois, Boyd, Mosteller und Meban (Meban et al. 1983 ⁸³), wobei letztere an Neugeborenen entwickelt wurde ¹. Sie zeigten, dass die Formel nach Mosteller ähnlich gut die Körperoberflächen von Neugeborenen vorhersagte wie die an Gleichaltrigen entwickelte Formel nach Meban. Hingegen zeigte

die Formel nach Boyd Überschätzungen, die Formel nach DuBois Unterschätzungen der Körperoberfläche.

Bis heute wird zur Bestimmung der Körperoberfläche in der Pädiatrie am häufigsten die Formel nach Mosteller eingesetzt. Sie liefert verlässliche Ergebnisse und weist eine simple Formelstruktur auf, die im klinischen Alltag wenig fehleranfällig ist. Allerdings sollte das Ergebnis bei besonders untergewichtigen wie übergewichtigen Patienten mit entsprechender Zurückhaltung verwendet werden ⁶⁰. Würthwein et al. untersuchten 2011 den Einfluss der oben aufgezählten Formeln zu KOF-Berechnung. Es zeigten sich nur minimale Unterschiede der Ergebnisse (mittlerer prozentualer Fehler [*mean percentage error*] $\leq 2\%$) ¹²⁷. Eine Studie mit 3D-Scanner-Messung der Körperoberfläche kam zu dem Ergebnis, dass die Formel nach Mosteller gut mit den gemessenen KOF korrelierte (weniger als 2% Abweichung) ¹³¹. Im weiteren Verlauf werden daher alle Kalkulationen der Körperoberfläche mit dieser Formel durchgeführt.

1.6.3 Körpergewicht

Eine Dosierung nach Körpergewicht hat ihren festen Stellenwert in der Therapie von Neugeborenen und Kleinkindern. Dabei wird näherungsweise ein linearer Zusammenhang zwischen Körpergewicht und benötigter Dosis angenommen. Ausgehend von einem 30 kg schweren Individuum mit 1 m² KOF werden die Dosen pro m² KOF auf entsprechende Dosen pro kg Körpergewicht umgerechnet. Das Verhältnis der Körperoberfläche zum Körpergewicht fällt bei jüngeren Kindern größer aus als bei älteren Kindern und Erwachsenen (siehe Abbildung 8, berechnet nach Daten der CDC ²⁰). Dies muss bei der Dosisberechnung für Kleinkinder berücksichtigt werden. Würden zwei Formel zur Dosisberechnung - begründet einmal auf der KOF, einmal auf dem KG - bei einem zweijährigen Kind zur selben Dosis führen, so würde die KOF-basierte Formel bei Kindern unter einem Lebensjahr zu einer deutlich höheren Dosis führen. Bei Neugeborenen wird daher die körperlsgewichtsbasierte Dosierung bevorzugt, die gewonnene Therapiesicherheit geht dabei aber möglicherweise auf Kosten der Effektivität. Nach dem ersten Lebensjahr wird die Berechnung nach KOF favorisiert.

1.6.4 Körpergewichtsbezogene Dosierung im NB-97-Regime

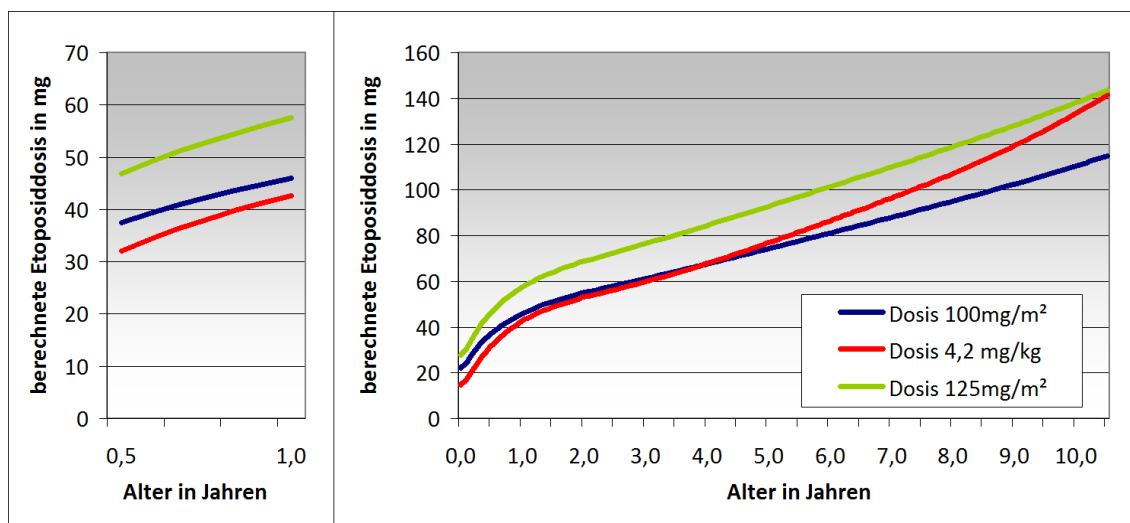


Abbildung 10: graphische Darstellung der errechneten theoretischen Etoposiddosierung nach Alter, verwendete KOF und KG zur Berechnung entsprechen den 50. Perzentilen der CDC-Growth-Charts für Jungen²⁰, links wurde zur besseren Anschaulichkeit der zutreffende Altersbereich des NB-97-Regimes vergrößert, in dem Etoposid nach KG dosiert wird (0,5-1 Jahr)

Die Säuglingsdosierung wird im NB-97-Regime nach mg/kg KG berechnet, bezieht sich aber ursprünglich auf eine Dosierung von 125 mg/m² wie im alten NB-90-Regime. Umgerechnet wurde dieses anhand eines 30kg schweren Kindes mit 1m² KOF, wie zuvor beschrieben ($125 \text{ mg/m}^2 \times 1 \text{ m}^2 / 30 \text{ kg} = 4,17 \text{ mg/kg}$). Die so berechneten Dosierungen werden in Abbildung 10 gegeneinander aufgetragen. Säuglinge erhalten demnach im NB-97-Regime weniger Etoposid im Falle einer Dosierung nach KG, als wenn ihre Dosis nach dem bereits reduzierten Dosierungsschema nach KOF (100 mg/m² statt 125 mg/m²) berechnet werden würde.

Decius konnte in ihrer Untersuchung der NB-97-Kohorte allerdings zeigen, dass diese nach kg KG dosierten Kinder sowie alle Kinder unter einem Lebensjahr eher höhere Etoposidspiegel aufwiesen als der Rest der untersuchten Patienten. Die betrachtete Patientenzahl war aber klein (< 1 J: n=7; nach mg/kg KG dosiert: n=9; siehe Dissertation I.K. Decius³⁰).

1.7 Physiologiebasierte Pharmakokinetik (PBPK)

Physiologiebasierte pharmakokinetische Modelle und Simulationen werden immer häufiger in der Arzneimittelforschung und -entwicklung eingesetzt. Edginton et al. konnten einen stetigen Anstieg der Publikationen in diesem Bereich aufzeigen³⁷. Ziel ist es, die Pharmakokinetik von möglichen Kandidaten schon während der Entwicklung analysieren, interpretieren und vorhersagen zu können. Ein Charakteristikum von PBPK-Modellen ist ihre Art, das Verhalten von Stoffen in verschiedenen Geweben und Flüssigkeiten mechanistisch zu beschreiben. Ausgehend von einem mathematischen Modell werden physikalische und physiologische Vorgänge beschrieben, die eine Simulation des pharmakokinetischen Verhaltens einer Substanz erlauben. Einen Überblick gibt Abbildung 11.

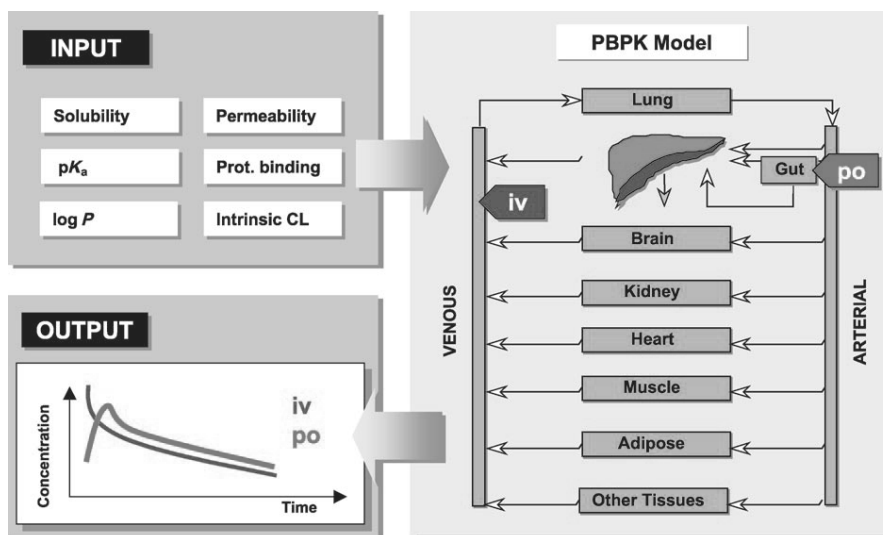


Abbildung 11: Allgemeine Modellstruktur eines PBPK-Modells (entnommen aus Lüpfer et al.⁸²)

Die Modellstruktur ermöglicht es, bereits erste Schlüsse ohne klinisch-experimentelle Daten zu ziehen. Dies stellt den größten Unterschied zu einer populationspharmakinetischen Modellierung wie z.B. NONMEM® dar [*non linear mixed effect model*], wo Parameter von Messungen abgeleitet werden, die erst durch klinische Studien bestimmt werden müssen. Lange Zeit war der physiologiebasierte Ansatz aufgrund des enormen Datenbedarfs zur Erzeugung des Modells nicht durchführbar^{9,73}.

Die Modellstruktur versucht den Körperaufbau nachzubilden. Hierfür wird der Körper in physiologisch relevante Kammern unterteilt, welche die wichtigsten Organe widerspiegeln. In diesen Kammern wird dann die Verteilung des Pharmakons durch Massenbilanzgleichungen beschrieben (siehe Review: Theil 2003¹²²). Grundlegende passive Prozesse, die das Verhalten eines Stoffes in einem Organ bestimmen, sind Massentransport durch Blutfluss, Permeation vom Blutplasma in den paravaskulären Raum und Verteilung zwischen Extrazellular- und Intrazellularraum. Dabei bestehen große Unterschiede in der Ausführlichkeit der Beschreibung. Um die physikalischen Prozesse für die Verteilung in die Gewebe darzustellen, werden grundsätzlich zwei verschiedene Konzepte unterschieden: Die blutflusslimitierte und die permeationslimitierte Verteilung⁹.

Im Fall der Blutflusslimitierung wird angenommen, dass sich eine Substanz augenblicklich zwischen Plasma und Gewebe verteilt. Daher ist die zeitliche Verteilung einer Substanz nur vom Massentransport durch den Blutfluss abhängig. Das alternative Modell der Permeationslimitierung geht von einer Barriere zwischen Blut und Organgewebe aus, wobei die zeitliche Verteilung eines Stoffes von der Übertrittsgeschwindigkeit abhängt.

Das Modell verwendet zwei Arten von Input-Parametern: physiologische Parameter wie Blutfluss, Organvolumen, Organgewicht oder Gewebezusammensetzung sowie substanzspezifische Variablen wie Molekulargewicht, ungebundener Anteil im Blut, pK_a -Werte oder so genannte Gewebepartitionskoeffizienten (tissue-partition-coefficients). Letztere beschreiben die Arzneimittelverteilung zwischen Plasma und Gewebe im steady-state⁷³. Poulin und Thiel entwickelten eine Methode, bei der *a priori* unter Berücksichtigung der zugrunde liegenden Physiologie sowie der physikochemischen Substanzeigenschaften die fehlenden Koeffizienten abgeschätzt werden können. Die Grundidee dabei ist, nur die wichtigsten Gewebsbestandteile zu betrachten – wie Wasser, Fette, Phospholipide, Makromoleküle – und die Arzneistoffverteilung als Ergebnis der Verteilung in jede einzelne Gewebekomponente aufzufassen^{73,99}.

Zur Darstellung des gesamten Körpers werden alle Massenbilanzen in ein System aus voneinander abhängigen Differentialgleichungen integriert. Dieses System von zeitabhängigen Gleichungen wird dann nacheinander gelöst, so dass einzelne Organkonzentrationskurven und Plasmakonzentrationskurven erzeugt werden.

1.7.1 PK-Sim®

Für diese Arbeit wird das Programm PK-Sim® der Firma Bayer Technology Services (Bayer AG) in der Version 4.2.2 verwendet. Bei PK-Sim® handelt es sich um eine Simulationssoftware zur Beschreibung von ADME-Prozessen in Säugetieren. Dieses Programm bietet ein leicht verständliches Interface, mit dem anspruchsvolle physiologiebasierte Simulationen vollzogen werden können, ohne auf der mathematischen Ebene das Modell modifizieren zu müssen.

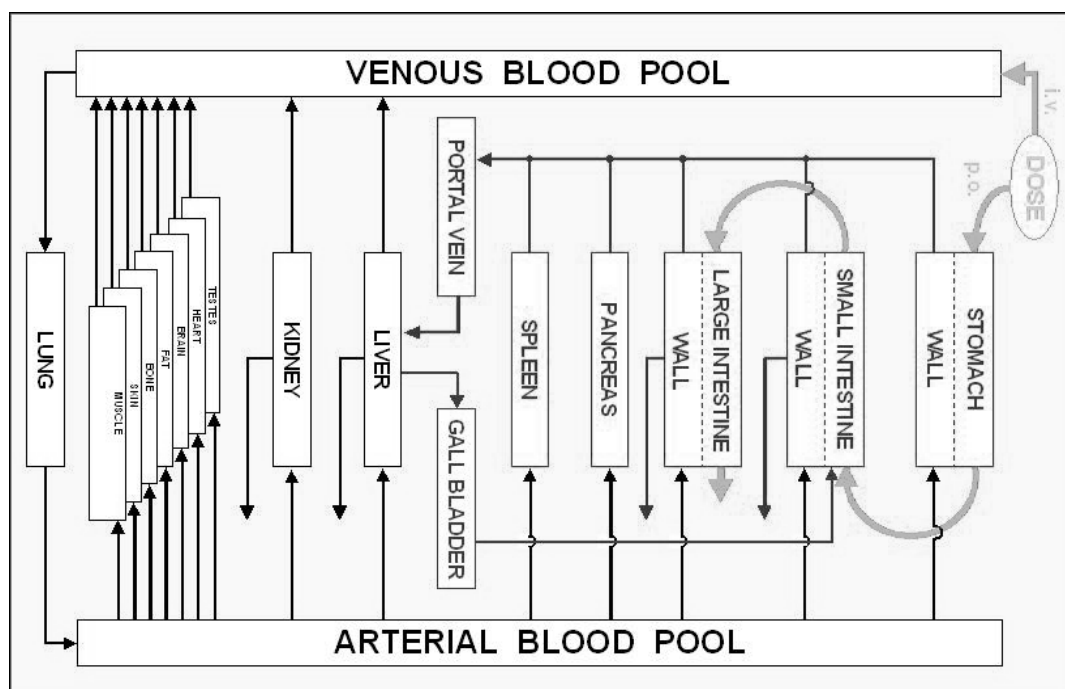


Abbildung 12: Schematische Darstellung der PK-Sim®-Modellstruktur mit dem Blutfluss entsprechenden Verteilungswegen (Abbildung entnommen aus PK-Sim® User Manual Version 4.2⁹)

Das PK-Sim® Modell besteht aus 17 einzelnen Kompartimenten, die jeweils Organe oder Gewebe repräsentieren und im Hinblick auf ihre physiologischen Aufgaben durch linearen Austausch miteinander verbunden sind (siehe Abbildung 12). Dabei werden

orale Absorption, systemische Distribution sowie Elimination abgebildet. Um die Substanzverteilung im Körper zu simulieren, ist jedes Organ oder Gewebe mit dem arteriellen und venösen Blutpool verbunden. Jedes Kompartiment besteht weiterhin aus drei oder mehr Subkompartimenten – Blutkörperchen, Plasma, Interstitium und Gewebe - zwischen denen aktive oder permeationslimitierte Verteilungen ablaufen können. Als aktive Transporte lassen sich einwärts- und auswärtsgerichtete Transporter einfügen. In jeder Zelle können Metabolisierungswege erzeugt werden. Als Inputparameter benötigt PK-Sim® substanzspezifische Werte wie Molekulargewicht, Lipophilie und Bindungskonstante sowie Clearanceparameter, entweder die Plasmaclearance oder intrinsische Clearances je Organ, diese können aus *in vivo*- oder *in vitro*-Studien stammen. Es können renale und hepatische Plasmaclearances angegeben oder aktive und passive Prozesse in die entsprechenden Organe (= Kompartimente) integriert werden, welche dann in intrinsische Clearances pro Gramm Organgewebe umgerechnet werden. PK-Sim® schätzt dann die Modellparameter aufgrund der physikochemischen Eigenschaften der Substanz und der Gewebezusammensetzung aus Wasser, Fett und Proteinen ab⁹.

PK-Sim® verfügt über eine hinterlegte Datenbank, in der die alters-, rassen- und geschlechtsabhängige Verteilungen von Körpergröße, -gewicht und BMI (body mass index) hinterlegt sind. Die Daten entstammen der NHANES III Studie, in welcher Messwerte von über 33.000 Individuen ab dem zweiten Lebensjahr zwischen 1988 und 1994 in den Vereinigten Staaten von Amerika gesammelt wurden²¹. Für die Generierung der PK-Sim®-internen Datenbank wurden die Daten in zwölf Altersgruppen gepoolt und deren Mittelwerte mithilfe von kubischen hermiteschen Splines zu einer Gesamtfunktion verbunden, die somit durch die jeweiligen Mittelwerte verläuft und deren Tangenten so gewählt sind, dass sich ein weicher Übergang ergibt. Werte zu Organgrößen und – gewichten entstammen den ICRP-Jahresberichten (*ICRP - international commission on radiological protection*)¹²³. Vereinfacht wurde die Gewebedichte auf 1 kg/L festgelegt, um Volumenangaben direkt in Gewebegewichte umformen zu können. Zusätzlich wurden aus der Literatur Informationen über die interindividuelle Variabilität von Organgewichten und Blutflussraten entnommen¹²⁵.

1.7.2 Generierung eines virtuellen Individuums

Zur Generierung eines virtuellen Individuums (im Weiteren mit **VI** abgekürzt) benötigt PK-Sim® feste Eingabeparameter für Alter, Rasse, Geschlecht, sowie zwei Werte für Gewicht (KG_{Ziel}), Größe (H_{Ziel}) oder BMI_{Ziel} , woraus der jeweils fehlende dritte Wert berechnet wird.

PK-Sim® kann dann auf die aus festgelegtem Alter, Geschlecht und Rasse definierte Verteilung der letzten drei Werte (BMI, Größe, Gewicht) zurückgreifen. Bei der Generierung wird zuerst ein „mittleres“ VI (mVI) erzeugt. Dieses mVI besitzt die für das gegebene Geschlecht, Alter und Rasse mittlere Größe (H_{mean}), Gewicht (KG_{mean}) und BMI_{mean} . Im nächsten Schritt wird ein VI mit der zuvor festgelegten Größe (H_{Ziel}) erzeugt, welches ein Gewicht ($KG_{Intermediär}$) entsprechend von BMI_{mean} und H_{Ziel} besitzt.

Die Ziel-Organ Gewichte werden mithilfe einer allometrischen Skalierung anhand des Verhältnisses von H_{mean} und H_{Ziel} errechnet (genaue Formel siehe Willmann et al. 2007¹²⁵). Dies gilt nicht für Gehirn-, Haut- und Fettmasse. Das Gehirngewicht wird als konstant für eine Alter und Geschlecht angenommen. Die Masse des Hautgewebes wird anhand des Körpergewichtes (KG_{Ziel} zu $KG_{Intermediär}$) allometrisch skaliert, da das Organgewicht der Haut mit der Körperoberfläche und diese stärker mit dem Körpergewicht als der Körpergröße korreliert. Das Fettgewebe ist dann die Differenz zwischen KG_{Ziel} und der Summe aller bereits berechneten Organ Gewichte.

Diese Herangehensweise unterstellt, dass ein hoher BMI immer mit einer hohen Fettmasse zusammenhängt. Für Individuen mit hohem Muskelanteil wie Athleten oder Bodybuildern müssen später manuelle Änderungen im Modell vorgenommen werden. Bei untergewichtigen Patienten kann es vorkommen, dass das angegebene Gewicht aufgrund starker Abmagerung so niedrig ist, dass die durchschnittlichen Organgrößen des simulierten Patienten bereits ohne Zugabe von Fettmasse ein höheres Gewicht erreichen. Folglich kann PK-Sim® den Patienten nicht Modellieren, ohne dass das Gewicht manuell erhöht wird⁹.

Im nächsten Schritt wird die mittlere kardiale Auswurfleistung anhand der Körpergröße skaliert, die jeweiligen Organblutflussraten werden anhand ihrer fixen prozentualen Anteile am Gesamtblutfluss berechnet.

Dieser beschriebene Algorithmus ist in PK-Sim[®] mit dem „create individual“-Modul verknüpft. Nach Eingabe der Zielwerte (Alter Geschlecht, Rasse, Größe, Gewicht, BMI) werden die korrespondierenden Organgewichte und Blutflussraten automatisch berechnet (siehe Willmann et al. 2007¹²⁵).

Zur bessern Verständlichkeit wird im Folgenden von Patienten gesprochen, wenn die tatsächlichen menschlichen Individuen der Neuroblastomstudie gemeint sind. Der Term „virtuelles Individuum (VI)“ wird ab jetzt für jeden simulierten Patienten stehen, bei mehreren simulierten Patientin wird die Abkürzung „VIs“ genutzt.

1.7.3 Populationspharmakokinetik im PK-POP-Modul von PK-Sim[®]

Das PK-POP-Modul ist eine Erweiterung zu PK-Sim[®]. Ziel ist es, das pharmakokinetische Verhalten eines Stoffes in einer physiologisch diversifizierten Population zu beschreiben.

Um eine bestimmte Population zu erzeugen, wird der zuvor beschriebene Algorithmus zur Generierung eines virtuellen Individuums mehrmals durchlaufen. Dazu müssen die Anzahl der zu generierenden VIs angegeben werden sowie Rasse, Geschlecht (als prozentualer Anteil weiblicher VIs) und Minima und Maxima für Alter, Größe, Gewicht und/oder BMI (siehe Willmann et al. 2007¹²⁵).

Zuerst wird jedem VI der Population zufällig ein Geschlecht und Alter je nach den vorgegebenen Verteilungen und Wertebereichen zugeordnet. Dann wird ein „mittleres“ VI wie oben beschrieben erzeugt, welchem dann eine zufällige Körpergröße innerhalb des zuvor definierten Bereichs zugeordnet wird. H_{mean} entspricht dann dem Mittel der normalen Verteilung aus den Daten der NHANES III Studie²¹. Aus H_{mean} und BMI_{mean} wird $\text{KG}_{\text{intermediär}}$ errechnet, wonach die Organgewichte bestimmt werden. Hier wird allerdings jedes Organgewicht noch einmal zufällig anhand von vordefinierten

Verteilungen variiert, welche mithilfe der Monte-Carlo Methode erzeugt wurden, wobei allerdings nur die Variabilität bei gleich großen Individuen einbezogen wurde. Die lognormale Verteilung der Muskel- und Fettmasse bewirkt den Hauptanteil der Verteilung von Gewicht und BMI in einer realistischen Population (siehe Willmann et al. 2007¹²⁵).

Entsprechend dem zuvor beschriebenen Algorithmus zur Generierung eines VI entspricht die Fettmasse dann der Differenz zwischen zufällig gewähltem Körpergewicht (aus dem zuvor definierten Bereich) und der Summe aller Organengewichte. Liegt das so errechnete Gesamtgewicht außerhalb des realistisch möglichen Bereichs, wird das bis dahin erzeugte VI verworfen und der Algorithmus beginnt von neuem.

Die Blutflussraten der einzelnen Organe werden ebenfalls stochastisch variiert. Hier wurde eine Normalverteilung mit einer Standardabweichung von 5% für jedes Organ zugrunde gelegt. Das Herzzeitvolumen ergibt sich dann aus der Summe aller Organblutflussraten.

Dieser Algorithmus führt jedes Mal zu einer einmaligen Population, selbst unter den gleichen anthropometrischen Eingabeparametern und Schwankungsbereichen ist die erzeugte Population nicht reproduzierbar. Bei jedem Generierungslauf kreiert PK-Sim® eine Population mit unterschiedlicher Verteilung von Körpergröße, Körpergewicht und Körperzusammensetzungen.

Außerdem entstehen Schwankungen der Ausscheidungsfunktionen. Die im Grundmodell eingefügten Informationen über die Clearance des Arzneistoffes, die der Populationssimulation zugrunde liegen, werden in intrinsische Clearance-Werte pro Gramm Gewebe (je für Leber und Niere) überführt, die von PK-Sim® zur weiteren Berechnung herangezogen werden.

In der Leber spiegelt die intrinsische Clearance die Aktivität der für die Metabolisation verantwortlichen Enzyme wider, sowohl deren spezifische Affinität als auch die

gesamte Menge der Enzymmasse. Innerhalb einer Population bleibt die Enzymaffinität unverändert, die Enzymausstattung (Gramm Protein pro Gramm Lebergewebe) muss aber an das entsprechende Organgewicht angepasst werden. Diese Skalierung erfolgt allometrisch anhand des reinen Lebergewichts (ohne Blutkompartiment) relativ zum Lebergewicht des der Population zugrunde liegenden virtuellen Individuums. Entsprechend wird auch die renale Clearance skaliert.

Weiterhin kann innerhalb des PK-POP-Moduls diese Verteilung der intrinsischen Clearance manuell auf andere statistische Distributionen z.B. normale, lognormale oder uniforme Verteilungen geändert werden ⁹.

Zur Veranschaulichung hier noch einmal das Flow-Chart des PK-Sim[®]-Manuals:

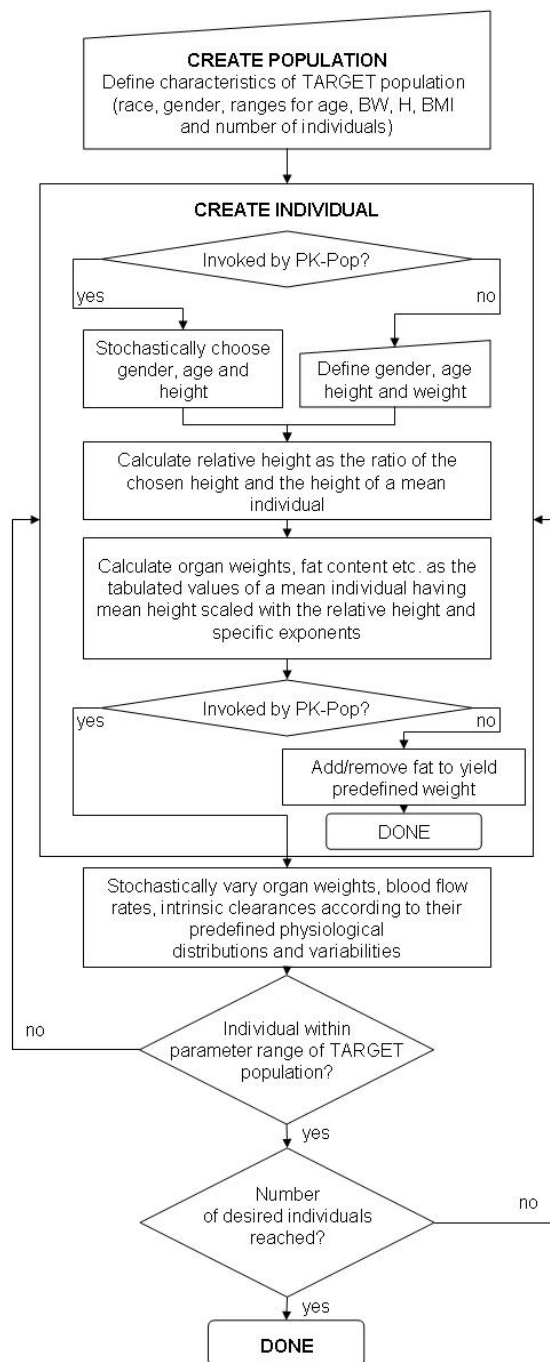


Abbildung 13: Darstellung des Algorithmus zu Generierung einer virtuellen Population, nach Willmann et al. 2007¹²⁵, entnommen aus dem PK-Sim[®]-Manual Version 4.2

1.8 Das Etoposidmodell nach G. Kersting

Das verwendete Modell zur Simulation von Etoposid in Erwachsenen und Kindern wurde von Gisela Kersting mithilfe der Software PK-Sim[®] entwickelt⁷⁰. Der verfolgte Arbeitsablauf für die Entwicklung pädiatrischer PBPK-Simulationen wurde von Edginton et al. beschrieben³⁶. Nach Aufbau und Validierung eines Modells für Erwachsene wurde es an Kinder angepasst. Dies erfolgte durch Implementierung entsprechender physiologischer Werte wie Körpergröße, Gewicht, Blutfluss, Permeabilitäten und Enzymaktivitäten. Die kalkulierten Parameter des Modells wurden anschließend mit Literaturdaten abgeglichen.

Zur Entwicklung des Modells wurden Daten von Busse et al. von neun Frauen herangezogen, die aufgrund eines operablen Mammakarzinoms postoperativ mit vier Zyklen konventioneller Chemotherapie und einem Hochdosiszyklus mit autologer Stammzelltransplantation behandelt wurden. Im konventionellen Zyklus erfolgte die Gabe von 200-300 mg Etoposid pro Tag als 1h-Infusion über drei Tage zusammen mit Cyclophosphamid und Doxorubicin. In der Hochdosistherapie wurde Etoposid von Tag 6-8 mit Dosen von 1000-1300 mg als Monotherapie über drei Stunden verabreicht¹⁸.

Im ersten Schritt wurde das pharmakokinetische Profil eines Erwachsenen nach intravenöser Gabe für die Hochdosistherapie simuliert. Dabei wurden mittleres Alter, Größe und Gewicht der Studienpopulation sowie Enzymkinetiken für die Exkretion und Metabolisierung eingesetzt. Basierend auf den physikochemischen Substanzeigenschaften von Etoposid erzeugte PK-Sim[®] hieraus Partitionskoeffizienten nach dem Modell von Rodgers und Roland^{103, 104}.

Für CYP3A4, UGT1A1, P-gp und MRP2 (cMOAT) konnten aus der Literatur Werte für Michaelis-Menten-Kinetiken entnommen werden, die in das Modell gingen. So fanden Kawashiro et al. K_m - und V_{max} -Werte von $53,9 \pm 6,6 \mu\text{M}$ und 249 pmol/min/mg Protein für die Umwandlung von Etoposid in sein Katechol per CYP3A4 in Lebermikrosomen⁶⁸. Watanabe et al. ermittelten K_m - und V_{max} -Werte von $439,6 \mu\text{M}$ und 256 pmol/min/mg Protein für die Glucuronidierung via UGT1A1¹²⁴. Unter der

Annahme von 40 mg mikrosomalen Proteins pro Gramm Lebergewebe ergeben sich demzufolge Werte von 10240 bzw. 9960 pmol/min/g Gewebe für UGT1A1 bzw. CYP3A4.

Die biliären exkretorischen P-gp-Transporter konnten durch Anpassen der Simulationsergebnisse an die Literaturdaten mit $K_m = 255 \mu\text{M}$ und $V_{\max} = 0,03 \mu\text{mol/min/g Gewebe}$ implementiert werden ⁴⁵.

Für renale P-gp-Transporter (MDR1) sowie cMOAT (MRP2) konnten in der Literatur nur K_m -Werte gefunden werden. Die fehlenden V_{\max} -Werte wurden durch Vergleiche mit Werten für transportervermittelte Permeabilität (P_c – carrier-mediated permeability) in gleichen Verhältnis zueinander an die beobachteten Plasmaspiegel gefittet ⁷⁰.

Außerdem wurde ein hepatischer Influxtransporter mit $K_m = 500 \mu\text{M}$ und $V_{\max} = 0,05 \mu\text{mol/min/g Gewebe}$ in das Modell integriert. Dieser Transporter ist allerdings in der Literatur bisher nicht beschrieben und musste daher an die zugrunde liegenden Messwerte angepasst werden.

Es folgte ein Abgleich der simulierten Exkretionsfraktionen mit Literaturdaten um die eingefügten Transporter- und Enzymkinetiken auf Richtigkeit zu überprüfen. So konnten für die renale Ausscheidung via glomerulärer Filtration, P-gp und MRP2 sowie für die biliäre Sekretion von unverändertem Etoposid vergleichbare Werte zu vorherigen Publikationen gefunden werden (siehe Reviews: Clark 1987 ²⁴, Holthuis 1988 ⁵⁶ und Hande 1992 ⁵⁰). Auch die Entstehung von Katechol- und Glucoronidmetaboliten von Etoposid wurden vom Modell entsprechend zur Literatur vorhergesagt (siehe Review: Clark 1987 ²⁴).

Da die Simulation die gemessenen Werte ausreichend wiedergaben, wurden nachfolgend individuelle Simulationen für jeden Patienten durchgeführt und anhand von mittleren und individuellen Konzentrations-Zeit-Kurven validiert.

Im Anschluss wurde das Modell für die Simulation von kindlichen Vorgängen angepasst. Altersabhängige physiologische Veränderungen von Körpergröße, Gewicht

und Body-Mass-Index sind wie bereits zuvor erläutert in PK-Sim® hinterlegt. Aus diesen Werten skaliert das Programm dann weitere Werte wie Blutfluss, Organgrößen, Körperzusammensetzung, usw.

Zuletzt wurde das Modell unter Berücksichtigung der kindlichen Ontogenie mit entsprechenden Faktoren für hepatische wie renale Prozesse angepasst. Tabelle 6 zeigt die entsprechenden altersbezogenen Faktoren. Die Produkte aus Faktor und V_{\max} -Wert der Enzymkinetiken wurden ins Modell übernommen.

Age	CYP3A4	UGT1A1	P-gp Leber	P-gp Niere
Neugeborenes	0,195	0,0200	1	0,1995
1 Tag	0,2	0,0252	1	0,2051
3 Tage	0,21	0,0355	1	0,2166
7 Tage	0,24	0,0561	1	0,2410
14 Tage	0,32	0,0923	1	0,2880
1 Monat	0,50	0,1778	1	0,4166
2 Monate	0,71	0,3378	1	0,6717
3 Monate	0,96	0,5	1	0,8543
6 Monate	1,11	1	1	0,9928
9 Monate	1,24	1	1	0,9997
1-3 Jahre	1,3	1	1	1
5 Jahre	1	1	1	1

Tabelle 6: geschätzte Enzymaktivität im Vergleich zu adulten Werten ³⁵

1.9 Ziel der Arbeit

In dieser Arbeit wird mithilfe eines physiologiebasierten pharmakokinetischen Ansatzes untersucht, in welchem Maße verschiedene Einflussgrößen zu Veränderungen der erwarteten Plasmaspiegel und AUC von Etoposid in einer kindlichen Kohorte führen.

Dazu werden folgende Fragen beleuchtet:

1. Gibt das angepasste Modell die individuellen Werte der Neuroblastomkohorte wieder?
2. Welchen Einfluss haben physiologische Schwankungen der renalen und hepatischen Funktion auf die erwartete Pharmakokinetik?
3. Welchen Einfluss haben Verdrängungen aus der Plasmabindung oder eine erniedrigte freie Fraktion auf die erwartete Pharmakokinetik?
4. Welchen Einfluss haben unterschiedliche Körperzusammensetzungen wie auch Kachexie und Adipositas auf die erwarteten Plasmaspiegel?
5. Können die Ergebnisse zuvor beschriebener Dosierungsregime durch das Modell wiedergegeben werden?

Diese Untersuchungen sollen zu einem besseren Verständnis der Etoposidtherapie beitragen und die Diskussion über eine individuellere Therapie ergänzen. Neben einer einzelnen Beleuchtung der oben genannten Parameter wird ebenso mithilfe der Populationspharmakokinetik die zu erwartende Streubreite innerhalb einer Kohorte untersucht.

