

---

Aus dem Institut für Experimentelle und Klinische  
Pharmakologie  
der Universität Hamburg

Direktor: Prof. Dr. med. T. Eschenhagen

**„Pharmakokinetik und Pharmakodynamik von Sotalol bei Kindern mit tachykarden  
Herzrhythmusstörungen und  
Entwicklung einer intravenösen Mikrodialysetechnik zur blutentnahmefreien  
Bestimmung von Sotalolplasmakonzentrationen“**

Dissertation zur Erlangung des Doktorgrades des Fachbereichs Chemie  
der Universität Hamburg

vorgelegt von

Jan-Peer Elshoff

Hamburg 2004

---

- 
1. Gutachter: Prof. Dr. rer. nat. H.-J. Duchstein
  2. Gutachter: PD Dr. med. S. Lärer

Tag der Disputation: 04.02.2005

# Inhaltsverzeichnis

Vorbemerkung .....	1
1 Pharmakokinetik und Pharmakodynamik von Sotalol bei pädiatrischen Patienten mit tachykarden Herzrhythmusstörungen.....	2
1.1 Einleitung: Sotaloltherapie tachykarder Herzrhythmusstörungen.....	2
1.1.1 Einteilung und Therapie tachykarder Herzrhythmusstörungen bei pädiatrischen Patienten .....	2
1.1.2 Das Klasse II/III-Antiarrhythmikum Sotalol.....	4
1.1.3 Mögliche Veränderung der Pharmakodynamik im Kindesalter .....	6
1.1.4 Pharmakokinetisch-pharmakodynamisches Modelling .....	6
1.1.5 Ziele der Studie.....	8
1.2 Pharmakokinetik und Pharmakodynamik von Sotalol bei pädiatrischen Patienten mit tachykarden Herzrhythmusstörungen: Methoden .....	9
1.2.1 Studiendesign.....	9
1.2.2 Einschlusskriterien.....	9
1.2.3 Ausschlusskriterien.....	9
1.2.4 Kriterien für den Abbruch der Studie bei einzelnen Patienten .....	10
1.2.5 Untersuchungs- und Behandlungsschemata .....	10
1.2.6 Studienendpunkte .....	14
1.2.7 Probenentnahme .....	14
1.2.8 Probenaufbereitung und HPLC-Analytik .....	14
1.2.9 Pharmakokinetische Auswertung .....	16
1.2.10 QT-Intervall-Bestimmung und Korrektur des QT-Intervalls für die Herzfrequenz .....	18
1.2.11 Pharmakokinetisch-pharmakodynamisches Modelling .....	21
1.2.12 Entwicklung eines altersabhängigen Dosierungsschemas.....	23
1.2.13 Statistik .....	24
1.3 Pharmakokinetik und Pharmakodynamik von Sotalol bei pädiatrischen Patienten mit tachykarden Herzrhythmusstörungen: Material .....	25
1.3.1 Arzneistoffe .....	25
1.3.2 Lösungsmittel und Reagenzien mit Gefahrenhinweisen und Sicherheitsratschlägen .....	25
1.3.3 Verbrauchsmaterial und Laborgeräte .....	26
1.3.4 HPLC-Messapparatur .....	26
1.3.5 Software.....	26
1.4 Pharmakokinetik und Pharmakodynamik von Sotalol bei pädiatrischen Patienten mit tachykarden Herzrhythmusstörungen: Ergebnisse .....	27
1.4.1 Deskriptive Statistik der Studienteilnehmer .....	27
1.4.2 PK-PD Modelling zur individuellen Therapiesteuerung bei einem dreijährigen Patienten mit supraventrikulärer Tachykardie.....	29
1.4.3 Ergebnisse der pharmakokinetischen Analyse – altersabhängige Pharmakokinetik von Sotalol.....	33
1.4.4 Ergebnisse der pharmakodynamischen Analyse – altersabhängige Pharmakodynamik von Sotalol.....	35
1.4.5 Therapeutisch wirksame Sotalolplasmakonzentrationen bei pädiatrischen Patienten mit supraventrikulären Tachykardien .....	37
1.4.6 Entwicklung eines altersabhängigen Dosierungsschemas.....	39

1.4.7	Verträglichkeit von Sotalol.....	41
1.5	Pharmakokinetik und Pharmakodynamik von Sotalol bei pädiatrischen Patienten mit tachykarden Herzrhythmusstörungen: Diskussion.....	42
1.5.1	Zusammenfassung der Ergebnisse.....	42
1.5.2	Konzentrationsabhängiger Effekt von Sotalol bei Kindern.....	43
1.5.3	Altersabhängige Unterschiede in der Pharmakodynamik von Sotalol .....	43
1.5.4	Wirksame Sotalolplasmakonzentrationen bei pädiatrischen Patienten mit tachykarden Herzrhythmusstörungen .....	46
1.5.5	Entwicklung eines altersabhängigen Dosierungsschemas.....	47
2	<i>In vitro</i> -Mikrodialyseuntersuchungen .....	48
2.1	Intravenöse Mikrodialyse für pharmakokinetische Untersuchungen .....	48
2.1.1	Intravenöse Mikrodialyse als Ersatz für Blutentnahmen.....	48
2.1.2	Funktionsprinzip Mikrodialyse.....	49
2.1.3	Anwendungsmöglichkeiten der Mikrodialyse .....	52
2.1.4	Ziel der Untersuchungen .....	53
2.2	<i>In vitro</i> -Mikrodialyse: Methoden .....	55
2.2.1	<i>In vitro</i> -System Mikrodialysezelle .....	55
2.2.2	Untersuchungsmedien .....	56
2.2.3	Verwendete Mikrodialysesonden .....	56
2.2.4	Perfusionslösungen und Zugabe von Dextran .....	57
2.2.5	Versuchsordnung, Versuchsdurchführung und Validierung .....	58
2.2.6	Enzymatischer Dextranabbau und –nachweis .....	59
2.2.7	Bestimmung der Sotalolkonzentration im Mikrodialysat.....	62
2.2.8	Statistik .....	63
2.3	<i>In vitro</i> -Mikrodialyse: Material .....	64
2.3.1	Lösungsmittel und Reagenzien mit Gefahrenhinweisen, Lieferant und Sicherheitsratschlägen .....	64
2.3.2	Zusammensetzung der Perfusionslösungen.....	64
2.3.3	Mikrodialysegerätschaften.....	64
2.3.4	Verbrauchsmaterial und Laborgeräte .....	65
2.4	<i>In vitro</i> -Mikrodialyseuntersuchungen: Ergebnisse.....	66
2.4.1	Optimierung der Diffusionsbedingungen an der Mikrodialysemembran durch Zugabe von Dextran zur Perfusionslösung.....	66
2.4.2	Enzymatischer Dextranabbau zur Vereinfachung der Analytik .....	67
2.4.3	Abhängigkeit der Sotalolwiederfindung von der Flussrate .....	69
2.4.4	Kontrolle der Sotalolwiederfindung per Kalibrator.....	71
2.5	<i>In vitro</i> -Mikrodialyse: Diskussion.....	72
2.5.1	Die Mikrodialysezelle als <i>in vitro</i> -Testsystem zur Evaluierung von Bedingungen für <i>in vivo</i> -Untersuchungen.....	72
2.5.2	Erhöhung der Dialysatmenge durch Zugabe von Dextran zur Perfusionslösung .....	72
2.5.3	Abhängigkeit der Sotalolwiederfindung von der Flussrate .....	73
2.5.4	Kontrolle der Sotalolwiederfindung per Kalibrator.....	74
3	<i>In vivo</i> -Mikrodialyseuntersuchungen .....	78
3.1	Einleitung.....	78
3.2	<i>In vivo</i> -Mikrodialyse: Methoden .....	79
3.2.1	Studiendesign.....	79
3.2.2	Studienpopulation mit Ein- und Ausschlusskriterien .....	79

3.2.3	Abbruchkriterien beim einzelnen Probanden .....	79
3.2.4	Verwendete Mikrodialysesonden .....	79
3.2.5	Studienprotokoll und Versuchsdurchführung.....	79
3.2.6	Quantifizierung von Sotalol in Plasma und Mikrodialysat .....	81
3.2.7	Pharmakokinetische und pharmakodynamische Analyse.....	81
3.2.8	Sterile Herstellung der Perfusionslösungen.....	82
3.2.9	Statistik .....	82
3.3	<i>In vivo</i> -Mikrodialyseuntersuchungen: Ergebnisse.....	83
3.3.1	Ergebnisse der pharmakokinetischen Untersuchungen .....	83
3.3.2	Ergebnisse der pharmakodynamischen Untersuchungen .....	87
3.4	<i>In vivo</i> -Mikrodialyseergebnisse: Diskussion.....	90
3.4.1	Zusammenfassung der Ergebnisse.....	90
3.4.2	Humane Anwendung der Mikrodialyse.....	90
3.4.3	Ursachen für grundsätzliche Unterschiede in der Wiederfindungsrate .....	92
3.4.4	Ursachen für zeitliche Veränderungen in der Wiederfindungsrate .....	93
3.4.5	Gründe für die Anwendung der Retrodialysemethode .....	94
3.4.6	Mikrodialyse und Pharmakodynamik.....	95
4	Ausblick .....	97
5	Zusammenfassung .....	99
6	Literaturverzeichnis .....	103
7	Verzeichnis der verwendeten Abkürzungen.....	110
8	Abbildungsverzeichnis .....	113
9	Tabellenverzeichnis .....	114
Erklärung .....		115
Lebenslauf.....		117
Danksagungen.....		119



## Vorbemerkung

Für die Therapie von pädiatrischen Patienten liegen nur wenig wissenschaftlich fundierte Informationen vor. Nur etwa 50 % der in der Pädiatrie verwendeten Arzneistoffe in Europa sind für diese Population zugelassen<sup>1</sup>. Dosierungsempfehlungen für Kinder existieren nur für die wenigsten Arzneistoffe, und in der Folge kommt es zu einer erhöhten Rate von unerwünschten Arzneimittelwirkungen oder ineffektiver Therapie aufgrund fehlerhafter Dosierungen. Zur Verbesserung dieser Situation sind dringend klinische Studien bei pädiatrischen Patienten notwendig. Daher wurde im ersten Teil dieser Arbeit (Abschnitt 1) der Zusammenhang zwischen Pharmakokinetik und Pharmakodynamik von Sotalol bei der Therapie von Kindern mit tachykarden Herzrhythmusstörungen untersucht. Mit den gewonnenen Daten sollte ein Dosierungsschema für diese Patientengruppe erstellt werden.

Um den Zusammenhang zwischen Dosis, Konzentration und Effekt eines Arzneistoffs beurteilen zu können sind mehrere Blutentnahmen notwendig. Die meisten analytischen Methoden zur Bestimmung von Plasmakonzentrationen erfordern etwa 2-4 ml Vollblut. Für Kinder, insbesondere für Neugeborene und Säuglinge können mehrere solche Blutentnahmen bereits zu Anämien führen. Diese Gefahr ist besonders groß, wenn vor der pharmakokinetischen Untersuchung bereits routinediagnostische Blutentnahmen notwendig waren. Um Blutentnahmen für pharmakokinetische Zwecke zukünftig reduzieren zu können, wurde im zweiten Teil dieser Arbeit (Abschnitt 2) *in vitro* eine Mikrodialysemethode zur Bestimmung von Arzneistoffkonzentrationen in Vollblut entwickelt.

Im dritten Teil der vorliegenden Arbeit (Abschnitt 3) wurden die *in vitro* Mikrodialysemethode bei gesunden männlichen Probanden eingesetzt. Dabei sollte die intravenöse Anwendbarkeit der Methode *in vivo* überprüft werden. Die gewonnenen Ergebnisse sollten direkt mit der bisher verwendeten konventionellen Methode zur Bestimmung von Plasmakonzentrationen verglichen werden. Zusätzlich sollte die Verwendbarkeit der intravenösen Mikrodialyse für pharmakodynamische Untersuchungen getestet werden.

Alle drei Abschnitte der vorliegenden Arbeit sind separat noch einmal in die Teilabschnitte Einleitung, Methoden, Material, Ergebnisse und Diskussion gegliedert.

---

<sup>1</sup> Vgl. Conroy et al. (2000)

# **1 Pharmakokinetik und Pharmakodynamik von Sotalol bei pädiatrischen Patienten mit tachykarden Herzrhythmusstörungen**

## **1.1 Einleitung: Sotaloltherapie tachykarder Herzrhythmusstörungen**

### **1.1.1 Einteilung und Therapie tachykarder Herzrhythmusstörungen bei pädiatrischen Patienten**

Supraventrikuläre Tachykardien (SVT) sind bei den tachykarden Herzrhythmusstörungen im Kindesalter die häufigste Form der Tachykardie<sup>2</sup>. Sie entstehen oberhalb der Bifurkation des His'schen Bündels und können Herzfrequenzen von bis zu 300 Schlägen pro Minute erreichen. Circa 200 Kinder pro eine Million Einwohner sind pro Jahr betroffen<sup>3</sup>. 70-80 % der supraventrikulären Tachykardien werden über eine vorzeitige Erregung des Vorhofs durch zusätzliche Leitungsbündel zwischen Vorhof und Ventrikel ausgelöst<sup>4</sup>. In diese Gruppe gehört das Wolff-Parkinson-White-Syndrom (WPW-Syndrom). Weitere 15 % der supraventrikulären Tachykardien, die automatischen und junktionalen ektopen Tachykardien (JET), entstehen in der Nähe des Atrioventrikularknotens (AV-Knoten) durch eine volumenbedingte Vorhofdehnung oder auf dem Boden von operationsbedingtem Narbengewebe bei kongenitalen Herzfehlern. Nur 5 % der supraventrikulären Tachykardien entstehen direkt am AV-Knoten und werden als AV-Knoten-Reentry-Tachykardien (AV-RT) bezeichnet<sup>5</sup>. Nicht zu den supraventrikulären Tachykardien zählen Vorhofflattern (AF) bzw. Vorhofflimmern (AFL).

Die supraventrikulären Tachykardien werden klinisch in anhaltende und nicht anhaltende Tachykardien unterteilt. Bei mehr als 60 % der pädiatrischen Patienten mit nicht anhaltenden Tachykardien können Frequenzen von bis zu 300 Schlägen pro Minute erreicht werden<sup>6</sup>. Dauern diese Tachykardien länger als 48 Stunden, treten bei der Hälfte der Kinder Zeichen einer akuten Herzinsuffizienz auf. Anhaltende supraventrikuläre Tachykardien mit Frequenzen zwischen 150 und 200 Schlägen pro Minute führen nicht zu einer akuten Herzinsuffizienz. Sie können aber über eine schleichend verlaufende Dilatation des linken Ventrikels eine Einschränkung der linksventrikulären systolischen und diastolischen Funktion, eine so genannte tachykardieinduzierte Kardiomyopathie, bewirken<sup>7</sup>. Daher stellen tachykarde Herzrhythmusstörungen für Neugeborene, Säuglinge und Kinder unbehandelt eine lebensbedrohliche Situa-

---

<sup>2</sup> Vgl. Paul et al. (2000)

<sup>3</sup> Vgl. Ludomirsky und Garson (1990); Villain et al. (1990)

<sup>4</sup> Vgl. Moak (2000)

<sup>5</sup> Vgl. Vetter (1993)

<sup>6</sup> Vgl. Paul et al. (2000)

<sup>7</sup> Vgl. Yonesaka et al. (1996)

tion dar<sup>8</sup>, welche einer sofortigen Therapie bedarf. Da die Erstmanifestation der Erkrankung häufig zwischen Geburt und zweitem Lebensmonat auftritt, sind insbesondere Säuglinge und Neugeborene von supraventrikulären Tachykardien betroffen<sup>9</sup>.

Als Therapieoptionen stehen bei Neugeborenen und Säuglingen die elektrische Kardioversion in den Sinusrhythmus mittels Defibrillator oder die medikamentöse mit intravenös appliziertem Adenosin zur Verfügung. Um nach erfolgter Kardioversion einen dauerhaften Sinusrhythmus zu erzielen, erhalten die Patienten anschließend bis zum Erreichen ihres ersten Lebensjahres eine medikamentöse Prophylaxe<sup>10</sup>. Eine weitere Behandlungsmöglichkeit stellt die elektrische Ablation des anatomischen Substrates dar. Hier wird mit Hilfe von hochfrequentem elektrischem Strom pathologisches Leitungsgewebe verödet. Diese Methode wird allerdings bei Patienten unter 15 kg Körpergewicht (entspricht einem Alter von 3-4 Jahren) nur selten angewendet, da bei diesen die Komplikationsrate sehr hoch ist<sup>11</sup>. Die medikamentöse antiarrhythmische Therapie ist also nach erfolgter Kardioversion gerade bei kleinen Kindern die einzige Behandlungsmöglichkeit<sup>12</sup>. Da sie empirisch auf der Basis von Erwachsenendaten erfolgt, ist die Rate an unerwünschten Arzneimittelwirkungen mit 22 % entsprechend hoch<sup>13</sup>.