2 Methodik

2.1 Patientenauswahl

Bei den berücksichtigten Patienten dieser Modellierung handelt es sich um Kinder, die im Rahmen der Neuroblastom-Studienprotokolle einen oder mehrere etoposidhaltende Chemotherapieblöcke an einer der teilnehmenden Kliniken erhielten. Der Studie lag ein positives Votum der Ethikkommission zugrunde (Medizinische Fakultät der Universität Köln, 30.06.97; siehe Anhang). Vom 06.02.97 bis zum 16.11.04 wurden insgesamt 214 Proben auf Etoposidspiegel untersucht (siehe I.K. Decius 2009 ³⁰). Zu jeder Probe gehörte ein Probenzettel mit Daten zu Patient und Therapie, im Folgenden werden die von einem Probenzettel entnommenen Daten „Datensatz“ genannt. Zum Einschluss in die hier durchgeführte Modellierung mussten folgende Daten für jeden Datensatz nachvollziehbar sein:

- Verblindetes Pseudonym des Patienten zur genauen Zuordnung
- Alter und Geschlecht des Patienten
- Körpergröße und Körpergewicht. Falls nur Körpergröße oder Körpergewicht angegeben waren, so musste die Körperoberfläche angegeben sein, um mittels Formel zur Körperoberflächenberechnung nach Mosteller ⁹⁰ den fehlenden Parameter zu ermitteln
- verabreichte Dosis mit Einheit (mg/m^2 oder in mg/kg)
- Infusionszeiten oder Angaben, die deren Bestimmung ermöglichten
- Entnahmezeitpunkt und Ergebnis der Probenanalyse

Von den 214 gesammelten und untersuchten Etoposidproben in der Datenbank fand n sich in allen Datensätzen ein verblindetes Pseudonym zum Patienten sowie eine Probennummer. Alter und Geschlecht waren aus jedem Probenzettel ersichtlich. Aufgrund fehlender Gewichts- und Größenangaben konnten 27 Datensätze nicht

simuliert werden. Auch die Körperoberfläche war in diesen Fällen nicht auf den Probenzetteln notiert worden und konnte nicht herangezogen werden.

Aus den verbliebenen Datensätzen konnte bei 15 keine sichere Angabe zur Dosierung gefunden werden. Da für die Modellierung nur Datensätze von Patienten in Frage kamen, die am Standardtherapiearm des NB-97-Regimes teilgenommen hatten, mussten weitere 39 Datensätze ausgeschlossen werden, da hier nach einem Hochdosis-Regime dosiert worden war.

Zwei Messungen vor dem Start der Infusion ($t = 0$, $C_{eto} = 0$ mg/L) wurden ausgeschlossen, da sie für die weitere Betrachtung irrelevant waren.

Vier Datensätze waren jeweils doppelt unter verschiedenen Probennummern registriert worden. Somit verblieben 127 Messwerte zur Simulation (siehe Flowchart in Abbildung 14).

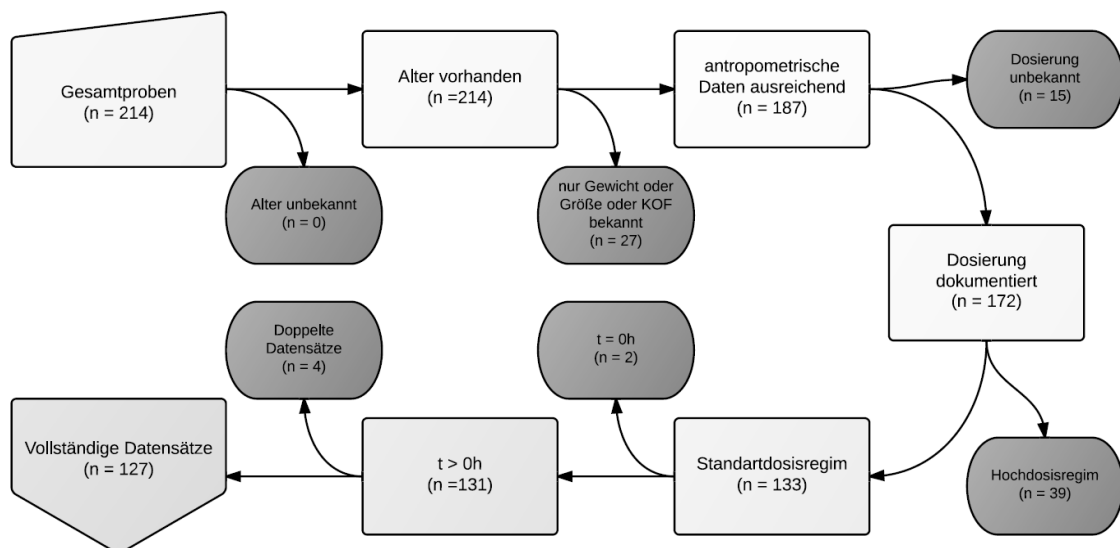


Abbildung 14: Flowchart zum Probeneinschluss

Kreatinin-, Bilirubin-, GPT- und Harnstoffspiegel wurden zusätzlich erfasst, falls Messungen erfolgt waren. Das somit eingeschlossene Kollektiv wird im Ergebnisteil näher beschrieben.

2.2 Modellanpassungen

Das von Kersting et al. entwickelte PK-Sim®-Modell zur Simulation von Etoposid im kindlichen Körper musste nun entsprechend der pharmakokinetischen Einflüsse anderer Medikamente des Neuroblastomprotokolls angepasst werden.

2.2.1 Vindesin und Vincristin

Vindesin wird am ersten Tag des N5-Blocks parallel mit Etoposid verabreicht, Vincristin ist Bestandteil des N6-Blocks. Obwohl Etoposid und Vindesin (wie auch Vincristin) über CYP3A4 metabolisiert werden, liegt laut Micromedex 2.0 keine Interaktion vor. Die zu erwartenden intrazellulären Konzentrationen sind zu niedrig, um eine signifikante Hemmung von CYP3A4 auszulösen ¹¹².

Baumhäkel et al. untersuchten den inhibitorischen Effekt verschiedener Zytostatika auf CYP3A4. Dabei zeigten Vinblastin und Vincristin eine entsprechende Hemmung der Enzymaktivität. Laut Baumhäkel et al. werden für eine Inhibition von CYP3A4 ausreichende Vincristin-Plasmaspiegel in Chemotherapie-Regimen allerdings nicht erreicht ⁸.

Kawashiro et al. konnten dies belegen; die Hemmung der Etoposidmetabolisation unter Hinzugabe von Vincristin wurde untersucht. Bei 10 µM Vincristin senkte sich die Reaktionsgeschwindigkeit auf etwa 70%, bei 100 µM auf etwa 40% ⁶⁸.

Die therapeutisch erreichten Serumspiegel bei Gabe von 3 mg/m² Vincristin liegen allerdings im nanomolaren Bereich ¹¹², also mindestens um den Faktor 100 geringer. Daher ist hier nicht von einer relevanten Hemmung auszugehen.

Dies alles konnte jedoch nur für Vincristin gezeigt werden, nicht aber für Vindesin, welches an Tag 1 des N6-Blocks zusammen mit Etoposid verabreicht wird. Für Vindesin liegt hierzu keine Publikation vor, aufgrund der Ähnlichkeit zu Vincristin erfolgte hier im Modell allerdings keine Anpassung.

2.2.2 Cisplatin

Da die bereits in der Einleitung erwähnten Studien von Hamilton ⁴⁷, Meijer ⁸⁵ und Kakiyama ⁶⁵ jeweils die Langzeitveränderungen nach Abschluss mehrerer Zyklen einer Polychemotherapie aufzeigen, konnten die gefundenen Verminderungen der GFR (19 - 21% bzw. 23%) und des RPF (23% bzw. 27%) nicht eins zu eins ins Modell übernommen werden, sondern dienten nur der Orientierung. Die von Offermann beschriebene akute Veränderung des eRPF (-15,5%) und der GFR (-1,7%) innerhalb der ersten sechs Stunden wurde somit zur Grundlage genommen, den renalen Blutfluss im Modell um 20% zu minimieren, da im weiteren Verlauf der 96-stündigen Infusion auch mit einer zunehmenden Annäherung an den zuvor erwähnten Wertebereich zu erwarten war. In den Studiendaten konnten keine Messwerte gefunden werden, die Rückschlüsse auf ein mögliches Schädigungsmuster der Niere je Patient zuließen, um hier einer Individualisierung näher zu kommen.

Die im Modell implementierte GFR wurde ebenfalls orientierend angepasst und entsprechend der Untersuchung von Benoehr et al. um 15% gesenkt, da auch hier von einer im Verlauf zunehmenden Funktionsstörung auszugehen war, die gemittelt wiedergegeben werden musste.

Initial wurde überlegt, zur Berechnung der individuellen GFR auf eine Berechnung der Kreatininclearance oder auf eine allometrische Berechnung nach Hayton et al. zurückzugreifen. Es waren nur für 84 von 127 Messpunkten Kreatininspiegel auf den Probezetteln zu eruieren, welche zu 44 der 65 Simulationen gehörten. Von diesen 84 Messwerten lagen nur sechs über den altersentsprechenden Referenzbereichen. Nach einer Untersuchung von Pierrat et al. führt eine Kalkulation der GFR mithilfe der Cockcroft-Gault-, MDRD- oder Schwartz-Formel ^{26, 78, 110} für Kinder unter zwölf Jahren nicht zu einem zufrieden stellenden Ergebnis ⁹⁶. Für Kinder über zwölf Jahren lagen mit der Cockcroft-Gault-Formel 95% der abgeschätzten Filtrationsraten in einem sehr breiten Bereich von ± 40 mL/min/1,73 m² Körperoberfläche.

Eine testweise Implementierung der Kreatininclearance nach den Formeln von Schwartz et al.¹¹⁰ und Cockcroft-Gault²⁶ in 10 Simulationen führte zu größeren individuellen Abweichungen der Simulationsergebnisse von den Messwerten, als durch eine Berechnung der durchschnittlichen GFR eines Patienten nach der Formel von Hayton et al. Auch Würthwein et al. fanden in ihrer Untersuchung starke Abweichungen der Formelergbnisse untereinander sowie einen großen Einfluss von Messungenauigkeiten des Kreatininwerts¹²⁷. Daher wurde hier auf eine weitere Individualisierung der Simulationen verzichtet.

Die individuellen Werte wurden der Formel nach Hayton et al.⁵³ entsprechend dem Alter und Gewicht angepasst berechnet (siehe unten). Auch PK-Sim® errechnet die altersbezogene GFR im Scaling-Modul nach dieser Formel.

$$GFR(ml/min) = weight(kg)^{0,662} * (2,6 * e^{-0,0822*age(month)} + 8,14 * (1 - e^{-0,0822*age(month)}))$$

Die Transporterkinetiken der hier implementierten renalen Enzyme MRP2 und P-gp wurden nicht verändert.

2.2.3 Ifosfamid

Im NB-97-Protokoll erhalten die Patienten zwei oder drei N6-Blöcke mit jeweils 1,5 g/m²/d Ifosfamid an fünf aufeinander folgenden Tagen. Die kumulative Dosis erreicht somit bis zu 22,5 g/m² (3 Blöcke). Entsprechend der zuvor erwähnten Untersuchung von Stöhr et al. an 593 pädiatrischen Sarkompatienten ist somit nur in einem äußerst geringen Anteil mit einer Tubulopathie zu rechnen (0,4% der Patienten bei einer Gesamtdosis < 24 g/m²)¹²⁰. Unter ifosfamidhaltiger Therapie zeigen sich zwar in bis zu 90% der Fälle subklinische Veränderungen renaler Parameter, die klinische Signifikanz ist aber fraglich¹²⁰. Da durch keinen der erhobenen Messwerte zu eruieren war, welcher Patient potentiell eine Tubulopathie erlitten haben könnte, wurde hier auf eine Anpassung im Modell verzichtet. Eine potentielle kompetitive Hemmung der Leberenzyme war hier irrelevant, da Ifosfamid nicht zeitgleich mit Etoposid verabreicht wurde.

2.2.4 Doxorubicin

Die Enzym- und Transporterkinetiken von Doxorubicin wurden nicht angepasst, da es als Bestandteil des N6-Blocks nur zeitversetzt zu Etoposid verabreicht wurde. Laut Micromedex bestehen keine bekannten Interaktionen, beide Medikamente werden in Polychemotherapien auch zusammen eingesetzt.

2.2.5 Dacarbazin

Eine Enzymhemmung oder Induktion der implementierten Transporter wurde nicht beschrieben ¹²⁰, daher erfolgte auch hier keine Anpassung des Modells.

2.2.6 Anpassungen unabhängig von der Polychemotherapie

Der V_{\max} -Wert des biliären P-gp-Exporters wurde auf 15 nmol/min/g Gewebe halbiert, um die in der Literatur beschriebenen Exkretionsfraktionen zu erreichen. Das von Kersting beschriebene Modell erzeugte biliäre Exkretionsfraktionen von etwa 15-17% ^{70, 70}, die eher über den in der Literatur beschriebenen Werten von unter 2% bis 16% lagen. Arbuck fand bei zwei Patienten mit vollständiger biliärer Drainage eine prozentuale Etoposidausscheidung über die Galle von 6% und < 2%, bei einem Patienten allerdings von 16% ⁶. Weitere Autoren setzen die biliäre Exkretion bei unter 10% an ⁷⁰. Durch die beschriebene Halbierung konnte die Fraktion auf ca. 8% gesenkt werden.

2.3 Individuelle Simulationen

Die 127 Datensätze wurden nach Patienten geordnet, die Datensätze eines jeden Patienten weitergehend nach Zyklen sortiert. Für jeden Patienten wurden aus den Angaben für Alter, Größe und Gewicht der Datensätze die Mittelwerte berechnet, falls Daten aus mehreren Zyklen vorlagen individuell für jeden Zyklus. Insgesamt ergaben sich so 65 Simulationen (= Zyklen) für 38 Patienten, je mit Alter, Größe und Gewicht als Eingabeparameter für PK-Sim®.

PK-Sim® benötigte weiterhin wie in der Einleitung erläutert stoffspezifische Werte, die das Pharmakon beschreiben. Unter „*Compound Data*“ wurde die bereits von G. Kersting verwendeten Parameter für Fettlöslichkeit (Log P von 0,9) und Molekulargewicht (589 g/mol) eingegeben ⁷⁰.

Als weiterer Parameter wurde die freie Fraktion benötigt. Es zeigte sich eine Korrelation der gemessenen freien Fraktion mit den Etoposidmesswerten der Patientenkohorte (Pearson Korrelations-Koeffizient $r = -0,283$, $p = 0,004$). Zur Berücksichtigung dieser Tatsache wurde die individuelle freie Fraktion somit in jedes VI-Modell implementiert. Falls das ungebundene Etoposid nicht bestimmt worden war, galt die mittlere freie Etoposidfraktion der Kohorte von 4,56% (Median, Gesamtbereich zwischen 2,18% - 10,53%). Insgesamt war dies in 10 der 65 Simulationen notwendig. Waren Messwerte für ungebundenes Etoposid vorhanden, so wurde die gemittelte freie Fraktion pro Patient und Zyklus berechnet. Die Berechnung der freien Fraktion als prozentualer Anteil des gesamten Etoposids erfolgte nach folgender Formel:

$$\text{freie Fraktion (\%)} = 100 \times \text{Etoposidspiegel}_{\text{ungebunden}} \text{ (mg/L)} / \text{Etoposidspiegel}_{\text{gesamt}} \text{ (mg/L)}$$

Im nächsten Schritt wurde aus den sortierten Daten pro Zyklus und Patient ein VI in PK-Sim® erzeugt (insgesamt 65). Die VIs sollten dabei den tatsächlichen Patienten bestmöglich entsprechen. Hierzu wurde im „*Species -> Selection*“-Tap das jeweils gemittelte Alter, Größe und Gewicht eingegeben. Die Rasse wurde auf „*European (ICRP 2002)*“ festgelegt, das Geschlecht wurde eingegeben. Danach wurden mit Klick

auf den „Apply“-Button die spezifischen Parameter des VI durch PK-Sim® berechnet und in der Simulation implementiert.

Im „Species -> Physiology -> Blood Flow“-Tab wurde dann die Nierendurchblutung entsprechend der im Methodenteil beschriebenen Anpassung an Cisplatin um 20% gesenkt.

Die Gewebepartitionskoeffizienten wurden durch PK-Sim® entsprechend den Formeln nach Rodgers and Rowland berechnet^{103, 104}, was entsprechend im „Distribution -> Partitioning“-Tab ausgewählt wurde.

Im Tab „Distribution -> Active Transport“ wurde der von G. Kersting beschriebene hepatische Influxtransporter mit den entsprechenden K_m und V_{max} -Werten implementiert.

Die hepatischen und renalen Transporter wurden im entsprechenden Bereich unter „Metabolism & Excretion -> Hepatic“ bzw. „... -> Renal“ erzeugt. Die implementierte GFR wurde dabei für jeden Patienten und jeden Zyklus nach Hayton individuell berechnet und wie zuvor erläutert um 15% reduziert. Auch die von G. Kersting berücksichtigten Ontogeniefaktoren der hepatischen und renalen Enzyme wurden in die Berechnung von V_{max} einbezogen. Die biliäre Exkretion wurde jedoch halbiert, um die in der Literatur beschriebenen Exkretionsfraktionen besser wiedergeben zu können.

Als Dosis wurde die auf den Probenzetteln vermerkte Dosis hochgerechnet auf die Gesamtdosis für vier Tage als kontinuierliche Dauerinfusion über 96h eingegeben.

Weitergehende Modifikationen am Modell wurden nicht durchgeführt. Alle weiteren von PK-Sim® generierten Parameter wurden unverändert belassen.

2.4 Populationspharmakokinetische Simulationen

Der Ablauf sowie die benötigten Parameter für populationspharmakokinetische Untersuchungen mithilfe des PK-POP-Moduls in PK-Sim® wurde bereits in der Einleitung besprochen (siehe 1.7.3).

Zur Generierung der Population wurden die Mediane der in diese Studie eingeschlossenen Patienten der NB-97-Kohorte genutzt. Der Altersbereich der Population wurde um nur einen Monat variiert (Median 2,39 Jahre), um etwaige ontogenetische Einflüsse auf ADME-Prozesse möglichst klein zu halten. Daher wurde das Alter zwischen 2,31 und 2,48 Jahren festgelegt. Die mittlere Größe der NB-97-Kohorte lag nahe der 50. Perzentile, der Schwankungsbereich der Körpergröße wurde zwischen der 25. und 75. Perzentile eines Jungen des medianen Alters festgelegt (Größe 87,4 - 92,4 cm). Das Gewicht wurde im Hinblick auf die Population (Median 12,7 kg) zwischen 12,4 und 13,3 kg variiert (25. und 50. Perzentile). Die restlichen Parameter (Enzym- und Transporterkinetiken, GFR) wurden wie in 2.3 beschrieben angepasst. Als freie Fraktion wurde der Median der Kohorte genutzt (4,56%).

Innerhalb des PK-POP-Moduls von PK-Sim® konnte zwischen konstanter Dosis oder Dosis pro kg KG gewählt werden. Entsprechend der zugrunde gelegten Werte für Körpergröße und -gewicht (Mediane) errechnete sich eine KOF von $0,57\text{m}^2$. Dies bedeutet eine Dosis von 57 mg/d und 226,3 mg über vier Tage. Hieraus ergab sich (bei 12,7kg KG) eine Dosierung von 17,791 mg/kg KG. Um mögliche Einflüsse unterschiedlicher Dosierungen gering zu halten, wurde die Dosierung pro kg KG gewählt. Hierdurch konnte die Schwankung umgerechnet zwischen 97,60 und 104,03 mg/m² KOF pro Tag gehalten werden (errechnet aus minimaler und maximaler KOF der Kohorte). Solche Dosierungsschwankungen erzeugten im Modell nur Konzentrationsunterschiede in vergleichbarer Höhe, also von etwa -2,5% und +4% der maximalen Konzentration und der AUC.

PK-Sim® erzeugte aus diesen Parametern nun $n = 500$ Individuen mit einem Geschlechterverhältnis von 1:1. Die so generierte Population wurde für erste

Untersuchungen genutzt. Später wurden für spezielle Fragstellungen auch andere anthropometrische Populationscharakteristika genutzt, dies wird jeweils im Ergebnisteil erläutert.

Im nächsten Schritt wurden dann Enzym- und Transporterkinetiken, die GFR und die freie Fraktion statistisch variiert. Im Fall der GFR wurde entsprechend der Untersuchung von Heilbron et al. eine Normalverteilung angenommen⁵⁴. Die Studie nutzte Daten von 101 Kindern und schätzt die Art der GFR-Verteilung in einer gesunden Kohorte realistisch ab. Die mittleren GFR von zwei- bis zwölfjährigen Kindern wurde den NKF-Richtlinien entnommen (*national kidney foundation*, 133 ± 27 ml/min/1,73 m² Körperoberfläche)⁷. Für die GFR wurde um die Filtrationsrate der mittleren Kohorte von 34,86 ml/min (berechnet nach Hayton⁵³) mit einer entsprechenden Standardabweichung von 7,08 ml/min implementiert.

Für CYP3A4 hatten Dorne et al. die interindividuelle Variabilität der Metabolisation von 15 Substraten untersucht, die hauptsächlich über dieses Enzym abgebaut werden³². Dabei zeigte sich im Durchschnitt eine interindividuelle Variabilität von 32% für die intravenöse Applikation der Pharmaka. Die Clearance-Werte für 13 Arzneistoffe waren mit einem Standardfehler von 1,2 bis 1,6 lognormal verteilt³². Da die Metabolisation von Etoposid nicht untersucht wurde, wurde hier der Mittelwert von 1,3 im Modell implementiert. Dies sollte einen realistischen Schätzwert der tatsächlichen physiologischen IIV darstellen.

Dasselbe geschah für UGT1A1. Die im Modell genutzten Enzymkinetiken für UGT1A1 stammten aus einer Untersuchung von gepoolten Lebermikrosomen von Watanabe et al. Mithilfe von 13 humanen Lebermikrosomen wurde die interindividuelle Variation abgeschätzt. Dabei zeigten sich ein Wertebereich für V_{max} zwischen 1,4 und 109,9 pmol/min/mg Protein und somit eine 78,5-fache Schwankung. Fisher et al. beschrieben eine 30-fache Schwankung der beobachteten maximalen Reaktionsgeschwindigkeiten der UGT1A1-abhängigen Glucuronidierung von Estradiol, die teils auf unterschiedliche Genotypen zurückgeführt werden konnte⁴¹. Inwieweit diese zu einer veränderten Etoposidmetabolisation beitragen, ist bis jetzt noch nicht untersucht. Da Watanabe et

al. *in vitro* noch größere interindividuelle Unterschiede aufzeigten, könnte hier aber ebenfalls ein genotypischer Einfluss auf die Etoposidverstoffwechslung vorliegen. Um mögliche Überschätzungen der IIV auszuschließen wurde hier nun ebenfalls nur ein 1,3-facher Fehler bei einer lognormalen Verteilung von V_{\max} für UGT1A1 angenommen und im PK-POP-Modul eingefügt.

Die Enzymkinetiken von MRP2 und P-gp wurden ebenfalls entsprechend ihrer IIV variiert. Eine Untersuchung von Meier et al. maß die Expression dieser Enzyme in biliären Leberkanälen⁸⁴. Dabei war die interindividuelle Variabilität mit über 60% sehr groß, die Verteilung war erneut rechtschief und nach logarithmischer Transformation der Werte normalverteilt. Für die Transporterkinetiken der Niere wurde daher wieder eine lognormale Verteilung angenommen. Hilgendorf et al. erforschten die Expression von 36 Transportergenen in der menschlichen Niere und fanden für P-gp einen VK von etwa 40%, die errechnete Standardabweichung für MRP2 war mit einem VK von über 60% noch größer⁵⁵. Der Fehler wurde dementsprechend erneut bei lognormaler Verteilung auf 1,3 festgelegt, um die interindividuelle Variabilität (IIV) auch hier nicht zu überschätzen.

Der biliären Exkretion wurde entsprechend derselben Untersuchung von Meier et al. abgeschätzt. Die IIV der beschriebenen Transporter - namentlich MDR1 (P-gp), MDR3, MRP2 und BSEP (bile salt export pump, Gallensäure-Export-Pumpe) – waren mit 46 - 63% (VK) hoch. Bei unterstellter logarithmischer Normalverteilung lagen diese sogar zwischen 55 und 79%. Auch konnten genotypabhängige Variabilitäten in der Transporterausstattung beschrieben werden⁸⁴. Da die hier untersuchten Transporter zum Teil an der Etoposidexkretion in Gallenkanälchen beteiligt sind, wurde ihre Variabilität hier zugrunde gelegt. Da wieder keine Überschätzung erwünscht war, wurde nur ein 1,3-facher lognormaler Standardfehler für die biliäre Exkretion ins PK-POP-Modul eingefügt.

Dem aktiven Influxtransporter wurde kein Schwankungsbereich zugeordnet, da seine Existenz noch nicht belegt werden kann.

2.5 Statistische und graphische Auswertung

Die Auswertung der Daten erfolgte mithilfe von Microsoft® Office Excel 2003 SP2, SigmaStat® Version 3.10.0 (2004) und SigmaPlot® Version 9.0 (2004) der Firma Systat Software Inc. sowie PK-Sim®.

Soweit nicht anders angegeben wurde Excel zur Berechnung von arithmetischen und geometrischen Mittelwerten, Medianen, Standardabweichungen, Quantilen, Maxima und Minima verwendet. SigmaStat wurde herangezogen, um weitere statistische Untersuchungen durchzuführen.

Signifikanztests

Die zur Untersuchungen von Unabhängigkeiten oder Effekten mehrerer Gruppen oder Messreihen herangezogenen Tests werden in Tabelle 7 aufgeführt. Je nach Anzahl der Stichproben, der zugrunde liegenden Verteilung und der Abhängigkeit der Stichproben wurden die hier aufgeführten Tests verwendet. Insgesamt wurden der gepaarte t-Test, der Wilcoxon-Vorzeichenrangtest, der Friedman-Test sowie der Kruskal-Wallis-Test verwendet.

Die ersten beiden Tests dienen dem Vergleich der Mittelwerte zweier abhängiger Gruppen. Beide müssen ähnliche Varianzen aufweisen. Je nach Verteilung der Werte wurde der t-Test (normalverteilt) oder der Wilcoxon-Vorzeichenrangtest (nicht normalverteilt) genutzt. Es konnte somit gesagt werden, ob beide Gruppen mit einer ausreichenden Sicherheit derselben Grundgesamtheit angehören oder nicht.

Der Friedman-Test und der Kruskal-Wallis-Test beantworten die Frage, ob mehrere Gruppen mit ausreichender Sicherheit derselben Population angehören oder nicht. Ihre Anwendung unterscheidet sich anhand der Abhängigkeit der einzelnen Gruppen zueinander. Die Werte müssen mindestens ordinalskaliert sein. Beide Tests bedienen sich dabei der Varianzanalyse und basieren auf Rangplatzsummen. Sie werden verwendet, wenn die zu untersuchenden Gruppen oder Messreihen nicht normalverteilt sind.

	Stichproben	nicht normalverteilt	normalverteilt
unabhängig	2	Wilcoxon Rangsummentest = Mann-Whitney-U-Test	Ungepaarter t-Test
unabhängig	>2	Kruskal-Wallis-Test	F-Test (ANOVA)
abhängig	2	Wilcoxon-Vorzeichenrangtest	Gepaarter t-Test
abhängig	>2	Friedman-Test	ANOVA für Messwiederholungen

Tabelle 7: Aufzählung möglicher Signifikanztests, fett markiert sind die hier verwendeten Tests

In dieser Arbeit wurde durchgehend ein Signifikanzniveau von $\alpha = 0,05$ ausgegangen.

Korrelationskoeffizient nach Pearson

Der Produkt-Moment-Korrelation nach Pearson wurde als Maß für den linearen Zusammenhang zwischen kardinalskalierten, voneinander unabhängigen Werten genutzt. Hiermit kann untersucht werden, ob eine Beziehungen zwischen bestimmten Größen bestehen. Der Test beweist dabei keine kausalen und logischen Zusammenhänge, das Ergebnis kann sehr stark von Extremwerten beeinflusst werden. SigmaStat® berechnet gleichzeitig das Konfidenzintervall, mit dem der berechnete Korrelationskoeffizient von 0 abweicht (blaue Linien um einige Regressionsgraden).

Graphische Darstellung

Mithilfe von Excel® und SigmaPlot® wurden die in der Arbeit verwendeten Boxplots, Scatterplots mit und ohne Regressionsgraden, Histogramme und Balkendiagramme erstellt.

Pharmakokinetische Auswertung

Werte für C_{max} , AUC, CL und $t_{1/2}$ wurden durch die in PK-Sim® integrierte Auswertungsfunktion automatisch berechnet. Ebenfalls stellt PK-Sim® die errechneten Konzentrations-Zeit-Kurven graphisch dar, auch diese wurden teilweise übernommen.

3 Ergebnisse

3.1 Simulation der NB-97-Kohorte

Aus den primär 214 vorhandenen Datensätzen (je Probenzettel ein Datensatz), die im Rahmen des therapeutischen Drugmonitorings des NB-97-Regimes erhoben wurden, konnten 127 einem PK-Sim® Modell zugeführt werden. Insgesamt konnten 65 Plasmaspiegelverläufe zugehörig zu 38 realen Patienten simuliert werden (je Zyklus ein VI, teils mehrere VIs pro realem Patient). Das durchschnittliche Alter der eingeschlossenen Patienten belief sich auf 2,39 Jahre (Median, Bereich zwischen 0,5-13,9 Jahre), mit einer Körpergröße von 90,6 cm (Median, Bereich 60-163 cm) sowie einem Körpergewicht von 12,7 kg (Median, Bereich 5,9-44 kg). Tabelle 8 gibt die Populationscharakteristika wieder.

Tabelle 9 zeigt die gemittelten Eingabeparameter jedes Patienten sowie die jeweiligen Perzentilen (berechnet entsprechend der CDC-Growth-Charts²⁰). Messwerte für ungebundenes Etoposid, Kreatinin, Harnstoff, Bilirubin und GPT waren in 102, 89, 64, 69 und respektive 84 Fällen vorhanden. Für die 65 Simulationen wurde wie im Methodenteil beschrieben verfahren.

	Anzahl der Messwerte	Median	Mittelwert		Standardabweichung	Bereich
Alter (a)	127	2,39	3,78	±	3,76	0,50-13,86
Größe (cm)	127	90,60	96,23	±	25,74	60-163
Gewicht (kg)	127	12,70	15,15	±	8,30	5,85-44
Ges. Etoposid (mg/L)	127	3,03	3,33	±	1,61	0,83-9,95
Fr. Etoposid (mg/L)	102	0,131	0,154	±	0,074	0,025-0,344
freie Fraktion (%)	102	4,56	4,82	±	1,65	1,87-10,42
Kreatinin (mg/dL)	89	0,34	0,44	±	0,24	0,2-1,2
Harnstoff (mg/dL)	64	17,10	18,07	±	9,94	2,7-35,0
Bilirubin (mg/dL)	69	0,40	0,47	±	0,23	0,1-1,1
GPT (U/L)	84	19,00	19,98	±	11,32	5-55

Tabelle 8: Überblick über die Populationscharakteristika für alle erhobenen Messwerte

Nr.	Patient	Sex	Alter in a	Größe in cm (Perzentile)	Gewicht in kg (Perzentile)	Messwerte gesamtes Etoposid	Messwerte freies Etoposid	Anzahl simulierter Zyklen (VIs)
1	acl96	w	2,6	102 (>97)	15,0 (75-90)	2	0	1
2	aej99	w	1,1	75 (25-50)	8,1 (<3)	2	2	2
3	aij95	m	3,1	102 (90-95)	15,5 (50-75)	2	2	1
4	anj96a	w	4	99 (25-50)	15,6 (25-50)	6	5	3
5	anm98	m	1,6	80 (10-25)	9,6 (<3)	4	4	2
6	apl94	w	3	101 (95-97)	15,6 (75-90)	4	4	2
7	aty99	w	1,3	73 (<3)	7,8 (<3)	4	4	2
8	aud99	m	2,1	91 (75-90)	12,9 (50-75)	6	6	3
9	cgc98	m	1,6	83 (25-50)	10,4 (5-10)	6	4	3
10	chk96	m	1,2	80 (50-75)	10,8 (25-50)	2	1	1
11	chl97a	m	1,2	71 (<3)	8,9 (<3)	3	3	1
12	chp99	m	1,8	79 (3-5)	14,8 (90-95)	2	2	1
13	chs87a	m	13,3	145 (3-5)	32,7 (<3)	6	6	3
14	eca99	m	1,1	78 (50-75)	12,1 (75-90)	5	5	2
15	ecs96	w	0,7	71 (25-50)	9,3 (25-50)	4	0	2
16	egv90a	w	13,9	163 (50-75)	44,0 (25-50)	2	2	1
17	ein96	m	1,2	74 (5-10)	9,0 (<3)	4	1	2
18	esp96	m	3,7	97 (10-25)	12,5 (<3)	6	2	3
19	etc99	w	1,3	81 (75-90)	9,8 (10-25)	4	4	2
20	etj92	w	7,8	127 (50-75)	22,9 (25-50)	7	7	2
21	haa97	m	4,7	102 (10-25)	18,0 (50-75)	1	1	1
22	hed93	m	6	118 (50-75)	20,0 (25-50)	2	2	1
23	isl97	m	3,7	97 (10-25)	13,8 (10-25)	4	4	2
24	ivs95	m	1,7	80 (5-10)	9,3 (<3)	1	1	1
25	lea92	m	11,8	146 (25-50)	28,7 (3-5)	2	2	1
26	les95	m	1,7	81 (10-25)	10,0 (3-5)	2	2	1
27	olj92	m	6,1	116 (25-50)	18,9 (10-25)	2	1	1
28	opn90	w	11,1	140 (25-50)	26,3 (<3)	2	2	1
29	osd01	m	3,2	95 (25-50)	13,5 (10-25)	2	2	1
30	oxb96	w	2,9	100 (90-95)	15,6 (75-90)	1	1	1
31	rel97	m	2,8	94 (50-75)	15,4 (75-90)	4	4	2
32	rnn96	w	1,3	78 (50-75)	9,8 (25-50)	5	2	3
33	ron00	m	1,2	80 (75-90)	10,0 (25-50)	2	1	1
34	ruk94	w	3,3	90 (5-10)	10,9 (<3)	1	0	1
35	tth89	m	11,6	157 (90-95)	34,2 (25-50)	6	5	3
36	uec99	m	1,5	81 (25-50)	8,9 (<3)	6	6	3
37	ura99	m	0,8	72 (25-50)	9,7 (50-75)	1	0	1
38	zzf96	w	0,5	60 (<3)	5,9 (<3)	2	2	1

Tabelle 9: Übersicht der simulierten Patienten der NB-97-Kohorte, Größe, Gewicht und Alter wurden für jeden Patienten gemittelt, die Perzentilen entsprechen der den CDC-Growth-Charts ²⁰

In 7 Fällen musste das Körpergewicht des simulierten Individuums im Vergleich zum dazugehörigen Patienten erhöht werden (siehe Tabelle 10), da PK-Sim® sonst die Berechnung nicht möglich war. Die Patienten zeigten in vier Fällen ein sehr niedriges Körpergewicht (< 3. bzw. 5. Perzentile, verglichen mit Wachstumstabellen der CDC ²⁰), in drei Fällen war das Gewicht normal, die Patienten allerdings sehr groß (> 90. Perzentile, siehe Tabelle 10). Somit errechnete das Programm nach Organerzeugung bereits ein höheres Gewicht des simulierten Patienten, als die Eingabeparameter es zuließen und das Eingabegewicht musste abweichend erhöht werden (+ 0,6 - 16%).

Patient	Alter (a)	Größe (cm)	Größen-perzentile	Gewicht (kg)	Gewichts-perzentile	Simuliertes Gewicht (kg)	Gewichts-änderung (%)
chs87a	13,3	144	3. - 5.	30,0	< 3.	33,5	+11,6%
chs87a	13,4	145,5	3. - 5.	32,0	< 3.	34,4	+7,5%
lea92	11,8	146	25. - 50.	28,7	3. - 5.	33,3	+16%
opn90	11,1	140	25. - 50.	26,3	< 3.	28,2	+7,2%
tth89	11,5	157	90. - 95.	34,7	25. - 50.	35,6	+2,6%
tth89	11,6	157	90. - 95.	32,0	10. - 25.	35,9	+12,2%
tth89	11,8	157	90.	36,0	25. - 50.	36,2	+0,6%

Tabelle 10: Alter, Größe und Gewicht der Patienten, für die das jeweilige Gewicht zur Modellgenerierung erhöht werden musste, die Perzentilen entsprechen der Wertelage innerhalb der CDC-Growth-Charts ²⁰

Die 24h- und 96h-Messwerte dieser Patienten waren mit $3,10 \pm 1,55$ mg/L im Vergleich zur restlichen Kohorte mit $3,36 \pm 1,62$ mg/L nur minimal niedriger (Mediane 2,92 und 3,05 mg/L). Die simulierten Etoposidspiegel der VIs mit verändertem Gewicht wichen weitaus stärker von den simulierten Spiegeln der restlichen simulierten VIs ab ($4,09 \pm 1,07$ mg/L gegen $3,38 \pm 0,74$ mg/L; Mediane 4,55 gegen 3,33 mg/L).

3.1.1 Individuelle Simulationsergebnisse

Die von PK-Sim® pro VI erzeugten Plasmaspiegelkurven wurden nun mit den Messwerten der zugehörigen Patienten verglichen. Zwischen simulierten und

gemessenen Werten zeigte sich eine Korrelation von $r = 0,395$ (Pearson Korrelationskoeffizient, $p < 0,001$). Die Punkteschleife von beobachteten und simulierten Werten für den Etoposidplasmaspiegel sowie die Regressionsgrade zeigt Abbildung 15. Ebenfalls dargestellt ist die Winkelhalbierende. Die Kohorte zeigte insgesamt eine breite Streuung der gemessenen Etoposidplasmaspiegel, die Streuung der Simulationsergebnisse des Modells war geringer. Tendenziell schienen hohe Messwerte auch zu hohen Simulationsergebnisse gehörig. Zur genaueren Begutachtung der individuellen Fehler als Abweichung von Simulation zu Messwert wurden diese als Boxplots aufgetragen (siehe Abbildung 16). Der Simulationsfehler (bzw. die Simulationsabweichung) berechnet sich im Folgenden nach folgenden Formeln:

- Fehler (mg/L) = Simulationswert (mg/L) – Messwert (mg/L)
- Fehler (%) = $100 \times [\text{Simulationswert (mg/L)} - \text{Messwert (mg/L)}] / \text{Messwert (mg/L)}$

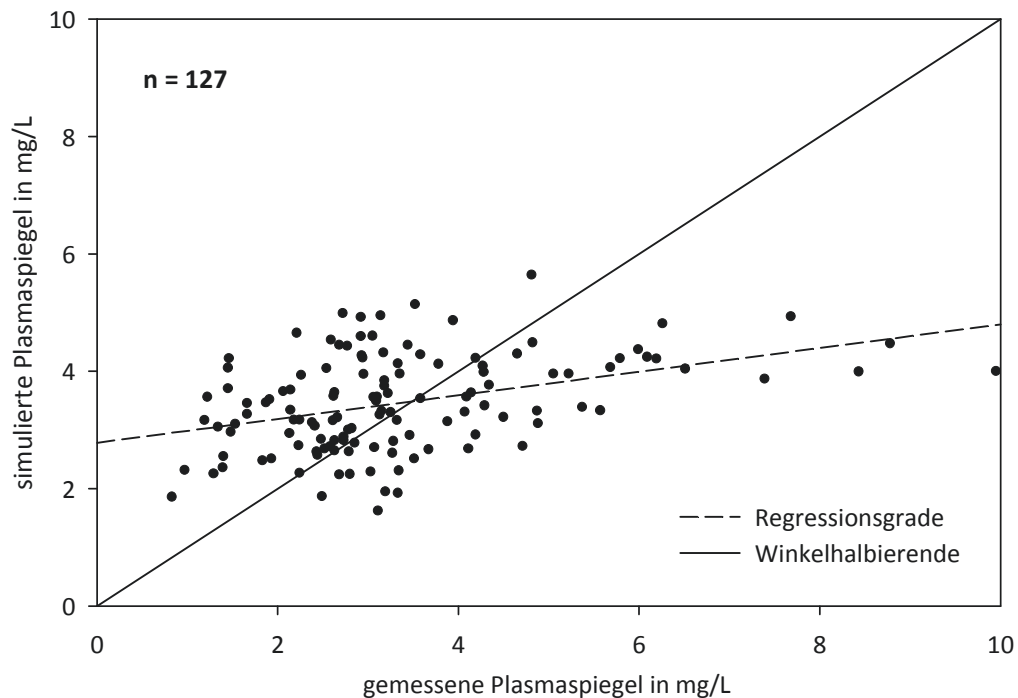


Abbildung 15: Punkteschar der gemessenen und simulierten Etoposidplasmaspiegel, dargestellt ist ebenfalls die Regressionsgrade ($r = 0,395$, $p < 0,001$) und Winkelhalbierende

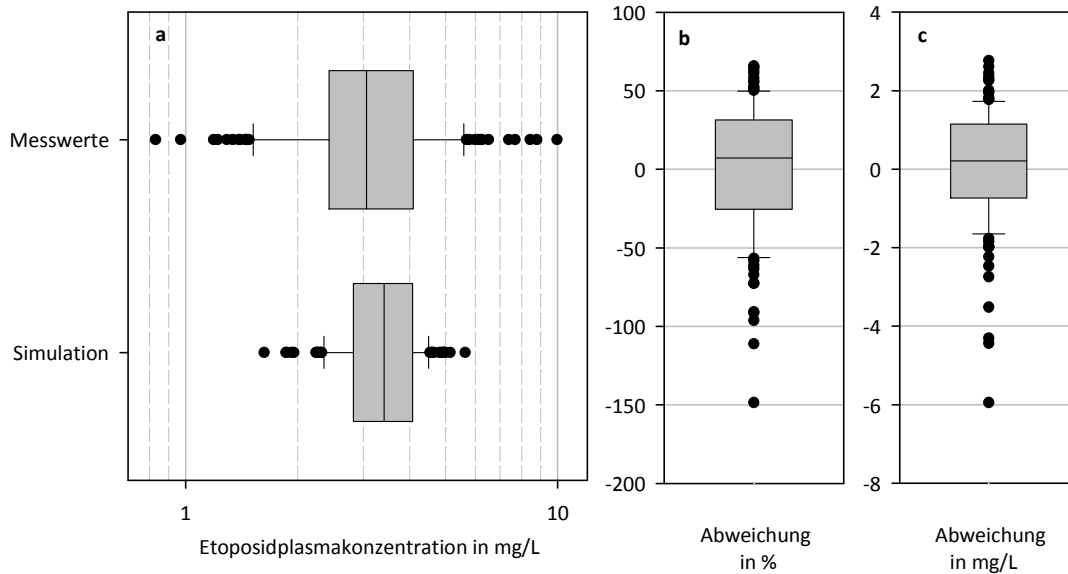


Abbildung 16: a: graphische Darstellung der Verteilung der Mess- und Simulationsergebnisse, zur besseren Übersicht logarithmisch aufgetragen; b: Darstellung des Fehlers in % (Formel siehe oben); c: Darstellung des Fehlers in mg/L (Formel siehe oben) (Boxen: 25. und 75. Perzentile um den Median, Fühler 10. und 90. Perzentile, Punkte zeigen außerhalb liegende Werte)

Abbildung 16a zeigt, dass 80% der gemessenen Werte zwischen 1,57 und 5,51 mg/L lagen ($3,36 \pm 1,61$ mg/L; Bereich 0,83 - 9,95). 80% der simulierten Werte lagen zwischen 2,53 und 4,91 mg/L um einen Mittelwert von 3,72 mg/L (SD 0,93; Bereich 1,75 - 6,06). Beim Vergleich der individuellen Abweichungen der beobachteten von den simulierten Werten - gemessen als prozentualer Fehler (Formel siehe oben) - zeigten sich Abweichungen von maximal 75% (bis auf vier Werte), 80% der beobachteten Werte wichen um etwa 50% oder weniger vom Simulationswert ab (siehe Abbildung 16b), der Variationskoeffizient lag bei $\pm 44\%$. Absolut lagen 80% der Messwerte im Bereich von $\pm 1,8$ mg/L um die jeweiligen simulierten Werte (siehe Abbildung 16c).

Der Simulationsfehler wurde nun im Folgenden auf mögliche Korrelationen zu ebenfalls erhobenen Daten und Messwerten hin untersucht. Als erstes erfolgte eine Untersuchung des Alterseinflusses auf den Simulationsfehler. Es zeigte sich dabei keine Abhängigkeit zwischen Alter des simulierten Patienten und der prozentualen Fehlers der Simulation (siehe Abbildung 17), der entsprechende Korrelationskoeffizient lag bei $r=0,13$. Die minimale Korrelation war statistisch nicht signifikant ($p=0,125$).

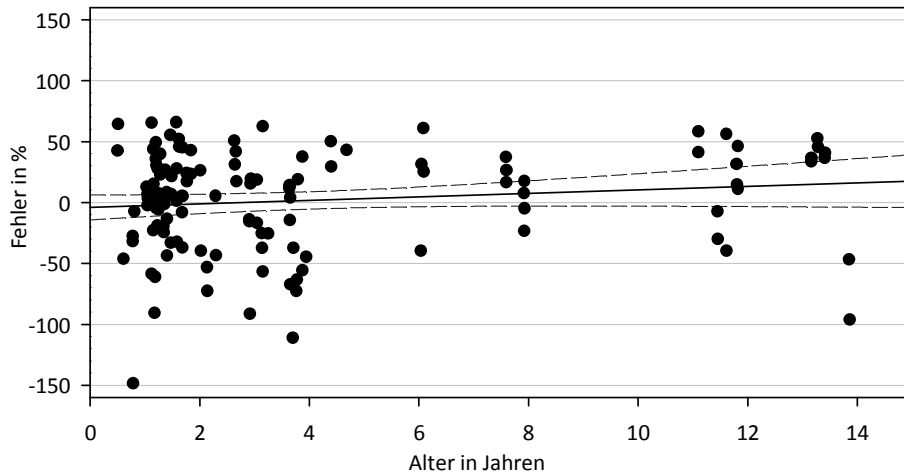


Abbildung 17: Prozentualer Fehler gegen Alter, dargestellt ist die Regressionsgrade ($r = 0,137$, $p = 0,125$) sowie das entsprechende 95%-Konfidenzintervall der Regressionsgraden

Auch die Einflüsse weiterer erhobener Messwerte (GPT-, Kreatinin- und Harnstoffspiegel) auf den Simulationsfehler wurden untersucht.

Für GPT ($n=84$) zeigten sich bei einer getrennten Untersuchung von normwertigen und erhöhten GPT-Werten keine wesentlichen Abweichungen des Fehlerbereichs (siehe Boxplots in Abbildung 18a). Bei Auftragung der individuell gemessenen GPT-Spiegel zum Simulationsfehler war keine Korrelation zu eruieren (Abbildung 18b).

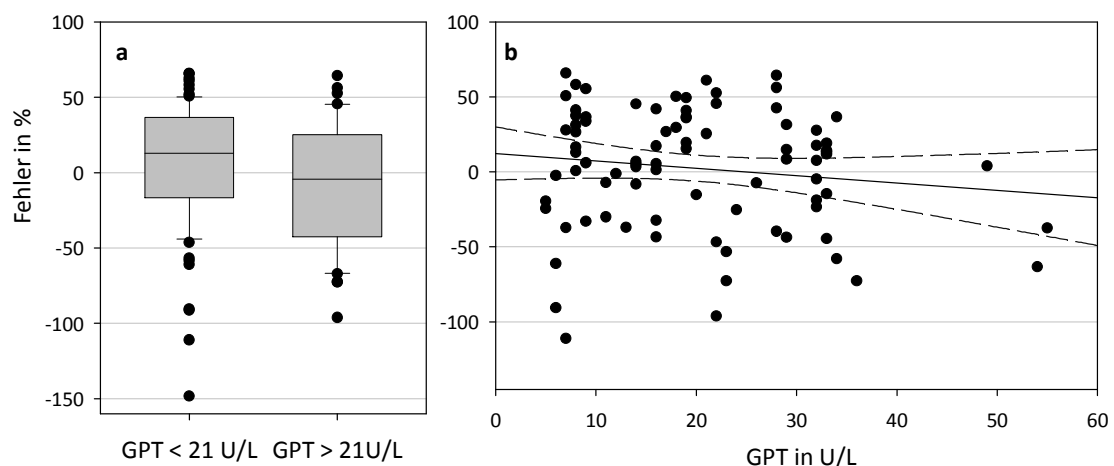


Abbildung 18: a: als Boxplots dargestellte Verteilung der prozentualen Fehler zwischen Simulation und Messwerten (Formel siehe oben) aufgeteilt nach normalem (< 21 U/L) und erhöhten GPT (> 21 U/L), b: GPT gegen prozentualer Fehler, dargestellt ist die Regressionsgrade ($r = -0,138$, $p = 0,210$) sowie das entsprechende 95%-Konfidenzintervall

Die Messwerte für Kreatinin (n=89) und Harnstoff (n=64) wurden ebenfalls auf ihren Einfluss hin untersucht. Beide Substanzen korrelierten jeweils positiv mit den gemessenen Etoposidspiegeln (siehe Abbildung 19b und Abbildung 20b). Dies war für Harnstoff allerdings nicht statistisch signifikant ($p = 0,12$).

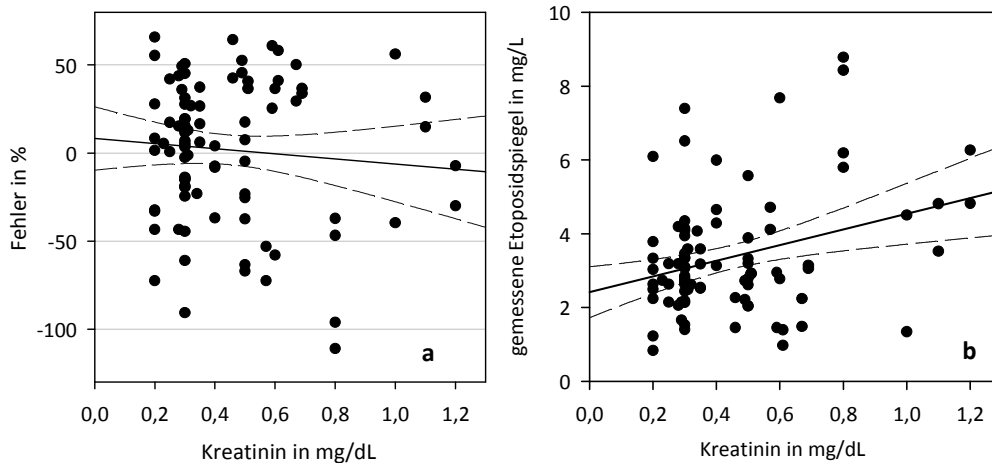


Abbildung 19: a: Kreatininspiegel gegen Simulationsfehler in %, schwarz ist die Regressionsgrade mit 95%-Konfidenzintervall eingezeichnet ($r = -0,086$, $p = 0,423$); b: Kreatininspiegel gegen gemessene Etoposidspiegel, ebenfalls mit Regressionsgrade ($r = 0,314$, $p = 0,003$)

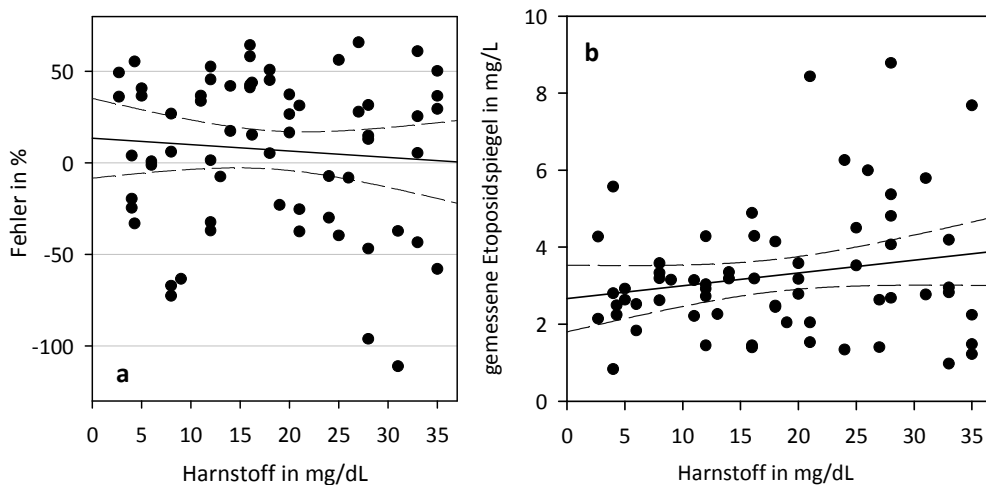


Abbildung 20: a: Harnstoffspiegel gegen Simulationsfehler in %, schwarz ist die Regressionsgrade mit 95%-Konfidenzintervall eingezeichnet ($r = -0,083$, $p = 0,515$); b: Harnstoffspiegel gegen gemessene Etoposidspiegel, ebenfalls mit Regressionsgrade ($r = 0,198$, $p = 0,120$)

Wurden die Simulationsfehler auf ihre Korrelation mit Kreatinin- oder Harnstoffspiegeln untersucht, so konnten für beide kein statistisch signifikanter Zusammenhang nachgewiesen werden (siehe Abbildung 19a und Abbildung 20a).

Bilirubin (69 Messwerte) wurde als letztes auf seine Korrelationen untersucht. Es zeigte sich ein negativer Zusammenhang mit gemessenen Etoposidspiegeln, unter erhöhtem Bilirubin ließen sich niedrigere Etoposidplasmaspiegel messen. Dies war auch statistisch signifikant ($p = 0,044$, siehe Abbildung 21b). Die Korrelation mit den individuellen Simulationsfehlern war mit einem $p = 0,034$ ebenfalls statistisch signifikant und zeigte Überschätzungen der tatsächlichen Etoposidspiegel bei höheren Bilirubinspiegeln. Abbildung 21a gibt dies wieder.

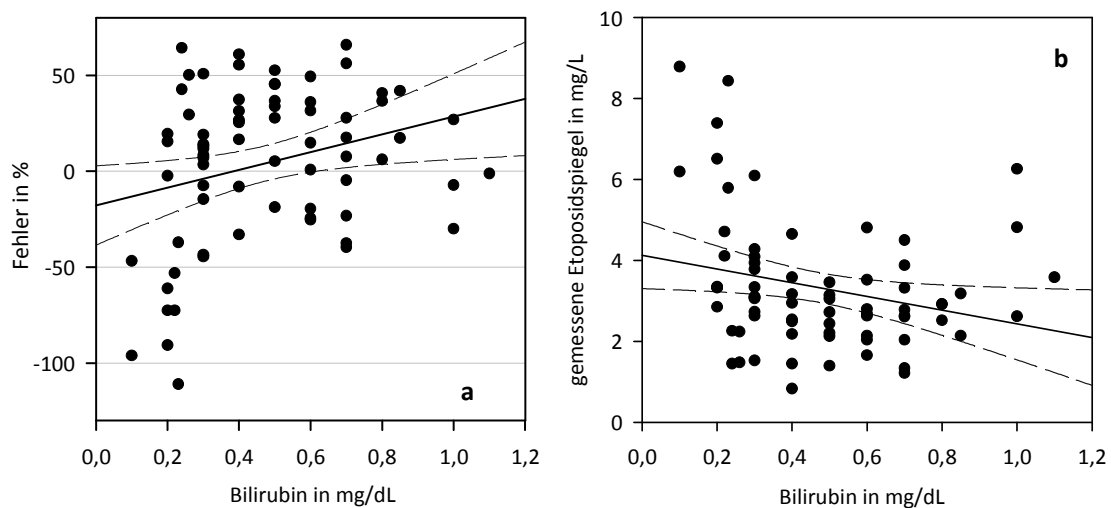


Abbildung 21: a: Simulationsfehler gegen Bilirubin, schwarz ist die Regressionsgrade mit 95%-Konfidenzintervall eingezeichnet ($r = 0,256$, $p = 0,034$); b: Harnstoffspiegel gegen gemessene Etoposidspiegel, ebenfalls mit Regressionsgrade ($r = -0,252$, $p = 0,038$)

Untersucht man speziell die simulierte ungebundene Etoposidkonzentration und vergleicht diese mit den Messwerten, so zeigt sich, dass die Simulation nur Plasmaspiegel zwischen 0,1 – 0,2 mg/L ungebundenen Etoposids erzeugt (siehe Abbildung 22). Die gemessenen freien Etoposidplasmaspiegel streuen mit etwa 0,05 – 0,35 mg/L weitaus stärker. Trägt man die simulierte gegen die gemessene freie Fraktion auf, so erhält man eine gute Korrelation, die statistisch signifikant ist (Abbildung 22).

Die individuelle freie Fraktion der Patienten (berechnet als Quotient aus gemessenem ungebundenem Etoposid und gemessenem Gesamtoposid), korrelierte mit der gemessenen Etoposidkonzentration negativ ($r = -0,253$; $p = 0,010$). Höhere freie Fraktionen ließen sich bei niedrigeren gemessenen Etoposidspiegeln finden.

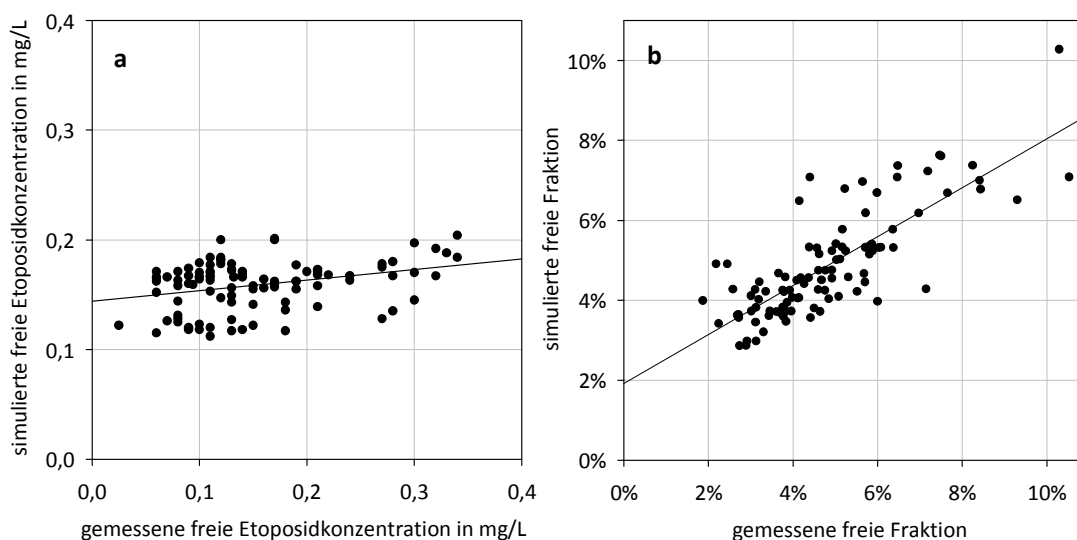


Abbildung 22: a: Punkteschar der simulierten gegen gemessene Plasmaspiegel des freien Etoposids mit Regressionsgrade ($r = 0,324$, $p < 0,001$), b: die aus den Simulationsergebnissen berechnete freie Fraktion ($Eto_{ungebunden} / Eto_{gesamt}$) gegen die im Modell implementierte, gemessene freie Fraktion ($Eto_{ungebunden} / Eto_{gesamt}$) ($r = 0,796$, $p < 0,001$)

Weiterhin wurden die individuell erzeugten Exkretionsfraktionen untersucht, die das Modell auf dem Boden der gleichen Transporter- und Enzymkinetiken, aber unterschiedlicher Organgrößen und Körperzusammensetzungen erzeugte. Sie zeigten nur eine minimale Streuung zwischen den 65 VIs. Den Bereich der Kohorte gibt Tabelle 11 wieder.

Exkretion		Metabolisation	
Renal	Biliär	CYP3A4	UGT1A1
58,9 - 62,5%	7,1 - 8,8%	25,9 - 30,6%	2,9 - 3,5%

Tabelle 11: Bereich der individuellen Exkretionsfraktionen der simulierten Neuroblastomkohorte

3.1.2 Zyklusabhängigkeit

Untersucht wurde, ob im Verlauf mehrerer Zyklen Polychemotherapie des NB-97-Regimes Veränderungen der gemessenen Etoposidkonzentrationen nachzuweisen waren, da höhere oder niedrigere Etoposidkonzentrationen in späteren Blöcken auf eine durch Zytostatika induzierte verminderte oder erhöhte Clearance hinweisen könnten.

Aus den Datensätzen (entspricht Probenzetteln) der 38 realen Patienten war für 19 zu eruieren, ob die Messwerte zum ersten, zweiten oder dritten N6-Block gehörten. Unter diesen 19 Patienten waren acht mit Messwerten aus je drei Blöcken, zu zehn Patienten waren Daten aus zwei Blöcken vorhanden und zu einem Patienten nur aus dem dritten N6-Block. Für 39 Proben aus dem ersten Zyklus (erster N6-Block) zeigte sich ein Mittelwert der auf 100 mg/m² Etoposid normalisierten Messwerte für das gesamte Etoposid von 3,47 mg/L. Für den zweiten (n = 35) und dritten (n = 22) Zyklus ergaben sich Mittelwerte von 3,90 bzw. 3,94 mg/L. Diese Unterschiede waren statistisch nicht signifikant. Allerdings war ein leichter Trend zu höheren Etoposidkonzentrationen in späteren Blöcken zu erkennen.

Abbildung 23 gibt die Verteilung der normalisierten Messwerte als Boxplots wieder.

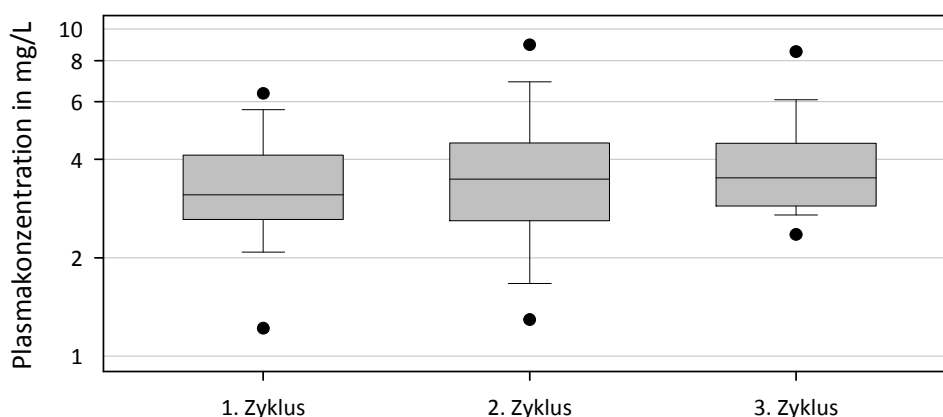


Abbildung 23: Verteilung der Messwerte je nach Zyklus, schwarze Linie: Median, Boxen: 25. bis 75. Perzentile, Fühler: 10. und 90. Perzentile, Punkte: 5. und 95. Perzentile

Um diese Tendenz weiter zu untersuchen, wurden individuelle Simulationen ohne Berücksichtigung der Zyklen durchgeführt. Die prozentualen Fehler (entsprechen den Simulationsabweichungen von den Messwerten) wurden zum Vergleich getrennt nach Zyklus als Boxplots aufgetragen (siehe Abbildung 24).

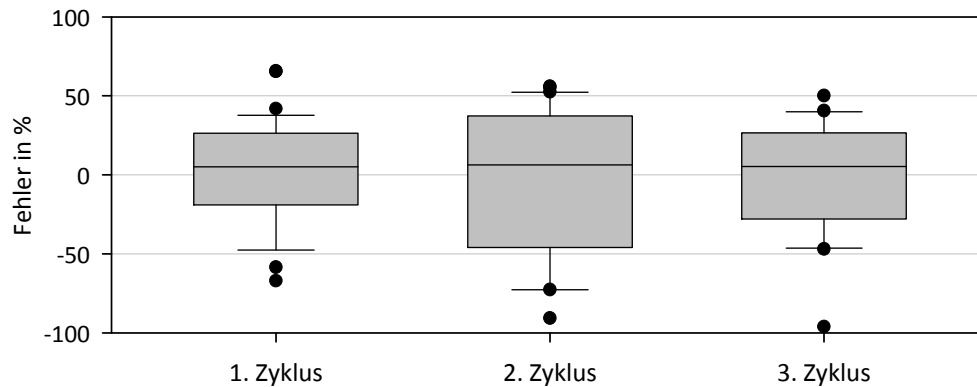


Abbildung 24: Verteilung der prozentualen Fehler der Messwerte je nach Zyklus, schwarze Linie: Median, Boxen: 25. - 75. Perzentile, Fühler: 10. - 90. Perzentile, Punkte: Ausreißer

Da die Werte nicht normalverteilt waren, wurde mithilfe des Friedman-Tests für wiederholte Messungen derselben Gruppe eine statistische Untersuchung auf signifikante Unterschiede durchgeführt. Hierzu wurden die Daten der einzigen sechs Patienten mit je zwei Messwerten aus allen drei N5-Blöcken genutzt. Es zeigte sich mit einem $p=0,558$ kein statistisch signifikanter Unterschied der Simulationsabweichungen.

Zur genaueren Beurteilung zeigt Abbildung 25 die prozentualen Abweichungen der Messwerte von der Simulation dieser sechs Patienten mit je zwei Messwerten aus allen drei Zyklen. Ferner wurden 24h- und 96h-Werte farblich getrennt aufgetragen. Die Linien verbinden die zusammengehörigen prozentualen Abweichungen der Patienten über die Zyklen hinweg.

Außerdem wurde der Kruskal-Wallis-Test genutzt, um die Varianzen der einzelnen prozentualen Abweichungen je Zyklus dahingehend zu untersuchen, ob sie derselben Grundgesamtheit angehören. Mit einem $p = 0,983$ spricht der Test für diese Hypothese.

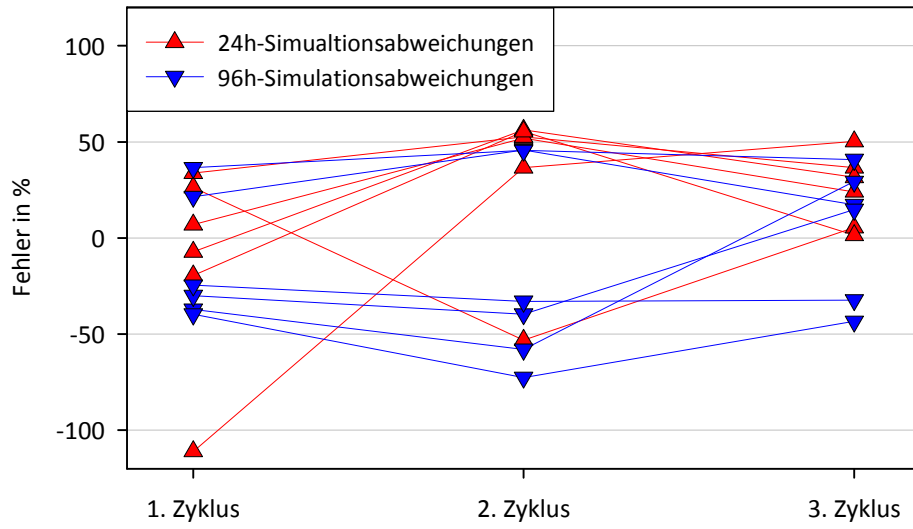


Abbildung 25: Auftragung des prozentualen Fehlers der 24h- und 96h-Werte (Fehler = simuliert – gemessen; siehe vorherige Erläuterung) je Zyklus für sechs Beispielpatienten

3.2 Der Standardsimulationspatient

Ein „Standardsimulationspatient“ (SSP) wurde zur weiteren Untersuchung verschiedener Einflussfaktoren aus den mittleren Werten der Patientenkohorte erzeugt, um im weiteren Verlauf den Einfluss hepatischer und renaler Einflüsse zu simulieren. Da die Werte für Alter, Gewicht und Größe eine rechtsschiefe Verteilung zeigten, hätte die Verwendung des arithmetischen Mittelwerts systematisch zu einer Überschätzung der tatsächlichen Verteilung geführt. Daher wurde der Median herangezogen, um möglichst zutreffend den zentralen Wert der Kohorte zu treffen (siehe auch Generierung der mittleren Population, Kapitel 2.4).

Emuliert wurde ein Junge mit 2,39 Lebensjahren, 90,6 cm Körpergröße und 12,7 kg Körpergewicht. Der Wert für die Größe lag somit nahe der 50. Perzentile. Das Körpergewicht lag im Vergleich zu altersentsprechenden Jungen zwischen der 25. und 50. Perzentile. Entsprechend des Lebensalters und Gewichts betrug die GFR (nach Hayton) 41,01 ml/min, aufgrund der cisplatinbedingten Reduktion wurde ein Wert von 34,82 ml/min ins Modell übertragen.

Als freie Fraktion wurde der Median der Kohorte ($f_u = 4,56\%$) eingefügt. Bei einer Standarddosis von 100 mg/m^2 ($\text{KOF} = 0,57 \text{ m}^2$) betrug die Gesamtdosis 226,3 mg über 96h. Der V_{max} -Wert von CYP3A4 wurde auf 323,7 pmol/min/mg mikrosomales Protein angepasst (entsprechend der Ontogeniefaktoren, siehe Abschnitt 2.2). MRP2, renales P-gp, UGT1A1 und der hepatische Influxtransporter blieben im Hinblick auf die Ontogenie unverändert.

Den mithilfe des SSP-Modells errechneten Plasmaspiegelverlauf für gesamtes und ungebundenes Etoposid gibt Abbildung 26 wieder. Die dargestellten Messwerte wurden auf eine Dosis von 100 mg/m^2 normalisiert und als Boxplots aufgetragen. Genutzte Formel zur Normalisierung auf 100 mg/m^2 :

$$\text{Messwert}_{\text{norm}} (\text{mg/m}^2) = \text{Messwert} (\text{mg/L}) \times [100 (\text{mg/m}^2) / \text{Dosis} (\text{mg/m}^2)]$$

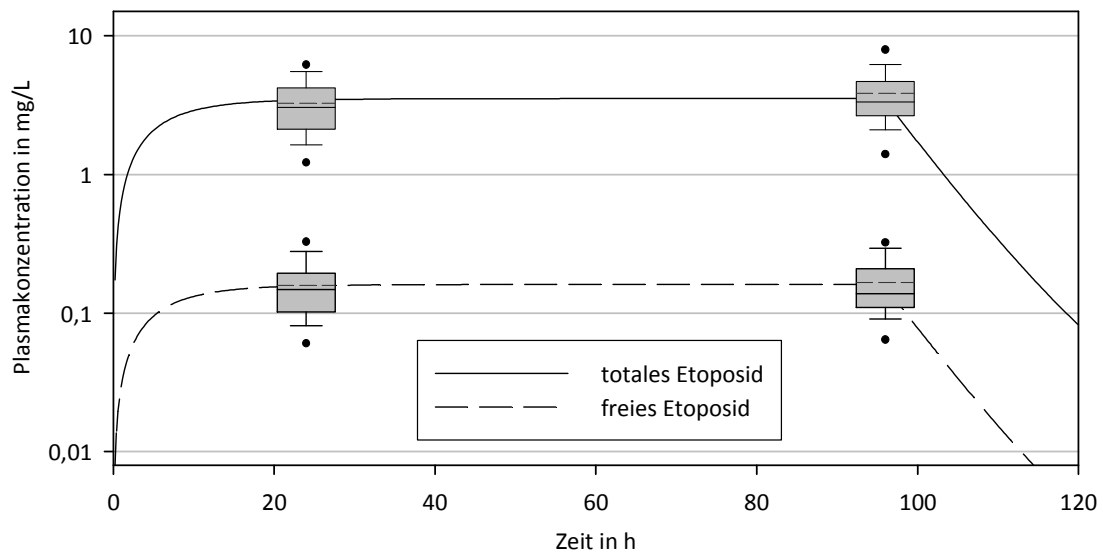


Abbildung 26: Simulierte Plasmaspiegel für gesamtes und freies Etoposid des SSP-Modells in halblogarithmischer Darstellung; Boxplots (oben Gesamtetoposid, unten ungebundenes Etoposid) zeigen die Messwerte der untersuchten Patientenkohorte an (normalisiert auf eine Dosis von 100mg/m²), aufgetrennt nach 24h- und 96h-Messwerten [durchgehender Strich: Median, Box: 25. und 75. Perzentile, Fühler: 10. und 90. Perzentile, Punkte: 5. und 95. Perzentile, gestrichelt: Mittelwert]

Für diese Simulation ergaben sich 24h-Plasmaspiegel von 3,45 mg/L bzw. 0,16 mg/L für gesamtes und freies Etoposid, die 96h-Plasmaspiegel lagen leicht darüber (3,53 mg/L respektive 0,16 mg/L). Die auf eine Dosis von 100 mg/m² pro Tag normalisierten Messwerte lagen im 24h-Bereich, wie die Abbildung 26 zeigt, um einen Median von 3,05 mg/L (Mittelwert 3,26 ± 1,48 mg/L) sowie um 3,33 mg/L (Mittelwert 3,85 ± 1,86 mg/L) im 96h-Bereich. Die gesamte systemische Clearance lag bei 0,876 ml/min/kg, die AUC bei 338,6 mg*h/L für das gesamte Etoposid. Die AUC für ungebundenes Etoposid lag bei 15,4 mg*h/L, die Halbwertszeit $t_{1/2}$ bei 16,6 h (siehe Tabelle 12).