Für die medikamentöse Therapie von supraventrikulären Tachykardien nach erfolgreicher Kardioversion gibt es verschiedene Optionen<sup>14</sup>. Klasse I-Antiarrhythmika wie Propafenon oder Flecainid sind bei über 85 % der pädiatrischen Patienten effektiv<sup>15</sup>. Aufgrund eines erhöhten proarrhythmischen Risikos bei Neugeborenen und Säuglingen ist ihr Einsatz jedoch stark eingeschränkt<sup>16</sup>. Propafenon wird außerdem über das Zytochrom P450 2D6 verstoffwechselt, so dass hier aufgrund eines genetischen Polymorphismus dieses Enzyms in der kaukasischen Bevölkerung mit einer hohen Variabilität der Pharmakokinetik gerechnet werden muss<sup>17</sup>. Flecainid wird renal und hepatisch eliminiert, wobei neben Zytochrom P450 2D6 auch das Zytochrom P450 3A4 eine Rolle spielt. Da über Letzteres sehr viele andere Arzneistoffe abgebaut werden, gibt es hier eine Vielzahl von Interaktionsmöglichkeiten. Andere Anti-

---

<sup>8</sup> Vgl. Paul et al. (2000)

<sup>9</sup> Vgl. Garson et al. (1981); Perry und Garson (1990)

<sup>10</sup> Vgl. Sherwood et al. (1998)

<sup>11</sup> Vgl. Kugler et al. (1994); Moak (2000)

<sup>12</sup> Vgl. Paul et al. (2000)

<sup>13</sup> Vgl. Luedtke et al. (1997a); Luedtke et al. (1997b)

<sup>14</sup> Vgl. Mason (1993)

<sup>15</sup> Vgl. Perry et al. (1989); Paul und Janousek (1994)

<sup>16</sup> Vgl. Fish et al. (1991)

<sup>17</sup> Vgl. Bertilsson (1995)

arrhythmika wie Verapamil und Digoxin sind kontraindiziert bei Überleitungsstörungen wie dem WPW-Syndrom und scheiden daher bei einem Großteil der supraventrikulären Tachykardien aus. Beta-Rezeptorenblocker ohne repolarisationsverlängernde Eigenschaften wie Propranolol oder Atenolol zeigen keine ausreichende antiarrhythmische Aktivität bei ekto-phen Tachykardien, Vorhofflattern und ventrikulären Tachykardien<sup>18</sup>. Das Klasse III-Antiarrhythmikum Amiodaron ist das effektivste Medikament zur Unterdrückung von tachykarden Herzrhythmusstörungen<sup>19</sup>, aber durch seine lange Halbwertszeit (sechs bis acht Wochen) ist die Therapie schwer steuerbar. Weiterhin sprechen extrakardiale unerwünschte Arzneimittelwirkungen wie beispielsweise eine Lungenfibrose gegen eine Langzeittherapie mit Amiodaron im Kindesalter. Sotalol als Klasse III-Antiarrhythmikum mit beta-rezeptorblockierender Wirkung ist für eine Vielzahl von tachykarden Rhythmusstörungen indiziert, insbesondere bei ekto-phen atrialen Tachykardien. Vorteilhaft für die Therapie von Kindern mit Herzrhythmusstörungen ist, dass bereits pharmakokinetische Daten für diese Patientengruppe vorliegen, welche altersabhängige Veränderungen insbesondere der Sotalol-clearance zeigen<sup>20</sup>. Zudem wird die Substanz nicht verstoffwechselt, ist nicht an Plasmaproteine gebunden und wird ausschließlich über die Nieren ausgeschieden<sup>21</sup>. Daher sind die Möglichkeiten für Veränderungen der Pharmakokinetik durch eine Interaktion mit einem anderen Pharmakon gering, und Polymorphismen verstoffwechselnder Enzyme spielen keine Rolle.

### 1.1.2 Das Klasse II/III-Antiarrhythmikum Sotalol

Sotalol [(R,S)-4'-(1-Hydroxy-2-isopropylaminoethyl)-methansulfonanilid] hat ein  $\beta$ -Phenyl- $\beta$ -hydroxyethylamingrundgerüst mit einer Sulfonamidstruktur sowie einem asymmetrischen Kohlenstoffatom. Die Substanz ist ein hydrophiler, unselektiver Beta-Rezeptorenblocker ohne intrinsische Aktivität und ohne membranstabilisierende Eigenschaften<sup>22</sup>. Zusätzlich zur beta-rezeptorblockierenden Aktivität (Klasse II-antiarrhythmischer Effekt) blockiert Sotalol auf zellulärer Ebene den verzögerten Kaliumgleichrichterstrom  $I_{Kr}$ <sup>23</sup>, was sich in einer Verlängerung der kardialen Repolarisation niederschlägt und im Elektrokardiogramm (EKG) als Verlängerung der Wegstrecke zwischen dem Q-Punkt des QRS-Komplexes und dem Ende der T-Welle (QT-Intervall) erkennen lässt (Klasse III-antiarrhythmischer Effekt).

---

<sup>18</sup> Vgl. Pfammatter und Stocker (1998)

<sup>19</sup> Vgl. Guccione et al. (1990); Paul und Guccione (1994)

<sup>20</sup> Vgl. Læer et al. (2001a)

<sup>21</sup> Vgl. Singh et al. (1987)

<sup>22</sup> Vgl. Singh et al. (1987)

<sup>23</sup> Vgl. Roden (1993)

Die Pharmakokinetik von Sotalol bei Neugeborenen gleicht der bei Erwachsenen, es treten jedoch Veränderungen im Verlauf der Kindheit auf<sup>24</sup>. Nach oraler Gabe werden maximale Plasmaspiegel nach etwa drei Stunden erreicht. Die mittlere Eliminationshalbwertszeit beträgt bei Neugeborenen und Erwachsenen mit normaler Nierenfunktion etwa acht Stunden. Bei Kleinkindern und Kindern ist die Arzneistoffclearance erhöht, dadurch sinkt die Halbwertszeit auf etwa fünf bis sechs Stunden<sup>25</sup>. Die Bioverfügbarkeit liegt bei Erwachsenen nahezu bei 100 %, für Kinder liegen hier keine Daten vor<sup>26</sup>. Sotalol wird in der Therapie als Razemat (D,L-Sotalol) eingesetzt. Die Substanz wird nicht an Plasmaproteine gebunden<sup>27</sup>. Pharmakokinetisch treten keine Unterschiede zwischen den Enantiomeren auf, beide werden identisch über die Nieren eliminiert<sup>28</sup>. Die pharmakodynamischen Eigenschaften der zwei Enantiomere sind jedoch unterschiedlich<sup>29</sup>. Die beta-rezeptorblockierende Aktivität von L-Sotalol ist etwa 50-mal größer als die von D-Sotalol, wohingegen die Kaliumkanalblockade von beiden Enantiomeren gleichstark ausgeübt wird. Dabei tritt der maximale beta-rezeptorblockierende Effekt bei niedrigeren Konzentrationen auf als der maximale Klasse III-antiarrhythmische Effekt<sup>30</sup>. Da Sotalol unverändert renal eliminiert wird<sup>31</sup>, können diese pharmakodynamischen Unterschiede zwischen den Enantiomeren jedoch nicht für etwaige altersabhängige Unterschiede in der Pharmakodynamik bei verschiedenen Populationen, z. B. durch enantioselektiv unterschiedliche Verstoffwechslung in verschiedenen Altersgruppen, verantwortlich gemacht werden.

Die Blockade der myokardialen Kaliumkanäle durch Sotalol führt zu einer Verlangsamung des Kaliumausstroms aus den Herzmuskelzellen und damit zu einer Verlangsamung der Repolarisation. Im EKG zeigt sich dies als QT-Intervallverlängerung und ist mit einem dosisabhängig erhöhten proarrhythmischen Risiko assoziiert<sup>32</sup>. Beispielsweise können so genannte Torsades-de-Pointes-Tachykardien („Spitzenumkehrtachykardien“) auftreten. Sie sind nach ihrem spindelförmigen Erscheinungsbild im EKG benannt und können in ein Kammerflimmern münden. Die QT-Intervallverlängerung stellt demnach eine wichtige Messgröße zur

---

<sup>24</sup> Vgl. Läer et al. (2001a)

<sup>25</sup> Vgl. Läer et al. (2001a)

<sup>26</sup> Vgl. Sundquist et al. (1979)

<sup>27</sup> Vgl. Anttila et al. (1976)

<sup>28</sup> Vgl. Hanyok (1993); Poirier et al. (1990)

<sup>29</sup> Vgl. Hanyok (1993); Singh (1993)

<sup>30</sup> Vgl. Wang et al. (1986)

<sup>31</sup> Vgl. Anttila et al. (1976)

<sup>32</sup> Vgl. Soyka et al. (1990)

Beurteilung der Arzneimittelsicherheit dar<sup>33</sup>. Daher wurde die QT-Intervallverlängerung bei den pädiatrischen Patienten genau untersucht.

### 1.1.3 Mögliche Veränderung der Pharmakodynamik im Kindesalter

Pharmakodynamik beschreibt die Wirkung eines Arzneistoffs in seiner Qualität und Quantität. Die Pharmakodynamik eines Arzneistoffs kann sich im Kindesalter entwicklungsbedingt verändern, wie dies z.B. für den Beta-Rezeptorenblocker Carvedilol bei der Therapie von pädiatrischen Patienten mit Herzinsuffizienz gezeigt wurde<sup>34</sup>. Diese Untersuchungen zeigten bei jüngeren Patienten (0-3 Jahre) im Vergleich zu älteren (5-19 Jahre) eine schnellere maximale Senkung der Herzfrequenz sowie eine höhere Blutdrucksenkung<sup>35</sup>. Bisher nicht untersucht wurden mögliche entwicklungsbedingte Veränderungen der Erregungsbildung im menschlichen Herz. Falls solche Veränderungen bestehen, könnten die Erregungsbildung beeinflussende Arzneistoffe altersabhängig verschiedene Effekte zeigen. Die Erregung der Herzaktion wird durch verschiedene Ionenströme gebildet, welche über Ionenkanäle reguliert werden. Klasse III-Antiarrhythmika haben den intrakardialen Kaliumionenkanal *human ether-à-go-go related gene* (HERG) als Zielstruktur, welcher für den verzögerten Gleichrichterstrom  $I_{Kr}$  im Aktionspotential verantwortlich ist. Für eine altersabhängige Entwicklung dieser Kaliumkanäle liegen unterschiedliche tierexperimentelle Befunde vor. So haben Wang et al. 1996 und 2000 an Kardiomyozyten von Mäusen eine höhere Empfindlichkeit bei fetalen Zellen gegenüber dem selektiven  $I_{Kr}$ -Blocker Dofetilid als bei adulten Kardiomyozyten gefunden. Bei Hunden fand Moak 1991 ebenfalls eine höhere Empfindlichkeit bei neonatalen Tieren im Vergleich zu adulten bei Versuchen mit D-Sotalol, wohingegen Yabeck et al. 1988 entgegengesetzte Ergebnisse an Herzisolaten von Hunden mit D-Sotalol gefunden haben. Altersabhängige Untersuchungen bei Menschen liegen dazu bislang jedoch nicht vor. Deshalb war es wichtig, im Rahmen der durchgeführten klinischen Studie mögliche altersabhängige Unterschiede in der Empfindlichkeit der Kaliumkanalblockade genauer zu untersuchen.

### 1.1.4 Pharmakokinetisch-pharmakodynamisches Modelling

Pharmakokinetisch-pharmakodynamisches (PK-PD) Modelling bedeutet die Verknüpfung zwischen Pharmakokinetik und Pharmakodynamik in einem mathematischen Modell. Dadurch wird eine prospektive Aussage über den Effekt eines Arzneimittels nach Gabe einer

---

<sup>33</sup> Vgl. Redfern et al. (2002)

<sup>34</sup> Vgl. Läer et al. (2002)

<sup>35</sup> Vgl. Läer et al. (2002)

bestimmten Dosis ermöglicht. Das Ziel dabei ist es, Aussagen über die Zusammenhänge von Dosis, Konzentration und Wirkung zu erhalten. Seit 1960 wurden mathematische Modelle entwickelt, um pharmakokinetische Daten, die die Beziehung zwischen Blutkonzentration und Zeit nach Einnahme einer bestimmten Wirkstoffdosis beschreiben, und pharmakodynamische Daten, die die Beziehungen zwischen Blutkonzentration und Effekt eines applizierten Wirkstoffs darstellen, miteinander zu verbinden. Anhand dieser Beziehungen wurden Vorhersagen für die zu erwartenden Effekte über die Zeit nach Einnahme einer bestimmten Dosis des Arzneistoffs möglich<sup>36</sup>.

Für diesen Zweck wurden verschiedene Modelle bestehend aus pharmakokinetischer und pharmakodynamischer Seite und der Verknüpfung der beiden entwickelt. Als pharmakokinetischer Teil wird entsprechend dem Konzentrations-Zeitverlauf ein Ein- oder Mehrkompartimentmodell gewählt. Die Wahl des pharmakodynamischen Modells richtet sich nach dem Konzentrations-Wirkungsverlauf. Häufig verwendet werden  $E_{\max}$ -Modelle, bei denen der Konzentrations-Wirkungsverlauf eine sigmoide Kurve beschreibt und ab einer bestimmten Konzentration keine weitere Erhöhung des Effektes mehr zu erreichen ist. Das im vorliegenden Fall angewendete lineare Modell lässt sich als Sonderfall des  $E_{\max}$ -Modells verstehen. Hier wird nur der anfängliche linear ansteigende Bereich der Konzentrations-Wirkungsbeziehung sichtbar, da nicht ausreichend hohe Konzentrationen erreicht werden, um in den stärker ansteigenden Bereich zu gelangen. Das pharmakodynamische Modell kann dann direkt oder indirekt mit dem pharmakokinetischen Modell verknüpft werden. Auch die Art der Verknüpfung von Pharmakokinetik und -dynamik wird entsprechend dem Verlauf der Konzentrations-Wirkungsbeziehungen gewählt<sup>37</sup>.

Seit dem Bekanntwerden des negativen Einflusses von Antiarrhythmika auf die Prognose von Patienten mit Herzrhythmusstörungen<sup>38</sup> ist der Einsatz von Antiarrhythmika bei Erwachsenen stark zurückgenommen worden. Sie werden praktisch nur noch bei Patienten mit starken subjektiven Beschwerden oder erhöhtem Risiko für lebensbedrohliche Tachykardien verwendet, bei denen eine nichtmedikamentöse Therapie nicht in Frage kommt. Insbesondere bei Neugeborenen und Säuglingen ist die Therapie mit Antiarrhythmika oft die einzige Alternative. So-

---

<sup>36</sup> Vgl. Holford und Sheiner (1981)

<sup>37</sup> Vgl. Meibohm und Derendorf (1997)

<sup>38</sup> Vgl. Echt et al. (1991)

wohl die Pharmakokinetik als auch die Pharmakodynamik von Arzneistoffen können sich bei Kindern deutlich von denen bei Erwachsenen unterscheiden. Daher war es wichtig, möglichst schnell detaillierte Informationen über die Effektivität und Sicherheit von Sotalol als häufig eingesetztem Antiarrhythmikum in der Pädiatrie zu erlangen. Hier erschien das PK-PD-Modelling als besonders geeignet, denn durch diese Verknüpfung wird der sinnvolle Einsatz von Arzneistoffen und die Entwicklung wirksamer Therapieschemata erleichtert<sup>39</sup>.

### **1.1.5 Ziele der Studie**

Im klinischen Teil der Arbeit wurde eine prospektive Studie zur Therapie von tachykarden Herzrhythmusstörungen bei pädiatrischen Patienten verschiedener Altersstufen mit dem Beta-Rezeptorenblocker und Klasse III-Antiarrhythmikum Sotalol durchgeführt. Sotalol wurde gewählt, da der Arzneistoff eine hohe Effektivität bei tachykarden Rhythmusstörungen zeigt und die Therapie mit Sotalol aufgrund seiner Halbwertszeit von fünf bis acht Stunden im Kindesalter gut steuerbar ist. Weiterhin wird die Substanz nicht an Plasmaproteine gebunden, nicht metabolisiert und ausschließlich renal eliminiert. Dadurch ergeben sich wenige Interaktionsmöglichkeiten mit anderen Arzneimitteln, was eine Arzneitherapie prinzipiell vereinfacht. Ziel dieses ersten Teils der Arbeit war es, die Pharmakokinetik und Pharmakodynamik von Sotalol in verschiedenen pädiatrischen Altersstufen zu bestimmen und einen therapeutischen Bereich für Kinder zu evaluieren. Dies erfolgte, um eine schnelle, effektive und sichere Arzneimitteltherapie auf der Basis der erhaltenen Daten durchführen zu können. Dies würde zu einer deutlichen Verkürzung der Hospitalisierung und zu weniger unerwünschten Arzneimittelwirkungen führen. Für die Arbeit ergaben sich daher folgende Fragestellungen:

- Wie verhält sich das QT-Intervall während der Sotalol-Therapie in Abhängigkeit von der Sotalolkonzentration und vom Lebensalter?
- Lässt sich ein therapeutisch wirksamer Plasmakonzentrationsbereich für die Therapie von tachykarden Herzrhythmusstörungen bei Kindern bestimmen?
- Wie stellt sich ein Dosierungsschema für die Therapie von tachykarden Herzrhythmusstörungen bei pädiatrischen Patienten auf Grundlage der Pharmakokinetik und Pharmakodynamik dar?

---

<sup>39</sup> Vgl. Meibohm und Derendorf (1997)

## 1.2 Pharmakokinetik und Pharmakodynamik von Sotalol bei pädiatrischen Patienten mit tachykarden Herzrhythmusstörungen: Methoden

### 1.2.1 Studiendesign

Bei der vorliegenden Studie handelt es sich um eine prospektive Untersuchung der Pharmakokinetik und Pharmakodynamik von Sotalol bei pädiatrischen Patienten mit tachykarden Herzrhythmusstörungen unter Fließgleichgewichtsbedingungen, d. h. nach mindestens zweitägiger Therapie bei unveränderter Dosierung. Diese Dauer ergibt sich aus den Erfahrungen pharmakokinetischer Untersuchungen bei Kindern<sup>40</sup> und entspricht in etwa fünf Plasmahalbwertszeiten (ca. 5-8 Std.) des Arzneistoffes. Bei einer Dauertherapie mit gleich bleibender Dosierung von Sotalol zeigt sich nach einer Aufsättigungsphase von zwei Tagen ein Gleichgewicht der aufgenommenen Menge des Arzneistoffes mit der eliminierten Menge im Plasma des Patienten. Das Studienprotokoll entspricht der Deklaration von Helsinki und wurde von der Ethikkommission der Ärztekammer Hamburg (Nr. 1448) und der Ethikkommission der Georg-August-Universität Göttingen (Nr. 10/9/99) genehmigt. Die Durchführung der Studie erfolgte gemäß der ICH- und GCP-Richtlinien. Die Erziehungsberechtigten der pädiatrischen Patienten und, soweit möglich, auch die Patienten selbst wurden vor Beginn der Prüfung ausführlich sowohl schriftlich als auch mündlich über Wesen, Ziel und Risiko der Prüfung informiert und gaben schriftlich ihr Einverständnis.

### 1.2.2 Einschlusskriterien

- Pädiatrische Patienten beiderlei Geschlechts ab einem Alter von einer Woche mit junctionaler oder atrialer ektopter Tachykardie, AV-Knoten-Reentrytachykardie, Wolff-Parkinson-White-Syndrom (WPW-Syndrom) oder verborgener akzessorischer Leitungsbahn, die einer Sotaloltherapie aufgrund tachykarder Herzrhythmusstörungen bedürfen.
- Unterschriebene Einverständniserklärung.

### 1.2.3 Ausschlusskriterien

- Therapie mit anderen Antiarrhythmika oder Arzneistoffen, die die QT-Zeit beeinflussen (Amiodaron, Chinidin, Disopyramid, Procainamid).
- Therapie mit Arzneimitteln, die die AV-Überleitung beeinflussen (Diltiazem, Verapamil, andere Beta-Rezeptorenblocker als Sotalol).

---

<sup>40</sup> Vgl. Läer et al. (2001a)

- EKG-Veränderungen mit QTc-Intervallen über 470 ms<sup>41</sup>.
- AV-Block II. und III. Grades oder SA-Block.
- Sinusknotensyndrom.
- Höhergradige Herzinsuffizienz oder nicht kompensierte Herzinsuffizienz.
- Altersentsprechend klinisch gesicherte Bradykardie oder Hypotonie unterhalb der dritten Perzentile.
- Obstruktive und restriktive Lungenerkrankungen, sonstige extrakardiale lebensbedrohliche Erkrankungen.
- Hypokaliämie und Hypomagnesämie.
- Akute Infektionserkrankungen.
- Bekannte allergische Reaktionen auf den verwendeten Wirkstoff, andere Sulfonamide oder sonstige Bestandteile.

#### **1.2.4 Kriterien für den Abbruch der Studie bei einzelnen Patienten**

- Blutdruckabfall systolisch unter die altersentsprechende dritte Perzentile, Unwohlsein, Benommenheit, Somnolenz des Patienten.
- Nichtansprechen der Herzrhythmusstörung auf Sotalol oder Verschlechterung des klinischen Zustandes im Laufe der Therapie (z. B. Auftreten von Torsades-de-Pointes-Tachykardien)
- Andere, bei Beginn der Prüfung nicht vorhersehbare Erkrankungen des Patienten.
- Nichteinhalten der Prüfungsbedingungen durch den Patienten.
- Intoleranz des venösen Zugangs.

#### **1.2.5 Untersuchungs- und Behandlungsschemata**

Vor Beginn der antiarrhythmischen Therapie mit Sotalol wurde die Rhythmusstörung durch ein 12-Kanal-EKG und ein Langzeit-EKG dokumentiert und die Diagnose durch einen Kinderkardiologen gestellt. Eine Blutprobe zur Bestimmung der klinisch-chemischen Parameter

---

<sup>41</sup> Vgl. Schwartz et al. (1993)

Kreatinin, Harnstoff, Bilirubin, Elektrolyte, Blutbild, alkalische Phosphatase,  $\gamma$ -GT, GOT und GPT zum Ausschluss von Leber- und Nierenerkrankungen sowie zur Routinediagnostik von Patienten mit Herzerkrankungen wurde entnommen. Während des stationären Aufenthalts erfolgte eine Kontrolle der Wirksamkeit und unerwünschter Arzneimittelwirkungen mit Hilfe von 12-Kanal-EKG- und Langzeit-EKG-Aufzeichnungen. Aus den EKG-Aufzeichnungen wurden folgende Parameter bestimmt: Im 12-Kanal-EKG wurden die Dauer des PR-Intervalls, die Dauer des QRS-Komplexes und die QT-Zeit bestimmt. Als proarrhythmischer Effekt wurde eine Rhythmusstörung definiert, die neu auftritt (z. B. Torsades-de-Pointes-Tachykardien) oder die sich im Verlauf der Therapie verschlechtert.

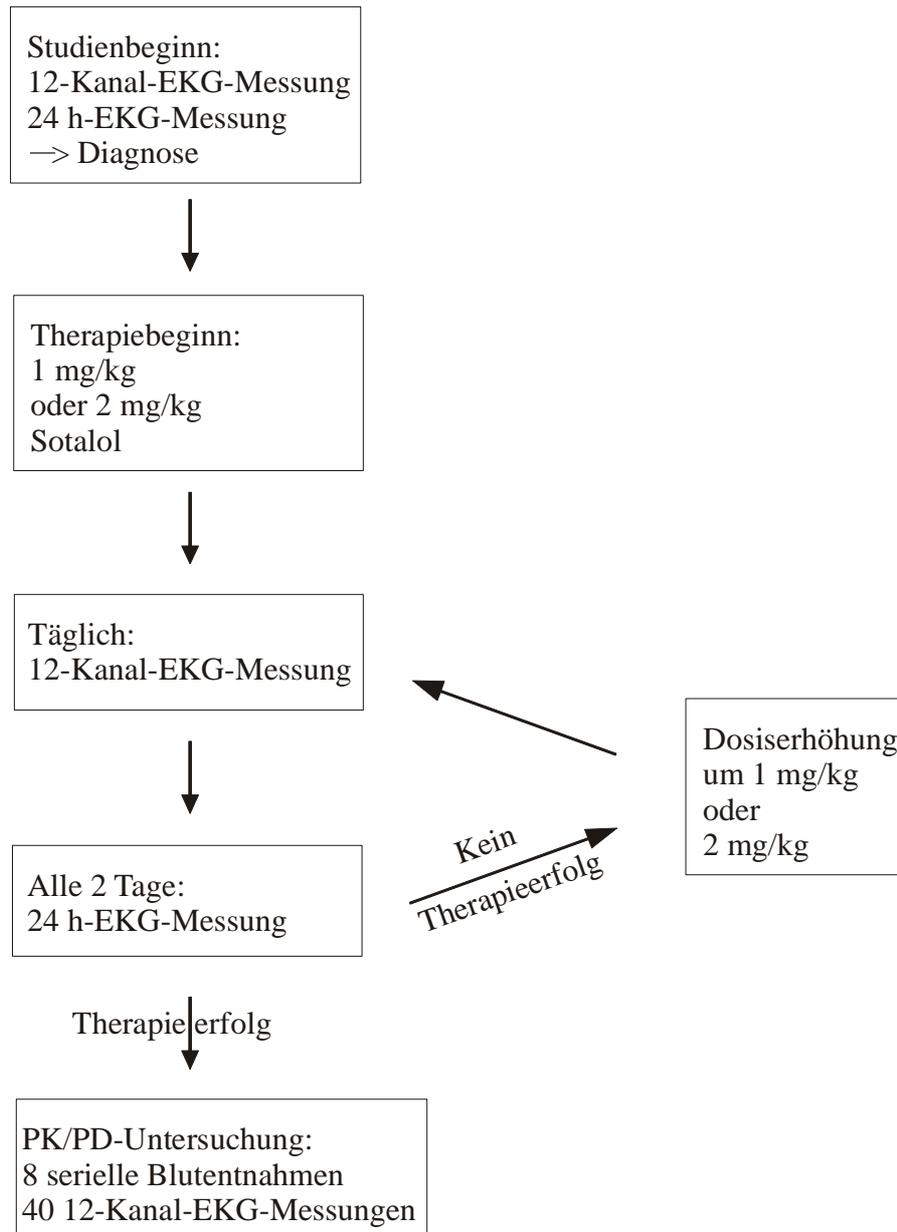
Aus vorangegangenen Untersuchungen (Läer et al. 2001a) war bereits bekannt, dass die Pharmakokinetik von Sotalol im Laufe der kindlichen Entwicklung Veränderungen erfährt. Aufbauend auf dem dort verwendeten Studiendesign wurden drei Behandlungsschemata verwendet. Im ersten Schema wurden die Patienten initial mit 2 mg/kg Körpergewicht (KG) therapiert und in 2 mg/kg KG-Schritten gesteigert, bis die Therapie effektiv war (Abb. 1). In dieser Gruppe wurde die Pharmakokinetik von Sotalol untersucht. In der zweiten Gruppe wurde zusätzlich über die Messung des QT-Intervalls während der pharmakokinetischen Untersuchung auch eine pharmakodynamische Untersuchung durchgeführt, um Informationen über den Arzneimitteleffekt von Sotalol zu bekommen (= Patienten für die Evaluation der Arzneimittelsicherheit von Sotalol). In einer dritten Gruppe wurde mit einer Startdosis von 1 mg/kg KG und einer Steigerung in 1 mg/kg KG-Schritten ein engeres Aufdosierungsschema gewählt, um so möglichst genau die minimale effektive Dosis und über die Pharmakokinetik auch die minimal effektive Plasmakonzentration zu erhalten (= Patienten für die Evaluation therapeutisch wirksamer Konzentrationen).

Jede Dosisstufe wurde über zwei Tage aufrechterhalten, um ein Fließgleichgewicht zu erreichen. Wenn möglich wurde die Tagesdosis auf drei gleiche Einzeldosen verteilt und im Intervall von acht Stunden gegeben. Erst unter einer erfolgreichen Therapie von mindestens drei Tagen wurde eine pharmakokinetische Untersuchung über einen Zeitraum von zwölf Stunden durchgeführt (Abschnitt 1.2.7). Alle Patienten wurden mindestens drei Tage vor der pharmakokinetischen Untersuchung stationär aufgenommen, um eine regelmäßige Medikamenteneinnahme sicherzustellen.

Am Untersuchungstag wurde die morgendliche Sotaloldosis als eine einzelne Kapsel in der patientenspezifischen Stärke mit einer altersentsprechenden Menge von Wasser oder Tee verabreicht. Die Gabe erfolgte im Abstand von mindestens 30 Minuten vor einem in Menge und Zusammenstellung altersentsprechenden Frühstück. Dieses bestand aus Milch oder Tee, zwei Scheiben Brot oder zwei Brötchen. Die komplette Aufnahme der Studienmedikation wurde durch Inspektion der Mundhöhle nach Arzneimittelgabe sichergestellt. Die nachfolgende Sotaloldosis am Mittag wurde am Untersuchungstag ausgelassen, um die Eliminationsphase des Arzneistoffes erfassen zu können. Die individuelle (auf das Körpergewicht der Patienten bezogene) Sotalol-Dosis wurde in Kapselform aus Sotalex<sup>®</sup>-Tabletten durch Verreiben mit Kapselfüllstoff nach dem Deutschen Arzneibuch (DAB) in der Apotheke des Universitätsklinikums Hamburg-Eppendorf hergestellt.

Bei den Patienten für die Evaluation der Arzneimittelsicherheit von Sotalol wurden während des Plasmakonzentrations-Zeitprofils 30-40 12-Kanal-EKG-Aufzeichnungen im Abstand von 15-30 Minuten gemacht. Aus Ableitung II der erhaltenen EKG-Aufzeichnungen wurde das QT-Intervall bestimmt (Abschnitt 1.2.10). Das QT-Intervall wurde für die Herzfrequenz korrigiert und mit der Konzentration von Sotalol zum jeweiligen Zeitpunkt verknüpft (pharmakodynamische Analyse), um den Zusammenhang zwischen Arzneistoffkonzentration und Arzneistoffeffekt besser zu verstehen. Aufgrund des proarrhythmischen Effektes einer QT-Intervallverlängerung kann so die Arzneimittelsicherheit der Therapie untersucht werden.

Bei den Patienten für die Evaluation therapeutisch wirksamer Konzentrationen wurde die Effektivität der Therapie wurde durch tägliche 12-Kanal-EKG-Aufzeichnungen sowie mit einem Langzeit-EKG vor jeder Dosiserhöhung genauestens dokumentiert. Wie bei den Patienten zur Evaluation der Arzneimittelsicherheit wurde nach dem Erreichen der effektiven Dosis die Pharmakokinetik und -dynamik bestimmt. Eine Komedikation mit anderen kardial wirksamen Substanzen durfte bei dieser Subgruppe nicht erfolgen.



**Abbildung 1** Untersuchungs- und Therapieschema der pädiatrischen Sotalolstudie.

Während der Studie wurden die pädiatrischen Patienten initial mit 1 oder 2 mg/kg/Tag Sotalol therapiert und alle zwei Tage bis zur Effektivität der Therapie in 1 oder 2 mg/kg/Tag-Stufen hochdosierte. Die Effektivität wurde dabei durch 12-Kanal- und 24 h-EKG-Aufzeichnungen überprüft. Die Patienten für die Evaluation therapeutisch wirksamer Konzentrationen starteten mit 1 mg/kg/Tag und wurden in 1 mg/kg/Tag-Stufen hochdosierte. Zwei Tage nach Erreichen der effektiven Dosis wurde ein Konzentrations-Zeitprofil durchgeführt. Bei den Patienten für die Evaluation der Arzneimittelsicherheit wurden während dieser Untersuchung zusätzliche 12-Kanal-EKG-Messungen aufgezeichnet.

### 1.2.6 Studienendpunkte

Die Effektivität der Sotaloltherapie wurde am Grad der Beeinflussung der tachykarden Herzrhythmusstörung gemessen. Dabei wurde ein Absenken der Herzfrequenz auf ein altersgemäßes Niveau als partieller therapeutischer Erfolg gewertet. Eine Konversion der Arrhythmie in den Sinusrhythmus wurde als vollständiger Therapieerfolg definiert. Bei den Patienten für die Evaluation therapeutisch wirksamer Konzentrationen war das Ziel eine vollständige Effektivität.

### 1.2.7 Probenentnahme

Die Plasmakonzentrations-Zeitprofile wurden jeweils um 8 Uhr morgens begonnen. Dabei wurden Blutproben von ca. 300 bis 500 µl vor der Arzneistoffgabe und 1, 2, 3, 4, 6, 8 und 12 Stunden nach der Gabe über einen Venenverweilkatheter in ein heparinhaltiges Röhrchen entnommen. Die Proben wurden sofort nach der Entnahme zentrifugiert und das dabei gewonnene Plasma bis zur Analyse bei -80 °C eingefroren.

### 1.2.8 Probenaufbereitung und HPLC-Analytik

Aufgrund der geringen Verfügbarkeit von Blut insbesondere bei Neugeborenen und Säuglingen wurde für die quantitative Auswertung eine sensitive und quantitative HPLC-Methode mit hoher Richtigkeit und Präzision zur Bestimmung von Sotalol in kleinen Probenvolumina benötigt. Daher wurde für die Durchführung der pharmakokinetischen Untersuchungen eine validierte HPLC-Methode gewählt, bei der das einzusetzende Plasmavolumen nur 100 µl pro Messzeitpunkt beträgt<sup>42</sup>. Die Methode arbeitete mit Atenolol als internem Standard, die Trennung von der biologischen Matrix wurde mit Hilfe einer Festphasenextraktion geleistet. Die Detektion erfolgte mittels Fluoreszenzdetektor mit einer Anregungswellenlänge von 230 nm. Die Emission wurde bei 300 nm gemessen. Die Bestimmungsgrenze (Limit of Quantitation) lag bei 0,09 µg/ml für Sotalol und war linear im Bereich von 0,09 bis 5,75 µg/ml<sup>43</sup>. Der bisher für Erwachsene bekannte therapeutische Bereich liegt zwischen 0,8 und 3,0 µg/ml<sup>43</sup>. Damit ist die ausgewählte Methode weit über diesen Bereich hinaus anwendbar. Die genaue Durchführung dieser Methode ist bereits ausführlich beschrieben worden<sup>44</sup>.

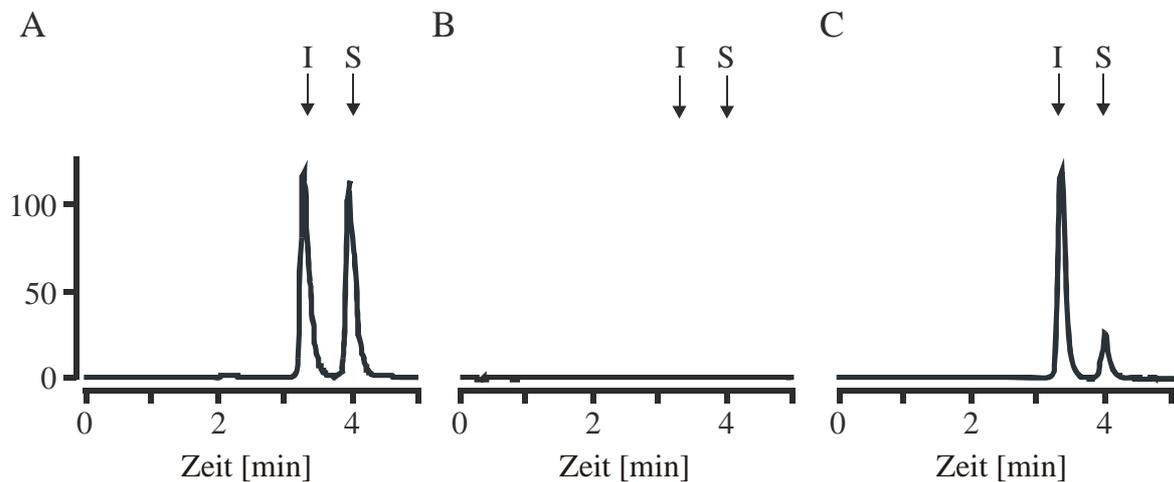
---

<sup>42</sup> Vgl. Læer et al. (2001b)

<sup>43</sup> Vgl. Wang et al. (1986)

<sup>44</sup> Vgl. Læer et al. (2001b)

Das HPLC-System lief unter Verwendung der zugehörigen Software des Herstellers (Class VP, Shimadzu, Kyoto, Japan). Die mobile Phase ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , 15 mM, pH 3,0/Acetonitril; 70/30) wurde vor der Verwendung für 60 Minuten mit Helium begast, um gelöste Gase zu beseitigen, die die HPLC-Analytik stören könnten. Vor Beginn der Messungen wurde die HPLC-Apparatur mindestens eine Stunde lang mit der mobilen Phase äquilibriert. Die Fließgeschwindigkeit betrug 1,0 ml/min. Die Leitungen des automatischen Probengebers und des Injektionssystems wurden vor und nach jeder Messung mit entgaster wässriger Methanol-Lösung (30 %) gespült, das gesamte System nach jeder Messreihe ebenfalls für mindestens 30 Minuten mit 50-prozentiger Lösung. Die Analysenzeit betrug 5 Minuten, die Retentionszeit für Atenolol lag bei 3,3 Minuten und für Sotalol bei 4,0 Minuten bei einer Auflösung von 2,6. Repräsentative Chromatogramme zeigt Abbildung 2.



**Abbildung 2** Repräsentative Chromatogramme

(A) Kontrollprobe mit Plasma von der Blutbank, versetzt mit 100  $\mu\text{l}$  Sotalolstandardlösung (5,75  $\mu\text{g}/\text{ml}$ ; S) und 100  $\mu\text{l}$  internem Standard Atenolol (5,21  $\mu\text{g}/\text{ml}$ , I). (B) Leerplasma. (C) Plasma einer Patientin drei Stunden nach Sotalolgabe (Sotalolplasmakonzentration 0,88  $\mu\text{g}/\text{ml}$ ), versetzt mit internem Standard Atenolol (I). Die Pfeile geben die Retentionszeiten von Sotalol (S) und Atenolol (I) an.