	C _{max}	AUC	CL	t _{1/2}	Exkretion		Metabolisation	
	mg/L	mg*h/L	ml/min/kg	h	Renal	Biliär	CYP3A4	UGT1A1
EtO _{gesamt}	3,53	338,63	0,876	16,56	59,9%	7,3%	29,9%	2,9%
EtO _{ungebunden}	0,161	15,44						

Tabelle 12: Simulationsergebnisse des SSP

3.3 Simulation hepatischer Funktionsschwankungen

Um die Schwankungsbreite der hepatischen Verstoffwechslung von Etoposid zu simulieren, also Patienten mit im physiologischen Rahmen schwankenden Geschwindigkeiten der hepatischen Metabolisierung aufgrund unterschiedlich großer Enzymausstattung, wurden die zugrunde gelegten Kinetiken der Metabolisationsenzyme UGT1A1 (K_m : $439,6 \pm 70,7 \mu\text{M}$; V_{\max} : $255,6 \pm 19,2 \text{ pmol/min/mg}$) und CYP3A4 (K_m : $53,9 \pm 6,6 \mu\text{M}$; V_{\max} : $249 \pm 91 \text{ pmol/min/mg}$) im SSP-Modell angepasst. Da in den jeweiligen Untersuchungen keine Angabe zur Art der Verteilung der gemessenen kinetischen Parameter gemacht wurde. Hier wurde zunächst eine Normalverteilung angenommen. Um den in den Studien beschriebenen und im Modell implementierten Mittelwert wurden die Grenzwerte zur 3. und 97. Perzentile berechnet. Hierzu diente die zweifache Standardabweichung unter Annahme einer gaußschen Normalverteilung.

Zur Simulation einer erhöhten Leberfunktion (im Weiteren **FM** (*fast metabolizer*) genannt) wurden die V_{\max} -Werte der Enzyme um die zweifache Standardabweichung erhöht. Dabei errechneten sich für UGT1A1 V_{\max} -Werte von 294 pmol/min/mg mikrosomales Protein ($255,6 \text{ (MW)} + 19,2 \text{ (SD)} + 19,2 \text{ (SD)} = 294$). Die maximale Reaktionsgeschwindigkeit von CYP3A4 wurde unter Einbeziehung der Ontogeniefaktoren (siehe G. Kersting)⁷⁰ auf $V_{\max} = 560,3 \text{ pmol/min/mg}$ festgesetzt. Eine im physiologischen Rahmen verminderte Leberfunktion (im Weiteren **SM** (*slow metabolizer*) genannt) wurde reziprok mit entsprechend niedrigeren Höchstgeschwindigkeiten simuliert (UGT1A1: $V_{\max} = 217,2 \text{ pmol/min/mg}$; CYP3A4: $V_{\max} = 87,1 \text{ pmol/min/mg}$). Tabelle 13 stellt die so erzeugten Veränderungen dar.

	SM (<i>slow metabolizer</i>)		FM (<i>fast metabolizer</i>)	
	CYP3A4	UGT1A1	CYP3A4	UGT1A1
V_{\max} (pmol/min/mg)	87,1	217,2	560,3	294
Erzeugte Veränderung	- 73,1 %	- 26,1 %	+ 73,1 %	+ 26,1 %

Tabelle 13: erzeugte Veränderungen der hepatischen Enzymkinetiken

Die halbmaximalen Stoffkonzentrationen K_m blieben unverändert, da nicht auf genotypische Veränderungen im Sinne von Enzym polymorphismen eingegangen wurde. Das VI mit erhöhter Leberfunktion (FM) erreichten somit die 6,4-fache bzw. 1,4-fache Maximalgeschwindigkeit des VI mit erniedrigter Leberfunktion (SM) für CYP3A4 bzw. UGT1A1. Der hepatische Influxtransporter wurde nicht angepasst, da hierzu keine Daten verfügbar sind. Auch die biliäre Exkretion blieb unverändert.

Abbildung 27 und Abbildung 28 zeigen die entsprechenden Plasmaspiegelverläufe sowie die simulierten Exkretionsfraktionen. Der Unterschied im Steady-State-Spiegel (als C_{max}) und respektive auch AUC sowie weitere Parameter gibt Tabelle 14 wieder.

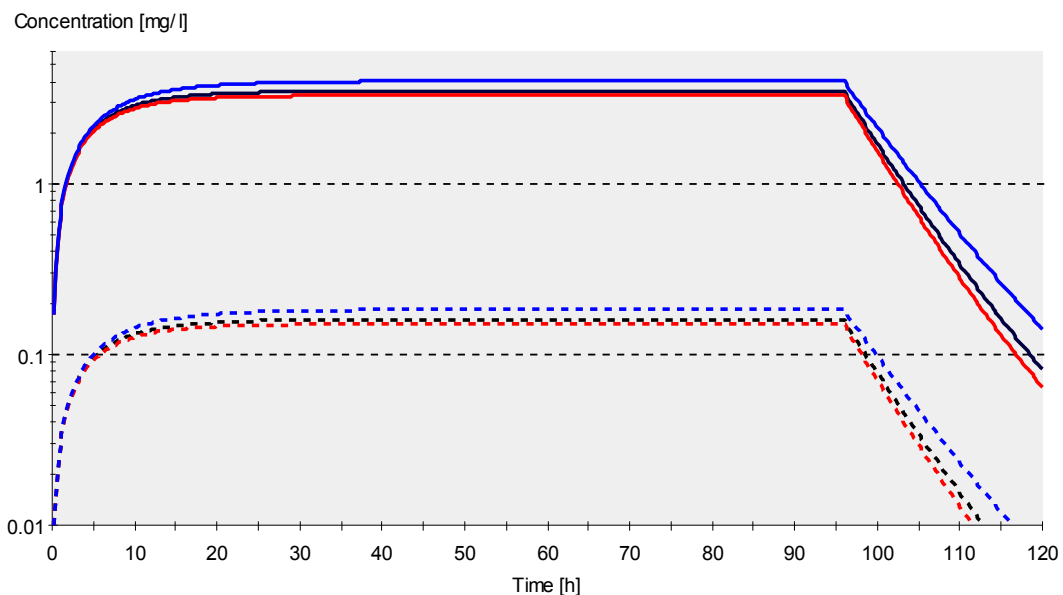


Abbildung 27: Konzentrationsverläufe für gesamtes (volle Linie) und freies Etoposid (gestrichelte Linie) (Blau: SM; Schwarz: SSP; Rot: FM)

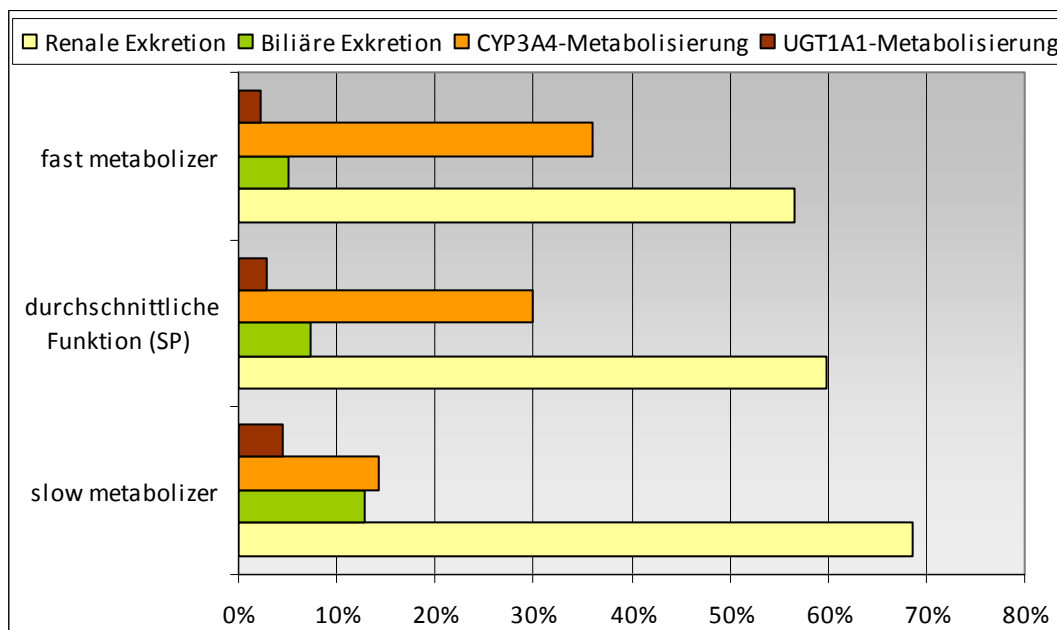


Abbildung 28: Excretions- und Metabolisationsfraktionen für erhöhte (FM), normale (SSP) und erniedrigte (SM) Leberfunktion, Farbcodierung siehe Legende

Hepatische Funktion	C_{max}	AUC	CL	$t_{1/2}$	Exkretion		Metabolisation	
	g/L	mg*h/L	ml/min/kg	h	Renal	Biliär	CYP3A4	UGT1A1
Normal (SSP)	3,53	338,63	0,876	16,56	59,9%	7,3%	29,9%	2,9%
Erhöht (FM)	3,33	319,31	0,929	17,18	56,5%	5,1%	36,1%	2,3%
Erniedrigt (SM)	4,04	387,56	0,765	15,13	68,5%	12,9%	14,2%	4,4%
Ketoconazol	4,22	405,28	0,732	14,66	71,6%	15,0%	12,2%	1,2%

Tabelle 14: Pharmakokinetische Parameter der hepatischen Einflussmodelle

Bei simulierter erniedrigter Leberfunktion ergeben sich somit um etwa 14,4% höhere Plasmaspiegel respektive eine um 14,4% größere Fläche unter der Konzentrations-Zeit-Kurve (AUC) im Vergleich zur durchschnittlichen Leberfunktion. Die systemische Clearance war um 12,7% geringer. Im Vergleich zu Fast-Metabolizern zeigten Slow-Metabolizer sogar eine 21,4% größere AUC und C_{max} , die Clearance war um 21,4% erniedrigt.

Entsprechend der implementierten verminderten Enzymkinetiken sanken auch die Metabolisationsfraktionen. CYP3A4 hatte um die Hälfte weniger Anteil an der Verstoffwechslung und Exkretion, UGT1A1 erreichte sogar einen höheren Anteil.

Parallel dazu stieg die renal ausgeschiedene Fraktion von 59,9% auf 68,5% und biliär wurden statt 7,3% nun 12,9% ausgeschleust. Für eine erhöhte Enzymfunktion sanken reziprok die via Urin und Galle ausgeschiedenen Fraktionen, der insgesamt verstoffwechselte Anteil stieg von 32,8% auf 38,4%. Zwischen erhöhter und erniedrigter Enzymfunktion schwankt folglich der metabolisierte Anteil je nach Funktion zwischen 18,6% und 38,4%.

Nach einem Paper von Yong et al. führte die Administration von Ketoconazol, einem bekanntem CYP3A4 und P-gp-Inhibitor, zu einer Erhöhung der Etoposid-AUC von etwa 20% ¹²⁹. Anhand des SSP wurde untersucht, wie sehr die maximalen Reaktionsgeschwindigkeiten von CYP3A4 und UGT1A1 verringert werden mussten, um eine AUC von etwa 406 mg*h/L zu erreichen (entspricht dem 1,2-fachen des SSP).

V_{max} wurde auf 20% der Ursprungsgröße reduziert. Dies bedeutete 51,2 bzw. 64,7 $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{g}$ Gewebe für UGT1A1 und CYP3A4. Es zeigte sich, dass durch diese Reduktion beider Enzymkinetiken um 80% eine entsprechende AUC erreicht werden konnte. Die so simulierte AUC lag bei 405,28 mg*h/L (siehe Tabelle 14).

Eine Untersuchung von Nomeir et al. 2001 konnte zeigen, dass Ketoconazol bereits in nanomolaren Dosierungen die Reaktionsgeschwindigkeit von CYP3A4 halbiert kann (IC50 für Midazolam und Testosteron 70 bzw. 30 nM). Bei geläufigen oralen antifungalen Therapien werden 200 – 400 mg Ketoconazol tgl. verabreicht. Deo et al. beschrieben Serumspitzenspiegel von 4,7 bis 7,5 μM bei einmaliger Einnahme von 200mg Ketoconazol, also etwa um den Faktor 100 größer ³¹.

3.4 Simulationen renaler Einflüsse

Zur Simulation physiologischer Schwankungen der renalen Funktion wurden erneut die Unsicherheiten der im Modell verwendeten Enzymkinetiken herangezogen. Aus den Mittelwerten und Standardabweichungen konnte unter Annahme einer gaußschen Normalverteilung die 10. und 90. Perzentile berechnet und diese für GFR, renales P-gp und MRP2 in das Modell übertragen werden.

Laut der National Kidney Foundation liegt die mittlere glomeruläre Filtrationsrate zwischen 2 und 12 Jahren für Jungen und Mädchen bei etwa 133 ± 27 ml/min/1,73m² Körperoberfläche ⁷. Demnach lassen sich Schwankungen zwischen 98,4 und 167,7 ml/min/1,73m² (berechnete 10. und 90. Perzentile bei angenommener gaußscher Normalverteilung) verzeichnen, sprich Schwankungen von 26% um den Mittelwert. Bezogen auf die GFR von 34,86 ml/min des simulierten SP (Standardpatienten) der Kohorte wurden somit physiologische Schwankungen der GFR zwischen 25,8 und 44,0 ml/min angenommen.

Ähnlich wurde für renales P-gp und MRP2 verfahren. Guo et al. bestimmten nur K_m -Werte, die V_{max} -Werte wurden unter Berücksichtigung der transportervermittelten Permeabilität an die Plasmaspiegel der dem Modell zugrunde liegenden Patienten gefittet (vgl. Kersting 2011) ⁴⁵. Da es sich bei dieser Untersuchung allerdings um transfizierte MDCK-II-Zellen (Madin-Darby-Kaninchen-Nieren-Zellen) handelte, wurde hier auf andere Werte zurückgegriffen, um die physiologische Schwankungsbreite der renalen Transporterkinetiken abzuschätzen.

Kim et al. untersuchten dazu die Expressionsmuster von mehreren Transportern in normalen Nierengewebe, wobei in 39 Gewebeproben ein P-gp zu β -2-Mikroglobulin-Verhältniss mit einer Schwankungsbreite von 0,05 - 1,35 gefunden werden konnte. Der Mittelwert lag bei $0,73 \pm 0,29$, der VK (Variationskoeffizient) lag bei 40% ⁷¹. Die den Studiendaten entnommene 90. Perzentile lag bei 1,04 (+ 42%), die 10. Perzentile bei 0,34 (- 53%).

Hilgendorf et al. erforschten die Expression von 36 Transportergenen in der menschlichen Niere und fanden für P-gp einen VK von etwa 40%, die errechnete Standardabweichung für MRP2 war mit einem VK von über 60% noch größer⁵⁵.

Im Modell wurden nun ein VK von 40% angenommen. Bei zugrunde gelegter gaußscher Normalverteilung ergaben sich so Schwankungen beider Transporterkinetiken von 51% um den hier implementierten Mittelwert. Dies bedeutete eine Veränderung von V_{\max} für MRP2 und P-gp von ehemals 0,45 bzw. 0,15 $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{g}$ Gewebe auf 0,68 bzw. 0,22 $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{g}$ Gewebe respektive 0,23 bzw. 0,07 $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{g}$ Gewebe.

Zur exemplarischen Gegenüberstellung von starker und schwacher renaler Funktion wurden zwei Simulationen durchgeführt. Erstere implementierte die niedrigen Werte für GFR und V_{\max} und spiegelte somit eine erniedrigte renale Etoposidausscheidung wieder. Die zweite Simulation erzeugte reziprok eine erhöhte Etoposidausscheidung durch einfügen der hohen GFR- und V_{\max} -Werte. Abbildung 29 zeigt die Plasmaspiegelverläufe im Vergleich zum SSP.

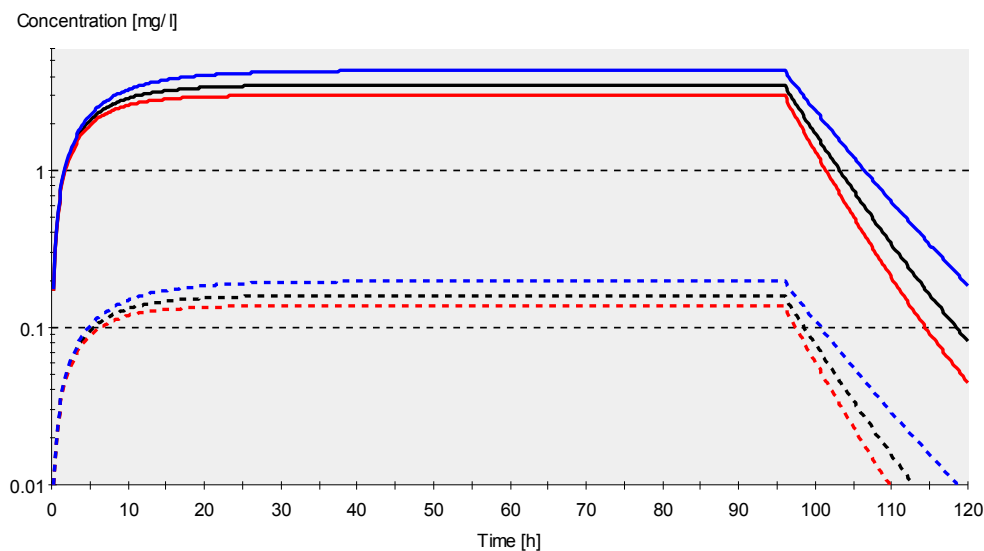


Abbildung 29: Simulierte Plasmaspiegel für gesamtes (solide) und ungebundenes (gestrichelt) Etoposid in mg/L; blau: erniedrigte Nierenfunktion, schwarz: durchschnittliche Nierenfunktion (SSP), rot: erhöhte Nierenfunktion

Es zeigten sich Veränderungen der Etoposidplasmaspiegel und konsekutiv der AUC (zwischen 283 und 447 mg*h/L) von etwa +32% bzw. -16% zum Standardsimulationspatienten, im gleichen Bereich schwankten auch die maximal erreichten Plasmaspiegel. Die renale Exkretion war für etwa 47 - 66% der Eliminierung verantwortlich, reziprok schwankte auch die hepatische Metabolisierung zwischen etwa 27 und 43% (siehe Tabelle 15).

renale Funktion	C _{max}	AUC	CL	t _{1/2}	Exkretion		Metabolisation	
	mg/L	mg*h/L	ml/min/kg	h	Renal	Biliär	CYP3A4	UGT1A1
Normal	3,53	338,62	0,876	16,56	59,9%	7,3%	29,9%	2,9%
erniedrigt	4,35	447,43	0,663	13,69	46,7%	9,6%	39,2%	3,8%
erhöht	2,95	283,05	1,048	18,41	66,3%	6,1%	24,9%	2,4%

Tabelle 15: Simulierte erhöhte und erniedrigte renale Funktion mit pharmakokinetischen Ergebnissen und Exkretionsfraktionen

Zur Beleuchtung des Einflusses der glomerulären Filtration ohne Veränderung der tubulären Sekretion wurde diese nun getrennt verändert. Es wurde zuerst eine Veränderung auf die Werte der zuvor berechneten 10er- und 90er-Perzentilen vorgenommen. Hierbei zeigten sich Veränderungen des Steady-State-Spiegels auf 3,41 bzw. 3,66 mg/L. Die Schwankung betrug folglich nur etwa 4%, weshalb eine Veränderung um drei Standardabweichungen simuliert wurde. Bezogen auf den SP resultierten Werte von 13,63 bzw. 56,09 ml/min. Die maximalen Plasmalevel betragen 3,26 bzw. 3,84 mg/L. Die Schwankung erreichte demnach -8% bzw. +9%.

Der Einfluss der tubulären Sekretion wurde ähnlich beleuchtet. Hier zeigten sich bei reiner Veränderung der Maximalgeschwindigkeiten für P-gp und MRP2 entsprechend der oben erwähnten Werte Plasmaspiegel von 2,95 bzw. 4,35 mg/L, also Veränderungen von -16 und +23%.

Die tubuläre Sekretion hat also im Modell einen größeren Einfluss auf die Etoposidexkretion als die reine glomeruläre Filtration.

3.5 Einfluss der Proteinbindung

Da die freie Fraktion des im Plasma transportierten Etoposids, also der ungebundene Anteil, großen Einfluss auf Pharmakokinetik wie Pharmakodynamik hat, wurde an dieser Stelle im Modell ihr Einfluss auf Plasmaspiegel, AUC und Clearance bestimmt. Durch Verdrängung aus der Proteinbindung sowie durch Veränderungen der Bindeproteinkonzentration im Blut (hauptsächlich Albumin) kann es interindividuell zu unterschiedlichen freien Fraktionen kommen.

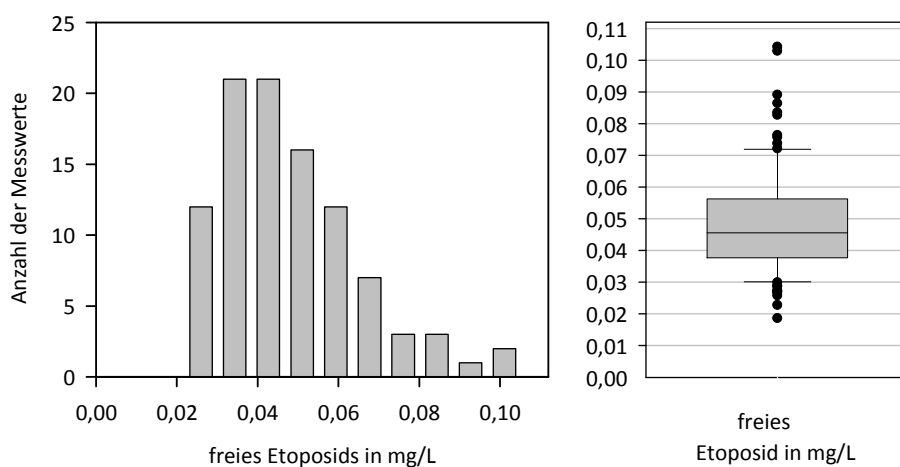


Abbildung 30: links Histogramm der individuellen freien Fraktionen der NB-97-Kohorte (n = 102), rechts Box Plot, Box mit Median sowie 25. und 75. Perzentile, Fühler zeigen 10. und 90. Perzentile an

Die freie Fraktion (Berechnung zuvor erläutert) in der NB-97-Kohorte schwankte zwischen 2,18 - 10,53% (n = 102). Der Median lag, wie vorher beschrieben, bei 4,56%, der Mittelwert bei leicht rechtsschiefer Verteilung bei $4,82 \pm 1,71\%$ (arithmetischer Mittelwert). Abbildung 30 zeigt die Verteilung der Werte als Histogramm. Für die Simulation von z.B. verminderter Bindekapazität oder Verdrängung aus der Proteinbindung durch konkurrierende Substanzen mit konsekutiv erhöhten freien Fraktionen wurde der Wert der 90. Perzentile der Kohorte herangezogen. Stark erhöhte Plasmabindung z.B. durch erhöhte Albuminfraktionen oder veränderte Bindungseigenschaften wurde durch Implementieren des Wertes der 10. Perzentile der freien Fraktionen der Kohorte simuliert. Abbildung 30 zeigt ebenfalls die Verteilung als Boxplot, die Fühler entsprechen der 10. und 90. Perzentile.

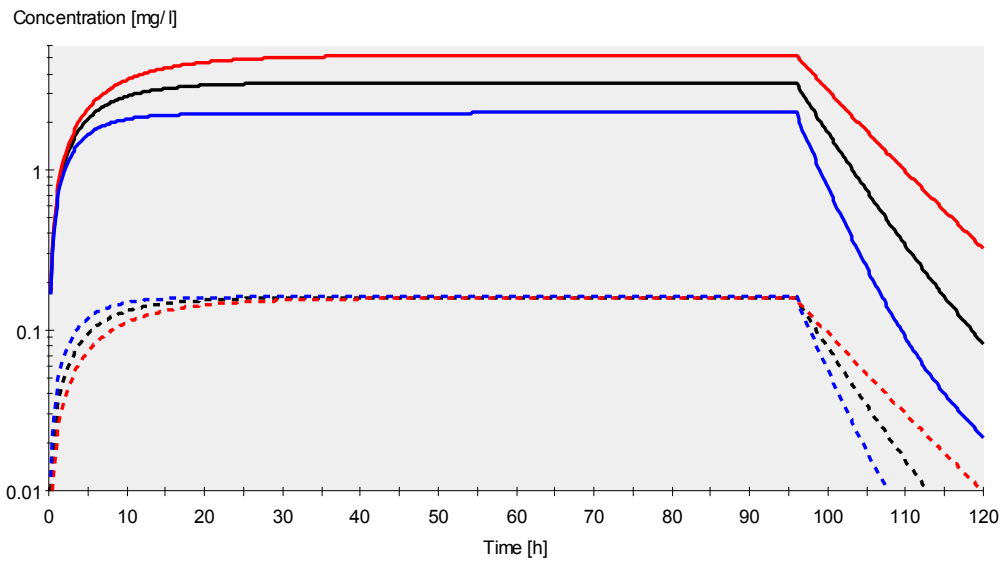


Abbildung 31: Simulierte Plasmaspiegelverläufe für gesamtes (solide) und ungebundenes (gestrichelt) Etoposid in mg/L; blau: $f_u=7,15\%$, schwarz: $f_u=4,56\%$ (SSP), rot: $f_u=3,06\%$

Nach Implementierung einer freien Fraktion von 7,15% ins Modell zur Simulation einer verminderten Proteinbindung stieg die beobachtete Clearance von 0,876 ml/min/kg auf 1,354 ml/min/kg, also um 55%. Entsprechend sanken AUC und C_{max} auf 65% des Ausgangswertes. Der erreichte Steady-State-Spiegel lag nur noch bei etwa 2,3 mg/L und sank somit um etwa 1,2 mg/L.

Zur Simulation einer erniedrigten freien Fraktion wurde diese, entsprechend der 10. Perzentile, auf 3,06% gesenkt. Es zeigte sich eine Erhöhung von AUC und C_{max} um etwa 48%, die Clearance sank um 32%. Tabelle 16 gibt die gesamten Ergebnisse wieder.

	gesamtes Etoposid		Freies Etoposid		gemeinsame Parameter	
	C_{max}	AUC	C_{max}	AUC	CL	$t_{1/2}$
	(mg/L)	(mg*h/L)	(mg/L)	(mg*h/L)	(ml/min/kg)	(h)
$f_u = 4,56\%$	3,53	338,63	0,161	15,44	0,876	16,56
$f_u = 3,06\%$	5,21	500,58	0,159	15,32	0,592	12,43
$f_u = 7,15\%$	2,28	218,94	0,163	15,65	1,354	20,30

Tabelle 16: Pharmakokinetische Simulationsergebnisse für gesamtes und ungebundenes Etoposid je nach simulierter freier Fraktion (f_u)

Die Exkretionsfraktionen veränderten sich kaum (renale Exkretion 59,6 - 60%, biliäre Exkretion 7,3 - 7,4%, Metabolisation via CYP3A4 29,8 - 30,1%, Metabolisation via UGT1A1 2,9%).

Die simulierten Plasmaspiegel des freien Etoposid zeigten Veränderungen von maximaler Plasmakonzentration (Bereich C_{max} : 0,159 - 0,163 mg/L) und AUC (Bereich 15,32 - 15,65 mg*h/L) zwischen erhöhter und erniedrigter freier Fraktion von nur 2,5% (siehe Tabelle 16).

3.6 Einflüsse der simulierten Körperzusammensetzung

Der simulierte SSP der NB-97-Kohorte lag im Perzentilendurchschnitt von Jungen seines Alters, Gewicht und Größe lagen nah der 50. Perzentile. Die nach Mosteller berechnete Körperoberfläche belief sich auf 0,57 m².

Da PK-Sim[®] die Organvolumina und Blutflusswerte von Alter, Körpergröße und Körpergewicht ableitet, ergeben sich somit durch Veränderungen dieser Werte auch unterschiedlicher Körperzusammensetzungen. Um deren Einfluss im Modell bei gleich bleibender KOF und somit gleicher berechneter Dosis zu untersuchen, wurden an dieser Stelle vier VI gegenüber gestellt, die Anhand der 3. und 97. Perzentile errechnet wurden. Entsprechend dem Alter des Patienten von 2,39 Jahren und dessen Körperoberfläche von 0,57 m² wurden jeweils die Größen und Gewichte der 3. und 97. Perzentile genutzt, um die nach Mosteller resultierenden fehlenden Werte zu berechnen. Hierzu verwendete Formeln (KG: Körpergewicht; KL: Körperlänge = Größe):

$$KG = KOF^2 \times 3600 / KL$$

$$KL = KOF^2 \times 3600 / KG$$

Bezeichnung	Ausgangswert	KOF (m ²)	Berechneter Wert
VI-A	Größe der 3. Perzentile (ca. 84 cm)	0,57	13,7 kg
VI-B	Größe der 97. Perzentile (ca. 97 cm)	0,57	11,9 kg
VI-C	Gewicht der 3. Perzentile (ca. 10 kg)	0,57	115 cm
VI-D	Gewicht der 97. Perzentile (ca. 16 kg)	0,57	72 cm

Tabelle 17: Berechnete Körperlängen und Gewichte zu einer angenommenen Körperoberfläche von 0,57 m² unter Anwendung der Formel nach Mosteller

Für die virtuellen Individuen VI-A und -B lagen die berechneten Gewichte auf der 25er- bzw. 50er-Perzentile. Für die VI-C und -D erreichten die errechneten Körpergrößen Werte, die weit unter der 3. (- 14%) bzw. über der 97. Perzentile (+ 19%) lagen (12 cm kleiner bzw. 18 cm größer). VI-C und -D wurden daher nicht weiter simuliert. VI-A hatte somit einen BMI von 19,4 kg/m² und war somit adipös, VI-B einen BMI von 12,6 kg/m² und somit kachektisch (3. Perzentile 14,4 kg/m²; 97. Perzentile 19,3 kg/m²; jeweils nach „Alter gegen BMI“-Tabellen der CDC ²⁰).

Für VI-A und -B wurden durch Abänderung von Körpergröße und Gewicht die veränderte Körperzusammensetzung im Modell generiert und simuliert. Dabei zeigten sich bei gleicher Dosis (da gleich bleibende Körperoberfläche) Einflüsse auf die erwarteten maximalen Steady-State-Spiegel. Abbildung 32 zeigt die Plasmaspiegelverläufe im Vergleich zum SSP.

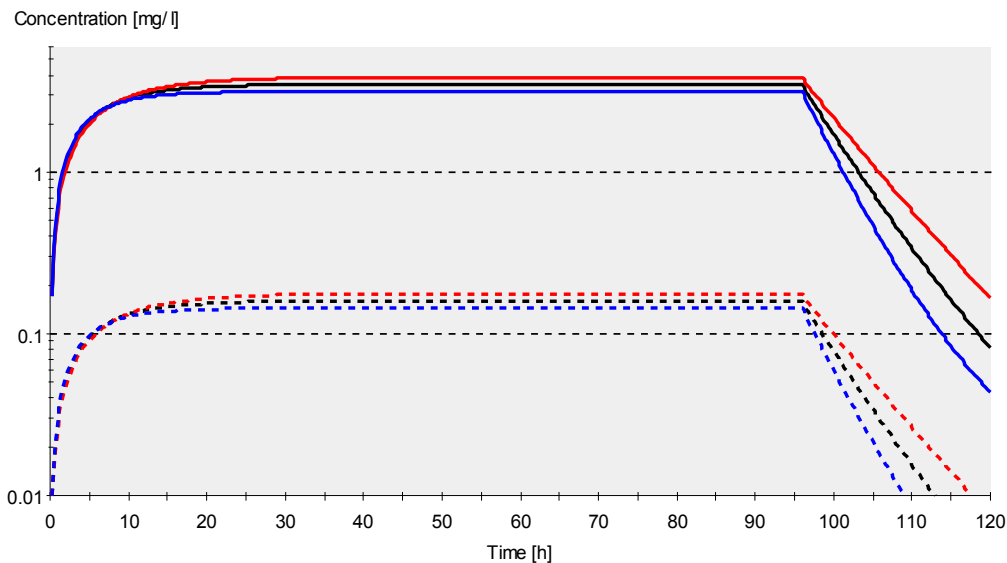


Abbildung 32: Simulierte Plasmaspiegelverläufe für gesamtes (solide) und ungebundenes (gestrichelt) Etoposid in mg/L; blau: VI-B (kachektisch) , schwarz: SSP, rot: VI-A (adipös)

Exemplarisch waren hier Veränderungen von C_{max} und AUC von + 11% sowie - 9% zum SSP zu konstatieren. Die Metabolisations- und Exkretionsfraktionen zeigten kaum Unterschiede (siehe Tabelle 18). Aufgrund unterschiedlichen Körperbaus sind im Modell Schwankungen der AUC um das 1,2-fache zu simulieren.

	C_{max}	AUC	CL	$t_{1/2}$	Exkretion		Metabolisation	
	mg/L	mg*h/L	ml/min/kg	h	Renal	Biliär	CYP3A4	UGT1A1
SSP	3,53	338,63	0,876	16,56	59,9%	7,3%	29,9%	2,9%
VI- A (adipös)	3,91	374,93	0,734	15,88	60,6%	7,2%	29,3%	2,8%
VI-B (kachektisch)	3,19	306,23	1,035	16,09	59,5%	7,4%	30,2%	2,9%

Tabelle 18: SSP, VI-A und VI-B mit berechneten pharmakokinetischen Werten

3.7 Populationspharmakokinetische Simulationen

Unter Verwendung des PK-POP-Moduls von PK-Sim® wurde die abgeschätzte Streubreite einer simulierten Population untersucht. Die Grundlage bildeten die mittleren Werte der einbezogenen Patienten, wie bereits im Methodenteil erläutert (siehe 2.4). Das Alter wurde zwischen 2,31 und 2,48 Jahren festgelegt. Die Größe schwankte zwischen 87,4 und 92,4 cm (25. und 75. Perzentile), das Gewicht zwischen 12,4 und 13,3 kg (25. und 50. Perzentile). PK-Sim® erzeugte 500 Individuen mit einem Geschlechterverhältnis von 1:1. Die Verteilung der anthropometrischen Daten zeigt Abbildung 33 als Histogramme.

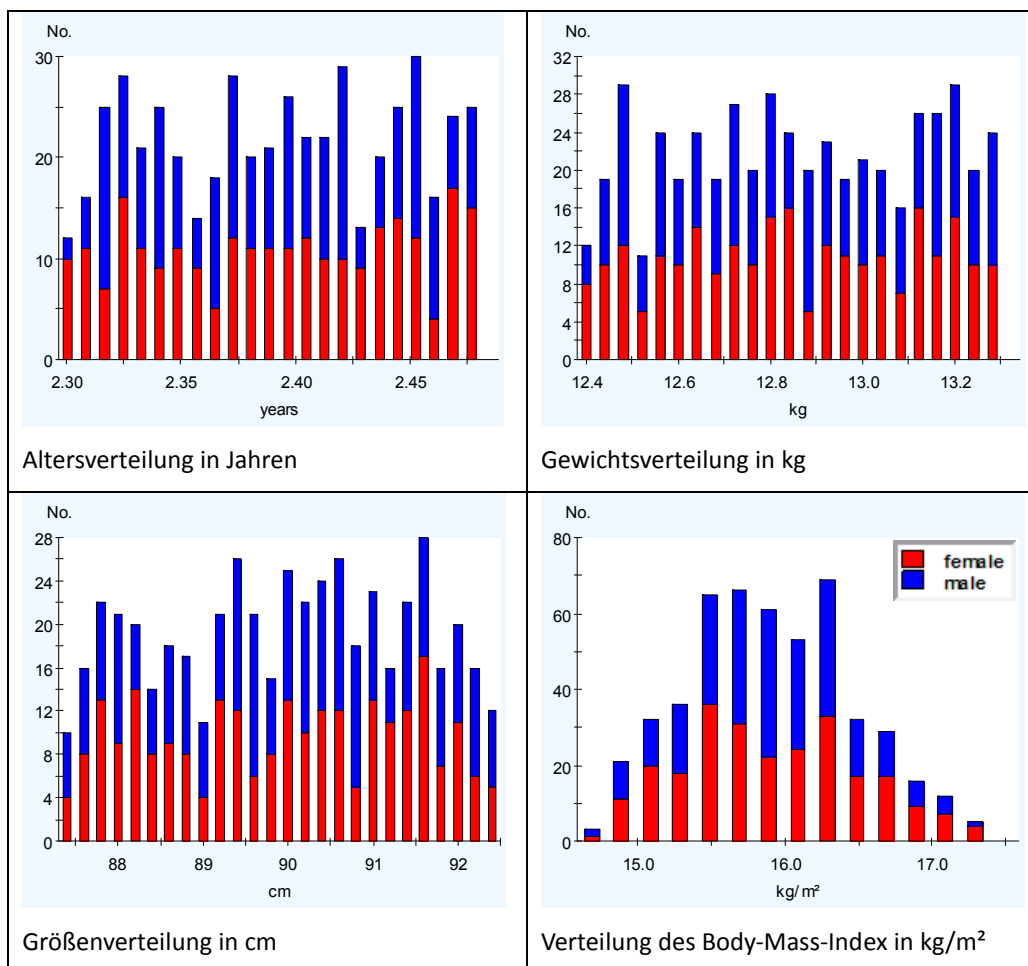


Abbildung 33: Histogramme der Alters-, Gewichts-, Größen- und BMI-Verteilung der Population, n = 500, Frauen:Männer = 1:1

Durch diese Variation schwankten ebenfalls die errechneten Organgrößen und Blutflussraten. Exemplarisch werden diese in Abbildung 34 anhand von Nieren, Leber und Herz dargestellt.

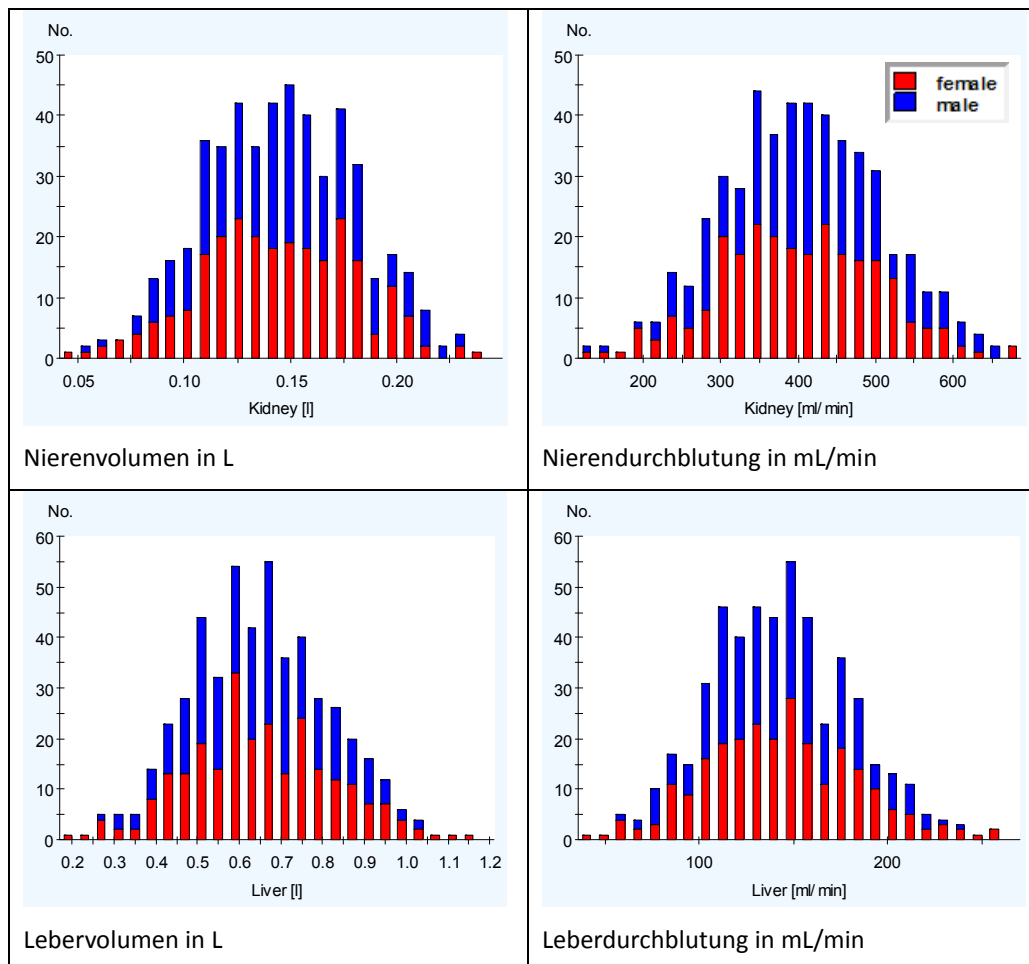


Abbildung 34: Histogramme der Verteilung von exemplarischen Organvolumen und -Durchblutungen

Da die implementierten Enzym- und Transporterkinetiken im Modell auf ihre Aktivität pro Gramm Organewebe heruntergerechnet werden, führen die so simulierten unterschiedlichen Organvolumen und -gewichte somit auch zu unterschiedlichen Organfunktionen. Die Aktivität pro Gramm Gewebe bleibt dabei allerdings für jedes simulierte Individuum gleich. Auch dies wurde bereits im Methodenteil ausführlich erläutert.

Die hier erzeugte Population unterschied sich in ihrer Körperzusammensetzung. So lag z.B. das errechnete Nierenvolumen zwischen 50 und 225 mL, die Nierendurchblutung

schwankte zwischen 200 und 600 mL/min. Ähnliche Schwankungsbereiche zeigten auch andere Kompartimente (Abbildung 34). Der BMI lag mit etwa 14,5 bis 17,5 kg/m² in etwa zwischen der 5. und 85. Perzentile (CDC Growth Charts ²⁰).

3.7.1 Einfluss unterschiedlicher Körperzusammensetzungen

Aus den somit simulierten Unterschieden der Körperzusammensetzung in Bezug auf Organgröße, -gewicht und -durchblutung und somit auch -funktion ergaben sich Schwankungen der simulierten Etoposid-Plasmakonzentrationen.

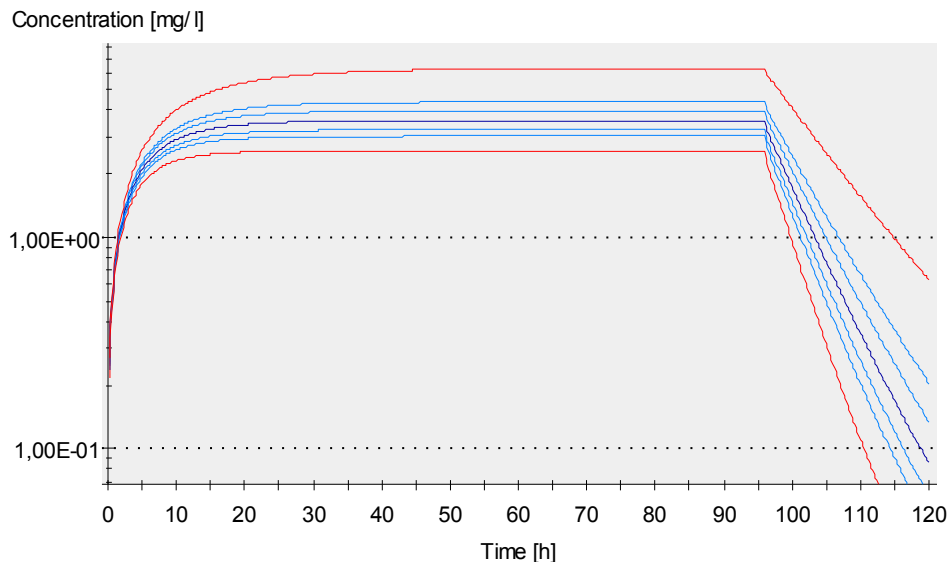


Abbildung 35: Gesamtes Etoposid der simulierten Population; rot: Maximal- und Minimalwert, Dunkelblau: Median, Blau: 10., 25., 75. und 90. Perzentile

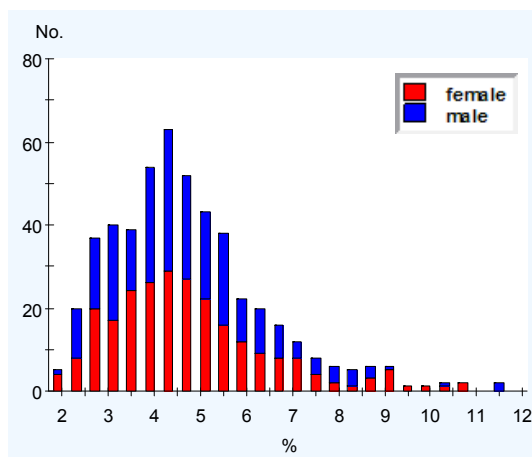
Abbildung 35 zeigt den Plasmaspiegelverlauf für das gesamte Etoposid, Tabelle 19 gibt die zugehörigen Werte wieder. Zur besseren Übersicht wurden nur Maximal- und Minimalverlauf sowie Median, 10., 25., 75. und 90. Perzentile dargestellt (siehe Abbildung 35). Es zeigte sich ein Schwankungsbereich der maximalen Konzentration von 2,57 - 6,28 mg/L. 80% der AUC-Werte lagen -16% und +23% um den Median. Auch die berechnete Clearance schwankte zwischen 0,5 und 1,17 ml/min/kg, also um mehr als das Zweifache (siehe Tabelle 19).

	C_{max} (mg/L)	AUC (mg*h/L)	CL (ml/min/kg)	$t_{1/2}$ (h)
Maximum	6,28	603,24	0,50	11,69
90. Perzentile	4,38	420,47	0,72	14,46
75. Perzentile	3,96	380,48	0,77	14,02
Median	3,57	342,2	0,86	15,42
25. Perzentile	3,23	310,14	0,94	17,33
10. Perzentile	3,01	288,17	1,04	16,54
Minimum	2,57	246,36	1,17	19,58

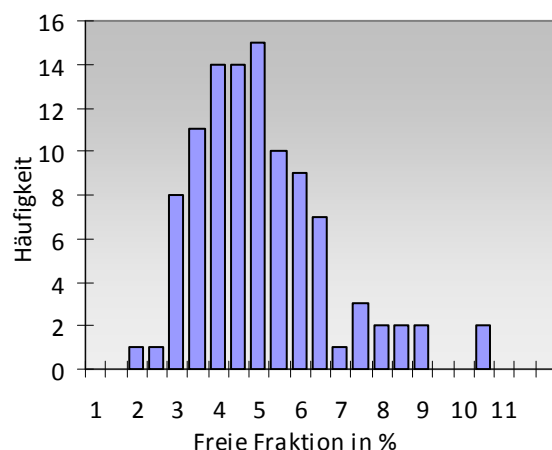
Tabelle 19: Werte der entsprechenden Plasmaspiegelverläufe aus Abbildung 35

3.7.2 Variation von Enzymkinetiken und freier Fraktion

In einem weiteren Schritt konnte die Streuung der dem Modell zugrunde liegenden Enzymkinetiken, Transporterkinetiken, der freien Fraktion oder Ähnlichem festgelegt werden. Die einzelnen Anpassungen wurden bereits im Methodenteil erläutert (siehe 2.4). Die freie Fraktion der Neuroblastom-Kohorte zeigte eine lognormale Verteilung der Messwerte um den Mittelwert von 4,56% mit einer Abweichung um den Faktor 1,42. Dieses wurde ins Modell übernommen. Daraus resultierte die in Abbildung 36a dargestellte Verteilung, die der ebenfalls dargestellten Verteilung der gemessenen freien Fraktion der Neuroblastom-Kohorte sehr nahe kommt (siehe Abbildung 36b).



a: Freie Fraktion der simulierten Population



b: Gemessene Freie Fraktion der Kohorte

Abbildung 36: simulierte (a) und gemessene (b) freie Fraktion, Verteilungen dargestellt als Histogramm

Außerdem wurden wie im Methodenteil erläutert (siehe 2.4) auch statistische Verteilungen der Enzymkinetiken für CYP3A4, UGT1A1, renales P-gp, MRP2 und die biliäre Exkretion dem Modell hinzugefügt.

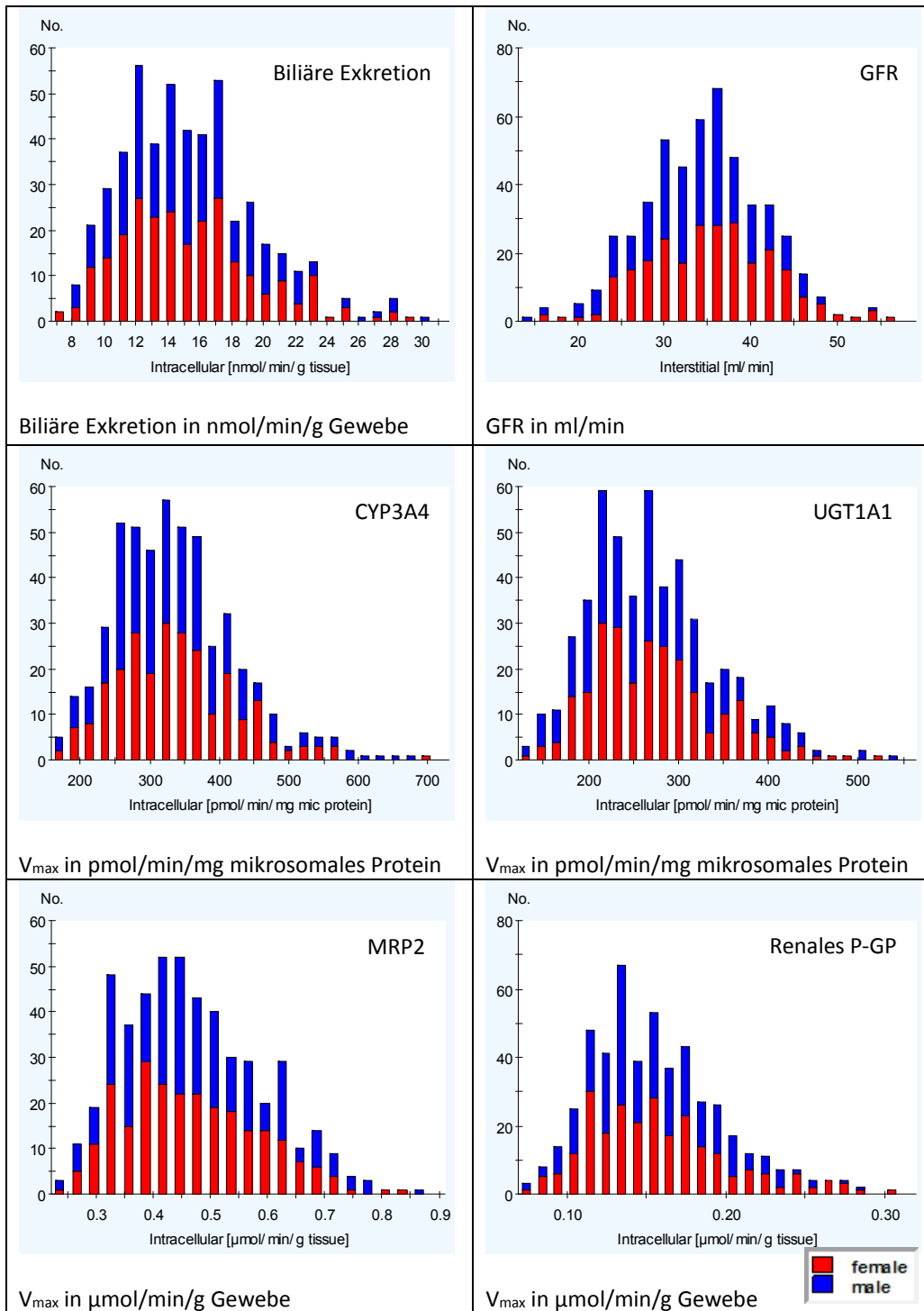


Abbildung 37: Verteilung der Enzym-/Transporterkinetiken sowie GFR und biliärer Exkretion

Dabei wurde jeweils eine logarithmische Normalverteilung angenommen. Die GFR hingegen wurde entsprechend einer gaußschen Normalverteilung simuliert. Die Verteilung der Enzymkinetiken (V_{max}) der oben genannten Transporter und Enzyme stellt Abbildung 37 als Histogramme dar.

Die so entstandene Population unterschied sich somit in simulierter Organgröße und Körperzusammensetzung, die jeweilige Organdurchblutung schwankte zwischen den simulierten Individuen (wie bereits in der vorigen Untersuchung, siehe 3.7.1 Einfluss unterschiedlicher Körperzusammensetzungen). Außerdem variierten die jeweiligen Exkretions- und Metabolisationsgeschwindigkeiten der Organe und die freie Fraktion.

Unter Berücksichtigung dieser interindividuellen Schwankungen erzeugte PK-Sim® nun Plasmaspiegelverläufe, die stärker gestreut waren. Aufgrund der hohen Anzahl von 500 Simulationen wurden auch hier die jeweiligen Perzentilen angegeben (siehe Abbildung 38).

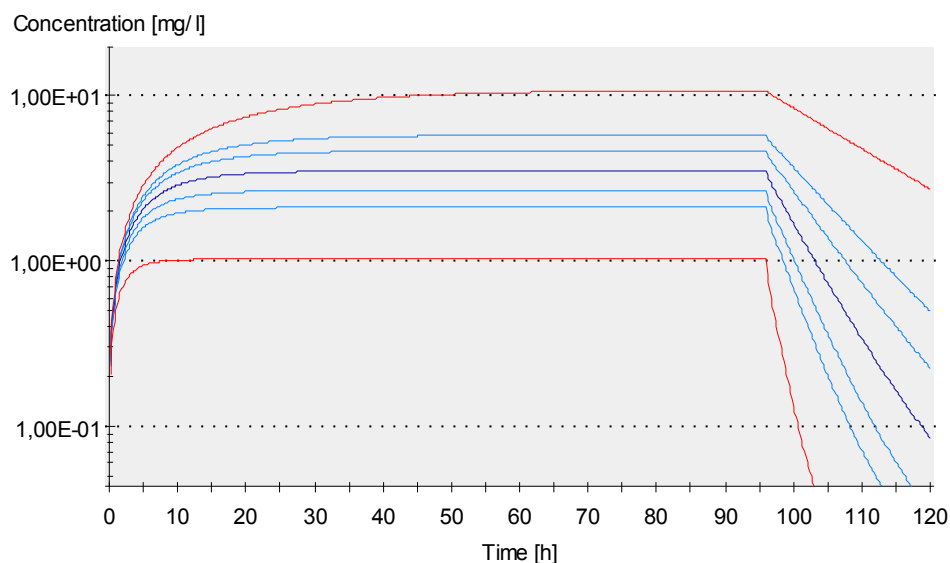


Abbildung 38: Gesamtes Etoposid der simulierten Population; rot: Maximal- und Minimalwert, Dunkelblau: Median, Blau: 10., 25., 75. und 90. Perzentile

Diese Streuung wurde nun mit der beobachteten Streuung der Messwerte unter den 38 Patienten der Neuroblastom-Kohorte verglichen. Die Werte der 24h- und 96h-Simulationsergebnisse im Vergleich zu den beobachteten Messwerten gibt Abbildung

38 sowie die dazugehörige Tabelle 20 wieder. Betrachtet man 10. und 90. Perzentile, so lassen sich Schwankungen der AUC um das 2,7-fache simulieren (insgesamt 10-fach).

	C_{max} (mg/L)	AUC (mg*h/L)	CL (ml/min/kg)	$t_{1/2}$ (h)
Maximum	11,65	1126,37	0,26	14,04
90. Perzentile	6,04	579,63	0,49	10,95
75. Perzentile	4,70	451,5	0,66	13,22
Median	3,62	347,15	0,83	15,16
25. Perzentile	2,86	274,59	1,09	18,71
10. Perzentile	2,25	215,48	1,32	19,4
Minimum	1,11	106,82	2,71	25,32

Tabelle 20: Werte der entsprechenden Plasmaspiegelverläufe aus Abbildung 38

Die Simulation zeigte leicht höhere Werte, besonders im frühen Bereich der Dauerinfusion (24h-Messwert), wo die Werte im Schnitt etwa 0,4 mg/L über den gemessenen lagen. Zu den 96h-Zeitpunkten zeigten sich geringere Abweichungen, die Messwerte lagen im Schnitt nur 0,2 mg/L unter den Simulierten.

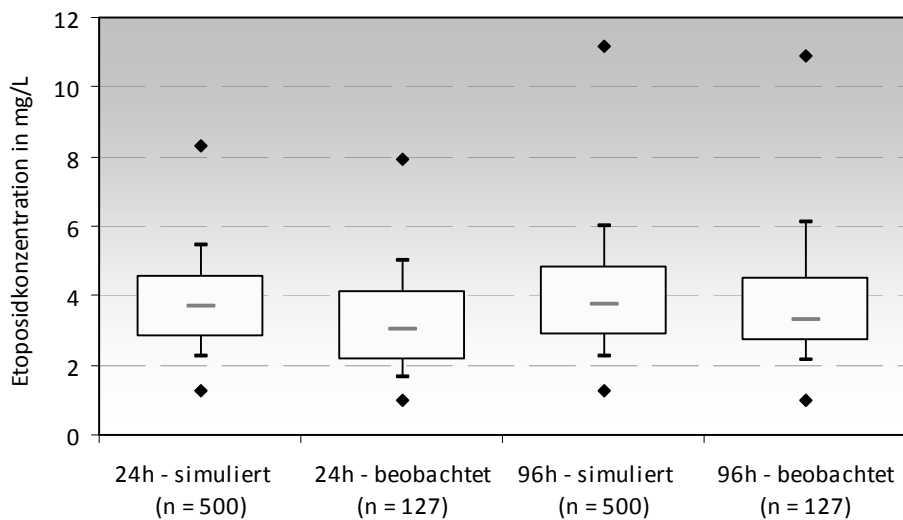


Abbildung 39: Darstellung der Streubreite als Boxplots, Fühler geben 10. und 90. Perzentilen, Punkte Maxima und Minima, Box 25. bis 75. Perzentile und der graue Strich den Median wieder

	Simulierte Werte (mg/L)		Messwerte (mg/L)	
	24h-Wert	96h-Wert	24h-Wert	96h-Wert
Maximum	8,33	11,15	7,95	10,91
90er Perzentile	5,46	5,98	4,99	6,09
75er Perzentile	4,58	4,83	4,14	4,49
Median	3,67	3,77	3,05	3,33
25er Perzentile	2,8	2,84	2,13	2,68
10er Perzentile	2,25	2,27	1,65	2,13
Minimum	1,27	1,28	0,97	0,98

Tabelle 21: Vergleiche der gemessenen und beobachteten Werte

3.7.3 Adipöse und kachektische Patienten

In Abschnitt 3.7.1 wurde bereits beschrieben, welchen Einfluss die unterschiedlich simulierten Körperzusammensetzungen auf die erwarteten Plasmaspiegel haben. Hier wurden nun zwei Populationen mit einem BMI kleiner der 5ten und größer der 95ten Perzentile gegenübergestellt und mit den Messwerten verglichen.

Beide Populationen hatten denselben Altersbereich (2,31-2,48 Jahre) und die gleiche Körpergröße (90,6cm). Der BMI wurde zwischen 19,3-21 kg/m² bzw. 13-14,4 kg/m² festgelegt. Die hieraus erzeugten Populationen hatten durchschnittliche Gewichte von 16,5kg bzw. 11,6kg, wonach die KOF und die jeweilige Gesamtdosis berechnet wurden (Adipöse Population: mittlere KOF 0,64m² = 258mg Gesamtdosis; kachektische Population: mittlere KOF 0,54m² = 216mg Gesamtdosis). Die GFR wurde ebenfalls anhand der Mittelwerte nach Hayton berechnet (40,24 ± 6,02 ml/min bzw. 33,14 ± 4,98 ml/min). Weiterhin wurden die oben beschriebenen IIV der Enzym- und Transporterkinetiken implementiert sowie die Schwankungen von freier Fraktion und GFR.

Es ist zu erwähnen, dass die Dosisberechnung so für manche simulierte VIs vom korrekt nach KOF berechneten Wert abweichen wird. Die Abweichungen der von PK-Sim[®] berechneten Gesamtdosis von der eigentlich nach KOF zu verabreichenden Dosis bleiben aber unter ±3%.

Die simulierten Plasmaspiegel von adipösen Individuen lagen deutlich über den Plasmaspiegeln der kachektischen Patienten, aber auch über den tatsächlich in der NB-97-Kohorte gemessenen Spiegeln. Hier ist zu erwähnen, dass die eingeschlossenen Patienten insgesamt für ihre Größe eher zu leicht waren. Dargestellt sind die Ergebnisse in Abbildung 40 und Tabelle 22.

	Simulationsergebnisse adipöse Population	Simulationsergebnisse kachektische Population	Messwerte (mg/L) der NB-97-Kohorte
Maximum	9,35	7,37	10,91
90. Perzentile	6,26	4,86	6,09
75. Perzentile	5,16	3,93	4,49
Median	4,12	3,3	3,33
25. Perzentile	2,95	2,49	2,68
10. Perzentile	2,38	2,01	2,13
Minimum	1,99	1,52	0,98

Tabelle 22: Perzentilen der Simulationsergebnisse für adipöse (> 95. BMI-Perzentile) und kachektische Patienten (<5. BMI-Perzentile), zum Vergleich die Messwerte der NB-97-Kohorte

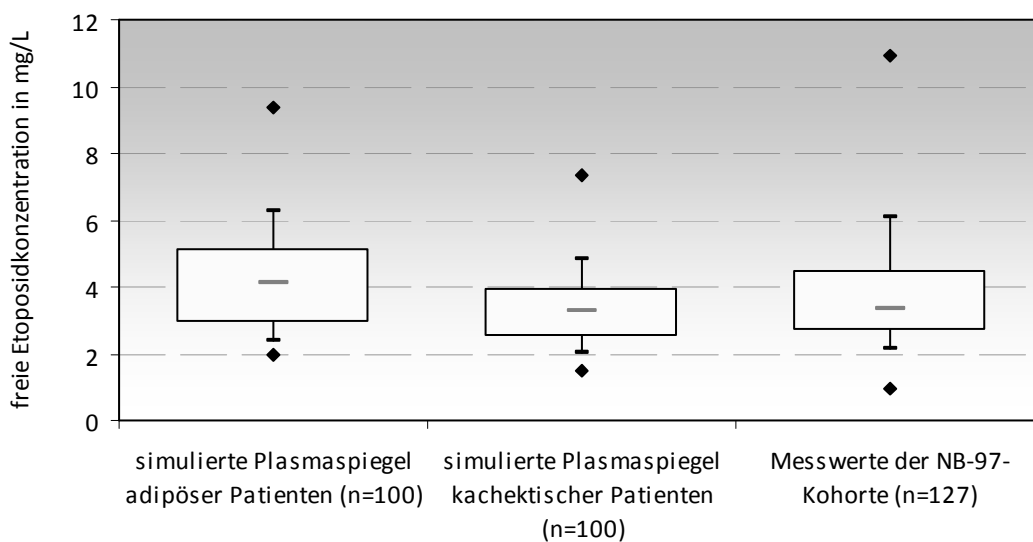


Abbildung 40: Zur besseren Vergleichbarkeit als Boxplots aufgetragen sind: Verteilung der Plasmaspiegel einer adipösen und einer kachektischen Patientenkohorte (je n=100) sowie die Messwerte der eingeschlossenen Patienten zum Vergleich

3.7.4 Ungebundenes Etoposid

Weiterhin wurde die Streuung der freien Etoposidkonzentration untersucht. Hierzu wurde erneut die bereits im Methodenteil beschriebene Population herangezogen (siehe 2.4). Der Alter-, Gewichts- und Größenbereich richtete sich nach dem Median der NB-97-Kohorte. Die IIV der Enzym- und Transporterkinetiken, der GFR und der freien Fraktion wurden auch hier implementiert. Die Kohorte entsprach exakt der in Abschnitt 3.7.2 verwendeten. Abbildung 41 gibt die Streuung der Plasmaspiegel für ungebundenes Etoposid wieder.

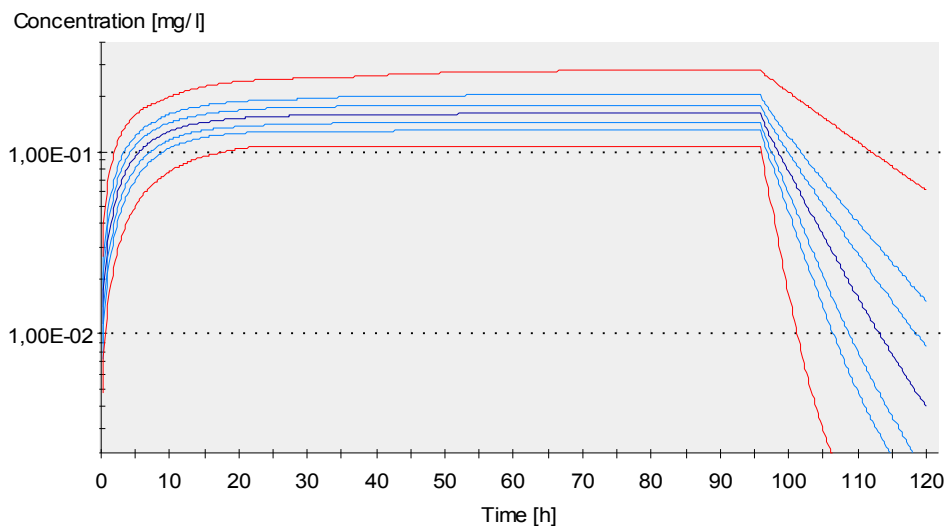


Abbildung 41: Freies Etoposid der simulierten Population; rot: Maximal- und Minimalwert, Dunkelblau: Median, Blau: 10., 25., 75. und 90. Perzentile

Die Simulation erzeugte einen Bereich von 0,108 – 0,297 mg/L, also eine Schwankung um das Dreifache. Die Messwerte zeigten Schwankungen um das Elffache, der Bereich lag zwischen 0,031 – 0,353 mg/L. Die hier dargestellte Streuung der Plasmaspiegel für ungebundenes Etoposid erreichte nicht die Streuung der gemessenen Werte für ungebundenes Etoposid.

Auch hier lagen die Mediane der Simulation höher als die Mediane der gemessenen 24h- und 96h-Werte für ungebundenes Etoposid. Die entsprechenden Boxplots werden in Abbildung 42 dargestellt, Tabelle 23 gibt die Werte wieder.

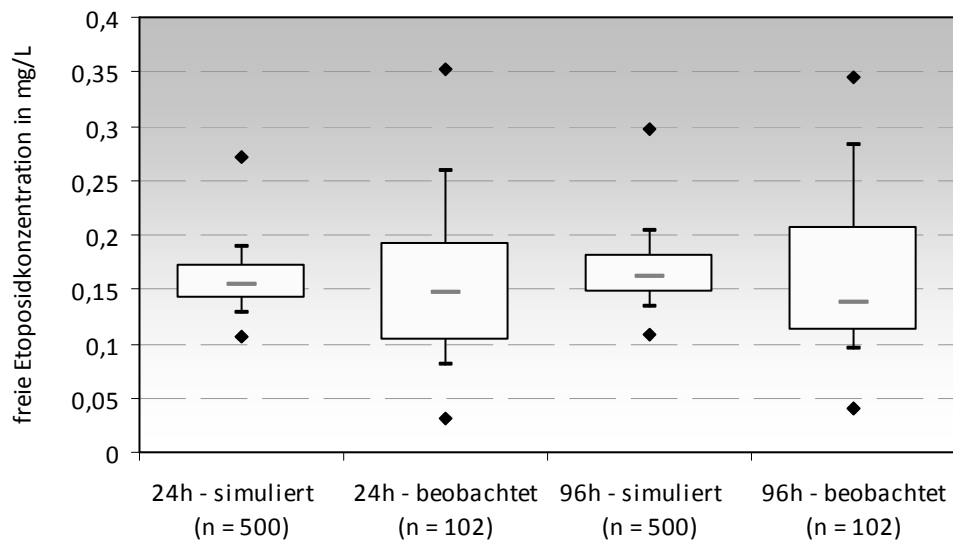


Abbildung 42: Darstellung der freien Etoposidkonzentrationen als Boxplots, Fühler zeigen 10. bis 90. Perzentilen, Punkte Maxima und Minima, Box 25. bis 75. Perzentile und graue Striche den Median

	Simulationsergebnisse (mg/L)		Messwerte(mg/L)	
	24h-Wert	96h-Wert	24h-Wert	96h-Wert
Maximum	0,271	0,297	0,353	0,344
90. Perzentile	0,189	0,203	0,259	0,282
75. Perzentile	0,173	0,181	0,193	0,207
Median	0,155	0,161	0,147	0,138
25. Perzentile	0,142	0,146	0,102	0,113
10. Perzentile	0,129	0,134	0,08	0,096
Minimum	0,107	0,108	0,031	0,041

Tabelle 23: Vergleiche der gemessenen und beobachteten Werte für ungebundenes Etoposid

3.7.5 Exkretions- und Metabolisationsfraktionen

Als letzter Schritt wurden die simulierten Schwankungen der Exkretions- und Metabolisationsfraktionen anhand der Standardpopulation (siehe Methodenteil 2.4) untersucht (siehe Abbildung 43). Die simulierte renale Ausscheidung war in 80% der Fälle für 50,2 - 69,4% der Ausscheidung verantwortlich, insgesamt für 36 - 85% der Gesamtausscheidung. Die biliäre Ausscheidung kommt auf 4,3 - 10,6% (80%, Gesamtbereich zwischen 2 - 20,8%), die gesamte Metabolisation via CYP3A4 ist zu 21 - 38,2% beteiligt, UGT1A1 sorgt für die Verstoffwechselung von 1,9 - 4,5% der Gesamtdosis (Bereich CYP3A4 11 - 48,6%, UGT1A1 0,8 - 7,3%).

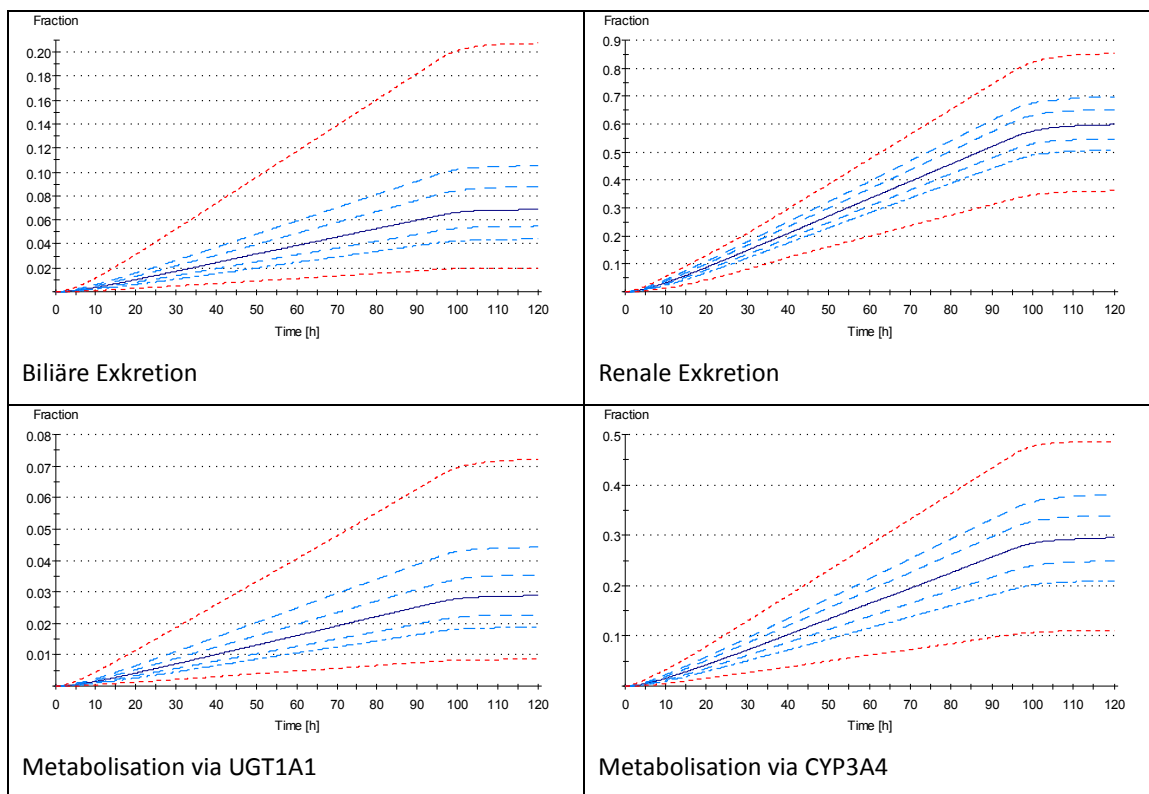


Abbildung 43: Simulationsergebnisse: Exkretions- und Metabolisationsfraktionen der Population, wie zuvor gibt rot die Maxima und Minima der Population wieder, dunkelblau den Median und blau die 10., 25., 75. und 90. Perzentile

3.8 Dosierungsregime bei Kleinkindern

PK-Sim® bietet in seinem PK-POP-Modul die Möglichkeit, einer simulierten Patientenkohorte eine fixe Dosis oder aber eine nach kg Körpergewicht berechnete Dosis zu verabreichen (eine Dosierung nach m² KOF ist nicht möglich). Dies wurde genutzt, um eine fixe Dosis unabhängig von Gewicht oder Körperoberfläche mit der körperlsgewichtsbsierten Dosierung zu vergleichen.