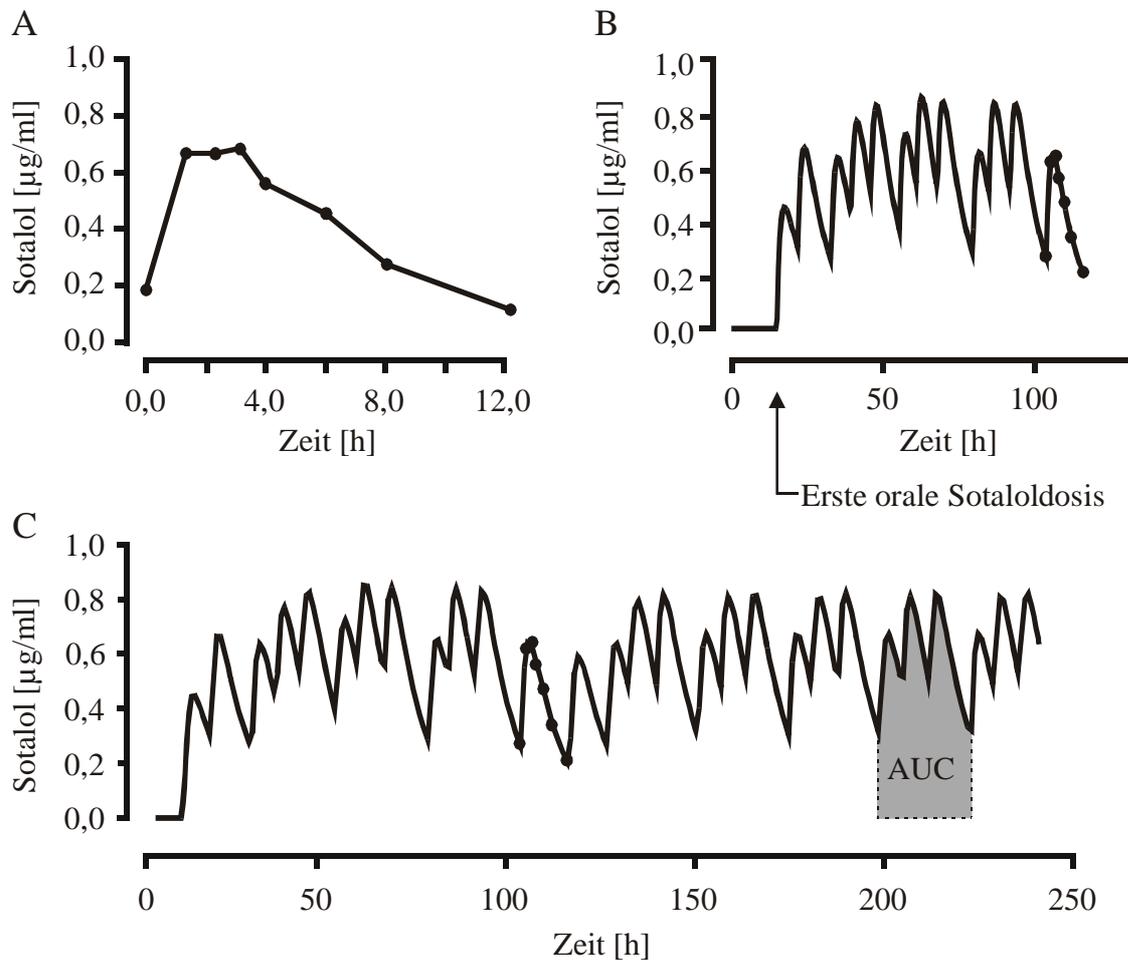
Die Quantifizierung der Plasmakonzentrationen erfolgte über die Peakflächen. Die Konzentrationen an Sotalol wurden berechnet, indem das Verhältnis der Peakfläche von Sotalol zu der des internen Standards Atenolol der Patientenprobe mit dem Peakflächenverhältnis aus der Vergleichsprobe mit bekannter Sotalol-Konzentration und gleicher Atenolol-Konzentration in Beziehung gesetzt wurde. Bei der Analyse von Leerplasma traten zu den Retentionszeiten von Sotalol und Atenolol keine Peaks auf, so dass mögliche Interferenzen durch Bestandteile der Plasmamatrix ausgeschlossen werden konnten (Abb. 2 B). Da Sotalol unverändert renal eliminiert wird, waren Interferenzen mit Metaboliten nicht zu erwarten.

### 1.2.9 Pharmakokinetische Auswertung

Aus den während des Untersuchungstags gesammelten Sotalolplasmakonzentrationen ließen sich Plasmakonzentrations-Zeitprofile erstellen, welche die kompartmentelle oder nichtkompartimentelle Ermittlung der pharmakokinetischen Parameter ermöglichte. Die pharmakokinetischen Parameter wurden für jeden Patienten individuell ermittelt. Die maximale Plasmakonzentration ( $C_{\max}$ ) während des Beobachtungszeitraums und die Zeit bis zum Erreichen der  $C_{\max}$  nach der Medikamenteneinnahme ( $t_{\max}$ ) wurden den experimentellen Daten der Patienten direkt entnommen. Alle anderen pharmakokinetischen Parameter wurden durch eine kompartmentelle Analyse der Plasmakonzentrations-Zeitprofile der Patienten ermittelt. Eine nichtlineare Regressionsanalyse wurde verwendet, um ein pharmakokinetisches Modell an die ermittelten individuellen Konzentrationen anzupassen. Unterschiedliche pharmakokinetische Modelle wurden für jedes Individuum getestet. Die Qualität der Anpassung wurde durch drei Parameter (objective function, Akaike-criteria, Schwartz-criteria) sowie durch visuelle Inspektion der Kurvenanpassung und der Varianzen der errechneten pharmakokinetischen Parameter ermittelt. Für alle Individuen beschrieb ein Einkompartimentmodell mit einer Aufnahme erster Ordnung und einer Elimination erster Ordnung das Sotalolkonzentrations-Zeitprofil am besten und ermöglichte eine Beurteilung des Verteilungsvolumens  $V_d$  [l], bezogen auf die Bioverfügbarkeit  $F$  [%], und der beiden Konstanten erster Ordnung für Absorption  $k_a$  [1/min] und Elimination  $k_e$  [min]. Das Verteilungsvolumen beschreibt, wie sich ein Medikament im Blutplasma bzw. in anderen Körpergeweben verteilt. Die terminale Halbwertszeit  $t_{1/2}$  [h] wurde als  $\ln 2/k_e$  bestimmt. Die Clearance ist ein Maß für die Eliminationsgeschwindigkeit einer Substanz. Sie beschreibt das Plasmavolumen, welches in einer bestimmten Zeiteinheit vollständig von Sotalol befreit wird und wird im Fließgleichgewicht mit Hilfe der Fläche unter der Plasmakonzentrations-Zeitkurve AUC [ $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{ml}$ ] (englisch: area under the curve) unter dem Dosierungsintervall und der aufgenommenen Dosis berechnet werden ( $\text{Cl} = \text{Dosis} / \text{AUC}$ ). Sie ist proportional zum Verteilungsvolumen und zur Eliminationskonstanten. Die  $\text{AUC}_{(0-t)}$  ist ein Maß für die im Messintervall (0–t) aufgenommene Wirkstoffmenge, wobei das Messintervall zwölf Stunden betrug und mithilfe des pharmakokinetischen Modells auf 24 Stunden extrapoliert wurde (0–24 h). Die Bestimmung der  $\text{AUC}_{(0-24)}$  erfolgte nach der linearen Trapezregel:  $\text{AUC}(t_{i-1} - t_i) = \frac{1}{2} (t_i - t_{i-1})(C_{i-1} + C_i)$ . Alle pharmakokinetischen Berechnungen wurden mit dem Software-Paket KINETICA v2.0 (Innaphase S.a.r.l., Champs-sur-Marne, Frankreich) durchgeführt.

In Abbildung 3 A ist die pharmakokinetische Analyse beispielhaft für einen neunjährigen Patienten dargestellt, der bereits seit mehr als drei Tagen eine Sotaloltherapie mit einer Tagesdosis von 1,9 mg/kg erhalten hatte. Die über einen Zeitraum von zwölf Stunden nach Einnahme von 20 mg Sotalol gemessenen Konzentrationen sind gegen die Zeit aufgetragen (Abb. 3 A). An diese Messwerte konnte nun mit Hilfe der aus der Patientenakte entnommenen vorherigen Einnahmezeitpunkte und -dosen ein pharmakokinetisches Einkompartimentmodell angepasst werden (Abb. 3 B). Die durchgezogene Linie entspricht den mit Hilfe dieses Modells berechneten Sotalolkonzentrationen in Abhängigkeit von der Zeit im Plasma des Patienten über den gesamten Dosierungszeitraum.

Für die weitere Berechnung der gesuchten pharmakokinetischen Parameter musste die AUC unter Gleichgewichtsbedingungen (steady state) über einen Zeitraum von 24 Stunden ermittelt werden (Abb. 3 C). Dafür wurde der Plasmakonzentrations-Zeitverlauf anhand des passenden pharmakokinetischen Modells und hypothetischer Sotalolgaben simuliert.



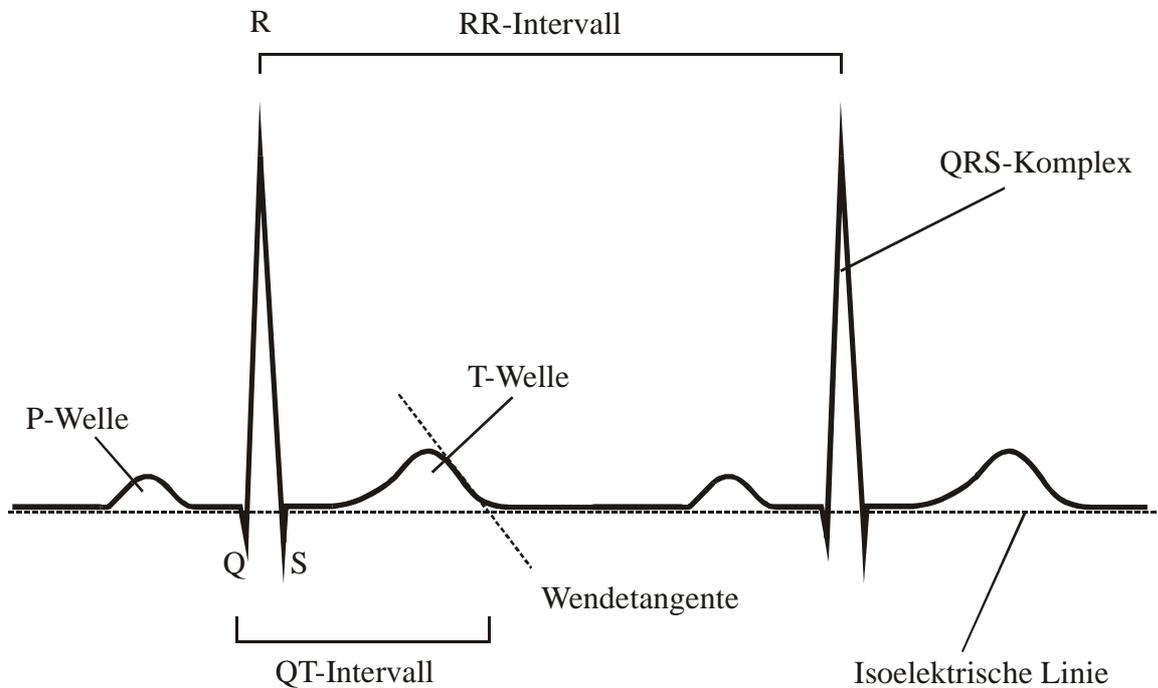
**Abbildung 3** Analyse pharmakokinetischer Daten

(A) Gemessene Sotalolplasmakonzentrationen (schwarze Punkte) im Fließgleichgewicht nach dreitägiger Therapie bei einem neunjährigen Patienten über einen Zeitraum von zwölf Stunden nach oraler Gabe von 20 mg Sotalol bei einer Tagesdosis von 1,9 mg/kg. (B) Berechnete Sotalolplasmakonzentrationen (Linie) nach Anpassung eines pharmakokinetischen Einkompartimentmodells an die Messwerte für eine Sotaloldosierung von 3 x 20 mg, gegeben um 7.00, 13.00 und 20.00 Uhr. Die schwarzen Punkte entsprechen den Messwerten aus Abbildung A. (C) Simulation von Sotalolplasmakonzentrationen anhand der pharmakokinetischen Parameter der kompartimentellen Analyse und graphische Ermittlung der *area under the curve* (AUC) über 24 Stunden unter Gleichgewichtsbedingungen. Die schwarzen Punkte entsprechen den Messwerten aus Abbildung A.

### 1.2.10 QT-Intervall-Bestimmung und Korrektur des QT-Intervalls für die Herzfrequenz

Für die Beurteilung des Arzneimitteleffektes und der Arzneimittelsicherheit wurde im EKG das QT-Intervall gemessen. Das QT-Intervall ist eine Wegstrecke im Elektrokardiogramm (EKG, s. Abb. 4) und entspricht elektrophysiologisch der Erregung (Depolarisation und Repolarisation) der Herzkammern. Sotalol blockiert (wie andere Klasse III-Antiarrhythmika) den verzögerten Gleichrichterstrom  $I_{Kr}$ , welcher mitverantwortlich für die Repolarisation ist. Da-

durch verlängert sich die Repolarisation und damit die gesamte Phase der elektrischen Erregung der Herzkammern. Im EKG zeigt sich dies als Verlängerung des QT-Intervalls.



**Abbildung 4** Definition der Abschnitte im Elektrokardiogramm

Darstellung von zwei Herzaktionen im Elektrokardiogramm: elektrische Erregung der Vorhöfe (P-Welle), Depolarisation (QRS-Komplex) und Repolarisation der Kammer (T-Welle). Das QT-Intervall entspricht der Strecke zwischen Beginn des QRS-Komplexes und Ende der T-Welle. Das Ende der T-Welle wird durch den Schnittpunkt der isoelektrischen Linie mit der Wendetangente des absteigenden Astes der T-Welle ermittelt. Das RR-Intervall wird als Strecke zwischen den R-Punkten gemessen.

Die Dauer des QT-Intervalls ist von der Herzfrequenz (Herzfrequenz =  $60 \text{ [s]/RR-Intervall [s]}$ ) abhängig. Je kürzer die Herzfrequenz, desto kürzer ist auch das QT-Intervall, so dass man direkte Vergleiche dieser Strecken nur durchführen kann, wenn auch die Herzfrequenz gleich ist. Grundsätzlich ist der Vergleich von unkorrigierten QT-Intervallen bei gleicher Herzfrequenz, vorzugsweise bei 60 Schlägen pro Minute, die optimale Vorgehensweise<sup>45</sup>. Die Bedingung gleicher Herzfrequenzen ist jedoch in der Praxis nur schwer zu erreichen. In der vorliegenden Untersuchung waren allein schon durch die verschiedenen Altersstufen der Patienten unterschiedlichste Herzfrequenzen in Ruhe zu erwarten, so dass ein Vergleich zwischen den Patienten ohne Herzfrequenzkorrektur kaum möglich sein konnte. Außerdem bewirkt die beta-rezeptorenblockierende Wirkung von Sotalol eine Absenkung der Herzfrequenz und damit

<sup>45</sup> Vgl. Funck-Brentano und Jaillon (1993)

eine Verlängerung des QT-Intervalles, ohne dass eine Kaliumkanalblockade überhaupt eine Rolle spielen muss. Es gibt jedoch verschiedene mathematische Algorithmen, welche das QT-Intervall für die Herzfrequenz korrigieren. Gemeinsames Ziel dieser Algorithmen ist die Ermittlung des QT-Intervalls bei einer Herzfrequenz von 60 Schlägen pro Minute. Jede mathematische Korrektur birgt jedoch die Gefahr eines systematischen Fehlers in sich. Um diese Gefahr möglichst gering zu halten, haben wir zwei unterschiedliche Algorithmen verwendet und die Ergebnisse miteinander verglichen. Die Formel nach Bazett (1920), bei der das QT-Intervall durch die Quadratwurzel des RR-Intervalls dividiert wird, wird von der European Agency for the Evaluation of Medicinal Products (EMA) zur Korrektur des QT-Intervalls empfohlen<sup>46</sup>. Zusätzlich wurde die Formel nach Fridericia (1920) verwendet, bei der das QT-Intervall durch die Kubikwurzel des RR-Intervalls dividiert wird. Diese Korrekturformel wird von Funck-Brentano und Jaillon (1993) empfohlen.

Korrekturformel nach Bazett:  $QT_{cB} [s^{1/2}] = QT [s] / RR [s]^{1/2}$

Korrekturformel nach Fridericia:  $QT_{cF} [s^{2/3}] = QT [s] / RR [s]^{1/3}$

Bei den Patienten wurden 12-Kanal-EKG-Aufzeichnungen mit einer Schreibgeschwindigkeit von 50 mm/s bei einer Empfindlichkeit von 10 mm/mV in Abständen von 15 bis 30 Minuten aufgenommen. Die Aufzeichnung wurde erst gestartet, wenn der Patient ruhig auf dem Rücken lag und sich die Herzfrequenz normalisiert hatte. Aufzeichnungen mit Artefakten durch Bewegungen sowie Aufzeichnungen mit zu flacher T-Welle wurden von der Auswertung ausgeschlossen. Das QT-Intervall wurde aus Ableitung II als Mittelwert von drei bis fünf aufeinander folgenden Herzschlägen bestimmt<sup>47</sup>. Für die Herzfrequenzkorrektur wurde das jeweils vorausgehende RR-Intervall gemessen<sup>48</sup>. Die Herzfrequenzkorrektur wurde an jedem einzelnen QT-Intervall durchgeführt und die resultierenden QTc-Intervalle (QTc-Intervall = korrigiertes QT-Intervall) nachfolgend gemittelt. Wenn möglich wurden ein oder mehrere Werte ohne Sotaloleinfluss mit in die Berechnung der Empfindlichkeit der QTc-Intervall-Verlängerung einbezogen.

---

<sup>46</sup> Vgl. Committee for proprietary medicinal products (1997)

<sup>47</sup> Vgl. Moss et al. (1985); Moss (1993)

<sup>48</sup> Vgl. Moss (1993)

Die Bestimmung des QT-Intervalls erfolgte graphisch. Ein Beispiel dafür ist in Abbildung 4 gegeben. Das QT-Intervall ist definiert als Strecke zwischen Beginn des QRS-Komplexes (Q) und dem Ende der T-Welle. Der Beginn des QRS-Komplexes ist durch den schnellen Verlauf der Depolarisation der Herzmuskelzellen in Phase null des Aktionspotentials sehr steil und dadurch eindeutig zu erkennen. Häufig bereitet jedoch die Bestimmung des Endes der T-Welle aufgrund einer flachen Amplitude Probleme, was zu Messungenauigkeiten führen kann. Um solche Ungenauigkeiten möglichst gering zu halten, wurde das Ende der T-Welle mit einer graphischen Hilfskonstruktion bestimmt. Dazu wurde an den absteigenden Ast der T-Welle eine Wendetangente angelegt. Der Schnittpunkt dieser Tangente mit der isoelektrischen Linie ergibt das Ende der T-Welle<sup>49</sup>.