Erzeugt wurde eine Kohorte von 100 VIs mit dem fixen Alter von sechs Monaten. Körpergewicht und Körperlänge wurden nicht festgelegt und schwankten im physiologischen Bereich. Die GFR wurde nach Hayton⁵³ berechnet und entsprechend den mittleren Werten der Population (Größe 65,3cm; Gewicht 7,2 kg.; KOF 0,36m²) auf 14,94 mL/min festgelegt. Die Aktivität für CYP3A4 und P-gp wurde unter Berücksichtigung der Ontogenie (siehe Tabelle 6) auf 276 pmol/min/g Gewebe bzw. 149 nmol/min/g Gewebe gesetzt. Weitere Variabilitäten wurden nicht eingebaut.

Es folgten zwei Simulationsdurchläufe. Die erste arbeitete mit einer festen Dosis von 121 mg für jedes VI der Population. Diese Dosierung entsprach umgerechnet 4,2 mg/kg KG für das mittlere Gewicht der Kohorte. Der zweite Simulationsdurchlauf arbeitete mit einer Dosierung nach 4,2 mg/kg KG, wie sie auch im NB-97-Protokoll durchgeführt wurde. Die Verteilung der Simulationsergebnisse (C_{max}) zeigen die Boxplots in Abbildung 44, die dazugehörigen Daten gibt Tabelle 24 wieder.

Perzentilen	4,2 mg/kg pro Tag (mg/L)	133,2 mg fixe Dosis (mg/L)
Maximum	15,2	14,13
90er Perzentile	10,51	10,54
75er Perzentile	8,9	8,59
Median	6,99	6,83
25er Perzentile	5,28	5,28
10er Perzentile	3,75	4,06
Minimum	1,93	2,05

Tabelle 24: Perzentilen der maximalen simulierten Etoposidkonzentrationen in mg/L

Die Boxplots zeigen kaum Abweichungen voneinander. Die Streuung ist fast identisch, unter gewichtsbasierter Dosierung minimal größer (8-fach gegen 7-fach). Der Median ist vergleichbar.

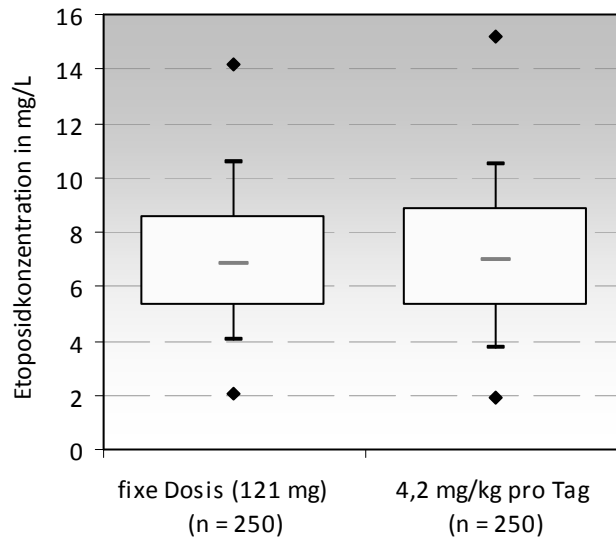


Abbildung 44: Darstellung der Perzentilen als Boxplots zur besseren graphischen Beurteilung

Untersuchte man die Korrelationen von Körpergewicht, Körpergröße und BMI mit den jeweiligen C_{max} -Werten beider Simulationen, so zeigten sich jeweils nur geringe Korrelationen. Die simulierten maximalen Spiegel bei Dosierung nach KG korrelierten positiv mit BMI, Größe und Gewicht ($r = 0,16$ bis $0,35$), unter fester Dosis korrelierten diese negativ ($r = -0,09$ bis $-0,13$). Die größte Korrelation bestand zwischen C_{max} unter KG-Dosierung und dem Körpergewicht ($r = 0,35$), was so zu erwarten war.

3.8.1 Dosierung für Kinder < 1 Lebensjahr im NB-97-Regime

Kinder zwischen 0,5 und 1 Lebensjahr werden im NB-97-Regime nach kg KG dosiert. Dabei bezieht sich diese Dosierung wie in der Einleitung erläutert auf 125 mg/m^2 (siehe NB-90-Regime) und nicht auf die im NB-97-Studienprotokoll verwendete Dosierung von 100 mg/m^2 für Kinder > 1 Lebensjahr. Decius konnte in ihrer Untersuchung zeigen, dass nach kg KG dosierte Kinder und Kinder < 1 Lebensjahr höhere Etoposidspiegel aufwiesen als andere (siehe Dissertationsschrift I.K. Decius 2009³⁰). Hier wurde nun untersucht, ob das Modell diese höheren Spiegel ebenfalls erzeugt und welche Plasmaspiegel eine der 100 mg/m^2 Dosis entsprechende kg KG Dosierung ($100 \text{ mg/m}^2 / 30 \text{ kg/1m}^2 = 3,33 \text{ mg/kg}$) im Modell erzeugt.

Hierzu wurde eine Population ($n = 250$, weiblich zu männlich 1:1) mit einem Altersbereich zwischen 0,5 und 1 Jahr erzeugt. Größen- und Gewichtsparameter wurden nicht vorgegeben, so dass PK-Sim[®] hier eine realistische Population anhand der hinterlegten Perzentilenkurven erzeugte. Die GFR wurde auf $19,72 \pm 3,11 \text{ ml/min}$ festgelegt (für das mittlere Gewicht eines 0,75-jährigen Jungen nach Hayton berechnet). Die Dosis wurde einmal mit $16,8 \text{ mg/kg}$ über 96h (entspricht $4,2 \text{ mg/kg KG}$) sowie mit $13,3 \text{ mg/kg}$ über 96h eingefügt (entspricht $3,33 \text{ mg/kg KG}$ über 4 Tage). CYP3A4 wurde auf 309 pmol/min/g festgelegt (entsprechend der Ontogenie bei einem mittleren Alter von 0,75 Jahren). Außerdem wurden die bereits zuvor zugrunde gelegten IIV der Enzymkinetiken, der GFR und der freien Fraktion implementiert. Weitere Parameter wurden nicht angepasst.

Es zeigt sich, dass das Modell erwartungsgemäß höhere Etoposidspiegel der Kohorte bei $4,2 \text{ mg/kg}$ basierter Dosierung erzeugt. Der Median der Simulation liegt mit $4,31 \text{ mg/L}$ statt $3,33 \text{ mg/L}$ etwa 1 mg/L über dem Median der Messwerte der gesamten Kohorte (siehe Tabelle 25). Reduziert man die Dosis pro kg auf eine äquivalente Dosierung zu 100 mg/m^2 , also $3,33 \text{ mg/kg}$, so simuliert man leicht niedrigere Spiegel als im Mittel in der gesamten Kohorte gemessen wurden. Mehr als 99% der simulierten Werte lagen allerdings bei über 1 mg/L (1. Perzentile bei $1,09 \text{ mg/L}$).

	Simulationsergebnisse 4,2 mg/kg (mg/L)	Simulationsergebnisse 3,3 mg/kg (mg/L)	Messwerte (mg/L) der NB-97-Kohorte
Maximum	12,19	9,09	10,91
90. Perzentile	7,26	5,04	6,09
75. Perzentile	5,18	3,96	4,49
Median	4,31	3,26	3,33
25. Perzentile	2,86	2,41	2,68
10. Perzentile	2,32	1,85	2,13
Minimum	1,14	0,93	0,98

Tabelle 25: Werte der Perzentilen, zum einen der simulierten Spiegel nach 4,2mg/kg und reduzierter 3,3 mg/kg Dosierung, zum anderen der Messwerte der eingeschlossenen Patienten

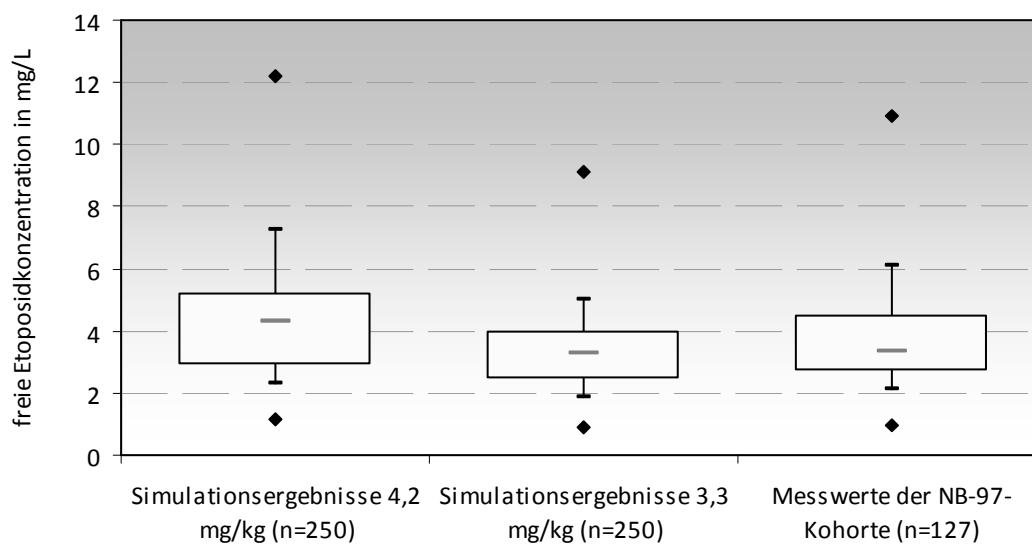


Abbildung 45: Zur besseren Anschaulichkeit Perzentilen der Tabelle 25 als Boxplots dargestellt

3.8.2 Dosierung bei eingeschränkter Nierenfunktion

Nach einem Review von C.F. Steward von 1994¹¹⁸ wurde bereits in der Literatur diskutiert, bei Patienten mit Kreatininspiegeln über 1,4 mg/dl bei gleichzeitig normwertiger Leberfunktion eine 30%ige Reduktion der Etoposiddosis durchzuführen, da diese Patienten in einer Untersuchung signifikant veränderte Pharmakokinetiken aufwiesen. Um dies hier weiter zu untersuchen, musste das Modell entsprechend einer Nierenfunktionseinschränkung angepasst werden. D'Incalci et al. untersuchten die Etoposidpharmakokinetik bei Patienten mit eingeschränkten Organfunktionen²⁹. 8 Patienten zeigten eine Kreatininclearance von < 60 ml/min (Mittelwert 27,4 ml/min, Bereich 4-43 ml/min, ca. 25% der Normalfunktion) und einen Serumkreatininwert > 1,5 mg/dl (Mittelwert 2,6 mg/dl, 1,5-11 mg/dl). Im untersuchten Sammelurin ließen sich 2,2 – 23% unverändertes Etoposid nachweisen (n=8), bei nierengesunden Vergleichspatienten (n=18) waren dies 21-56%.

Zur Generierung der Population wurden hier die Eingabeparameter genutzt, die bereits in Abschnitt 3.7 beschrieben wurden. Auch die in Abschnitt 3.7.2 erläuterten Variabilitäten wurden implementiert. Zusätzlich wurden aber die Werte der GFR, MRP2 und renales P-gp auf 25% reduziert. So wurde versucht, einen 75%igen Rückgang der Nierenfunktion zu simulieren.

Nun wurden zwei Simulationen durchgeführt, eine mit der in Abschnitt 3.7 hergeleiteten Dosis von 17,79 mg/kg KG, die andere mit einer um 30% reduzierten Dosis von 12,46 mg/kg KG. Die Ergebnisse zeigen die Abbildung 46 und Tabelle 26. Die simulierte Verteilung der renalen Exkretionsfraktion war in beiden Simulationen deckungsgleich, insgesamt wurden Werte zwischen 12-39% erzeugt. Die so simulierten Fraktionen lagen somit über denen von D'Incalci et al. gemessenen.

Perzentilen	normale Dosis (n=100)	Dosis um 30% reduziert (n=100)	Messwerte (mg/L) der NB-97-Kohorte (n=127)
Maximum	27,49	11,17	10,91
90er Perzentile	12,89	7,45	6,09
75er Perzentile	10,79	5,16	4,49
Median	8,16	4,39	3,33
25er Perzentile	6,17	3,62	2,68
10er Perzentile	4,81	2,85	2,13
Minimum	2,59	1,64	0,98

Tabelle 26: Perzentilen der Simulationsergebnisse bei reduzierter Nierenfunktion (25%), je n=100

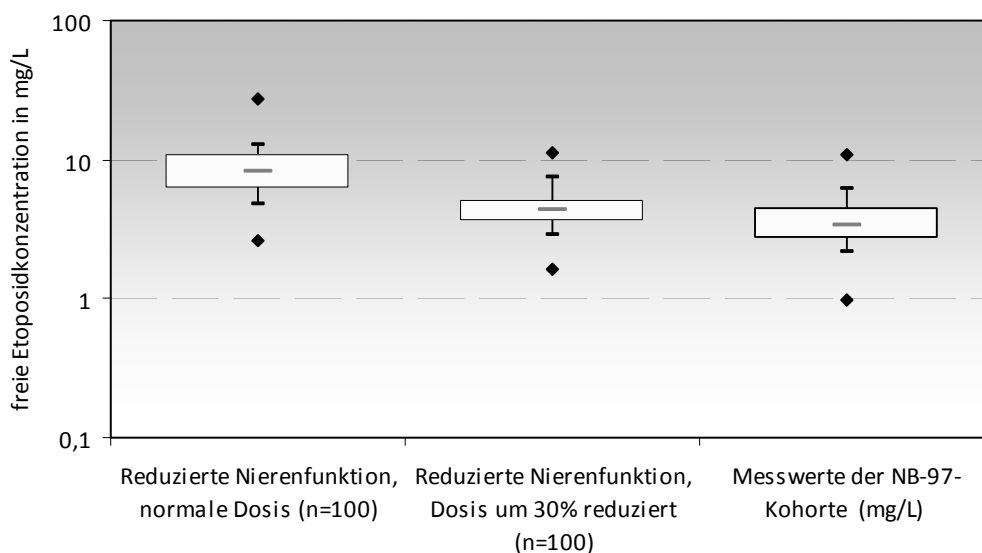


Abbildung 46: Als Boxplots aufgetragene Verteilung der maximal simulierten Etoposidkonzentrationen unter ursprünglicher und reduzierter Dosierung, rechts Messwerte der NB-97-Kohorte

4 Diskussion

Prospektive Simulationen von pharmakokinetischen Parametern und Konzentrations-Zeit-Kurven im Menschen unter der Verwendung von *in vitro* - *in vivo* - Extrapolation (IVIVE) erlangen einen immer größeren Stellenwert in der Arzneimittelentwicklung¹⁰⁵. Zhao et al. fanden in einer Untersuchung eine zuletzt stark zunehmende Verwendung von PBPK-Modellen in der Arzneimittelforschung in Anträgen an die FDA (food and drug administration)¹³². Dies wird von einigen Autoren auf eine bessere Softwareversorgung zurückgeführt, mit Hilfe derer sich Simulationen leichter durchführen lassen¹⁰⁶. Andere Autoren ziehen die bessere Verknüpfung von *in-vitro* Daten mit *in vivo* Extrapolationen als Erklärung heran⁶³.

4.1 Die Kohorte

In dieser Arbeit wurde ein bestehendes Modell für Etoposid, welches bereits für die Simulation von kindlichen Individuen validiert wurde, für weitere Untersuchungen herangezogen. Mithilfe von physiologiebasierten pharmakokinetischen Simulationen wurde ein pädiatrisches Patientenkollektiv nachgebildet, um die Verteilung von Etoposid und deren Einflussfaktoren im kindlichen Körper näher zu untersuchen. Die simulierte Patientenkohorte mit 38 Individuen spiegelte eine klassische Gruppe in der pädiatrischen Onkologie wieder. Die Altersspanne reichte von sechs Monaten bis 14 Jahren. Bei nur fünf dieser 38 untersuchten Patienten lag die individuelle Gewichtszentile über der Längenzentile, in sechs Fällen lagen Gewicht und Größe auf oder zwischen den gleichen Perzentilen. In 27 Fällen waren die Kinder somit leichter als ihre Größe vermuten ließ. Bei zwölf Kindern lag das Gewicht unterhalb der altersentsprechenden dritten Perzentile. Das somit beobachtete relative Untergewicht der Kohorte könnte sich möglicherweise darauf zurückführen lassen, dass es sich bei einem malignen Neuroblastom um eine konsumierende Erkrankung handelt.

Die auf den Probenzetteln zu eruiierenden Plasmawerte für GPT, Kreatinin, Harnstoff und Bilirubin zeigten allesamt keine Extremwerte. Die Messwerte waren bei Weitem

nicht für jeden Patienten auf den Probezetteln notiert worden (Kreatinin: n = 89; Harnstoff: n = 64; Bilirubin: n = 69; GPT: n = 84; jeweils von 127 Datensätzen; siehe Tabelle 8).

Für GPT waren mit 55 U/L maximal auf das 2,5-fache des Referenzwertes erhöhte Werte festzustellen, die sich auch durch einen subklinischen Leberschaden im Laufe der Polychemotherapie erklären lassen. Höhere GPT-Spiegel korrelierten nicht mit höheren Etoposidspiegeln ($r = 0,01$, $p = 0,90$). Auch die Simulationsergebnisse bzw. deren Abweichungen von den Messwerten korrelierten nicht mit den GPT-Werten (siehe Abbildung 18b).

Für Kreatinin lagen nur sechs Werte eines Patienten über dem altersentsprechenden Referenzbereich (bis maximal 1,2 mg/dL). Höhere Kreatininspiegel korrelierten statistisch signifikant mit höheren Etoposidspiegeln ($r = 0,314$, $p = 0,003$, siehe Abbildung 19b). Nach Durchführung der Simulationen war kein signifikanter Zusammenhang zwischen der Simulationsabweichung und den Kreatininwerten nachzuweisen.

Harnstoff (maximal 35 mg/dL) zeigte keine Werte über dem Referenzbereich (13 - 54 mg/dL), hier korrelierten höhere Werte nicht mit veränderten Etoposidwerten. Auch der Simulationsfehler zeigte keine Abhängigkeit vom gemessenen Harnstoffspiegel (siehe Abbildung 20a).

Für Bilirubin lagen nur vier von 84 Messwerten über dem Referenzbereich (bis 0,9mg/dL) und waren mit 1 bzw. 1,1 mg/dL auch nur minimal erhöht. Höhere Bilirubinspiegel korrelierten dabei negativ mit den gemessenen Etoposidspiegeln (siehe Abbildung 21a und b). Auf Bilirubin wird später noch genauer eingegangen.

4.2 Modellanpassung

Das bereits an Kindern validierte Etoposidmodell für PK-Sim® von G. Kersting⁷⁰ musste hier an die Patientenkohorte angepasst werden. Individuelle Abweichungen von Organgrößen, Perfusionen, Enzymkinetiken oder anderer, im Modell implementierter Parameter, waren im Patientenkollektiv nicht bestimmt worden. Individuelle Abschätzungen der Nieren- oder Leberfunktionen anhand von Laborparametern waren nicht ausreichend sicher möglich. Die Organfunktionen waren auch nicht anhand von Exkretionsfraktionen abschätzbar. Es mussten aber Einflüsse weiterer Medikamente des NB-97-Protokolls berücksichtigt werden.

Cisplatin - Das Hauptaugenmerk der Modellierung lag dabei auf Cisplatin, da dieses zeitgleich mit Etoposid als 96h-Dauerinfusion verabreicht wurde. Wie bereits im Kapitel 2.2 des Methodenteils beschrieben liegen mehrere Studien vor, die die Langzeitveränderungen der Nierenfunktion unter Cisplatin beleuchten (Hamilton, Meijer und Kakihara^{47, 65, 85}). Offermann et al. untersuchten die Nierenfunktion wiederum nur in den ersten Stunden nach Cisplatingabe⁹⁴. So musste ein ungefährender Einfluss auf die Nierenfunktionen unter einer 96h-stündigen Dauerinfusion abgeschätzt werden. Die in der Literatur beschriebene Widerstandserhöhung der Nierendurchblutung wurde daher durch eine für jeden Patienten gleich herabgesetzte Nierenperfusion simuliert.

Gleichermaßen wurde die durchschnittlich beschriebene Abnahme der GFR bei jedem Patienten berücksichtigt. Die dabei genutzte Formel nach Hayton⁵³ schätzte nur eine mittlere glomeruläre Filtration eines Individuums ab, die in der Formel ausschließlich von Alter und Gewicht abhängt. Diese Formel ist noch nicht für die Verwendung an einem untergewichtigen Kollektiv validiert worden.

Da in der Literatur bereits Korrelationen zwischen Kreatinin- und Etoposidclearance beschrieben wurden, wurde zu Beginn über eine Individualisierung der VIs mithilfe der Krea-CL als eGFR nachgedacht. Auch zeigten die Messwerte der NB-97-Kohorte, dass höhere Kreatininspiegel mit erhöhten gemessenen Etoposidspiegeln korrelierten (siehe

Abbildung 19). Wie zuvor beschrieben wurde aber aufgrund der starken Ungenauigkeiten bei jüngeren Kindern diese Vorgehensweise verworfen.

Ifosfamid - Ifosfamid, als weiteres potentiell nephrotoxisches Medikament, wurde in der Simulation nicht berücksichtigt. Wie bereits im Methodenteil erläutert ist bei der applizierten Dosierung laut einer Untersuchung von Stöhr et al. nur in maximal 6,5% der Fälle mit einer klinisch relevanten tubulären Schädigung zu rechnen, auch wenn in bis zu 90% subklinische Veränderungen auftreten können, deren klinischer Einfluss fraglich ist ¹²⁰. Ob eine Erfassung der tubulären Schädigung und deren Implementierung ins Modell zu einer genaueren Beschreibung bestimmter Individuen führt, kann hier nicht beantwortet werden.

Eine weitere Individualisierung der Nierenfunktion war somit hier nicht möglich. Da die Simulationsergebnisse sehr gut die Messwerte der Kohorte wiedergaben, stellen die implementierten Werte aber eine realistische Schätzung des Cisplatineinflusses dar.

4.2.1 Zyklusabhängigkeit

Um etwaige Einflüsse der Zyklen im Sinne einer zunehmenden oder abnehmenden Clearance durch Organschädigung oder Enzyminduktion auszuschließen, wurden die nach Zyklen getrennten Messwerte auf Unterschiede untersucht. Die Boxplots und die individuellen Verläufe ließen keine großen Differenzen zwischen erstem und drittem Zyklus erkennen. Im zweiten Zyklus zeigte sich eine größere Abweichung der Simulationen von den Messwerten. Die Auftrennung zwischen 24h- und 96h-Werten erklärte sich aus den niedrigeren Messwerten der entsprechenden Patienten zum 24h-Messpunkt im Vergleich zum 96h-Messpunkt. Warum diese Patienten im zweiten Block somit am Ende der 96h-Dauerinfusion höhere Messwerte aufwiesen, ließ sich nicht ergründen. Eine ähnliche Aufteilung fand sich bei diesen Patienten weder im ersten noch im dritten Zyklus. Da somit kein Anhalt für eine Veränderung der Pharmakokinetik im Laufe der Therapie zu finden war, wurde auf eine individuelle Anpassung je nach Zyklus verzichtet.

4.3 PK-Sim®

Das PBPK-Modell von PK-Sim® greift auf Parameter zurück, die sich im Allgemeinen in zwei Teile gliedern lassen:

- Der erste bezieht sich auf speziesspezifische physiologische Parameter, die unabhängig vom untersuchten Stoff sind. Dazu zählen Körpergewicht, Gewebevolumen und –gewicht bzw. Gewebedichte, Herzminutenvolumen und Organperfusionen, Gewebezusammensetzung, Enzym- und Transporterausstattung sowie die jeweiligen Membranoberflächen in den einzelnen Kompartimenten.
- Der zweite Teil enthält stoffabhängige Parameter, welche die jeweiligen ADME-Prozesse in jedem Gewebekompartiment beschreiben.

Es wird nun zuerst auf mögliche Fehlerquellen des ersten Teils eingegangen, bevor im Weiteren auf die zu beachtenden Störquellen der substanzabhängigen Parameter eingegangen wird.

4.3.1 Fehlerquellen stoffunabhängiger Parameter

Das Modell, welches der Generierung von Individuen zugrunde liegt, errechnet die jeweiligen Organ- und Gewebegrößen sowie Blutflussraten aus den angegebenen anthropometrischen Parametern Körpergewicht, Körperlänge, Geschlecht, Rasse und Alter.

Das pharmakokinetische Verhalten eines Stoffes hängt von den physiologischen Gegebenheiten eines Individuums ab. Die von PK-Sim® errechnete Körperzusammensetzung eines simulierten VI stellt jedoch nur einen gemittelten Vertreter der entsprechenden Altersgruppe dar, individuelle Abweichungen zum Beispiel der Organgewichte können nur ins Modell implementiert werden, wenn sie bekannt sind. Auch wird die Organzusammensetzung in Bezug auf den Gehalt an Triglyceriden, Phospholipiden, Eiweiß oder Wasser nicht altersabhängig unterschieden und eine mögliche Veränderung in der frühen Entwicklung oder im Alter wird vom

Modell nicht berücksichtigt¹²⁵. Genauso werden Veränderungen der Körperzusammensetzung im Krankheitsfall, z.B. bei kachektischen Patienten, vom Modell nicht berücksichtigt. Auch veränderte Ernährungszustände, chronische Erkrankungen oder akute toxische Einflüsse können z.B. veränderten Perfusionen nach sich ziehen¹⁵, die hier nicht einbezogen werden.

Für zwei simulierte VIs mit gleichem Alter, Größe, Gewicht und Geschlecht werden demzufolge die gleichen Organgrößen und Blutflussraten angenommen. Dies hat den Vorteil, dass die Simulationen reproduzierbar werden. Bei gleicher Parametereingabe ergeben sich immer auch die gleichen Simulationsergebnisse. Es liegt aber nahe, dass zwei tatsächliche Individuen mit gleichem Alter, Größe, Gewicht und Geschlecht nicht die identische Körperzusammensetzung und Organfunktionen aufweisen.

Weiterhin wird vom Modell überschüssiges Gewicht durch einen erhöhten Fettanteil abgebildet. Wenn das Gewicht nicht durch die durchschnittlichen Organ- und Gewebegewichte erreicht wird, wird die fehlende Masse durch Fettgewebe erzeugt. Für muskuläre Individuen stellt dieses Vorgehen somit eine Fehlannahme dar, die nachträglich korrigiert werden muss.

4.3.2 Fehlerquellen stoffabhängiger Parameter

Der zweite Teil der im PK-Sim®-Modell benutzten Parameter ist stoffabhängig, je nach Eigenschaften des untersuchten Pharmakons ergeben sich somit unterschiedliche Variablen. Zu diesen zählen Membranpermeabilitäten, Proteinbindung, Blut-Plasma-Verteilungsverhältnisse, Partitionskoeffizienten für Gewebe/Plasma und intrinsische Clearances für Metabolisation und Transport. Diese werden Teils *in silico* errechnet, also durch dem Modell hinterlegte Formeln aus Stoffkonstanten erzeugt, oder können aus *in vitro* Daten ins Modell übernommen werden.

Bei *in silico* gewonnenen Daten in diesem Modell handelt es sich um errechnete Membranpermeabilitäten und Partitionskoeffizienten. Erstere werden von PK-Sim® anhand des Molekulargewichts abgeschätzt, wobei auch etwaige Halogenanteile berücksichtigt wurden. Die Partitionskoeffizienten können nach unterschiedlichen

Modellen berechnet werden. Das hier verwendete Modell nach Rodgers and Rowland verwendet unter anderem pK_a -Werte, örtlichen pH-Werte und den prozentualen Anteil des ungebundenen Stoffes der Gesamtstoffmenge (die freie Fraktion f_u), um die jeweilige Verteilung eines Stoffes zwischen Plasma und Gewebe zu berechnen. Die Autoren konnten dabei zeigen, dass ihre Funktion die experimentell bestimmten Werte ausreichend gut vorhersagen konnte ^{103, 104}. Als gut wurde in der Untersuchung allerdings ein Wert angesehen, der innerhalb das dreifachen des experimentell bestimmten Wertes lag (- 66% bis +200%).

Ob dies als ausreichend genau angesehen werden kann ist fraglich. Da die Verteilung des Stoffes stark von diesen Konstanten abhängt, haben mögliche Fehler großen Einfluss auf die errechnete Pharmakonverteilung. So schwankte wie zuvor erläutert die freie Fraktion zwischen 2,18 und 10,53%.

Im Mittel trafen die hier durchgeführten Simulationen aber den von der Kohorte vorgegebenen Wertebereich für die Etoposidplasmakonzentration, so dass man davon ausgehen kann, dass die hier hinterlegte Herangehensweise für Etoposid einen ausreichend genauen Ansatz darstellt.

4.4 Individuelle Simulationen

Nach Anpassen des von G. Kersting entwickelten PK-Sim[®]-Modells an die dieser Untersuchung zugrunde liegende Patientenkohorte wurden individuelle Simulationen durchgeführt und deren Ergebnisse mit den gemessenen Plasmaspiegeln verglichen.

Die Messwerte der Kohorte konnten durch individuellen Simulationen nur mäßig genau wiedergegeben werden. 80% der Messwerte befanden sich in einem Bereich von $\pm 50\%$ bzw. $\pm 1,8 \text{ mg/L}$ um das jeweilige Simulationsergebnis. Der Pearson-Korrelationskoeffizient zwischen Simulation und Messwert lag bei $r = 0,395$ ($p < 0,001$, siehe Abbildung 15).

Die Streubreite der Kohorte konnte durch individuelle Simulationen nicht wiedergegeben werden, die simulierten Plasmaspiegel bewegten sich in einem Bereich von $1,75 - 6,06 \text{ mg/L}$ um einen Mittelwert von $3,72 \pm 0,93 \text{ mg/L}$. Die Messwerte schwankten dagegen zwischen $0,83 - 9,95 \text{ mg/L}$ um einen Mittelwert von $3,36 \pm 1,61 \text{ mg/L}$.

Für die individuellen Abweichungen ließen sich keine Abhängigkeiten vom Alter aufzeigen. Auch Harnstoff- und Kreatininkonzentration (als Parameter der renalen Funktion) sowie GPT-Spiegel (als Parameter für eine hepatische Schädigung) korrelierten nicht statistisch signifikant ($p < 0,05$). Die Korrelationsuntersuchungen zur jeweiligen Simulationsabweichung im Ergebnisteil durch Regressionsgeraden zeigen allesamt eine leicht negative Steigung (Abbildung 18b, Abbildung 19a, Abbildung 20a), gleichbedeutend mit einer Tendenz zur Unterschätzung der tatsächlichen Messwerte durch die Simulation bei höheren Plasmaspiegeln von GPT, Kreatinin und Harnstoff.

Nguyen et al. hatten bereits mithilfe von NONMEM[®] (**NON**linear **Mixed Effect Model**) populationspharmakokinetische Untersuchungen der möglichen Einflussgrößen auf die Etoposidkinetik durchgeführt⁹². Hier zeigten sich bei Einbeziehung von Leberenzymspiegeln oder Bilirubinspiegeln keine geringeren VKs der CL, unter Einbeziehung des Serumkreatinins zeigte sich jedoch eine Abnahme des VK.

4.4.1 Bilirubin

Für Bilirubin konnte hier hingegen eine statistisch signifikante Korrelation mit dem Simulationsfehler gezeigt werden ($n=96$, $r=0,256$, $p=0,034$). Betrachtet man den Graph (Abbildung 21a und b) so fällt auf, dass ein Großteil der Korrelation auf eine Gruppe sehr niedriger Bilirubinspiegel mit größeren Unterschätzungen der gemessenen Etoposidspiegel durch die Simulation zurückzuführen ist. Dass bei diesen Kindern mit sehr niedrigen Werten für Bilirubin tendenziell eher hohe Etoposidkonzentrationen gemessen wurden, ist ein interessanter Fund. So war der Mittelwert der gemessenen Etoposidspiegel bei Patienten mit einem Bilirubin $< 0,3$ mg/dL bei $4,51 \pm 2,4$ mg/L, für Patienten mit einem Bilirubin $\geq 0,3$ mg/dL lag der Mittelwert bei $2,91 \pm 1,1$ mg/L. Die Frage, ob höhere Bilirubinspiegel zu einer verstärkten Exkretion oder Metabolisation von Etoposid führen, muss sehr kritisch hinterfragt werden. Nguyen et al. konnten wie zuvor erwähnt keine Korrelation der Bilirubinspiegel mit pharmakokinetischen Parametern von Etoposid finden ⁹².

Da Bilirubin über eine Verdrängung von Etoposid aus der Proteinbindung zu höheren frei filterbaren Fraktionen und damit einer erhöhten Exkretion führen könnte, wurde dieser Zusammenhang im untersuchten Patientenkollektiv näher beleuchtet. Eine Untersuchung der Korrelation von Bilirubin mit der freien Fraktion von Etoposid konnte dies nicht belegen ($r = -0,16$, $p = 0,221$).

Yong et al. konnten in einer Untersuchung zeigen, dass prätherapeutische Bilirubinspiegel negativ mit der beobachteten Etoposidclearance sowie dem Leukozytennadir korrelierten ¹²⁹. Dies würde aber höhere Spiegel (da niedrigere CL) mit größeren Effekten (z.B. tiefer Leukozytennadir) bei prätherapeutisch erhöhten Bilirubinwerten bedeuten. Im hier untersuchten Kollektiv zeigte sich aber eine statistisch signifikante negative Korrelation zwischen Etoposid- und Bilirubinspiegeln (siehe Abbildung 21).

Teilweise konnten Studien Bilirubin als einen prätherapeutischen Parameter zur Abschätzung der Etoposidpharmakodynamik nutzen. So konnten Kaul et al. zeigen, dass

die hämatologische Toxizität von Etoposid signifikant mit der Etoposid-AUC sowie den prätherapeutischen Albumin- und Bilirubinspiegeln korrelierte ⁶⁷.

Es ließe sich darüber spekulieren, ob Bilirubin als Induktor von CYP3A4 und UGT1A1 bei höheren Bilirubinspiegeln auch zu einer höheren Metabolisation von Etoposid geführt haben könnte. Dazu passt die negative Korrelation ($r = -0,256$ mit $p = 0,034$, Abbildung 21) der gemessenen Etoposidspiegel mit dem gemessenen Bilirubin, die höhere Etoposidkonzentrationen bei niedrigeren Bilirubinspiegeln aufzeigt. Da weder die Exkretionsfraktionen noch Stoffwechselprodukte von Etoposid bestimmt wurden, kann dies so nur als Hypothese in den Raum gestellt werden. Diese Korrelation muss allerdings in weiterführenden Untersuchungen kritisch hinterfragt werden.

Ein Einfluss von Bilirubin auf die Etoposidpharmakokinetik ist anhand der Daten durchaus möglich. Da auch die Abweichungen der Simulationsergebnisse von den tatsächlich gemessenen Etoposidspiegeln mit den Bilirubinmesswerten korrelierten, kann hier ein Zusammenhang vorliegen, den das Modell in seinem jetzigen Aufbau noch nicht berücksichtigt.

4.4.2 Exkretionsfraktionen

PK-Sim[®] erzeugte für die Exkretionsfraktionen erwartungsgemäß ähnliche Werte wie G. Kersting bereits in ihrer Studie beschrieben hat ⁷⁰. Über die gesamte Kohorte fanden sich in individuellen Simulationen renale Exkretionsfraktionen von etwa 58,9 - 62,5%, die damit im von Sinkule et al. angegebenen Bereich von 30,7 - 66,7% liegen ¹¹⁵. Die biliäre Exkretion ist nach Reduktion des hepatischen P-gp-Transporters an etwa 7,1 - 8,8% der Ausscheidung beteiligt. Arbuck fand bei zwei Patienten mit vollständiger biliärer Drainage eine prozentuale Etoposidausscheidung über die Galle von 6% und < 2%, bei einem Patienten allerdings von 16% ⁶. Weitere Autoren setzen die biliäre Exkretion bei unter 10% an ⁷⁰. Insofern liefert das Modell nach Anpassen des biliären P-gp-Exporters adäquate Anteile.

Für die Metabolisierung verbleiben folglich 28,8 - 34,1% der verabreichten Dosis, welche via CYP3A4 und UGT1A1 verstoffwechselt werden. Das Modell erzeugt hierzu Fraktionen von 25,9 - 30,6% bzw. 2,9 - 3,5% der Gesamtmetabolisation (entspricht 86,5 - 90,6% via CYP3A4 und 9,4 - 13,5% via UGT1A1). Laut Review von Clark und Slevin 1987²⁴ werden 58% bzw. 19% der verabreichten Dosis als Katecholderivat in Urin bzw. Galle ausgeschieden, die verbleibenden 23% werden glucuronidiert. Es bleibt aber zu erwähnen, dass die Eliminationswege bis heute nicht vollständig geklärt sind. Ortrud gab die hepatische Metabolisationsfraktion in einem Review mit 20 - 40% an⁷⁵. Auch hier liefert das Modell somit literaturkonforme Ergebnisse.

4.5 Untersuchung einzelner Einflüsse

Um die möglichen Einflussgrößen auf die Pharmakokinetik von Etoposid näher zu untersuchen, wurde versucht, eine physiologische Schwankungsbreite der dem Modell zugrunde liegenden Parameter zu erzeugen. Dafür wurden jeweils separat die renale und hepatische Funktion variiert. Außerdem wurde die freie Fraktion verändert, um deren Einfluss auf die erwartete Pharmakokinetik zu untersuchen. Als letzter Schritt wurden die in PK-Sim® erzeugten Körperzusammensetzungen bei gleich bleibender Dosis verändert, um deren Einfluss auf die abgeschätzten Plasmaspiegel zu eruieren. Aus diesen Ergebnissen sollte die jeweilige Einflussstärke abgeschätzt werden.

Inwieweit hier in der Natur eine gaußsche Normalverteilung angenommen werden kann, ist fraglich, da für viele physiologische Parameter gezeigt werden konnte, dass sie eher einer logarithmischen Normalverteilung folgen. Hier wurde allerdings im ersten Schritt eine solche Verteilung angenommen, da hierzu aus den Untersuchungen, denen die Enzymkinetiken entnommen waren, Angaben zu entnehmen waren. Zur reinen Abschätzung der Einflussgröße war diese Herangehensweise ausreichend.

4.5.1 Hepatische Funktionsschwankungen

Es wurde versucht, anhand der Standardfehler der implementierten Enzymkinetiken eine physiologische Schwankungsbreite zu simulieren. Kawashiro et al. benutzte humane Lebermikrosomen mehrerer Individuen, wodurch die beobachtete Streuung (CYP3A4) auch die natürlich vorkommende Variation widerspiegelte⁶⁸. Watanabe et al. nutzte nur gepoolte Lebermikrosomen zur Bestimmung kinetischer Parameter von UGT1A1¹²⁴, wodurch die Schwankungen gering blieben. Unter Annahme einer Normalverteilung konnten so Schwankungen um das 6,4 bzw. 1,4-fache für CYP3A4 und UGT1A1 erzeugt werden.

Shimada et al. belegten weiterhin Schwankungen des CYP3A4-Anteils an der Proteinmenge in menschlichen Lebermikrosomen von $28,8 \pm 10,4\%$ ¹¹⁴. Diese Schwankungen des Enzymgehalts könnten somit die Schwankungen der von Kawashiro

berichteten CYP3A4-Kinetiken in humanen Lebermikrosomen erklären, die Variationskoeffizienten liegen in beiden Untersuchungen bei etwa 36%^{68, 114}. Unter der Annahme, dass der Proteingehalt ausschlaggebend für die Reaktionsgeschwindigkeit ist und mit dieser korreliert, decken sich die Ergebnisse gut.

In der Literatur wird von noch weitaus größeren Schwankungsbreiten berichtet. Relling et al. beschrieben Schwankungen von 0,7 bis 27,5 nmol/h/mg für die Metabolisierung von Etoposid in sein Katechol in menschlichen Lebermikrosomen (n = 11) aus gesunden Lebern¹⁰². Dabei handelte es sich aber nicht um eine getrennte Untersuchung der CYP3A4-abhängigen Verstoffwechslung, sondern die Variabilität jedes beteiligten Enzyms ging in das Ergebnis mit ein. Die *in vitro* gemessene Schwankungsbreite war mit dem 39-fachen aber deutlich größer als die hier in die Simulation eingefügte Schwankungsbreite.

Fisher et al. untersuchten die interindividuellen Unterschiede der UGT1A1-Ausstattung anhand der Entstehung von Estradiol-3-Glucoronid an Leber-, Nieren- und Lungenmikrosomen (n = 20). Dabei zeigte sich eine 30-fache Schwankung der beobachteten maximalen Reaktionsgeschwindigkeiten zwischen verschiedenen Leberproben (V_{\max} 72 - 2215 pmol/min/mg). Diese konnten teils auf unterschiedliche Genotypen zurückgeführt werden⁴¹. Mehrere Allele, z.B. *UGT1A1*6* und *UGT1A1*28*, resultieren in einer verminderten UGT-Aktivität für Bilirubin und sind so mit dem Morbus Meulengracht assoziiert⁸⁹.

Inwieweit unterschiedliche Genotypen zu einer veränderten Etoposidmetabolisation beitragen, ist bis heute nicht abschließend geklärt. Ein möglicher Einfluss auf die Etoposidpharmakokinetik könnte jedoch klinisch relevant sein. Die von Watanabe et al. beobachteten Schwankungen der Glucuronidierung in humanen Lebermikrosomen war mit dem 78,5-fachen extrem groß, ein genotypischer Einfluss könnte hier durchaus bestehen¹²⁴.

An dieser Stelle handelt es sich um eine typische Schnittstelle von PBPK-Simulationen, die IVIVE (*in vitro* – *in vivo* – Extrapolation). Inwieweit die experimentell bestimmten

Enzymkinetiken direkt auf den menschlichen Körper übertragen werden können, ist fraglich. Allerdings muss festgehalten werden, dass die durch das Modell erzeugten Plasmaspiegel mit der Kohorte und Exkretionsfraktionen mit den publizierten Daten gut übereinstimmen. Insofern funktioniert in diesem Fall die Abschätzung der *in vivo* Prozesse durch *in vitro* Studien adäquat.

Auch konnte bereits mehrfach gezeigt werden, dass PBPK-Modelle verschiedener Hersteller mithilfe von IVIVE-Prozessen Serumspiegel prospektiv gut vorhersagen konnten. So lagen in einer Studie von Chen et al. 2012 an vier Substanzen C_{max} , t_{max} und AUC innerhalb eines Bereiches von +100% und -50% um die vorhergesagten Werte ²².

Durch die hier untersuchten Einflüsse der Enzymkinetiken auf die erwarteten Plasmaspiegel können auch mögliche Einflüsse wie Enzyminduktionen oder Hemmungen durch Komedikationen abgeschätzt werden. So konnten Yong et al. beispielsweise durch Ketoconazolgabe die beobachtete AUC bei oraler Etoposidtherapie um 20% erhöhen. Vermutet wurde hier hauptsächlich die hepatische Inhibition von CYP3A4. Die interindividuelle Variabilität konnte durch diese Komedikation allerdings nicht gesenkt werden ¹²⁹.

Um einen Anstieg der errechneten AUC des SSP um 20% zu erreichen, mussten die im Modell implementierten maximalen Reaktionsgeschwindigkeiten für CYP3A4 und UGT1A1, die beide durch Ketoconazol hemmbar sind ¹³⁰, auf jeweils 20% der ursprünglichen Größe reduziert werden ¹⁰⁷. Solche Drug-Drug-Interaktionen und ihre Einflüsse lassen sich so leicht und logisch in PK-Sim® darstellen.

4.5.2 Renale Funktionsschwankungen

Ein großer Teil der Etoposiddosis wird renal eliminiert. Interindividuell konnten Sinkule et al. dabei große Unterschiede feststellen (35 - 81% der Gesamtdosis) ¹¹⁵. So korrelierten die Kreatininclearance und die renale Clearance mit einem $r^2 = 0,485$ bzw. $r^2 = 0,462$ mit der systemischen Etoposidclearance. Somit können Schwankungen der renalen Funktion großen Einfluss auf die erreichten systemischen Plasmaspiegel haben.

Die physiologischen Schwankungen der renalen Exkretionsmechanismen, die im Modell implementiert waren, wurden analog zum Umgang mit den hepatischen Enzymen variiert. Die den Enzymkinetiken von MRP2 und P-gp zugrunde liegende Untersuchung von Guo et al. nutzte allerdings transfizierte MDCK-II-Zellen. Die so beobachtete Schwankung der transportervermittelten Permeabilität stellte demzufolge keine physiologisch unterschiedliche Expressionsrate dieser Transporter dar, sondern kann als Ausdruck der methodischen Schwankungsbreite der mRNA-Übertragung in die Zellen aufgefasst werden ⁴⁵. Aus der Literatur wurden daher Daten über die interindividuelle Streuung der Expression dieser Transporter gesammelt (siehe Methodenteil). In einer Untersuchung wurde in 39 Gewebeproben das Verhältnis von MDR1 (multidrug resistance protein 1, entspricht P-gp) zu β -2-Mikroglobulin bestimmt. Somit muss der Einfluss der interindividuellen Variabilität des β -2-Mikroglobulingehalts auf die gemessene Variabilität berücksichtigt werden. Hilgendorf et al. maßen direkt die Expressionsrate von P-gp und MRP2 in humanen Nierenzellen. Dabei fanden sich in drei bis sechs Proben (aus der veröffentlichten Arbeit nicht klar zu entnehmen) ein ähnlicher VK, der für MRP2 (ca. 60%) sogar über dem von P-gp (ca. 40%) lag ⁵⁵. Die somit angenommene Variabilität mit einem VK von 40% sollte einen realistischen Wert darstellen.

Die veränderten Transporterkinetiken zeigten große Einflüsse auf die simulierte Pharmakokinetik. Es konnten so bereits Schwankungen des Etoposidplasmaspiegels zwischen 2,95 bzw. 4,35 mg/L simuliert werden. Durch alleinige Veränderung der glomerulären Filtrationsrate waren die Veränderungen weitaus geringer. Auch bei einer um die dreifache Standardabweichung veränderten GFR zeigten sich nur Schwankungen zwischen 3,26 bzw. 3,84 mg/L. Dies hängt wahrscheinlich mit der starken Proteinbindung von Etoposid zusammen, welche im Modell hinterlegt ist. Auch erklärt sich somit, warum eine Implementierung der individuellen Kreatininclearance in die Simulationen nicht zu besseren Ergebnissen führte. Die freie Filtration scheint nur einen geringen Anteil der Etoposidclearance auszumachen, obwohl mehrere Studien hier Korrelationen zwischen Etoposid- und Kreatininclearance finden konnten. Dies

könnte an der parallelen Gabe von Cisplatin liegen, welches potentiell großen Einfluss auf die Nierenfunktion nehmen kann.

Angenommen diese experimentellen Befunde auf die tatsächliche Situation übertragbar, so trägt die tubuläre Sekretion von Etoposid in weitaus größerem Maße zur Exkretion bei als die glomeruläre Filtration. Aufgrund ihres größeren Anteils ist möglicherweise die Messung der PAH-Exkretion hilfreich, um die Etoposidclearance besser abschätzen zu können. Eine Hemmung der PAH-Exkretion, speziell über eine Hemmung von P-gp oder MRP2, kann ebenfalls klinisch relevant werden.

Norgestimat und Progesteron sind zwei Gestagene, die zur oralen Kontrazeption und Hormonersatztherapie eingesetzt werden. Lindenmaier et al. konnten zeigen, dass diese P-gp sowie MRP2 reversibel hemmen können⁸⁰. Auch Probenecid, ein Urikosurikum, hemmt ebenfalls MRP2-Transporter. Horikawa et al. untersuchten 26 Substrate auf potentielle Interaktionen mit diesem Transporter. Dabei zeigte gerade Probenecid eine relevante Hemmung bereits bei klinisch geläufiger Dosierung⁵⁸. Da diese Studie an Raten durchgeführt wurde, ist ihre direkte Übertragbarkeit auf den Menschen zu hinterfragen.

Allerdings muss festgehalten werden, dass mögliche Beeinflussungen der Transporteraktivitäten auch die Etoposidpharmakokinetik betreffen. Die hier durchgeführten Simulationen ergaben bereits durch kleine Schwankungen der Transporterkinetiken um nur eine Standardabweichung starke Unterschiede der errechneten AUC (291-419 mg*h/L). Mögliche Enzyminduktionen oder Hemmungen müssen somit im klinischen Alltag eindeutig berücksichtigt werden.

4.5.3 Einfluss der Proteinbindung

Da Etoposid stark proteingebunden transportiert wird, können bereits geringe Schwankungen der freien Fraktion zu großen Unterschieden in der Pharmakokinetik führen. Daher wurde der Einfluss der freien Fraktion auf die Simulationsergebnisse näher beleuchtet.

Da die freie Fraktion innerhalb des Studienablaufs bestimmt worden war, konnte sie zur weiteren Individualisierung in die Simulationen übernommen werden. Abgesehen von möglichen Messfehlern bei der Bestimmung sollte dies zu einer besseren Angleichung der Simulationsergebnisse an die Messwerte geführt haben, auch aufgrund der vorher beschriebenen Korrelation zwischen gemessener freier Fraktion und Etoposidspiegeln der NB-97-Kohorte.

Die in der Kohorte gemessene Schwankung der freien Fraktion entspricht dem in der Literatur beschriebenen Bereich. Nguyen et al. fanden bei 100 Erwachsenen (25 - 85 Jahre) ungebundene Etoposidfraktionen zwischen 4,1 - 24,2% ($8,4 \pm 4,2\%$)⁹². Ähnliche Werte fanden Liu et al. mit einer Variabilität von 3,3 - 19,5%⁸¹. In der hier untersuchten Kohorte lagen die einzelnen, ungemittelten Werte zwischen 1,87 und 10,42%. Allgemein wird angenommen, dass Kleinkinder aufgrund geringerer Albuminkonzentrationen größere freie Fraktionen verschiedener Pharmaka aufweisen. Das Alter korrelierte in der untersuchten Kohorte negativ ($r = -0,281$, $p = 0,004$) mit der freien Fraktion, was zu dieser Grundannahme passt.

Interessanter Weise zeigte die hier untersuchte pädiatrische Patientenkohorte aber anders als zu erwarten im Durchschnitt eine niedrigere freie Fraktion, als oftmals bei Erwachsenen beschrieben wurde. Dies deckt sich mit einer Untersuchung von Liliemark et al., die bei Kindern niedrigere freie Etoposidfraktionen von $2,5 \pm 0,6\%$ gegenüber denen Erwachsener von $5 \pm 3,6\%$ aufzeigen konnten⁷⁹, was wiederum der niedrigeren Fraktionen der NB-97-Kohorte ($4,82 \pm 1,71\%$) gegenüber der mittleren freien Fraktion von 5,85% (5,5 - 6,6%) im EtoposidModell nach Kersting (entwickelt an Erwachsenen) nahe kommt^{18,70}. Wieso die allgemeine Annahme für Etoposid nicht zutrifft, ist unklar. Eine mögliche Interaktion mit Bilirubin als kompetitiver Bindungspartner an Albumin wurde hier weiter untersucht.

Liu et al. fanden eine negative Korrelation zwischen ungebundener Etoposidfraktion und Albuminspiegeln von $r = -0,74$ ⁸¹. Ebenso ist laut Stewart et al. (siehe Review¹¹⁸) bei erhöhten Bilirubinspiegeln $> 1,0$ mg/dl mit erhöhten freien Etoposidfraktionen zu

rechnen, da Bilirubin als kompetitives Bindungssubstrat an Albumin wirkt ($9 \pm 3\%$ gegen $27 \pm 15\%$). In der hier untersuchten Kohorte lagen von 69 gemessenen Bilirubinspiegeln nur vier bei $1 - 1,1$ mg/dl und waren damit nur sehr leicht erhöht. Die freie Fraktion dieser Patienten lag zwischen $3,11\%$ und $5,81\%$ und war somit nicht erhöht. Statistisch konnte keine signifikante Korrelation ($r = -0,16$; $p = 0,221$) zwischen Bilirubinspiegeln und der freien Fraktion ausgemacht werden.

Es wurden nun Veränderungen der ungebundenen Etoposidfraktion simuliert, wie sie auch in der Kohorte auftraten (10. und 90. Perzentile). Diese Veränderungen beeinflussten die berechneten pharmakokinetischen Ergebnisse stark, die maximale Etoposidkonzentration lag zwischen $2,28$ und $5,21$ mg/L. Auch die Gesamtclearance veränderte sich mit $+55\%$ bzw. -32% deutlich, was auch einleuchtet, da mehr bzw. weniger freies Etoposid zur Exkretion oder Metabolisation zur Verfügung steht. Interessanterweise hatte dies allerdings keinen Einfluss auf die Exkretionsfraktionen. Es hätte vermutet werden können, dass aufgrund einer größeren ungebundenen Stoffmenge auch mehr Etoposid im Modell frei glomerulär filtriert wird. Die renale Exkretionsfraktion schwankte aber kaum ($59,6 - 60\%$). Freies Etoposid wird somit im Modell zu relativ gleichen Teilen biliär sezerniert, hepatisch metabolisiert und renal eliminiert.

Darüber hinaus interessant waren die so simulierten ungebundenen Etoposidspiegel, die vom Modell ebenfalls als nahezu identisch simuliert wurden. Die simulierten Veränderungen von maximaler Plasmakonzentration und AUC zwischen erhöhter und erniedrigter freier Fraktion lagen bei nur $2,5\%$. Joel et al. fanden bei Patienten mit erniedrigten Albuminspiegeln unter 35 mg/ml und größeren freien Fraktionen von $5,2\%$ (Albumin erniedrigt) gegenüber $4,1\%$ (normale Albuminwerte) auch eine erhöhte AUC des freien Etoposids ($27,5$ mg*h/L statt $16,5$ mg*h/L)⁶¹. Diese starke Schwankung der AUC für ungebundenes Etoposid kann das Modell so nicht wiedergeben. Obwohl die simulierten freien Fraktionen im Modell um mehr als das Dreifache schwankten (Bereich $2,8-10,3\%$), veränderten sich die simulierten Plasmaspiegel für ungebundenes Etoposid kaum.

4.5.4 Einfluss der Körperzusammensetzung

Der durch PK-Sim[®] erzeugten Simulation liegen immer Fehler zugrunde, da die Software Organgewichte, Blutflussraten oder ähnliche, substanzunabhängige Parameter anhand von Formeln abschätzt. Diese Fehler können aber nur individuell korrigiert werden, wenn hierzu Messungen vorliegen, was oft nicht der Fall ist. Daher wurde der Versuch unternommen, den Einfluss von unterschiedlich simulierten Körperzusammensetzungen auf die berechnete Pharmakokinetik abzuschätzen.

Die hierfür anhand der Perzentilen erzeugten Patienten (VI-A, -B, -C und -D) wiesen alle dieselbe Körperoberfläche auf und erhielten daher im NB-97-Regime dieselbe Dosis. VI-C und -D wurden wie im Ergebnisteil erläutert nicht weiter betrachtet. Die durch VI-A und VI-B erzeugten unterschiedlichen Individuen zeigten wiederum Schwankungen von C_{max} und AUC von etwa $\pm 10\%$. Das Modell sagte größere systemische Exposition eines adipösen Individuums (VI-A) im Vergleich zu einem kachektischen Individuum (VI-B) voraus (AUC um 22% erhöht).

Betrachtet man vor diesem Hintergrund die sieben Simulationen, in denen das simulierte Körpergewicht erhöht werden musste, sowie die resultierenden Abweichungen von den restlichen Simulationsergebnissen, so erklären sich diese höchstwahrscheinlich aus den Veränderungen der pharmakaunspezifischen Parameter im Modell, die so mit größeren Abweichungen berechnet wurden. Hier simulierte PK-Sim[®] bei den sieben VIs mit nachträglich erhöhtem Gewicht eher höhere Simulationsergebnisse verglichen mit dem Kohortendurchschnitt.

Auch dies passt zu den vorher untersuchten VI-A und -B und zu den Messwerten der NB-97-Kohorte. In dieser zeigten sich ebenfalls höhere Etoposidmesswerte bei Patienten mit einem BMI $> 17 \text{ kg/m}^2$ als bei Patienten mit einem BMI $< 15 \text{ kg/m}^2$ ($2,82 \pm 2,07 \text{ mg/L}$ bzw. $3,16 \pm 1,24 \text{ mg/L}$). Das Modell gibt dies also passend wieder.

Dieser Aspekt ist äußerst interessant. So könnte weitergehend untersucht werden, ob durch Einführung des BMI in die Dosierung eine geringe IIV erreicht werden kann.

4.6 Populationspharmakokinetik

Anhand des SSP wurde eine Kohorte mit Körpergewichten zwischen der 25. und 50. Perzentile sowie Körpergrößen zwischen der 25. und 75. Perzentile zur weiteren Untersuchung des Einflusses der pharmakaunspezifischen Parameter des Modells generiert. Diese Grenzwerte wurden gewählt, da sie eine in der Realität oft anzutreffende Gruppe erzeugten. Außerdem lag das Gewicht der hier untersuchten Patientenkohorte tendenziell unter der perzentilengerechten Größe der Patienten. Der Schwankungsbereich des Gewichts wurde kleiner gehalten, als der der Körpergröße, um dieser Gruppe mit für die Größe eher zu leichten Kindern gerecht zu werden. Der so erzeugte BMI-Bereich lag zwischen der 5. und 85. Perzentile.

Der Schwankungsbereich, allein beruhend auf unterschiedlichen anthropometrischen Eingabeparametern und somit Organgrößen und Blutflussraten, lag deutlich über dem zuvor mithilfe der VI-A und -B abgeschätzten Bereich (80% der AUC-Werte lagen -16% und +23% um den Median). Der Einfluss der leicht unterschiedlichen Dosierungen innerhalb des PK-POP-Moduls ist sehr gering, da Schwankungen der Dosis von 4% beim SSP nur zu Veränderungen der AUC von ebenfalls knapp 4% führten.

Es muss somit bei einem normalgewichtigen und normalgroßen Patientenkollektiv selben Alters bereits mit großen Schwankungen von C_{max} gerechnet werden, die möglicherweise zu toxischen Spiegeln führen.

4.6.1 Variabilität der Transporterkinetiken und der freien Fraktion

Um eine physiologische Verteilung der individuellen Expression zu simulieren, wurden die zuvor konstant gehaltenen Enzym- und Transporterkinetiken variiert. Die hierzu herangezogenen Variabilitäten wurden im Methodenteil besprochen. Unter deren Berücksichtigung erzeugte PK-Sim® 500 Simulationen. Die so simulierte Streuung wurde nun mit der beobachteten Streuung der Messwerte der 38 Patienten der Neuroblastom-Kohorte verglichen. Beide Verteilungen waren nahezu identisch. Die Perzentilen stimmten in ihrem Abstand zueinander sehr genau überein, nur eine

leichte Überschätzung der Plasmaspiegel durch die Simulation war zu erkennen (siehe Tabelle 21).

Gerade der populationspharmakokinetische Ansatz in PK-Sim® ist also geeignet, eine mögliche Streubreite in einer Kohorte vorherzusagen. Die hier untersuchten interindividuellen Variabilitäten der Körperzusammensetzung sowie der Enzym- und Transporterkinetiken erzeugten bereits eine ausreichend große Streuung, die auch in ihrer Verteilung sehr genau mit dem gemessenen Kollektiv übereinstimmte. Dabei waren die zugrunde gelegten IIV der Kinetiken teils eher zurückhaltend geschätzt worden und könnten in der Realität auch weitaus größer sein. Auch Größe und Gewicht der Patienten blieben weit entfernt von Extremwerten. Das Modell könnte also theoretisch noch größere Variabilitäten vorhersagen, falls die zugrunde gelegten Schwankungsbreiten entsprechend erweitert würden.

4.6.2 Ungebundenes Etoposid

Die untersuchte Streuung der freien Etoposidkonzentrationen erreichte nicht die tatsächlich gemessene Streuung. Die Simulation erzeugte nur eine Schwankung im Bereich zwischen 0,108 – 0,297 mg/L und somit um das Dreifache. Die Messwerte zeigten aber Schwankungen um das Zehnfache (0,031 – 0,353 mg/L). Das Modell wurde entwickelt, um die Plasmaspiegel des gesamten Etoposids möglichst genau wiederzugeben, und nicht die Plasmaspiegel des ungebundenen Etoposids.

Selbst durch die Individualisierung der einzelnen Simulationen durch Einfügen der gemessenen freien Fraktion eines jeden Patienten errechnete das Modell nicht die gemessenen freien Etoposidspiegel. Dies zeigt auch Abbildung 22, wo die eingefügte gemessene freie Fraktion gegen die aus den individuellen Simulationsergebnissen errechnete freie Fraktion aufgetragen wurde. Es zeigt sich logischerweise eine sehr gute Korrelation, allerdings waren auch erhebliche Abweichungen von teils über 100% des Simulationwertes zu beobachten ($r^2 = 0,63$). Das Modell kann die individuellen Plasmaspiegel für ungebundenes Etoposid nicht adäquat wiedergeben.

4.6.3 Exkretionsfraktionen der simulierten Population

Nach Arbutk lag die biliäre Exkretion bei drei Patienten bei <2%, 6% und 16% der Gesamtdosis⁶. Andere Autoren gaben eher 10% als obere Grenze an². Im CCO-Drug Formulary (Cancer Care of Ontario Arzneimittelverzeichnis) wird die biliäre Exkretion von Etoposid mit bis zu 44% angegeben¹⁹. Anhand der somit doch großen Schwankungsbreite der Literaturangaben ist der hier erzeugte Bereich zwischen 2 – 21% als gut übereinstimmend zu bewerten.

Sinkule et al. untersuchten Anteil der renalen Exkretion an der Gesamtausscheidung von unverändertem Etoposid bei acht Kindern. Die renale Exkretion war für 35 – 81% ($45 \pm 10,5\%$) der Gesamtausscheidung zuständig¹¹⁵. Die hier beobachteten Schwankungen von 36 - 85% in einer gesunden Population decken sich demnach auch mit diesen Zahlen sehr gut.

Allen und Creaven stellten einen Metabolisierungsanteil von $66 \pm 12\%$ zur Diskussion, obwohl sie nur einen Anteil von $18 \pm 9\%$ der Etoposiddosis als metabolisiert im Urin nachweisen konnten. Außerdem lagen nach 48 Stunden mehr als 50% der ursprünglichen Dosis als Metaboliten vor^{2, 33}. Der hier simulierte Bereich von 11,8 – 55,9% erreicht somit nicht den unterstellten Anteil.

In der Literatur sind stark schwankende Angaben zu den einzelnen Fraktionen zu finden. Die zugrunde gelegten Variationen der ADME-Prozesse – hier speziell nur Exkretion und Metabolisation – sorgten aber für einen sehr breiten Ergebnisbereich, der sich mit den Literaturdaten gut in Einklang bringen lässt. Die von G. Kersting beschriebene Übereinstimmung der Exkretionsfraktionen ließ sich somit anhand der individuellen Simulationen wie auch durch einen populationspharmakokinetischen Ansatz bestätigen. Die vorher erwähnte Reduktion der biliären Exkretionskinetik im Modell führt hier aber zu einer besseren Beschreibung der in der Literatur zu findenden Daten.

4.7 Dosierungsregime

Ziel einer jeden Dosisberechnung ist es, möglichst genau die erwünschten Arzneimittelspiegel im Patienten zu erreichen. Dies ist nur möglich, wenn anhand eines oder mehrerer Parameter prädiktiv auf die individuelle Pharmakokinetik eines Stoffes geschlossen werden kann, das heißt Clearance und Verteilungsvolumen indirekt abgeschätzt werden können. Im NB-97-Protokoll wurde erstmals ein optionales therapeutisches Drugmonitoring eingeführt.

Für Etoposid konnten Studien eine Korrelation pharmakokinetischer Parameter aufzeigen. So korreliert z.B. die Kreatininclearance in einigen Untersuchungen mit der Etoposidclearance^{6, 115}.

Ebenso bedeutsam ist der Zusammenhang von erreichten Plasmaspiegeln und biologischen Effekten. Für Etoposid konnten Korrelationen von pharmakodynamischen Parametern aufgezeigt werden. So korreliert die Etoposid-AUC ebenso wie die mittlere Etoposidkonzentration (C_{mean}) mit Leukopenie und Thrombopenie (siehe Review: Gurney 1996⁴⁶). Auch die Clearance korreliert mit dem Neutrophilen- und Thrombozytennadir⁸⁷. Prätherapeutische Albumin- und Bilirubinspiegel korrelieren laut einigen Autoren mit den beobachteten Effekten^{66, 129}.

Im klinischen Alltag wird Etoposid nach KOF dosiert. Teilweise konnten Studien aber keinen Zusammenhang dieser Dosierungsweise mit der Etoposidclearance nachweisen (siehe Ratain et al. 1991¹⁰¹). So fasste Gurney in einem Review zusammen, dass CL und AUC bei Erwachsenen nicht mit der KOF korrelieren⁴⁶. Auch korrelierte weder die Dosis noch die Körperoberfläche mit den mittleren Plasmaspiegeln.

Boos et al. konnten hingegen in einer Studie an Kindern zeigen, dass eine Dosierung nach KG (4,17 mg/kg) zu größeren IIV führte als eine Dosierung nach KOF (125 mg/m²). Die Dosierungen waren dabei anhand eines 30kg schweren Kindes mit einer KOF von 1m² umgerechnet worden, was der gängigen Praxis entspricht. Die Etoposidclearance war dabei unabhängig von Körperoberfläche und Körpergewicht, zeigte aber eine

Zunahme mit dem Patientenalter¹⁴. Boss et al. diskutierten, ob auch für Kinder unter 1 Jahr die Etoposiddosis nach KOF berechnet werden sollte, da Kleinkinder einen größeren Anteil an Körperwasser aufweisen und dieser besser mit der KOF korreliert als mit dem KG. Dosierungen nach KG würden bei wasserlöslichen Substanzen daher zu niedrigeren Konzentrationen führen, was die Studie für Etoposid belegen konnte ($C_{ss} = 4,9 \pm 1,2 \text{ mg/L}$ (125mg/m^2) bzw. $3,5 \pm 1,1 \text{ mg/L}$ ($4,17 \text{ mg/kg}$)). Die geringere IIV bei Dosierung nach KOF unterstütze diesen Vorschlag zusätzlich.

Wie bereits in Kapitel 1.6.4 erwähnt fand I.K. Decius in einer Untersuchung der NB-97-Kohorte höhere Etoposidspiegel bei nach kg KG dosierten Kinder sowie allen Kindern unter einem Lebensjahr als beim Rest der untersuchten Patienten³⁰. Wie bereits erläutert wird die Säuglingsdosierung im NB-97-Regime nach mg/kg KG berechnet, bezieht sich aber ursprünglich auf eine Dosierung von 125 mg/m^2 wie im alten NB-90-Regime. Berechnet man die Dosis anhand der durchschnittlichen KOF von Kindern zwischen 0,5 und 1 Lebensjahren, so zeigt sich, dass nach dem verwendeten Schema (mg/kg KG) weniger Dosis gegeben wird, als wenn nach 100 mg/m^2 dosiert werden würde (siehe Abbildung 10).

Im Abschnitt 3.8.1 wurde daher eine populationspharmakokinetische Simulation einer entsprechenden Kohorte durchgeführt. Bei Dosierung laut Protokoll ($4,2 \text{ mg/kg KG}$) zeigten sich auch hier höhere zu erwartende Spiegel, entsprechend der Untersuchung von I.K. Decius³⁰. Nach Umrechnung des zugrunde gelegten Dosierungsschemas auf 100 mg/m^2 (entsprach somit $3,33 \text{ mg/kg KG}$) sagte das Modell einen minimal niedrigeren Wertebereich voraus, als den der Messwerte der Patientenkohorte. Über 99% der Messwerte blieben über dem therapeutisch wichtigen Grenzspiegel von 1 mg/L . Anhand der hier gewonnenen Daten lässt sich somit vermuten, dass Kinder < 1 LJ auch mit reduzierter Dosierung ($100\text{mg/m}^2 \text{ KOF}$) noch im therapeutischen Bereich liegen werden. Freilich kann hier keine Aussage über eine mögliche Abnahme von Effektivität und Toxizität gemacht werden. Dies müsste anhand von klinischen Studien weiter untersucht werden.

Interessanterweise simulierte das Modell auch sehr ähnliche IIV bei Dosierungen nach Körpergewicht im Vergleich zu einer fixen Dosis je Alter. Die IIV war unter fixer Dosierung bei einer Population mit einem Alter von 6 Monaten sogar geringer (VK 15% gegen 18%). Allerdings lag der hier untersuchte Gewichtsbereich nur zwischen 6,61 und 9,48 kg, eine Verallgemeinerung kann hier nicht erfolgen. Sollte in späteren Versionen von PK-Sim® die Generierung einer altersübergreifenden Kohorte möglich sein, in denen die jeweils altersentsprechenden Veränderungen von Transporter- und Enzymkinetiken berücksichtigt werden, wäre eine weitere Betrachtung dieser Frage sehr interessant. Ob dies alleinig einen Fehler im Modell widerspiegelt oder tatsächlich in der Realität so messbar wäre, muss durch klinische Studien belegt werden. Allerdings diskutierten bereits andere Autoren eine fixe Etoposiddosis für Erwachsene (Review Gurney ⁴⁶, Kommentar Ratain ¹⁰⁰). Auch konnten wie bereits erwähnt Nguyen et al. keine Korrelation der Etoposidpharmakokinetik mit der KOF feststellen, es bestand allerdings eine Korrelation mit dem Körpergewicht (n=100 Patienten; 1044 Messwerte).

Auch muss hier erwähnt werden, dass das Modell für kachektische Patienten eher niedrigere Plasmaspiegel vorhersagte als für adipöse Patienten. Auch dies zeigte sich bereits an den Messwerten der NB-97-Kohorte, da Kinder mit einem BMI < 15kg/m² niedrigere Plasmaspiegel aufwiesen als Kinder mit einem BMI > 17kg/m² (2,82 ± 2,07 mg/L bzw. 3,16 ± 1,24 mg/L). Eine alleinig nach der KOF berechnete Dosierung ist hier also ungenau, für über- und untergewichtige Kinder muss über eine Dosisänderung der nach Protokoll berechneten Dosis individuell entschieden werden.

PK-Sim® bietet auch die Möglichkeit, Drug-Drug-Interaktionen logisch und nachvollziehbar zu implementieren. Zur Modellanpassung an das NB-97-Regime wurde hier bereits die angepasste Nierenfunktion erläutert. Um ein mögliches Dosisanpassungsregime bei Niereninsuffizienz darzustellen, wurde hier die Nierenfunktion nach einer Studie von D'Incalci et al. auf 25% reduziert ²⁹, die Dosis musste entsprechend dem Review von Stewart daraufhin um 30% reduziert werden ¹¹⁸. Diese Änderungen im Modell erzeugten wieder vergleichbare Plasmaspiegel wie vor

der Modellveränderung. Die von Stewart et al. beschriebene Dosisreduktion kann das Modell hier somit belegen.

Auch eine Enzymhemmung durch Ketoconazol konnte das Modell passend wiedergeben (siehe Ergebnisse 3.3). PK-Sim[®] ist also gerade für die Simulation von Drug-Drug-Interaktionen ein geeignetes Instrument.

4.8 Zusammenfassung

Etoposid weist allgemein eine große interindividuelle und ebenfalls nicht zu vernachlässigende intraindividuelle Variabilität pharmakokinetischer Parameter auf. Allein die gemessene systemische Clearance zeigt bei Kindern in verschiedenen Untersuchungen einen Variationskoeffizient (VK) von bis zu 60%^{40, 115}, die AUC schwankt entsprechend ($CL = \text{Dose} / \text{AUC}$). Andere Autoren berichten von interindividuellen Schwankungen von 20 - 45% (siehe Tabelle 4). Diese konnten bis jetzt nicht durch Dosierungsregime verkleinert werden.