### 1.2.11 Pharmakokinetisch-pharmakodynamisches Modelling

Das pharmakokinetisch-pharmakodynamische (PK-PD) Modelling beschreibt den Zusammenhang zwischen Arzneistoffdosis, Arzneistoffkonzentration im Körper und dessen Wirkung in einem mathematischen Modell und ermöglicht so die Berechnung eines Arzneimittel-effekts auch jenseits der gemessenen Werte. Dies wurde für den pharmakodynamischen Effekt der Kaliumkanalblockade von Sotalol durchgeführt. Der Effekt lässt sich aus der Verlängerung des QT-Intervalls ableiten, welches aus den viertelstündlichen oder halbstündlichen 12-Kanal-EKG-Aufzeichnungen der Tagesprofile entnommen wurde (Abschnitt 1.2.10). Das individuelle pharmakokinetische Modell war für jeden einzelnen Patienten schon bei der kompartmentellen Auswertung der Konzentrations-Zeitprofile ermittelt worden. Als pharmakodynamisches Modell wurde ein lineares Effekt-Modell herangezogen, da sowohl für Kinder als auch für Erwachsene bekannt ist, dass das QT-Intervall mit steigender Sotalolkonzentration linear ansteigt<sup>50</sup>. Eine genauere Betrachtung der Zeitverläufe der Konzentrationen und Effekte zeigte innerhalb des Dosierungsintervalls keine Zeitverzögerung zwischen maximaler Konzentration ( $C_{\max}$ ) und maximal erreichtem Effekt ( $E_{\max}$ ). Daher konnte ein *direct-link* PK-PD-Modell für die Verknüpfung von Pharmakokinetik und Pharmakodynamik verwendet werden.

Am Anfang des gesamten PK-PD Modells (Abb. 5) steht das pharmakokinetische Einkompartimentmodell. Eine bestimmte Dosis wird appliziert und mit der Geschwindigkeit  $k_a \cdot c(t)$

---

<sup>49</sup> Vgl. Moss (1993)

<sup>50</sup> Vgl. Saul et al. (2001a); Barbey et al. (1999)

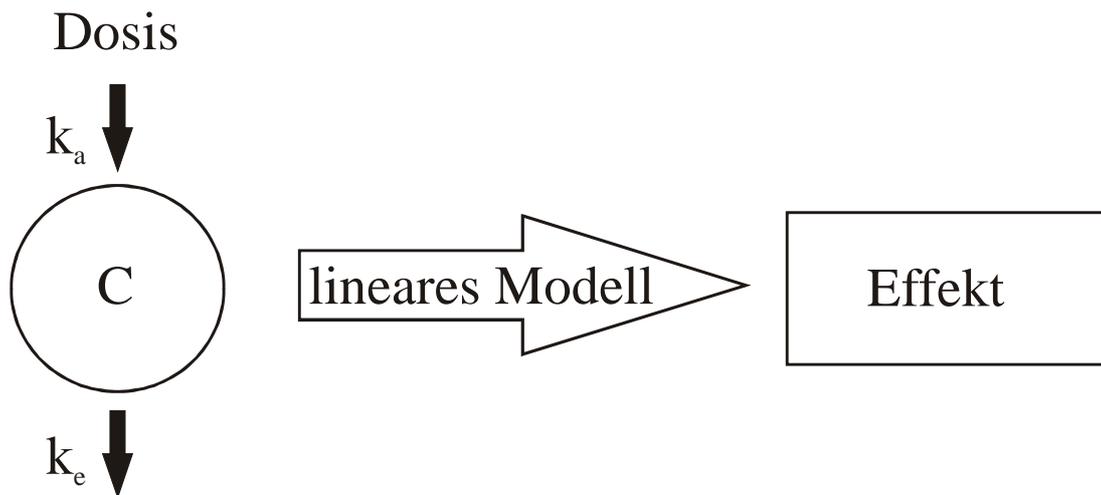
resorbiert ( $k_a$  = Absorptionskonstante,  $c(t)$  = Konzentration des Arzneistoffs am Absorptionssort zum Zeitpunkt  $t$ ). Sobald der Arzneistoff im Kompartiment auftaucht, wird er auch mit der Geschwindigkeit  $k_e \cdot c(t)$  wieder eliminiert ( $k_e$  = Eliminationskonstante,  $c(t)$  = Konzentration des Arzneistoffs im Kompartiment zum Zeitpunkt  $t$ ). In Abhängigkeit von  $k_a$  und  $k_e$  (und dem Verteilungsvolumen,  $V_d$ ) liegt zum Zeitpunkt  $t$  eine bestimmte Arzneistoffkonzentration im Kompartiment vor. Diese Konzentration wird über das direkte pharmakodynamische Modell nach der Formel  $E = E_0 + m \cdot c$  linear in den Effekt umgerechnet, wobei  $E$  den Effekt und  $E_0$  die Basisgröße des Effektes darstellt,  $c$  die Arzneistoffkonzentration im Kompartiment zum Zeitpunkt des gemessenen Effektes ist und  $m$  den Steigungsfaktor der resultierenden Geraden bezeichnet.

Der gemessene Effekt steht also im direkten Zusammenhang mit der im Plasma gemessenen Konzentration. Mithilfe dieses pharmakokinetisch-pharmakodynamischen Modells konnte nun eine gemessene oder auch eine hypothetische (berechnete) Konzentration in den daraus resultierenden Arzneimittel-effekt umgerechnet werden. Diese Berechnung war notwendig, um die Sotalolkonzentration zu den Zeitpunkten der EKG-Messungen zu ermitteln, da zu den meisten Zeitpunkten keine gemessenen Sotalolkonzentrationen zur Verfügung standen. Weiterhin war es in der vorliegenden Untersuchung nach der Bestimmung von Pharmakokinetik und Pharmakodynamik möglich, die QT-Intervallverlängerung der Sotaloltherapie unter einer hypothetisch erhöhten oder erniedrigten Dosis vorzuberechnen und damit die Sicherheit der Therapie insbesondere für eine Dosiserhöhung abzuschätzen.

$$C = \frac{k_a \cdot F \cdot D}{V_d \cdot (k_a - k_e)} \cdot (e^{-k_e t} - e^{-k_a t}) \quad \text{Effekt} = E_0 + m \cdot c$$

Pharmakokinetik

Pharmakodynamik



**Abbildung 5** Pharmakokinetisch-pharmakodynamisches Modell

Formel und Schema des verwendeten pharmakokinetisch-pharmakodynamischen Modells bei Anpassung der Plasmakonzentrations-Zeitverläufe an ein Einkompartimentmodell und einmaliger Applikation des Wirkstoffs. C = gemessene Plasmakonzentration,  $k_a$ ,  $k_e$  = Geschwindigkeitskonstanten erster Ordnung, D = Dosis, E = Effekt,  $E_0$  = Basiswert des gemessenen Effektes, m = Steigungsfaktor der Geradengleichung. Der Kreis stellt das Kompartiment dar.

### 1.2.12 Entwicklung eines altersabhängigen Dosierungsschemas

Als Ergebnis der Untersuchungen in der Subgruppe der Patienten für die Evaluation therapeutisch wirksamer Konzentrationen wurden therapeutisch wirksame Plasmakonzentrationen mit einer Start- und einer Zielkonzentration erwartet (Abschnitt 1.2.5). Diese wurden anschließend als Zielkonzentrationen für ein Dosierungsschema verwendet. Mithilfe des individuellen pharmakokinetischen Modells wurden für jeden Patienten die Dosierungen berechnet, bei denen die Start- bzw. die Zielkonzentration erreicht wird. Es wurden also Dosissimulationen auf der Grundlage von real gegebenen Dosen und anschließend real gemessenen Plasmakonzentrationen durchgeführt. Bei diesen Simulationen wurde ein 8-Stunden-Dosierungsintervall

angewendet. Die Berechnung der richtigen Dosis erfolgte durch iterative Annäherung an die jeweilige Plasmakonzentration. Auf Basis der simulierten Start- und Zieldosen konnte anschließend ein Dosierungsschema für die Therapie von tachykarden Herzrhythmusstörungen bei pädiatrischen Patienten mit Sotalol erstellt werden.

### **1.2.13 Statistik**

Die statistische Auswertung der Daten erfolgte mit dem Programm SPSS 9 (SPSS Inc., Chicago, USA). Sofern nicht anders angegeben sind die Daten als Mittelwert  $\pm$  Standardabweichung (MW  $\pm$  SD) dargestellt. Die Anzahl der Einzelwerte wird mit n bezeichnet. Die Veränderungen in der Pharmakokinetik und Pharmakodynamik zwischen den unterschiedlichen Altersgruppen wurden mit einer einfaktoriellen Varianzanalyse (ANOVA = analysis of variances) mit Tukey's post hoc-Analyse verglichen. Für eine potentielle Korrelation zwischen Alter und Pharmakokinetik bzw. Pharmakodynamik wurden die Daten einer linearen und nichtlinearen Regressionsanalyse unterzogen und unter Verwendung des nichtparametrischen Ranktestes nach Spearman untersucht. Ein p-Wert kleiner als 0,05 wurde als statistisch signifikant unterscheidend angesehen.



### 1.3.3 Verbrauchsmaterial und Laborgeräte

Aqua ad iniectabilia	Pharmacia & Upjohn (Erlangen, D)
Bond Elut C8-Extraktionssäulen (44-60 µm Partikelgröße, 100 mg/ml Säulenvolumen)	Varian (Harbor City, USA)
Eppendorfgefäße	Eppendorf (Hamburg, D)
Pipettenspitzen (10 µl, 100µl, 1 ml)	Treff Lab (Deggersheim, CH)
Sarstedt-Röhrchen	Sarstedt (Heidelberg, D)
Venenverweilkatheter Jelco	Johnson & Johnson Medical (Pomezia, Italien)

Das Leerplasma stammte von der Blutbank der Abteilung für Transfusionsmedizin des Universitätsklinikums Hamburg-Eppendorf von Spendern ohne jegliche Medikation.

Analysenwaage	Mettler (Greifensee, CH)
Destamat-Destillationsapparatur	Heraeus (Hanau, D)
Dinamap <sup>TM</sup> , Vital Daten Monitor 8100	Critikon Company (Basingstoke Hants, GB)
EKG-Gerät Cardiovit AT-2 plus	Schiller (Baar, CH)
EKG-Gerät Cardioscript CD 6000	Schwarzer/Picker (Unna, D)
Fraktionssammler Frac 100	Pharmacia (Uppsala, S)
Hettich Rotanta-Zentrifuge	Hettich (Tuttlingen, D)
Kühltruhen (-20 °C, -80 °C)	Kryotec (Hamburg, D)
Magnetrührer	Heidolph (Kehlheim, D)
pH-Meter	Knick (Berlin, D)
Tischzentrifuge	Eppendorf (Hamburg, D)
Vakuumkammer Vac-Elut	Chromatographie Service (Langerwehe, D)
Vakuumpumpe	KNF Neuberger (Freiburg, D)
Vortexer	Heidolph (Kehlheim, D)

### 1.3.4 HPLC-Messapparatur

System	LC Workstation Class VP Version 5.03 (Shimadzu, Kyoto, J)
System Controller	SCL-10 ADVP (Shimadzu, Kyoto, J)
Probenaufgabesystem	Auto Injector SIL-10ADVP (Shimadzu, Kyoto, J)
Pumpe	LC-10ADVP (Shimadzu, Kyoto, J)
Vorsäule	Spherisorb C6 Vorsäule (5 µm Partikelgröße, 17 x 4,6 mm Innendurchmesser)
Trennsäule	Spherisorb C6 Trennsäule (5 µm Partikelgröße, 150 x 4,6 mm Innendurchmesser)
Detektion	RF-10AXL Spektrofluorometrischer Detektor (Shimadzu, Kyoto, J)
Temperatur	Raumtemperatur (ca. 20 °C)
Datenverarbeitung	Software des Herstellers (Shimadzu, Kyoto, J)

### 1.3.5 Software

KINETICA<sup>TM</sup> Version 2.0 (Innaphase S. a. r. l., Champs-sûr-Marne, Frankreich)

SPSS Version 9.0, SPSS (Inc., Chicago, IL, USA)

## **1.4 Pharmakokinetik und Pharmakodynamik von Sotalol bei pädiatrischen Patienten mit tachykarden Herzrhythmusstörungen: Ergebnisse**

### **1.4.1 Deskriptive Statistik der Studienteilnehmer**

Insgesamt wurden 55 verschiedene Patienten im Alter von elf Tagen bis 40 Jahren in die Studie eingeschlossen. Tabelle 1 zeigt eine Übersicht über die demographischen Parameter aller Patienten sowie die eingeteilten Subgruppen der Patienten für die Evaluation therapeutisch wirksamer Konzentrationen und für die Evaluation der Arzneimittelsicherheit von Sotalol. Die pädiatrischen Patienten wurden nach den Richtlinien der International Conference on Harmonisation (ICH E11) gemäß ihres Alters eingeteilt. 0-27 Tage alte Patienten werden als Neugeborene bezeichnet (Altersgruppe I), Patienten im Alter von einem Monat (28 Tage)-2 Jahre als Säuglinge und Kleinkinder (Altersgruppe II), 2-11-Jährige als Kinder (Altersgruppe III) und die über 12-Jährigen als Jugendliche (Altersgruppe IV) eingestuft. In Altersgruppe I befanden sich elf Patienten (20 %) und Altersgruppe II umfasste 16 Patienten (29 %). In Altersgruppe III wurden 19 Patienten (35 %) eingeschlossen und die Altersgruppe IV beinhaltete neun Patienten (16 %), unter denen auch drei Erwachsene waren. Insgesamt umfasste die Studie 81 Einzeluntersuchungen, wobei einzelne Patienten zu unterschiedlichen Zeitpunkten mehrfach untersucht wurden. Für die statistische Auswertung wurde aus den mehrfach untersuchten Patienten mittels eines Zufallsgenerators eine Untersuchung herausgewählt. Alle Patienten litten an tachykarden Herzrhythmusstörungen unterschiedlicher Genese. Bei 53 % der Patienten waren eine supraventrikuläre Tachykardie (SVT) oder supraventrikuläre Extrasystolen (SVES) diagnostiziert. 24 % der Patienten hatten entweder ein Wolff-Parkinson-White-Syndrom (WPW-Syndrom), eine permanente junctionale Reentrytachykardie (PJRT), eine junctionale ektope Tachykardie (JET) oder eine AV-Knoten-Reentrytachykardie (AV-RT) als zugrunde liegende Erkrankung. 15 % litten an einer ektope atrialen Tachykardie (EAT) oder an Vorhofflattern (AFL), und 8 % hatten ventrikuläre Tachykardien (VT) oder ventrikuläre Extrasystolen (VES). In Tabelle 1 sind VT und VES unter VES zusammengefasst, da diese ventrikulären Ursprungs sind. SVT, SVES, WPW-Syndrom, PJRT, JET, AV-RT und EAT sind hingegen supraventrikulären Ursprungs und wurden unter SVT zusammengefasst.

1. Pharmakokinetik und Pharmakodynamik von Sotalol bei pädiatrischen Patienten mit tachykarden Herzrhythmusstörungen

Gruppe	n	Geschl. [w/m]	Alter [Jahre]	Größe [cm]	Gewicht [kg]	Oberfläche [m <sup>2</sup> ]	GFR [ml/min/1,73m <sup>2</sup> ]	Diagnose [SVT/VES]	Ko [n]
Alle Patienten									
Neugeborene	11	3/8	0,05 (0,02)	51 (7)	3,5 (0,5)	0,22 (0,03)	48 (19)	11/0	1
Kleinkinder	16	6/10	0,51 (0,33)	65 (9)	6,4 (2,3)	0,34 (0,08)	80 (30)	16/0	8
Kinder	19	9/10	7,18 (3,32)	122 (23)	28,0 (15,4)	0,96 (0,33)	151 (44)	17/2	3
Jugendl./Erw.	9	4/5	23,60 (10,68)	168 (13)	61,1 (19,0)	1,68 (0,33)	149 (24)	7/2	1
<b>Gesamt</b>	<b>55</b>	<b>22/33</b>	<b>3,20 (9,01)</b>	<b>98 (44)</b>	<b>21,6 (22,7)</b>	<b>0,73 (0,55)</b>	<b>111 (55)</b>	<b>51/4</b>	<b>13</b>
Patienten für die Evaluation therapeutisch wirksamer Konzentrationen									
Neugeborene	6	1/5	0,05 (0,01)	51 (2)	3,6 (0,4)	0,23 (0,02)	52 (17)	6/0	0
Kleinkinder	3	2/1	0,46 (0,28)	64 (16)	5,6 (3,1)	0,31 (0,13)	84 (37)	3/0	0
Kinder	5	3/2	7,17 (3,42)	124 (24)	27,4 (12,4)	0,96 (0,31)	176 (28)	5/0	0
Jugendl./Erw.	1	1/0	13,01	142	39	1,09	166	1/0	0
<b>Gesamt</b>	<b>15</b>	<b>7/8</b>	<b>3,80 (1,20)</b>	<b>84 (40)</b>	<b>13,7 (13,8)</b>	<b>0,55 (0,41)</b>	<b>107 (63)</b>	<b>15/0</b>	<b>0</b>
Patienten für die Evaluation der Arzneimittelsicherheit von Sotalol									
Neugeborene	9	2/7	0,05 (0,01)	50 (7)	3,5 (0,4)	0,22 (0,02)	46 (18)	9/0	0
Kleinkinder	9	5/4	0,54 (0,35)	65 (11)	6,6 (3,9)	0,34 (0,10)	86 (37)	9/0	4
Kinder	13	7/6	7,80 (3,30)	125 (19)	27,4 (10,0)	0,97 (0,25)	170 (29)	12/1	1
Jugendl./Erw.	2	1/1	13,50 (0,32)	155 (13)	39,3 (8,9)	1,30 (0,20)	175 (22)	1/1	0
<b>Gesamt</b>	<b>33</b>	<b>15/18</b>	<b>4,05 (4,83)</b>	<b>90 (40)</b>	<b>15,9 (14,0)</b>	<b>0,61 (0,41)</b>	<b>117 (62)</b>	<b>62/4</b>	<b>5</b>

**Tabelle 1** Demographische Parameter der Patienten

Demographische Parameter der Patienten bezüglich Alter, Körpergröße, -gewicht und -oberfläche sowie der glomerulären Filtrationsrate (GFR) und der Diagnose. Dargestellt ist das arithmetische Mittel ( $\pm$  SD). Ko = Ko-medikation mit Digoxin oder Flecainid, SVT = supraventrikuläre Tachykardie, VES = ventrikuläre Extrasystole, m = männlich, w = weiblich. Neugeborene = 0-27 Tage, Kleinkinder = 1-24 Monate, Kinder = 2-11 Jahre, Jugendl./Erw. = älter als 11 Jahre.