Die individuellen Simulationen mit PK-Sim[®] zeigten teils große Abweichungen von den tatsächlichen Messwerten der NB-97-Kohorte, 95% der Messwerte lagen in einem Bereich von -2,3 bis +3,4 mg/L um den Simulationswert. Auch Messwerte innerhalb der 10. - 90. Perzentile wichen um etwa $\pm 50\%$ vom Simulationsergebnis ab. Das Modell wird somit individuelle Plasmaspiegel nicht ausreichend sicher vorhersagen können.

Unter Einbeziehung von interindividuellen Enzym- und Transportervariabilitäten mit Hilfe der Populationspharmakokinetik wurde die Verteilung der Messwerte der Kohorte allerdings treffend wiedergegeben. Dies spricht dafür, dass die wichtigsten Einflussfaktoren im Modell berücksichtigt und deren Variabilität realistisch abgeschätzt wurde. Auch die simulierten Exkretionsfraktionen stimmten gut mit Literaturdaten überein, auch wenn hier kein Abgleich mit der untersuchten Kohorte durchzuführen war, da die Exkretionsfraktionen innerhalb des NB-97-Regimes nicht bestimmt wurden.

Einflussfaktoren wurden auf ihre Größe hin untersucht, um die klinische Signifikanz abschätzen zu können. Bei den hier durchgeführten Simulationen zeigte sich, dass bereits physiologische Schwankungen der Körperzusammensetzung zu großen interindividuellen Unterschieden der zu erwartenden Plasmaspiegel führen, ganz ohne veränderte Transporter- oder Enzymkinetiken zu berücksichtigen. Die AUC zeigte eine nur geringe 1,2-fache Schwankung innerhalb der Simulationen der einzelnen Individuen VI-A und -B (adipös und kachektisch). Jedoch fand sich eine 2,4-fache Schwankung der AUC bei Simulation einer normgewichtigen Population (n=250) ohne

Berücksichtigung von Variabilitäten in Enzym- und Transporterausstattungen bei Verwendung des populationspharmakokinetischen Ansatzes (BMI zwischen 5. und 85. Perzentile). Simulierte man kachektische und adipöse Populationen, so erzeugte das Modell deutlich höhere Plasmaspiegel bei Adipösen als bei Untergewichtigen (Median 4,12 mg/L bzw. 3,30 mg/L). Dies entsprach auch dem Trend der NB-97-Kohorte, wo adipöse Patienten eher größere Etoposidmesswerte aufzeigten als untergewichtige Patienten.

Auch die Veränderungen der Enzym- und Transporterkinetiken im rein physiologischen Bereich wurden untersucht. So führten Schwankungen der hepatischen Funktion um zwei Standardabweichungen zu simulierten AUC-Veränderungen um das 1,2-fache. In der Literatur wurden aber teils weitaus größere Variabilitäten der Enzymkinetiken beschrieben, als sie hier Einzug fanden. Physiologische Funktionsschwankungen der glomerulären und tubulären Nierenfunktion (10. und 90. Perzentile) führten zu 1,4-fachen Schwankungen der simulierten AUC. Die freie Fraktion zeigte sich als größter Einflussfaktor mit Schwankungen der AUC um das 2,3-fache.

Das Modell konnte weiterhin zeigen, dass bei simulierter Niereninsuffizienz eine entsprechende Dosisreduktion wieder zu vergleichbaren Plasmaspiegeln führte. Auch eine Hemmung der hepatischen Metabolisation durch Ketoconazol konnte passend simuliert werden. Gerade zur Abschätzung der Stärke verschiedener Einflussfaktoren, besonders auch Drug-Drug-Interaktionen, ist das PK-Sim[®]-Modell geeignet.

Der Nutzen des physiologiebasierten Ansatzes zur prospektiven Simulation von individuellen Plasmaspiegeln muss aber angezweifelt werden. Ob durch individuelle Bestimmung der Enzym- und Transporteraktivitäten oder einer individuellen Messung von Organgrößen und Blutflussraten der Simulationsfehler verringert werden könnte, müsste prospektiv untersucht werden. Ob diese Daten aber kostengünstig und zeitnah für jeden Patienten erhoben werden können, ist fraglich.

Für die interindividuelle Variabilität von Etoposid konnten hier mehrere Einflussfaktoren in ihrer Größenordnung aufgezählt und eingeschätzt werden.

Inwieweit eine Einbeziehung von z.B. *in vivo* gemessenen freien Fraktionen, Albuminspiegeln oder Bilirubinmesswerten in die Dosierung von Etoposid zu einer geringeren interindividuellen Variabilität führen können, muss weiter untersucht werden. Die zusätzliche Betrachtung von Über- und Untergewicht bei der Dosisberechnung ist vielversprechend. Zumindest sollte im klinischen Alltag individuell entschieden werden, ob bei Übergewicht die Dosis reduziert oder bei Kachexie die Dosis erhöht wird. Hier konnte aber keine Aussage über die Pharmakodynamik in einem adipösen und kachektischen Kollektiv getroffen werden. Dennoch sollte ein therapeutisches Drugmonitoring bei adipösen Patienten zu einer größeren Therapiesicherheit beitragen.

Literaturverzeichnis

1. Ahn Y, Garruto RM. Estimations of body surface area in newborns. *Acta Paediatr* 2008; 97(3):366-370.
2. Allen LM, Creaven PJ. Comparison of the human pharmacokinetics of VM-26 and VP-16, two antineoplastic epipodophyllotoxin glucopyranoside derivatives. *Eur J Cancer* 1975; 11(10):697-707.
3. Anderson BJ, Holford NH. Mechanism-based concepts of size and maturity in pharmacokinetics. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 2008; 48:303-332.
4. Anderson BJ, Woolard GA, Holford NH. Pharmacokinetics of rectal paracetamol after major surgery in children. *Paediatr Anaesth* 1995; 5(4):237-242.
5. Anderson GD, Lynn AM. Optimizing pediatric dosing: a developmental pharmacologic approach. *Pharmacotherapy* 2009; 29(6):680-690.
6. Arbuck SG, Douglass HO, Crom WR et al. Etoposide pharmacokinetics in patients with normal and abnormal organ function. *J Clin Oncol* 1986; 4(11):1690-1695.
7. Bailie GR, Uhlig K, Levey AS. Clinical practice guidelines in nephrology: evaluation, classification, and stratification of chronic kidney disease. *Pharmacotherapy* 2005; 25(4):491-502.
8. Baumhake M, Kasel D, Rao-Schymanski RA et al. Screening for inhibitory effects of antineoplastic agents on CYP3A4 in human liver microsomes. *Int J Clin Pharmacol Ther* 2001; 39(12):517-528.
9. Bayer Technology Services GmbH. PK-Sim 4.2 User Manual. Leverkusen: 2009.
10. Bennett CL, Sinkule JA, Schilsky RL, Senekjian E, Choi KE. Phase I clinical and pharmacological study of 72-hour continuous infusion of etoposide in patients with advanced cancer. *Cancer Res* 1987; 47(7):1952-1956.
11. Benoehr P, Krueth P, Bokemeyer C, Grenz A, Osswald H, Hartmann JT. Nephroprotection by theophylline in patients with cisplatin chemotherapy: a randomized, single-blinded, placebo-controlled trial. *J Am Soc Nephrol* 2005; 16(2):452-458.
12. Berthold F. Neuroblastomstudie NB 97 - Studienprotokoll. Köln: 2002.
13. Berthold F, Hero B. Neuroblastoma: current drug therapy recommendations as part of the total treatment approach. *Drugs* 2000; 59(6):1261-1277.

14. Boos J, Krumpelmann S, Schulze-Westhoff P, Euting T, Berthold F, Jurgens H. Steady-state levels and bone marrow toxicity of etoposide in children and infants: does etoposide require age-dependent dose calculation? *J Clin Oncol* 1995; 13(12):2954-2960.
15. Bouzom F, Ball K, Perdaems N, Walther B. Physiologically based pharmacokinetic (PBPK) modelling tools: how to fit with our needs? *Biopharm Drug Dispos* 2012; 33(2):55-71.
16. Boyd E. Surface Area of the Human Body. University of Minnesota Press:Mineapolis. In press.
17. Brodeur GM, Pritchard J, Berthold F et al. Revisions of the international criteria for neuroblastoma diagnosis, staging, and response to treatment. *J Clin Oncol* 1993; 11(8):1466-1477.
18. Busse D, Wurthwein G, Hinske C et al. Pharmacokinetics of intravenous etoposide in patients with breast cancer: influence of dose escalation and cyclophosphamide and doxorubicin coadministration. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 2002; 366(3):218-225.
19. CCO-Formulary (Cancer Care of Ontario). etoposide - drug monograph. www.cancercare.on.ca/toolbox/drugs/drugformulary/ , 1-2. 2010. 31-1-2012.
Ref Type: Electronic Citation
20. CDC (Center for Disease Control and Prevention). Clinical Growth Charts. www.cdc.gov/growthcharts/clinical_charts.htm . 4-8-2009.
Ref Type: Electronic Citation
21. Centers for Disease Control and Prevention (CDC) / National Center for Health Statistics (NCHS). Third National Health and Nutrition Examination Survey Data. www.cdc.gov/nchs/nhanes/nhanes_questionnaires.htm . 1994.
Ref Type: Electronic Citation
22. Chen Y, Jin JY, Mukadam S, Malhi V, Kenny JR. Application of IVIVE and PBPK modeling in prospective prediction of clinical pharmacokinetics: strategy and approach during the drug discovery phase with four case studies. *Biopharm Drug Dispos* 2012; 33(2):85-98.
23. Ciarimboli G, Ludwig T, Lang D et al. Cisplatin nephrotoxicity is critically mediated via the human organic cation transporter 2. *Am J Pathol* 2005; 167(6):1477-1484.
24. Clark PI, Slevin ML. The clinical pharmacology of etoposide and teniposide. *Clin Pharmacokinet* 1987; 12(4):223-252.

25. Clark PI, Slevin ML, Joel SP et al. A randomized trial of two etoposide schedules in small-cell lung cancer: the influence of pharmacokinetics on efficacy and toxicity. *J Clin Oncol* 1994; 12(7):1427-1435.
26. Cockcroft DW, Gault MH. Prediction of creatinine clearance from serum creatinine. *Nephron* 1976; 16(1):31-41.
27. Crawford JO, Wanibe E, Nayak L. The interaction between lid diameter, height and shape on wrist torque exertion in younger and older adults. *Ergonomics* 2002; 45(13):922-933.
28. D'Incalci M, Farina P, Sessa C et al. Pharmacokinetics of VP16-213 given by different administration methods. *Cancer Chemother Pharmacol* 1982; 7(2-3):141-145.
29. D'Incalci M, Rossi C, Zucchetti M et al. Pharmacokinetics of etoposide in patients with abnormal renal and hepatic function. *Cancer Res* 1986; 46(5):2566-2571.
30. Decius IK. Das Chemotherapie-Drugmonitoring im Rahmen des NB 97 Protokolls bei Kindern mit Neuroblastom. WWU-Münster; 2009.
31. Deo AK, Bandiera SM. 3-ketocholanoic acid is the major in vitro human hepatic microsomal metabolite of lithocholic acid. *Drug Metab Dispos* 2009; 37(9):1938-1947.
32. Dorne JL, Walton K, Renwick AG. Human variability in CYP3A4 metabolism and CYP3A4-related uncertainty factors for risk assessment. *Food Chem Toxicol* 2003; 41(2):201-224.
33. Dow LW, Sinkule JA, Look AT, Horvath A, Evans WE. Comparative cytotoxic and cytotoxic effects of the epipodophyllotoxins 4'-demethylepipodophyllotoxin-9-(4,6-O-2-ethylidene-beta-D-glucopyranoside) and 4'-demethylepipodophyllotoxin-9-(4,6-O-2-thenylidene-beta-D-glucopyranoside) and their metabolites on human leukemic lymphoblasts. *Cancer Res* 1983; 43(12 Pt 1):5699-5706.
34. DuBois D., DuBois EF. A formula to estimate the approximate surface area if height and weight be known. *Nutrition* 1916; 5(5):303-311.
35. Edginton AN, Schmitt W, Voith B, Willmann S. A mechanistic approach for the scaling of clearance in children. *Clin Pharmacokinet* 2006; 45(7):683-704.
36. Edginton AN, Schmitt W, Willmann S. Development and evaluation of a generic physiologically based pharmacokinetic model for children. *Clin Pharmacokinet* 2006; 45(10):1013-1034.

37. Edginton AN, Theil FP, Schmitt W, Willmann S. Whole body physiologically-based pharmacokinetic models: their use in clinical drug development. *Expert Opin Drug Metab Toxicol* 2008; 4(9):1143-1152.
38. Eksborg S, Soderhall S, Frostvik-Stolt M, Lindberg A, Liliemark E. Plasma pharmacokinetics of etoposide (VP-16) after i.v. administration to children. *Anticancer Drugs* 2000; 11(4):237-241.
39. EMA (European Medicines Agency). Evidence of harm from off-label or unlicensed medicines in children. EMEA/126327/2004, 1. 2004. 6-7-2010. Ref Type: Report
40. Evans WE, Sinkule JA, Crom WR, Dow L, Look AT, Rivera G. Pharmacokinetics of Teniposide (VM26) and etoposide (VP16-213) in children with cancer. *Cancer Chemother Pharmacol* 1982; 7(2-3):147-150.
41. Fisher MB, Vandenbranden M, Findlay K et al. Tissue distribution and interindividual variation in human UDP-glucuronosyltransferase activity: relationship between UGT1A1 promoter genotype and variability in a liver bank. *Pharmacogenetics* 2000; 10(8):727-739.
42. Flege S, Bielack S. Goal and results of the COSS study. *Handchir Mikrochir Plast Chir* 2004; 36(5):282-288.
43. Gehan EA, George SL. Estimation of human body surface area from height and weight. *Cancer Chemother Rep* 1970; 54(4):225-235.
44. Groninger E, Proost JH, de Graaf SS. Pharmacokinetic studies in children with cancer. *Crit Rev Oncol Hematol* 2004; 52(3):173-197.
45. Guo A, Marinaro W, Hu P, Sinko PJ. Delineating the contribution of secretory transporters in the efflux of etoposide using Madin-Darby canine kidney (MDCK) cells overexpressing P-glycoprotein (Pgp), multidrug resistance-associated protein (MRP1), and canalicular multispecific organic anion transporter (cMOAT). *Drug Metab Dispos* 2002; 30(4):457-463.
46. Gurney H. Dose calculation of anticancer drugs: a review of the current practice and introduction of an alternative. *J Clin Oncol* 1996; 14(9):2590-2611.
47. Hamilton CR, Bliss JM, Horwich A. The late effects of cis-platinum on renal function. *Eur J Cancer Clin Oncol* 1989; 25(2):185-189.
48. Hanada K, Asano K, Nishimura T et al. Use of a toxicity factor to explain differences in nephrotoxicity and myelosuppression among the platinum antitumour derivatives cisplatin, carboplatin and nedaplatin in rats. *J Pharm Pharmacol* 2008; 60(3):317-322.

49. Hanada K, Ninomiya K, Ogata H. Pharmacokinetics and toxicodynamics of cisplatin and its metabolites in rats: relationship between renal handling and nephrotoxicity of cisplatin. *J Pharm Pharmacol* 2000; 52(11):1345-1353.
50. Hande KR. Etoposide pharmacology. *Semin Oncol* 1992; 19(6 Suppl 13):3-9.
51. Hande KR, Wolff SN, Greco FA, Hainsworth JD, Reed G, Johnson DH. Etoposide kinetics in patients with obstructive jaundice. *J Clin Oncol* 1990; 8(6):1101-1107.
52. Haycock GB, Schwartz GJ, Wisotsky DH. Geometric method for measuring body surface area: a height-weight formula validated in infants, children, and adults. *J Pediatr* 1978; 93(1):62-66.
53. Hayton WL. Maturation and growth of renal function: dosing renally cleared drugs in children. *AAPS PharmSci* 2000; 2(1):E3.
54. Heilbron DC, Holliday MA, al-Dahwi A, Kogan BA. Expressing glomerular filtration rate in children. *Pediatr Nephrol* 1991; 5(1):5-11.
55. Hilgendorf C, Ahlin G, Seithel A, Artursson P, Ungell AL, Karlsson J. Expression of thirty-six drug transporter genes in human intestine, liver, kidney, and organotypic cell lines. *Drug Metab Dispos* 2007; 35(8):1333-1340.
56. Holthuis JJ. Etoposide and teniposide. *Bioanalysis, metabolism and clinical pharmacokinetics. Pharm Weekbl Sci* 1988; 10(3):101-116.
57. Horen B, Montastruc JL, Lapeyre-Mestre M. Adverse drug reactions and off-label drug use in paediatric outpatients. *Br J Clin Pharmacol* 2002; 54(6):665-670.
58. Horikawa M, Kato Y, Tyson CA, Sugiyama Y. The potential for an interaction between MRP2 (ABCC2) and various therapeutic agents: probenecid as a candidate inhibitor of the biliary excretion of irinotecan metabolites. *Drug Metab Pharmacokinet* 2002; 17(1):23-33.
59. ICH Expert Working Group. Clinical Investigation of Medicinal Products in the Pediatric Population. E11. 20-6-2000.
Ref Type: Report
60. Jastaniah W, Aseeri M. A cross-sectional study comparing variation in body surface area and chemotherapy dosing in pediatric oncology using two different methods. *J Oncol Pharm Pract* 2009.
61. Joel SP, Shah R, Clark PI, Slevin ML. Predicting etoposide toxicity: relationship to organ function and protein binding. *J Clin Oncol* 1996; 14(1):257-267.

62. Johnson DH, Greco FA, Strupp J, Hande KR, Hainsworth JD. Prolonged administration of oral etoposide in patients with relapsed or refractory small-cell lung cancer: a phase II trial. *J Clin Oncol* 1990; 8(10):1613-1617.
63. Johnson TN, Rostami-Hodjegan A. Resurgence in the use of physiologically based pharmacokinetic models in pediatric clinical pharmacology: parallel shift in incorporating the knowledge of biological elements and increased applicability to drug development and clinical practice. *Paediatr Anaesth* 2011; 21(3):291-301.
64. Kager L, Langebrake C, Kastner U. Chemotherapie. Pädiatrische Hämatologie und Onkologie. Berlin, Heidelberg: Springer; 2006 p. 560-577.
65. Kakiyama T, Imai C, Hotta H, Ikarashi Y, Tanaka A, Uchiyama M. Impaired tubular excretory function as a late renal side effect of chemotherapy in children. *J Pediatr Hematol Oncol* 2003; 25(3):209-214.
66. Karlsson MO, Port RE, Ratain MJ, Sheiner LB. A population model for the leukopenic effect of etoposide. *Clin Pharmacol Ther* 1995; 57(3):325-334.
67. Kaul S, Srinivas NR, Igwemezie LN, Barbhuiya RH. A pharmacodynamic evaluation of hematologic toxicity observed with etoposide phosphate in the treatment of cancer patients. *Semin Oncol* 1996; 23(6 Suppl 13):15-22.
68. Kawashiro T, Yamashita K, Zhao XJ et al. A study on the metabolism of etoposide and possible interactions with antitumor or supporting agents by human liver microsomes. *J Pharmacol Exp Ther* 1998; 286(3):1294-1300.
69. Kearns GL, Abdel-Rahman SM, Alander SW, Blowey DL, Leeder JS, Kauffman RE. Developmental pharmacology--drug disposition, action, and therapy in infants and children. *N Engl J Med* 2003; 349(12):1157-1167.
70. Kersting G, Willmann S, Wurthwein G, Lippert J, Boos J, Hempel G. Physiologically based pharmacokinetic modelling of high- and low-dose etoposide: from adults to children. *Cancer Chemother Pharmacol* 2012; 69(2):397-405.
71. Kim WJ, Kakehi Y, Kinoshita H, Arao S, Fukumoto M, Yoshida O. Expression patterns of multidrug-resistance (MDR1), multidrug resistance-associated protein (MRP), glutathione-S-transferase-pi (GST-pi) and DNA topoisomerase II (Topo II) genes in renal cell carcinomas and normal kidney. *J Urol* 1996; 156(2 Pt 1):506-511.
72. Kinderkrebsregister. Neuroblastome und Ganglioneuroblastome. www.kinderkrebsregister.de . 2008. 5-7-2010.
Ref Type: Electronic Citation

73. Kleist von M, Huisinga W. Physiologically based pharmacokinetic modelling: a sub-compartmentalized model of tissue distribution. *J Pharmacokinet Pharmacodyn* 2007; 34(6):789-806.
74. Klingebiel T. Neuroblastom. In: Speer CP, Gahr M, editors. *Pädiatrie*. 3 ed. Heidelberg: Springer Medizin Verlag; 2009 p. 652-655.
75. Konert SO. Korrelation der Pharmakokinetik von Etoposid aus Etoposidphosphat mit klinischen Parametern. Medizinische Fakultät der Universität Münster; 2006.
76. Kremer LC, van der Pal HJ, Offringa M, van Dalen EC, Voute PA. Frequency and risk factors of subclinical cardiotoxicity after anthracycline therapy in children: a systematic review. *Ann Oncol* 2002; 13(6):819-829.
77. Leier I, Hummel-Eisenbeiss J, Cui Y, Keppler D. ATP-dependent para-aminohippurate transport by apical multidrug resistance protein MRP2. *Kidney Int* 2000; 57(4):1636-1642.
78. Levey AS, Bosch JP, Lewis JB, Greene T, Rogers N, Roth D. A more accurate method to estimate glomerular filtration rate from serum creatinine: a new prediction equation. Modification of Diet in Renal Disease Study Group. *Ann Intern Med* 1999; 130(6):461-470.
79. Liliemark E, Soderhall S, Sirzea F et al. Higher in vivo protein binding of etoposide in children compared with adult cancer patients. *Cancer Lett* 1996; 106(1):97-100.
80. Lindenmaier H, Becker M, Haefeli WE, Weiss J. Interaction of progestins with the human multidrug resistance-associated protein 2 (MRP2). *Drug Metab Dispos* 2005; 33(11):1576-1579.
81. Liu B, Earl HM, Poole CJ, Dunn J, Kerr DJ. Etoposide protein binding in cancer patients. *Cancer Chemother Pharmacol* 1995; 36(6):506-512.
82. Luepfert C, Reichel A. Development and application of physiologically based pharmacokinetic-modeling tools to support drug discovery. *Chem Biodivers* 2005; 2(11):1462-1486.
83. Meban C. The surface area and volume of the human fetus. *J Anat* 1983; 137 (Pt 2):271-278.
84. Meier Y, Pauli-Magnus C, Zanger UM et al. Interindividual variability of canalicular ATP-binding-cassette (ABC)-transporter expression in human liver. *Hepatology* 2006; 44(1):62-74.

85. Meijer S, Sleijfer DT, Mulder NH et al. Some effects of combination chemotherapy with cis-platinum on renal function in patients with nonseminomatous testicular carcinoma. *Cancer* 1983; 51(11):2035-2040.
86. MICROMEDEX 2.0. Compound Database. Thomsom Healthcare, editor. [2.0]. 2012. Greenwood village, Thomson Reuters. Drugdex System. 14-3-2012. Ref Type: Data File
87. Miller AA, Tolley EA, Niell HB, Stewart CF, Griffin JP. Pharmacodynamics of three daily infusions of etoposide in patients with extensive-stage small-cell lung cancer. *Cancer Chemother Pharmacol* 1992; 31(2):161-166.
88. Millward MJ, Newell DR, Yuen K et al. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of prolonged oral etoposide in women with metastatic breast cancer. *Cancer Chemother Pharmacol* 1995; 37(1-2):161-167.
89. Monaghan G, Ryan M, Seddon R, Hume R, Burchell B. Genetic variation in bilirubin UPD-glucuronosyltransferase gene promoter and Gilbert's syndrome. *Lancet* 1996; 347(9001):578-581.
90. Mosteller RD. Simplified calculation of body-surface area. *N Engl J Med* 1987; 317(17):1098.
91. Muehlbauer B, Janhsen K, Pichler J, Schoettler P. Off-label use of prescription drugs in childhood and adolescence: an analysis of prescription patterns in Germany. *Dtsch Arztebl Int* 2009; 106(3):25-31.
92. Nguyen L, Chatelut E, Chevreau C et al. Population pharmacokinetics of total and unbound etoposide. *Cancer Chemother Pharmacol* 1998; 41(2):125-132.
93. Niemeyer C, Rössler J. Neuroblastom. In: Koletzko B, editor. *Kinder- und Jugendmedizin*. 13 ed. Heidelberg: Springer Medizin Verlag; 2007 p. 319-320.
94. Offerman JJ, Meijer S, Sleijfer DT et al. Acute effects of cis-diamminedichloroplatinum (CDDP) on renal function. *Cancer Chemother Pharmacol* 1984; 12(1):36-38.
95. Onishi S, Kawade N, Itoh S, Isobe K, Sugiyama S. Postnatal development of uridine diphosphate glucuronyltransferase activity towards bilirubin and 2-aminophenol in human liver. *Biochem J* 1979; 184(3):705-707.
96. Pierrat A, Gravier E, Saunders C et al. Predicting GFR in children and adults: a comparison of the Cockcroft-Gault, Schwartz, and modification of diet in renal disease formulas. *Kidney Int* 2003; 64(4):1425-1436.

97. PINKEL D. The use of body surface area as a criterion of drug dosage in cancer chemotherapy. *Cancer Res* 1958; 18(7):853-856.
98. Pinzani V, Bressolle F, Haug IJ, Galtier M, Blayac JP, Balmes P. Cisplatin-induced renal toxicity and toxicity-modulating strategies: a review. *Cancer Chemother Pharmacol* 1994; 35(1):1-9.
99. Poulin P, Theil FP. A priori prediction of tissue:plasma partition coefficients of drugs to facilitate the use of physiologically-based pharmacokinetic models in drug discovery. *J Pharm Sci* 2000; 89(1):16-35.
100. Ratain MJ. Body-surface area as a basis for dosing of anticancer agents: science, myth, or habit? *J Clin Oncol* 1998; 16(7):2297-2298.
101. Ratain MJ, Mick R, Schilsky RL, Vogelzang NJ, Berezin F. Pharmacologically based dosing of etoposide: a means of safely increasing dose intensity. *J Clin Oncol* 1991; 9(8):1480-1486.
102. Relling MV, Evans R, Dass C, Desiderio DM, Nemec J. Human cytochrome P450 metabolism of teniposide and etoposide. *J Pharmacol Exp Ther* 1992; 261(2):491-496.
103. Rodgers T, Leahy D, Rowland M. Physiologically based pharmacokinetic modeling 1: predicting the tissue distribution of moderate-to-strong bases. *J Pharm Sci* 2005; 94(6):1259-1276.
104. Rodgers T, Rowland M. Physiologically based pharmacokinetic modelling 2: predicting the tissue distribution of acids, very weak bases, neutrals and zwitterions. *J Pharm Sci* 2006; 95(6):1238-1257.
105. Rostami-Hodjegan A, Tamai I, Pang KS. Physiologically based pharmacokinetic (PBPK) modeling: It is here to stay! *Biopharm Drug Dispos* 2012; 33(2):47-50.
106. Rowland M. Interview: Interview with Professor Malcolm Rowland. *Bioanalysis* 2010; 2(3):385-391.
107. Satoh T, Tomikawa Y, Takanashi K, Itoh S, Itoh S, Yoshizawa I. Studies on the interactions between drugs and estrogen. III. Inhibitory effects of 29 drugs reported to induce gynecomastia on the glucuronidation of estradiol. *Biol Pharm Bull* 2004; 27(11):1844-1849.
108. Sawyer M, Ratain MJ. Body surface area as a determinant of pharmacokinetics and drug dosing. *Invest New Drugs* 2001; 19(2):171-177.
109. Schilling FH, Spix C, Berthold F et al. Neuroblastoma screening at one year of age. *N Engl J Med* 2002; 346(14):1047-1053.

110. Schwartz GJ, Haycock GB, Edelmann CM, Jr., Spitzer A. A simple estimate of glomerular filtration rate in children derived from body length and plasma creatinine. *Pediatrics* 1976; 58(2):259-263.
111. Schweigerer L, Classen CF. Solide Tumoren. In: Mayatepek E, editor. *Pädiatrie*. 1 ed. München: Elsevier; 2007 p. 664-667.
112. Sethi VS, Kimball JC. Pharmacokinetics of vincristine sulfate in children. *Cancer Chemother Pharmacol* 1981; 6(2):111-115.
113. Sharkey I, Boddy AV, Wallace H, Mycroft J, Hollis R, Picton S. Body surface area estimation in children using weight alone: application in paediatric oncology. *Br J Cancer* 2001; 85(1):23-28.
114. Shimada T, Yamazaki H, Mimura M, Inui Y, Guengerich FP. Interindividual variations in human liver cytochrome P-450 enzymes involved in the oxidation of drugs, carcinogens and toxic chemicals: studies with liver microsomes of 30 Japanese and 30 Caucasians. *J Pharmacol Exp Ther* 1994; 270(1):414-423.
115. Sinkule JA, Hutson P, Hayes FA, Etcubanas E, Evans W. Pharmacokinetics of etoposide (VP16) in children and adolescents with refractory solid tumors. *Cancer Res* 1984; 44(7):3109-3113.
116. Slevin ML, Clark PI, Joel SP et al. A randomized trial to evaluate the effect of schedule on the activity of etoposide in small-cell lung cancer. *J Clin Oncol* 1989; 7(9):1333-1340.
117. Speth PA, van Hoesel QG, Haanen C. Clinical pharmacokinetics of doxorubicin. *Clin Pharmacokinet* 1988; 15(1):15-31.
118. Stewart CF. Use of etoposide in patients with organ dysfunction: pharmacokinetic and pharmacodynamic considerations. *Cancer Chemother Pharmacol* 1994; 34 Suppl:S76-S83.
119. Stewart CF, Arbuck SG, Fleming RA, Evans WE. Changes in the clearance of total and unbound etoposide in patients with liver dysfunction. *J Clin Oncol* 1990; 8(11):1874-1879.
120. Stohr W, Paulides M, Bielack S et al. Ifosfamide-induced nephrotoxicity in 593 sarcoma patients: a report from the Late Effects Surveillance System. *Pediatr Blood Cancer* 2007; 48(4):447-452.
121. Teicher BA, Holden SA, Rose CM. Effect of oxygen on the cytotoxicity and antitumor activity of etoposide. *J Natl Cancer Inst* 1985; 75(6):1129-1133.

122. Theil FP, Guentert TW, Haddad S, Poulin P. Utility of physiologically based pharmacokinetic models to drug development and rational drug discovery candidate selection. *Toxicol Lett* 2003; 138(1-2):29-49.
123. Valentin J. Basic anatomical and physiological data for use in radiological protection: reference values. A report of age- and gender-related differences in the anatomical and physiological characteristics of reference individuals. ICRP Publication 89. *Ann ICRP* 2002; 32(3-4):5-265.
124. Watanabe Y, Nakajima M, Ohashi N, Kume T, Yokoi T. Glucuronidation of etoposide in human liver microsomes is specifically catalyzed by UDP-glucuronosyltransferase 1A1. *Drug Metab Dispos* 2003; 31(5):589-595.
125. Willmann S, Hohn K, Edginton A et al. Development of a physiology-based whole-body population model for assessing the influence of individual variability on the pharmacokinetics of drugs. *J Pharmacokinet Pharmacodyn* 2007; 34(3):401-431.
126. Woods WG. Screening for neuroblastoma: the final chapters. *J Pediatr Hematol Oncol* 2003; 25(1):3-4.
127. Wurthwein G, Krefeld B, Gerst J, Boos J. Carboplatin dosing in children: calculation by different formulae. *Onkologie* 2011; 34(1-2):16-22.
128. Yokoi T. Essentials for starting a pediatric clinical study (1): Pharmacokinetics in children. *J Toxicol Sci* 2009; 34 Suppl 2:SP307-SP312.
129. Yong WP, Desai AA, Innocenti F et al. Pharmacokinetic modulation of oral etoposide by ketoconazole in patients with advanced cancer. *Cancer Chemother Pharmacol* 2007; 60(6):811-819.
130. Yong WP, Ramirez J, Innocenti F, Ratain MJ. Effects of ketoconazole on glucuronidation by UDP-glucuronosyltransferase enzymes. *Clin Cancer Res* 2005; 11(18):6699-6704.
131. Yu CY, Lo YH, Chiou WK. The 3D scanner for measuring body surface area: a simplified calculation in the Chinese adult. *Appl Ergon* 2003; 34(3):273-278.
132. Zhao P, Zhang L, Grillo JA et al. Applications of physiologically based pharmacokinetic (PBPK) modeling and simulation during regulatory review. *Clin Pharmacol Ther* 2011; 89(2):259-267.
133. Zhuo X, Zheng N, Felix CA, Blair IA. Kinetics and regulation of cytochrome P450-mediated etoposide metabolism. *Drug Metab Dispos* 2004; 32(9):993-1000.

Lebenslauf

Persönliche Angaben

Name: Maximilian Caspar Kallenbach
Geburtstag und -ort: 02.04.1985 in Aachen
Familienstand: ledig
Nationalität: Deutsch

Schulausbildung

1991 – 1995 Carl-Orff-Grundschule in Hamm
1995 – 2004 Freiherr-vom-Stein Gymnasium in Hamm, Hochschulreife am 25.06.2004

Studium

04.2005 – 11.2011 Humanmedizin an der WWU Münster
03.2007 erster Abschnitt der ärztlichen Prüfung (Note: 1,5)
09.2008 – 03.2009 Studium an der Université du Droite et de la Santé, Lille, Frankreich
08.2010 – 06.2011 Praktisches Jahr
11.2011 zweiter Abschnitt der ärztlichen Prüfung (Note: 1,5)

Weitere Berufliche Erfahrung

01.2012 Approbation
05.2012 – dato Assistenzarzt der Inneren Medizin
Franz Hospital Dülmen, Cristophorus Kliniken GmbH

Münster, den

.....

(Unterschrift)

Danksagung

Mein besonderer Dank gilt Prof. Dr. Joachim Boos und PD Dr. Georg Hempel für die geduldige Unterstützung während meiner Dissertation.

Auch danken möchte ich dem Team der Domagkstr. 24 für die vielen lustigen Kaffeepausen und Mittagessen,

und nicht zuletzt den vielen vielen Menschen, die mich immer wieder motivierten und für mich da waren.

Anhang

- I. Votum der Ethikkommission der Medizinischen Fakultät der Universität zu Köln, 30.06.1997

Ethikkommission der Medizinischen Fakultät
der
Universität zu Köln

Vorsitzender: Univ.-Prof. Dr. med. M. Staak

Institut für Rechtsmedizin

D-50823 Köln, Melatengürtel 60-62, Tel.: 0221-4784253, Fax: 0221-4784261

Köln, den 30. Juni 1997

Pl/tr

Betr.: Ihr Antrag Nr. 9764
Kooperative multizentrische Therapieoptimierungsstudie für die Behandlung von Säuglingen,
Kindern und Jugendlichen mit Neuroblastom (Neuroblastomstudie NB 97)
Fassung vom 30.04.1997

Sehr geehrter Herr Kollege Berthold,

die Ethikkommission der Medizinischen Fakultät der Universität zu Köln hat sich in ihrer Sitzung vom 26.06.1997 mit Ihrem Antrag befaßt und diesen **zustimmend bewertet**.

Wir dürfen Sie vorsorglich auf die vom Bundesminister für Jugend, Familie, Frauen und Gesundheit am 9. Dezember 1987 erlassenen "Grundsätze für die ordnungsgemäße Durchführung der klinischen Prüfung von Arzneimitteln" (Bundesanzeiger Nr. 243 vom 30.12.1987, Seite 16 617) sowie das Arzneimittelgesetz in seiner Fassung vom 17. August 1994 (Bundesgesetzblatt, Jahrgang 1994 (Teil 1, Seite 3018 bis 3067)) aufmerksam machen. Insbesondere wird dringend empfohlen, die dort festgehaltenen Grundsätze zur Aufklärung der Patienten zu beachten.

Überdies weisen wir auf das Krankenhausgesetz des Landes Nordrhein-Westfalen vom 03.11.1987, Abschnitt 1, § 9 Abs. 4 hin (Die Arzneimittelkommission ist über alle im Krankenhaus zur Anwendung kommenden Arzneimittel, die nicht in der Arzneimittelliste enthalten sind, zu informieren. Sie ist von der Durchführung klinischer Prüfungen von Arzneimitteln zu unterrichten. Nebenwirkungen von Arzneimitteln, die nach Art und Umfang über das bekannte Maß hinausgehen, sind der Arzneimittelkommission unverzüglich mitzuteilen).

Ferner dürfen wir Sie bitten, die Ethikkommission unverzüglich von sämtlichen nachträglichen Änderungen im Prüfplan (abgesehen von rein formellen) zu unterrichten, da sie eine erneute Beratung erforderlich machen.