Die Sotaloldosierungen der Patienten reichten von 0,8 mg/kg bis hin zu 9,9 mg/kg. Eine Monotherapie mit Sotalol erhielten 67 % der Patienten, bei 24 % der Patienten wurde aufgrund einer unzureichenden antiarrhythmischen Therapie oder auftretender unerwünschter Arzneimittelwirkungen von Sotalol mit einem weiteren Antiarrhythmikum komediziert. Die Komedikation bestand entweder aus Digoxin (22 %) oder Flecainid (2 %).

Bei 67 % der Patienten konnte eine volle Wirksamkeit unter Sotalolmonotherapie erreicht werden, bei 20 % der Patienten erst unter Komedikation. 4 % der Patienten waren auch unter Komedikation nicht effektiv therapiert. Bei 9 % der Patienten wurde nach erfolgloser Sotaloltherapie direkt auf ein anderes Antiarrhythmikum umgestellt. Insgesamt 87 % der Patienten profitierten von der Therapie.

#### **1.4.2 PK-PD Modelling zur individuellen Therapiesteuerung bei einem dreijährigen Patienten mit supraventrikulärer Tachykardie**

Zum besseren Verständnis der durchgeführten Untersuchungen und der Ergebnisse wird im Folgenden der Fall eines dreijährigen Patienten mit symptomatischen supraventrikulären Tachykardien genauer beschrieben. Das Kind wurde aufgrund supraventrikulärer Tachykardien stationär eingeliefert. In der Anamnese war bereits im Alter von zwei Jahren eine tachykardiebedingte Kardiomyopathie aufgetreten, welche initial mit einer Kombinationstherapie aus Amiodaron und Digoxin sowie Captopril, Furosemid und Spironolacton therapiert wurde. Unter dieser Therapie bildete sich die Kardiomyopathie zurück und Tachykardien traten nicht mehr auf. Daher wurde nach etwa acht Monaten die antikongestive Therapie abgesetzt und nur noch antiarrhythmisch, zunächst mit Digoxin und Amiodaron, später nur noch mit Amiodaron behandelt. Aufgrund einer plötzlich aufgetretenen Photosensibilität des Kindes, ausgelöst durch Amiodaron, wurde die Amiodarontherapie von den Eltern nach weiteren drei Monaten abgebrochen. Etwa fünf Monate später stellte die Mutter bei dem Kind erneut eine Tachykardie fest. Das daraufhin aufgenommene Echokardiogramm zeigte eine erneute Verschlechterung der ventrikulären Pumpfunktion. Daraufhin wurde sofort eine antiarrhythmische Therapie angesetzt. Um ein wiederholtes Auftreten der Photosensibilität durch Amiodaron zu umgehen, wurde eine Therapie mit 2 mg/kg Sotalol, verteilt auf 3 Tagesdosen in einem achtstündigen Dosierungsintervall, angesetzt. Da die Therapie initial ineffektiv war, wurde alle drei Tage die Dosis in 1 mg/kg-Schritten hochdosiert. Jeweils am zweiten Tag einer Dosisstufe wurde zur Überprüfung der Effektivität ein Langzeit-EKG aufgenommen. Erst unter

einer Dosis von 8 mg/kg/Tag war die Therapie effektiv. Am dritten Tag nach Erreichen der effektiven Dosis wurde ein Plasmakonzentrations-Zeitprofil über zwölf Stunden durchgeführt. Dabei wurde direkt vor der morgendlichen Sotalolgabe sowie 1, 2, 3, 4, 6, 8 und 12 Stunden danach je eine Blutprobe von 500 µl entnommen (Abschnitt 1.2.7), aus denen anschließend die Sotalolplasmakonzentrationen bestimmt wurden. Während des Plasmakonzentrations-Zeitprofils wurden 12-Kanal-EKG-Aufzeichnungen alle 15-30 Minuten durchgeführt und aus Ableitung II das QT-Intervall als Sicherheitsparameter bestimmt (Abschnitt 1.2.10).

Die Plasmakonzentrationen von Sotalol bewegten sich im Verlaufe des Plasmakonzentrations-Zeitprofils zwischen 0,5 und 2,1 µg/ml (Abb. 7 A). Die dabei gemessenen QT<sub>C<sub>B</sub></sub>-Intervalle reichten konzentrationsabhängig von 394 bis 482 ms (Abb. 7 B). Das bedeutete eine deutlich verlängerte Repolarisationsphase und damit ein stark erhöhtes proarrhythmisches Risiko für das Kind. Bereits eine Verlängerung des QT<sub>C<sub>B</sub></sub>-Intervalls um mehr als 60 ms wird als eine beträchtliche Erhöhung des proarrhythmischen Risikos angesehen<sup>51</sup>. Deshalb wurde die Sotaloltherapie sofort ausgesetzt. Allerdings traten kurz nach dem Absetzen der Sotalolmedikation erneut Tachykardien auf. Daraufhin wurde mit einer Flecainidtherapie in einer Dosierung von 2 mg/kg/Tag begonnen und in der Folge auf 3 mg/kg/Tag Flecainid gesteigert. Doch obwohl sich die Flecainidplasmakonzentrationen im therapeutischen Bereich bewegten, konnte die Tachykardie nicht suffizient therapiert werden. Daher wurde eine Kombinationstherapie mit Sotalol gestartet, da synergistische Effekte von dieser Kombination zu erwarten sind<sup>52</sup>. Um das proarrhythmische Risiko für den Patienten so gering wie möglich zu halten, wurde als Maximalwert für das QT<sub>C<sub>B</sub></sub>-Intervall 450 ms gewählt. Dieser Wert entspricht etwa einer QT<sub>C</sub>-Intervallverlängerung von 60 ms, ausgehend von dem niedrigsten gemessenen Wert bei diesem Patienten. Sotalol unterliegt einer linearen Pharmakokinetik<sup>53</sup>. Das bedeutet, dass eine Dosissteigerung eine proportionale Steigerung der Arzneistoffkonzentrationen verursacht. Da weiterhin die Sotalolplasmakonzentration und das QT<sub>C<sub>B</sub></sub>-Intervall linear miteinander zusammenhängen<sup>54</sup>, konnte nun durch ein pharmakokinetisch-pharmakodynamisches Modelling mit einem linearen *direct link* Modell für jede Sotaloldosis zwischen 2 und 8 mg/kg/Tag Sotalol das resultierende QT<sub>C<sub>B</sub></sub>-Intervall für den Patienten berechnet werden (Abb. 7 C).

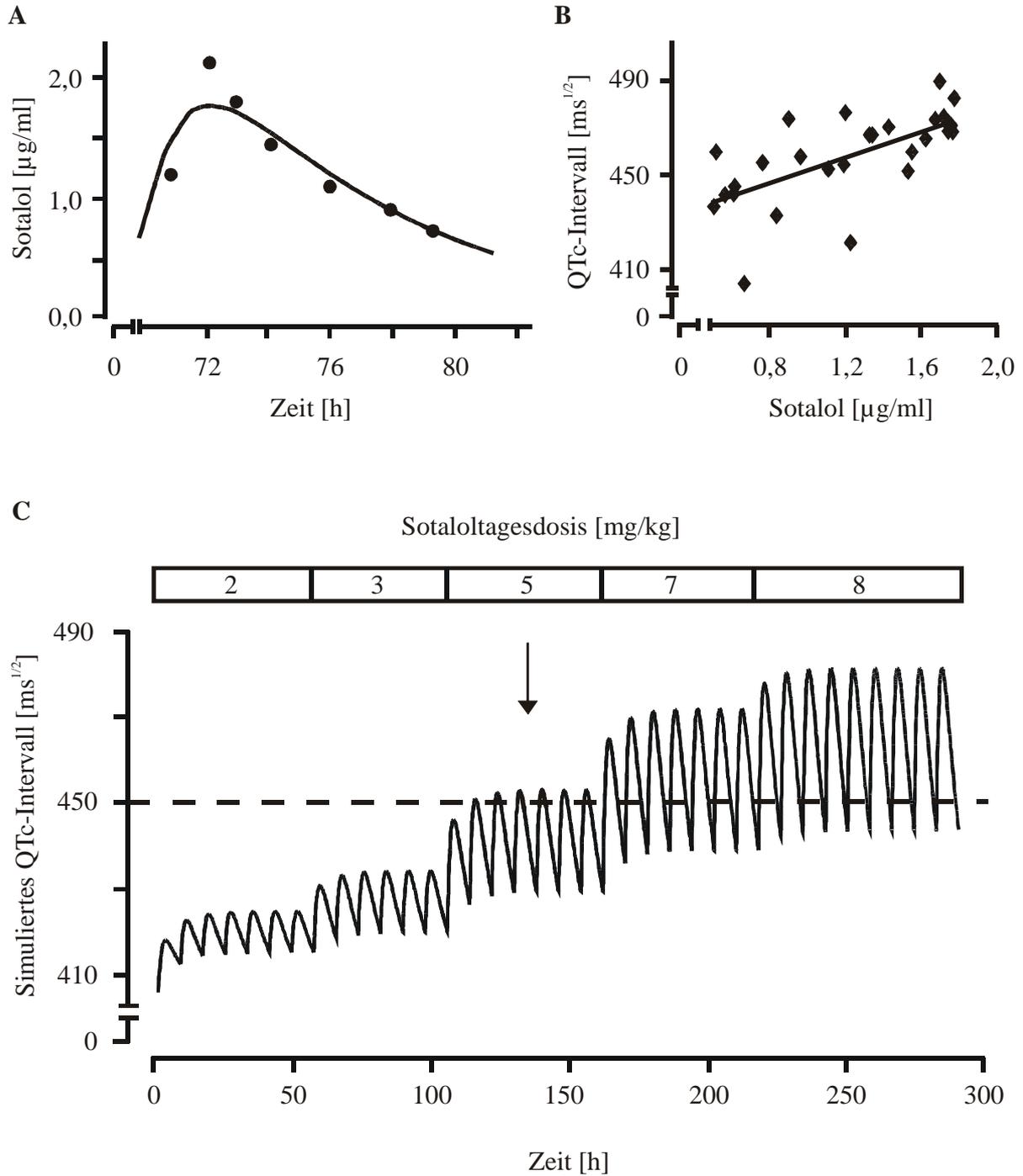
---

<sup>51</sup> Vgl. CPMP/986/96

<sup>52</sup> Vgl. Lee et al. 1997 ; Price et al. (2002)

<sup>53</sup> Vgl. Läer et al. (2001a)

<sup>54</sup> Vgl. Saul et al. (2001a)



**Abbildung 7** PK-PD Modelling zur individuellen Therapiesteuerung bei einem dreijährigen Patienten.

Sotalolplasmakonzentrations-Zeitprofil (A) und QTc<sub>B</sub>-Intervall in Abhängigkeit von der gleichzeitig bestimmten Sotalolplasmakonzentration (B) bei einem dreijährigen Patienten mit SVT unter Therapie mit 8 mg/kg im Fließgleichgewicht. Die Symbole zeigen die gemessenen, die Linien die berechneten Werte. (C) Verknüpfung von Pharmakokinetik (PK, A) und Pharmakodynamik (PD, B) mithilfe eines PK-PD Modells (direct link). Dargestellt ist das simulierte QTc<sub>B</sub>-Intervall unter verschiedenen Sotaloltagesdosen im steady state. Die gestrichelte Linie zeigt das angestrebte maximale QTc-Intervall an, welches bei einer Dosierung von 5 mg/kg erreicht wird (Pfeil).

Der lineare Zusammenhang zwischen Sotalolplasmakonzentration und QTc-Intervallverlängerung (Abb. 7 B) lässt sich auch mit einer mathematischen Funktion des Typs  $y = mx + b$  beschreiben (Abschnitt 1.2.11), wobei  $m$  den Steigungsfaktor der Geraden und  $b$  den Ordinatenabschnitt zeigt. Je größer die Steigung der Geraden, desto höher ist dabei die Empfindlichkeit gegenüber der sotalolvermittelten QTc-Intervallverlängerung. Diese Steigung wurde für jeden Patienten berechnet und in Abhängigkeit des Patientenalters betrachtet. Bei einer Dosis von 5 mg/kg/Tag wurde für die Spitzenspiegel ein maximales QT<sub>CB</sub>-Intervall von 450 ms berechnet (Abb. 7 C). Daher wurde die Sotaloldosis für den Patienten auf 5 mg/kg/Tag angesetzt. Unter dieser Kombinationstherapie war der Patient suffizient therapiert.

Um die Vorhersage für das QT<sub>CB</sub>-Intervall zu überprüfen, wurde zu zwei unterschiedlichen Zeitpunkten ein 12-Kanal-EKG aufgenommen. Die daraus bestimmten QT<sub>CB</sub>-Intervalle sowie die jeweils für die Zeitpunkte berechneten Werte sind in Tabelle 2 dargestellt. Die Abweichungen der vorausberechneten QT<sub>CB</sub>-Intervalle von den tatsächlich gemessenen sind minimal und liegen im Bereich der graphischen Messungengenauigkeit für das QT-Intervall.

EKG-Aufnahmezeitpunkt nach Sotalolgabe	QT <sub>CB</sub> -Intervall [ms <sup>1/2</sup> ] (vorausberechnet)	QT <sub>CB</sub> -Intervall [ms <sup>1/2</sup> ] (gemessen)	Quotient QTc-Intervall berechnet/gemessen [%]
2 Std. 46 min nach Gabe von 25 mg	446	439	102
3 Std. 44 min nach Gabe von 25 mg	444	448	99

**Tabelle 2** Berechnete und gemessene QTc-Intervalle eines dreijährigen Patienten

Mittels PK-PD Modelling berechnete QT<sub>CB</sub>-Intervallzeiten im Vergleich zu den tatsächlich gemessenen Werten bei einem dreijährigen Patienten unter Sotaloltherapie (5 mg/kg/Tag) kombiniert mit Flecainid (2 mg/kg/Tag). Der Quotient aus berechnetem und gemessenem QT<sub>CB</sub>-Intervall gibt die Richtigkeit des berechneten Werts in Prozent des tatsächlichen Werts an.

Auch bei den übrigen Patienten brachten die vorgestellten Untersuchungen ähnliche Ergebnisse bezüglich Pharmakokinetik und Pharmakodynamik. Dieses Fallbeispiel belegt, dass mithilfe einer intensiven pharmakokinetischen und pharmakodynamischen Untersuchung mit

nachfolgendem pharmakokinetisch-pharmakodynamischen Modelling gezielt eine effektive und sichere Arzneimitteltherapie durchgeführt werden kann.

### 1.4.3 Ergebnisse der pharmakokinetischen Analyse – altersabhängige Pharmakokinetik von Sotalol

Altersabhängige Veränderungen der Pharmakokinetik von Sotalol bei pädiatrischen Patienten sind bereits bei kleineren Kollektiven beschrieben worden<sup>55</sup>. Die gefundenen Ergebnisse sollten mit der vorliegenden Untersuchung anhand eines größeren Kollektivs noch einmal überprüft und gegebenenfalls erweitert werden.

Nach der Applikation wurde Sotalol schnell absorbiert. Der Mittelwert für die Zeit bis zum Erreichen der maximalen Plasmakonzentration ( $t_{\max}$ ) betrug 2,5 ( $\pm$  0,9) Stunden. Die maximalen Plasmaspiegel unter effektiver Therapie lagen dabei zwischen 0,26 und 2,86  $\mu\text{g/ml}$ , im Mittel lag  $C_{\max}$  bei 0,96  $\mu\text{g/ml}$ . Bei Betrachtung der Halbwertszeit in den verschiedenen Altersgruppen lässt sich erkennen, dass die Halbwertszeit vom Neugeborenenalter über das Säuglingsalter hin zu den Zwei- bis Elfjährigen abnimmt von 7,2 ( $\pm$  1,4) auf 5,7 ( $\pm$  1,1) Stunden ( $p = 0,016$ ), um dann wieder auf 7,0 ( $\pm$  1,4) Stunden bei den Jugendlichen anzusteigen ( $p = 0,041$ ). Dies entspricht den bisher publizierten Daten<sup>56</sup>. Auch Clearance und Verteilungsvolumen verändern sich in Abhängigkeit vom Patientenalter. Bei Normierung auf die Körperoberfläche zeigt sich ein Anstieg der Parameter Clearance und Verteilungsvolumen. Die Clearance steigt von der Gruppe der Neugeborenen mit 40,7 ( $\pm$  11,9)  $\text{ml/min} \cdot \text{kg}$  auf 90,5 ( $\pm$  46,9)  $\text{ml/min} \cdot \text{kg}$  in der Gruppe der Säuglinge und Kleinkinder an ( $p = 0,020$ ). Auch das Verteilungsvolumen zeigt mit 29,7  $\pm$  8,0  $\text{l/m}^2$  bei den Neugeborenen und 45,3 ( $\pm$  19,6)  $\text{l/m}^2$  bei den Säuglingen und Kleinkindern einen initialen Anstieg ( $p = 0,028$ ). Im weiteren Verlauf des Alters bleiben beide Parameter konstant. Auch diese Ergebnisse decken sich mit den bisher veröffentlichten Daten<sup>57</sup>.

Der Eliminations- sowie der Verteilungsprozess von Sotalol ändert sich also innerhalb der ersten Lebenswochen. Dieser Prozess zeigt sich auch deutlich in der Arzneimittelexposition (Abb. 8). Es kommt bei wirksamer Therapie zu einem deutlichen Abfall der AUC von 379 ( $\pm$  99)  $\text{h} \cdot \text{m}^2/\mu\text{l}$  im Neugeborenenalter zu 235 ( $\pm$  51)  $\text{h} \cdot \text{m}^2/\mu\text{l}$  ( $p = 0,029$ ) im Kleinkind- bzw.

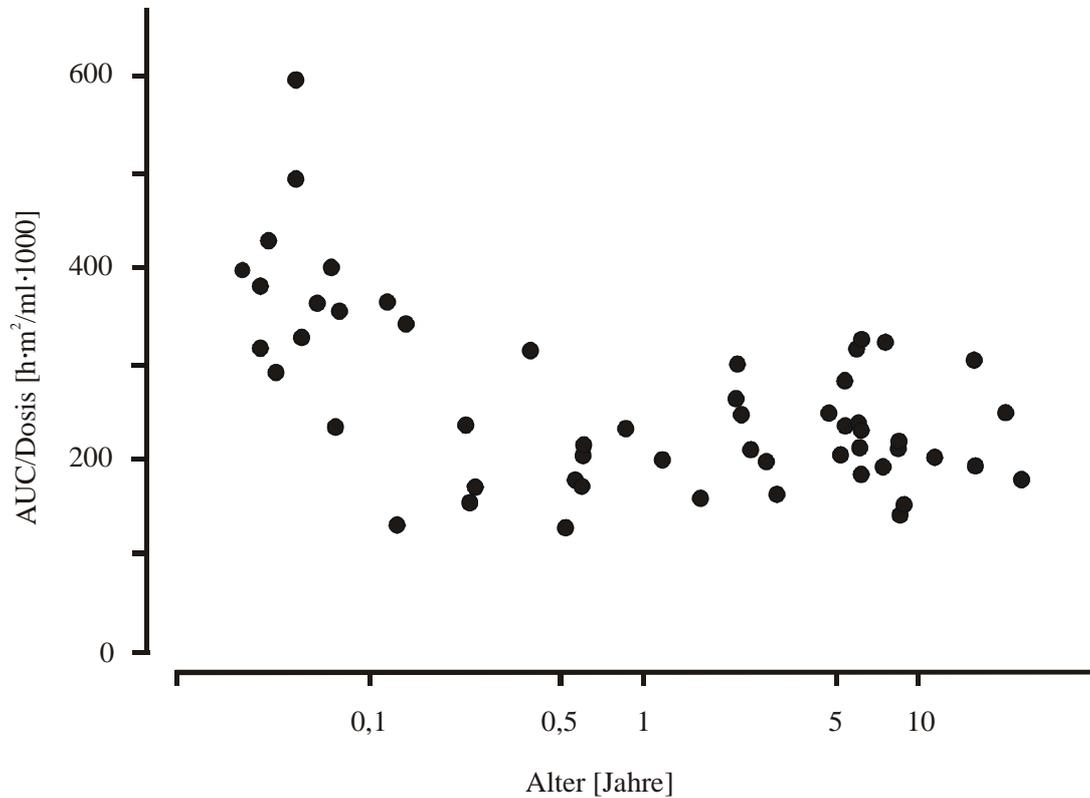
---

<sup>55</sup> Vgl. Läer et al. (2001a); Saul et al. (2001a/b)

<sup>56</sup> Vgl. Läer et al. (2001a)

<sup>57</sup> Vgl. Läer et al. (2001a)

207 ( $\pm 55$ ) h · m<sup>2</sup>/μl (p = 0,047) im Jugendlichenalter. Das entspricht einer um durchschnittlich 72 % erhöhten Arzneimittelexposition im Neugeborenenalter verglichen mit älteren pädiatrischen Patienten.



**Abbildung 8** Dosisnormierte AUC in Abhängigkeit vom Patientenalter

Logarithmische Altersverteilung der dosisnormierten Sotalolexposition ( $AUC_{SS\ 24\ h}$ : Fläche unter der Konzentrations-Zeitkurve über 24 Stunden im *steady state*) pädiatrischer Patienten unter effektiver Sotaloltherapie (n = 55).

Durch die postnatale Nierenreifung wird die Elimination von Sotalol aus dem Plasma beschleunigt. Gleichzeitig nimmt das Verteilungsvolumen zu, so dass die durch eine definierte Menge Sotalol verursachte Arzneimittelkonzentration geringer wird. Daraus ergibt sich die Abnahme der dosisnormierten AUC innerhalb der ersten Lebensmonate. Neugeborene erfahren demnach eine fast doppelt so hohe Arzneimittelexposition verglichen mit den pädiatrischen Patienten der anderen Altersgruppen.

#### 1.4.4 Ergebnisse der pharmakodynamischen Analyse – altersabhängige Pharmakodynamik von Sotalol

Sotalol als Klasse III-Antiarrhythmikum verfügt über repolarisationsverlängernde Eigenschaften und wirkt gleichzeitig als Beta-Rezeptorenblocker. Demnach sind zwei pharmakodynamische Effekte zu erwarten, zum einen eine Verlängerung des QT-Intervalls als Ausdruck der Blockade von kardialen Kaliumkanälen, zum anderen eine Reduktion der Herzfrequenz als Effekt der Beta-Rezeptorenblockade. Die Blockade der kardialen Kaliumkanäle wird von beiden Enantiomeren des racemischen Sotalol vermittelt, wohingegen die Beta-Rezeptorenblockade nur von der L-Form bewirkt wird. Aufgrund der verschiedenen Wirkungsmechanismen ist eine separate Betrachtung der pharmakodynamischen Effekte notwendig. Beide Effekte wurden bei den Patienten in Form des QT-Intervalls (Kaliumkanalblockade) bzw. des RR-Intervalls (Beta-Rezeptorenblockade) aus der Ableitung II von 12-Kanal-EKG-Aufzeichnungen vor und während des pharmakokinetischen Profils bestimmt. Bei einem Patienten (Patient 27) wurde aufgrund einer zu flachen T-Welle in Ableitung II zur Bestimmung des QT-Intervalls Ableitung I verwendet.

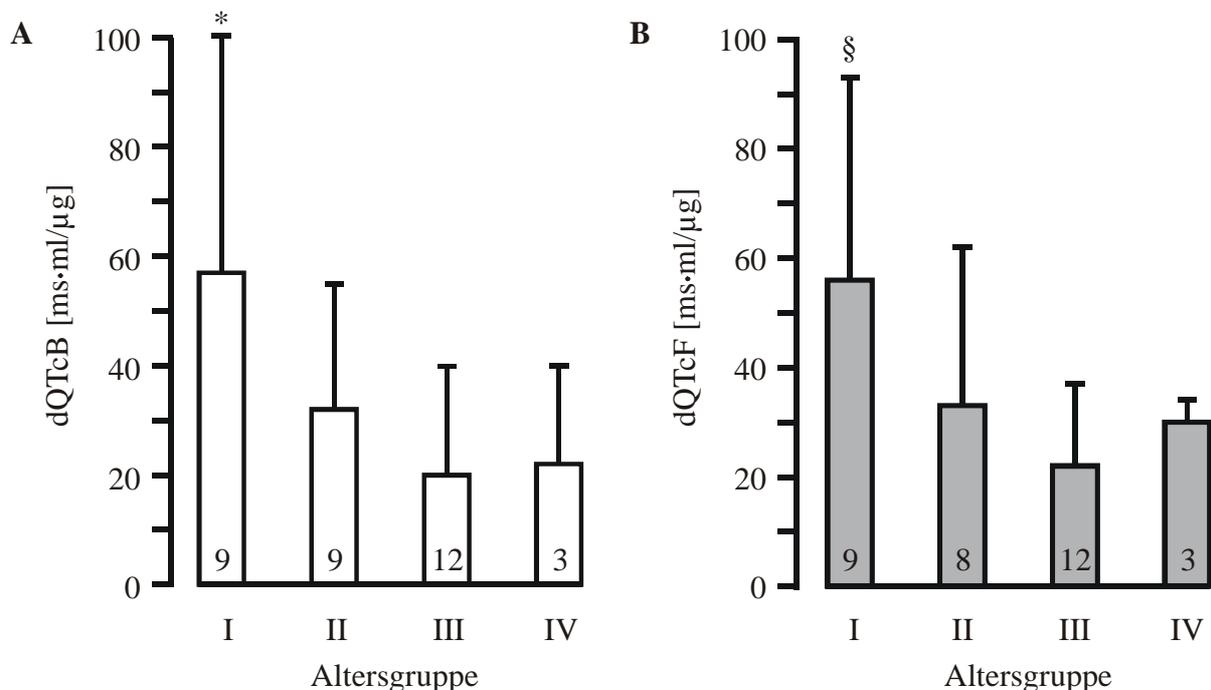
Untersuchungen zur sotalolinduzierten QT-Intervallverlängerung wurden bei den insgesamt 33 Patienten für die Evaluation der Arzneimittelsicherheit von Sotalol durchgeführt (Tab. 1). Wie Abbildung 7 B exemplarisch gezeigt hat, führt die Gabe eines Kaliumkanalblockers auch bei Kindern zu einer Verlängerung der Repolarisationsphase. Die Abhängigkeit des QTc-Intervalls von der Sotalolplasmakonzentration folgt auch hier einer linearen Beziehung, wie dies bereits bei Erwachsenen<sup>58</sup> und Kindern<sup>59</sup> beobachtet wurde. Daher wurde für die Verknüpfung der Plasmakonzentrationen mit den ermittelten QTc-Intervallen ein lineares pharmakodynamisches Modell verwendet (Abschnitt 1.2.11). Die lineare Regression der Einzelwerte ergab eine Geradengleichung mit einem Steigungsfaktor  $m$ . Dieser Faktor gibt an, um welchen Betrag sich die QTc-Zeit verändert, wenn die Sotalolkonzentration um  $1 \mu\text{g/ml}$  angehoben wird. Je größer  $m$ , desto schneller vergrößert sich das QTc-Intervall bei einem Anstieg in der Sotalolplasmakonzentration. Die Empfindlichkeit des QTc-Intervalls für Änderungen in der Sotalolkonzentration steigt also mit  $m$  an.

---

<sup>58</sup> Vgl. Barbey et al. (1999)

<sup>59</sup> Vgl. Saul et al. (2001a)

Gibt es also Unterschiede in der Empfindlichkeit gegenüber der Sotalol vermittelten QT-Intervallverlängerung im Verlauf des Patientenalters? Abbildung 9 A/B zeigt die QTc-Intervallverlängerung in vier Altersgruppen. Da das unkorrigierte QT-Intervall abhängig von der Herzfrequenz und damit vom RR-Intervall ist, wurden zwei verschiedene mathematische Korrekturformeln für das QT-Intervall verwendet (Abschnitt 1.2.10). Dargestellt ist die QTc-Intervallverlängerung pro 1 µg/ml Sotalolplasmakonzentration (dQTc). Sowohl mit der Korrektur nach Bazett (Abb. 9 A) als auch mit der Korrektur nach Fridericia (Abb. 9 B) ergibt sich eine mit 180 bis 290 % deutlich erhöhte Empfindlichkeit der QTc-Intervallverlängerung bei den Neugeborenen im Vergleich zu Kindern und Jugendlichen ( $p = 0,035$ , Bazett;  $p = 0,034$ , Fridericia).



**Abbildung 9** Altersabhängigkeit der QT-Intervallverlängerung unter verschiedenen Herzfrequenzkorrekturen

Altersabhängigkeit der sotalolinduzierten QT-Intervallverlängerung, korrigiert für die Herzfrequenz nach Bazett (1920): dQTcB (A) und Fridericia (1920): dQTcF (B) bei Neugeborenen (I, 0-28 Tage), Säuglingen und Kleinkindern (II, 1-24 Monate), Kindern (III, 2-11 Jahre) und Jugendlichen und Erwachsenen (IV, 12 Jahre und älter). Die Zahlen in den Säulen geben die Anzahl der Patienten pro Gruppe an. \*  $p = 0,035$  vs Gruppe III, §  $p = 0,034$  vs Gruppe III.

Altersabhängige Unterschiede sind also ebenfalls in der Pharmakodynamik von Sotalol zu verzeichnen. Neugeborene reagieren auf die sotalolvermittelte Kaliumkanalblockade deutlich empfindlicher als Kinder und Jugendliche. In Tabelle 3 sind die Basalwerte der Patienten für die Herzfrequenz und das QT-Intervall gezeigt, außerdem die QTc-Intervalle nach Bazett und

Fridericia. Die Herzfrequenz nimmt bekanntermaßen mit zunehmendem Alter ab. Auch das QT-Intervall zeigt eine signifikante Altersabhängigkeit, die im Zusammenhang mit der Frequenzabnahme zu betrachten ist. Weiterhin ist zu erkennen, dass das korrigierte QT-Intervall nach Fridericia keine ausreichende Korrektur des Alters bietet. Jedoch ist die Korrektur nach Bazett stabil über das Alter und erscheint daher als die beste Möglichkeit der Herzfrequenzkorrektur bei der Verwendung einer einzigen Korrekturformel für Patienten unterschiedlichen Alters.

Altersgruppe (n)		QT [ms]	QT <sub>c<sub>B</sub></sub> [ms] <sup>1/2</sup>	QT <sub>c<sub>F</sub></sub> [ms] <sup>2/3</sup>	Herzfrequenz [min] <sup>-1</sup>
Neugeborene	9	277 (32)	402 (22)	356 (25)	124 (13)
Säugl./Kleink.	6	259 (16)	388 (29)	346 (14)	130 (29)
Kinder	10	259 (16)	404 (19)	375 (14)	78 (11)
Jugendl./Erw.	3	362 (16)	418 (13)	399 (13)	84 (22)
Gesamt	28	300 (44)	401 (22)	364 (24)	106 (31)
p-Wert*		*<0,001	0,283	*0,002	*0,001

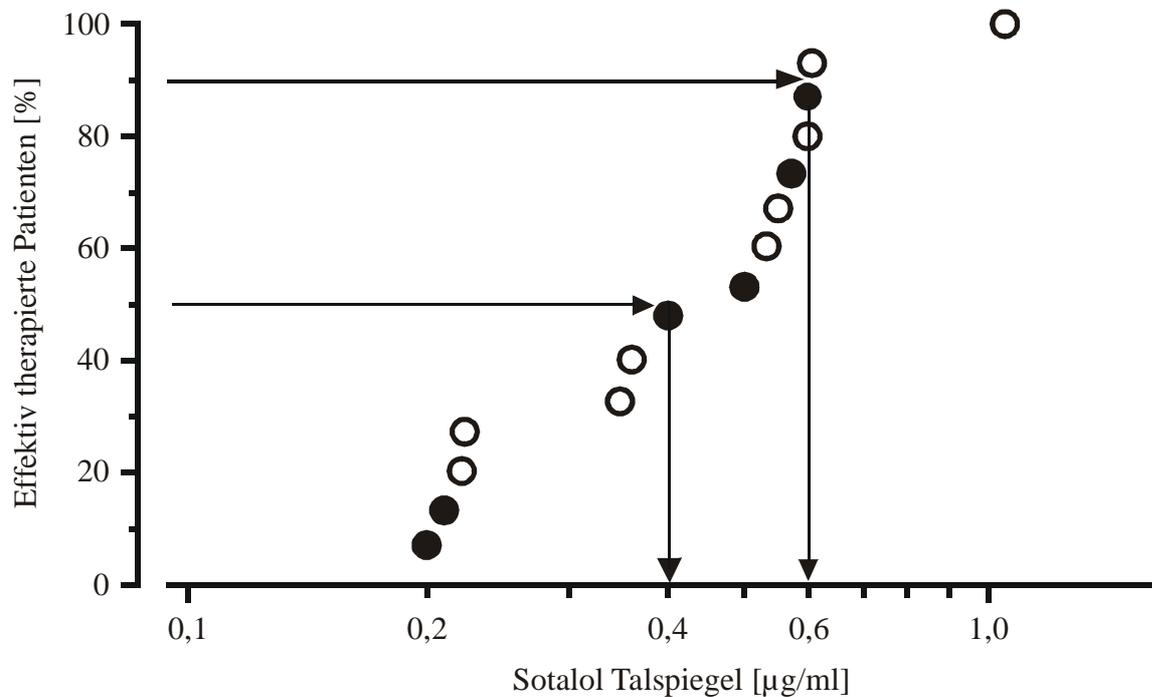
**Tabelle 3** Basalwerte der pädiatrischen Patienten für Herzfrequenz und QT-Intervall

Basalwerte für die Herzfrequenz, das QT-Intervall und das nach Bazett (1920, QT<sub>c<sub>B</sub></sub>) und nach Fridericia (1920, QT<sub>c<sub>F</sub></sub>) korrigierte QT-Intervall. Angegeben sind die Mittelwerte (± SD). Nur bei den nach Bazett korrigierten Werten zeigte sich kein signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen und damit keine Altersabhängigkeit der Basalwerte. \* = statistisch signifikant, ANOVA.

#### 1.4.5 Therapeutisch wirksame Sotalolplasmakonzentrationen bei pädiatrischen Patienten mit supraventrikulären Tachykardien

Bei 15 Patienten wurde ein möglicher Zusammenhang zwischen Sotalolplasmakonzentration und antiarrhythmischer Effektivität untersucht (Tabelle 1, Patienten für die Evaluation therapeutisch wirksamer Konzentrationen). Einer dieser Patienten hatte zusätzlich eine kompensierte Herzinsuffizienz. In einem Fall musste die Therapie wegen QTc-Intervallverlängerung über 470 ms abgesetzt werden, woraufhin die Tachykardie jedoch wieder auftrat. Eine erneute Sotaloltherapie führte wieder zur erfolgreichen Unterdrückung der Rhythmusstörung (Abschnitt 1.4.2). Bei drei Patienten verursachte die Sotaloltherapie kurzfristig Bradykardien unter 50 Schlägen pro Minute, ohne dass eine Dosisreduktion erfolgen musste. Andere uner-

wünschte Arzneimittelwirkungen wie eine Proarrhythmie im Sinne einer Torsades-de-Pointes-Tachykardie wurden nicht beobachtet. Die Therapie wurde bei allen Patienten mindestens für sechs Monate durchgeführt. Aufgrund von Rezidiven musste bei drei Patienten nach zwei Monaten die Sotaloldosis angehoben werden.



**Abbildung 10** Wirksame Sotalolplasmakonzentrationen

Kumulative Wirksamkeit der Sotaloltherapie bei 15 Patienten (Patienten für die Evaluation therapeutisch wirksamer Konzentrationen) mit SVT gegen den Sotalol-Talspiegel unter effektiver Therapie während eines Acht-Stunden-Dosierungsintervalls im steady state (mittlere Tagesdosis:  $3,0 \pm 1,7$  mg/kg). Jedes Symbol stellt den Talspiegel eines Patienten dar, die Neugeborenen sind als schwarze Punkte hervorgehoben.

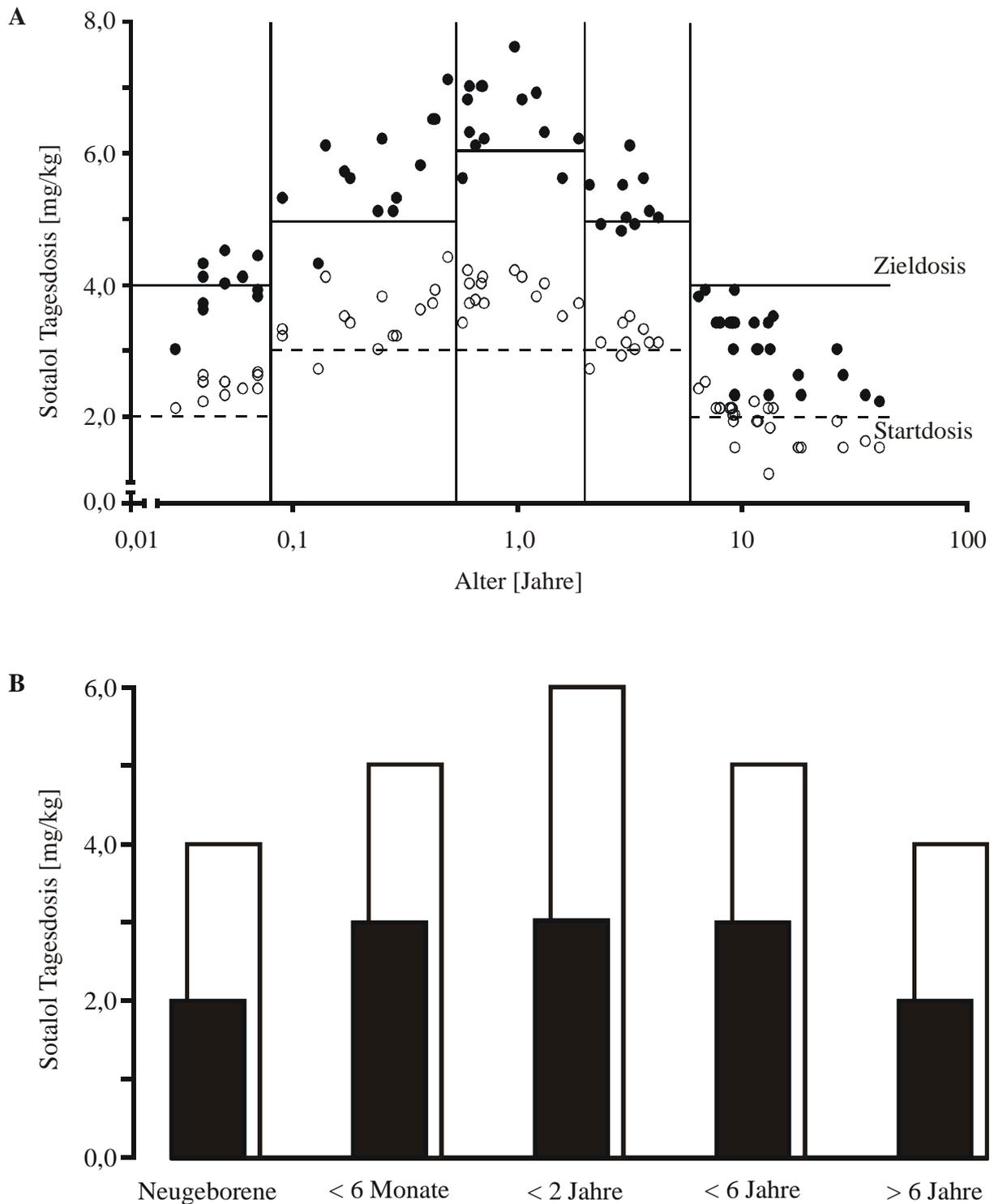
In Abbildung 10 sind die Sotaloltalspiegel der 15 Patienten unter effektiver Sotaloltherapie dargestellt, wobei die Ordinate kumulativ die Anzahl der effektiv therapierten Patienten in Prozent anzeigt. Die Talspiegel bewegen sich zwischen 0,21 und 1,05  $\mu\text{g/ml}$ , die korrespondierenden Spitzenspiegel liegen zwischen 0,29 und 2,0  $\mu\text{g/ml}$ . Es ist nun möglich, aus dieser Graphik den notwendigen Talspiegel für eine vorgewählte Erfolgswahrscheinlichkeit der antiarrhythmischen Sotaloltherapie zu ermitteln. Für den Beginn einer antiarrhythmischen Sotaloltherapie sollte eine mittlere Erfolgswahrscheinlichkeit gewählt werden, damit ein möglichst großer Anteil an Patienten bereits von Beginn an ausreichend therapiert ist, gleichzeitig jedoch eine nicht zu große QT-Intervallverlängerung auftritt. Daher wurde eine initiale Erfolgswahrscheinlichkeit von 50 % als Vorgabe genommen. Aus der Graphik ergibt sich ein

dafür notwendiger Talspiegel von 0,4 µg/ml. Für die Fortführung der Therapie wurde als Ziel eine Erfolgswahrscheinlichkeit von 90 % gewählt, um unter Zieldosisbedingungen möglichst wenig Therapieversager zu erhalten. Hierfür ergibt sich ein Zieltalspiegel von 0,6 µg/ml (Abb. 10). Einen Hinweis auf eine mögliche Altersabhängigkeit der wirksamen Sotalolkonzentrationen ergibt die Verteilung der Talspiegel mit dem Patientenalter nicht. Die Talspiegel der Neugeborenen verteilen sich gleichmäßig über den gesamten Konzentrationsbereich.

#### 1.4.6 Entwicklung eines altersabhängigen Dosierungsschemas

Die in Abschnitt 1.4.5 gezeigten Talspiegel von 0,4 bzw. 0,6 µg/ml für eine 50- bzw. 90-prozentige Wirksamkeitswahrscheinlichkeit wurden als Zieltalspiegel in das individuelle pharmakokinetische Modell jedes Patienten eingesetzt, um die jeweils notwendigen Dosen zu simulieren (Abschnitt 1.2.12). Die so simulierten Tagesdosen, normiert auf das Körpergewicht, sind in Abbildung 11 A dargestellt, wobei die Kreise die Startdosis und die schwarzen Punkte die Zieldosis darstellen. Die Gruppeneinteilung der pädiatrischen Patienten wurde hier nicht nach CPMP durchgeführt, sondern dem Verlauf der berechneten Dosierungen angepasst. Aus der Graphik ergibt sich für Neugeborene bei einem Talspiegel von 0,4 µg/ml eine Startdosis von 2 mg/kg. Die Zieldosis für einen Talspiegel von 0,6 µg/ml beträgt hier 4 mg/kg. Säuglinge und Kleinkinder bis zu einem Alter von sechs Monaten benötigen eine Dosis von 3 mg/kg für einen Talspiegel von 0,4 µg/ml und 5 mg/kg für 0,6 µg/ml. Für Kleinkinder zwischen sechs Monaten und zwei Jahren wurde ebenfalls eine Startdosis von 3 mg/kg errechnet, ihre Zieldosis liegt mit 6 mg/kg jedoch am höchsten. Kinder zwischen zwei und sechs Jahren sollten mit 3 mg/kg als Start- und mit 5 mg/kg als Zieldosis wieder genauso therapiert werden wie die Gruppe der Säuglinge und Kleinkinder. Kinder über sechs Jahre können mit 2 mg/kg als Start- und mit 4 mg/kg als Zieldosis wieder genauso behandelt werden wie die Neugeborenen.

Aus den simulierten Start- und Zieldosierungen wurde ein übersichtliches Dosierungsschema für die Sotaloltherapie von pädiatrischen Patienten mit tachykarden Herzrhythmusstörungen entwickelt (Abb. 11 B). Dieses Dosierungsschema ermöglicht eine Behandlung der Krankheit mit einer initialen Erfolgswahrscheinlichkeit von 50 %. Bei Nichterfolg kann innerhalb des Rahmens des Therapieschemas unter Beachtung möglicher unerwünschter Arzneimittelwirkungen schnell bis zur effektiven Dosis hochdosiert werden, wobei die Erfolgswahrscheinlichkeit auf 90 % steigt.



**Abbildung 11** Sotalol Start- und Zieldosis für Kinder verschiedener Altersstufen

(A) Berechnete Sotaloltagesdosen über das Alter (logarithmisch) für einen Sotaloltalspiegel von  $0,4 \mu\text{g/ml}$  (○) und  $0,6 \mu\text{g/ml}$  (●) im steady state (8 h Dosierungsintervall). Die Simulation erfolgte auf Basis der vorliegenden Patientendaten ( $n = 55$ ) durch iterative Annäherung. Aus den errechneten Tagesdosen wurden altersabhängige Startdosen (----) und Zieldosen (—) entwickelt.

(B) Therapieschema mit Anfangsdosis (schwarze Säulen) und Zieldosis (weiße Säulen) für die Therapie von supraventrikulären Tachykardien mit Sotalol bei Kindern verschiedener Altersstufen (A).

#### **1.4.7 Verträglichkeit von Sotalol**

Die Sotaloltherapie wurde insgesamt gut vertragen. Bei sieben Patienten (13 %) traten unerwünschte Arzneimittelwirkungen auf. Ein Patient klagte über Müdigkeit. Zwei Patienten (4 %) hatten eine leichte Bradykardie, die jedoch kein Herunterdosieren der Sotaloldosis erforderte. Bei einem weiteren Patienten (2 %) war eine Bradykardie, bedingt durch eine kurzfristige Niereninsuffizienz, zu beobachten, welche trotz niedriger Dosis hohe Sotalolspiegel verursachte. In diesem Fall wurde die Dosis herabgesetzt. Bei keinem der Patienten kam es zu einem proarrhythmischen Effekt im Sinne von Torsades-de-Pointes-Tachykardien oder ekto-phen ventrikulären Tachykardien. Eine QTc-Intervallverlängerung von über 60 ms wurde bei drei Patienten (5 %) festgestellt. Aufgrund der erhöhten proarrhythmischen Gefahr wurden diese Patienten herunterdosiert.

## 1.5 Pharmakokinetik und Pharmakodynamik von Sotalol bei pädiatrischen Patienten mit tachykarden Herzrhythmusstörungen: Diskussion

### 1.5.1 Zusammenfassung der Ergebnisse

In der vorliegenden Studie wurden die Pharmakokinetik, die Pharmakodynamik sowie unerwünschte Arzneimittelwirkungen des Beta-Rezeptorenblockers Sotalol bei pädiatrischen Patienten mit supraventrikulären Tachykardien in Abhängigkeit vom Lebensalter untersucht. Mit den pharmakokinetischen und den pharmakodynamischen Daten wurde anschließend ein PK-PD Modelling durchgeführt, um therapeutisch wirksame Plasmakonzentrationen bei Kindern zu finden. Dies ermöglichte die Aufstellung einer Dosisrichtlinie für die Therapie von Kindern unterschiedlicher Altersstufen mit tachykarden Herzrhythmusstörungen mit dem Ergebnis einer schnellen, sicheren und effektiven Arzneitherapie mit Sotalol. Im Folgenden werden die Hauptergebnisse dieser Studie zusammengefasst und nachfolgend diskutiert.

- Es wurde eine erhöhte Empfindlichkeit der sotalolvermittelten QT-Intervallverlängerung bei Neugeborenen gegenüber Kindern und Jugendlichen festgestellt. Diese basiert auf der Blockade kardialer Kaliumkanäle, welche für die Repolarisationsphase des kardialen Aktionspotentials verantwortlich sind. Die QT-Intervallverlängerung war bei den Neugeborenen bei gleicher Sotalolkonzentration im Mittel etwa doppelt so hoch wie bei Kindern und Jugendlichen.
- Es wurden die therapeutisch wirksamen Plasmakonzentrationen für eine Sotaloltherapie von Kindern mit tachykarden Herzrhythmusstörungen bestimmt. Für den Beginn einer Sotaloltherapie sollten 0,4 µg/ml als Talspiegel angestrebt werden, dies entspricht einer Erfolgswahrscheinlichkeit von 50 %. Bei unzureichender Therapie kann auf eine Konzentration von 0,6 µg/ml und damit auf eine Erfolgswahrscheinlichkeit von 90 % erhöht werden.
- Auf dieser Basis und unter Berücksichtigung der altersabhängigen Pharmakokinetik und Pharmakodynamik wurde eine altersabhängige Dosisempfehlung für die Therapie tachykarder Herzrhythmusstörungen bei pädiatrischen Patienten mit Sotalol entwickelt, die folgendermassen aussieht: Neugeborene werden initial mit 2 mg/kg/Tag therapiert und bei Bedarf auf 4 mg/kg/Tag hochdosiert. Säuglinge und Kleinkinder bis zu sechs Monaten erhalten initial 3 mg/kg/Tag und bei Unwirksamkeit bis zu

5 mg/kg/Tag. Kleinkinder von sechs Monaten bis zwei Jahren bekommen zu Beginn ebenfalls 3 mg/kg/Tag mit der Möglichkeit, auf bis zu 6 mg/kg/Tag zu erhöhen. Kinder zwischen zwei und sechs Jahren werden wieder genauso dosiert wie die Kleinkinder, und Kinder über sechs Jahre Alter wieder so wie die Neugeborenen.

### 1.5.2 Konzentrationsabhängiger Effekt von Sotalol bei Kindern

Die sotalolvermittelte Blockade der myokardialen Kaliumkanäle zeigte bei Kindern aller Altersstufen einen konzentrationsabhängigen Effekt. Mit steigender Plasmakonzentration von Sotalol nimmt die Blockade zu, was sich in der linearen Zunahme der QT-Intervallverlängerung im Oberflächen-EKG widerspiegelt. Dies entspricht Erkenntnissen aus Untersuchungen an Erwachsenen. Wang et al.<sup>60</sup> beschrieben 1986 einen konzentrationsabhängigen Klasse III-Effekt von Sotalol. Barbey et al.<sup>61</sup> beobachteten bei Erwachsenen einen Anstieg der QT-Intervallverlängerung linear zur gemessenen Sotalolplasmakonzentration.

Im Laufe der vorliegenden Untersuchungen wurde an einem kleineren Kollektiv bereits ein linearer Zusammenhang zwischen Sotalolkonzentration und QTc-Intervallverlängerung bei Kindern beschrieben<sup>62</sup>. Die Ergebnisse aus den Untersuchungen dieser Arbeit bestätigen diese Beobachtungen.

### 1.5.3 Altersabhängige Unterschiede in der Pharmakodynamik von Sotalol

Vergleicht man die Quantität des Effekts zwischen den verschiedenen Altersgruppen, so zeigt sich, dass Neugeborene in der vorliegenden Studie empfindlicher auf die durch Sotalol vermittelte herzfrequenzkorrigierte QT-Intervallverlängerung reagierten als ältere Patienten (Abb. 9). Die Empfindlichkeit nahm von den Neugeborenen über die Säuglinge bis zu den Kleinkindern von einem halben Jahr ab und blieb dann konstant. Bei älteren pädiatrischen Patienten lagen die Werte für die QT-Intervallverlängerung auf dem Niveau von Erwachsenen. Eine erhöhte Wirksamkeit der antiarrhythmischen Therapie konnte in der Gruppe der Neugeborenen und Säuglinge nicht festgestellt werden, da die Plasmaspiegel bei effektiver Therapie mit denen älterer pädiatrischer Patienten auf gleichem Niveau lagen. Es ist jedoch möglich, dass das Risiko für ein proarrhythmisches Ereignis durch die größere Empfindlich-

---

<sup>60</sup> Wang et al. (1986)

<sup>61</sup> Barbey et al. (1999)

<sup>62</sup> Vgl. Saul et al. (2001a)

keit in dieser Altersgruppe gesteigert ist, da unter gleichen Plasmakonzentrationen stärkere Verlängerungen des QT-Intervalls auftraten als bei älteren pädiatrischen Patienten. Dies müssen folgende Studien klären.

Diese altersabhängige Pharmadynamik erweitert unsere Erkenntnisse aus den erst kürzlich publizierten Untersuchungen an Kindern mit SVT/VT, welche ebenfalls mit Sotalol therapiert wurden<sup>63</sup>: Die Arbeitsgruppe von Saul untersuchte die Pharmakodynamik von Sotalol bei sechs Neugeborenen, acht Säuglingen und Kleinkindern und neun Kindern zwischen zwei und zwölf Jahren. In dieser Untersuchung wurde bei Patienten mit einer Körperoberfläche von weniger als 0,33 m<sup>2</sup> eine stärkere QT-Intervallverlängerung bei gleicher (körperoberflächennormierter) Sotaloldosis im Vergleich zu größeren Patienten festgestellt. Diese Beobachtung wurde von Saul et al. (2001a) einer erhöhten Arzneimittelexposition zugeschrieben, da bei Neugeborenen und Säuglingen der Nierenreifungsprozess noch nicht abgeschlossen ist und Sotalol dementsprechend langsamer eliminiert wird. Ein PK-PD Modelling wurde jedoch nicht durchgeführt. Eine erhöhte Arzneimittelexposition bei Neugeborenen im Vergleich zu Kindern und Jugendlichen bei vergleichbarer Dosis konnte in unseren Untersuchungen bestätigt werden (Abb. 8). Eine stärkere QTc-Intervallverlängerung bei Neugeborenen im Vergleich zu Kindern und Jugendlichen ist jedoch nur zum Teil auf die erhöhte Sotalolexposition durch die langsamere Elimination zu erklären. In unserer Untersuchung zeigten Neugeborene zusätzlich zu der erhöhten Arzneimittelexposition eine deutlich erhöhte Empfindlichkeit gegenüber der sotalolinduzierten QTc-Intervallverlängerung bei gleicher Arzneimittelexposition (Abb. 9 A/B). Bei Neugeborenen tritt demnach bei gleichen Plasmakonzentrationen eine stärkere QTc-Intervallverlängerung als bei älteren pädiatrischen Patienten auf. Dies könnte sowohl eine höhere Effektivität der Therapie bei Neugeborenen als auch ein erhöhtes proarrhythmisches Risiko bedeuten. Für Aussagen diesbezüglich ist jedoch die Patientenzahl in dieser Studie zu gering. Im Gegensatz dazu fanden Shi et al.<sup>64</sup> bei einer populationspharmakokinetisch-pharmakodynamischen Analyse der Daten von Saul et al.<sup>65</sup> keine erhöhte Empfindlichkeit der sotalolinduzierten QTc-Intervallverlängerung. Dies ist möglicherweise bedingt durch die große interindividuelle Variabilität der pharmakodynamischen Daten in Zusammenhang mit einer geringeren Patientenzahl, da in der Untersuchung von Shi et al. bzw. Saul et al. für die pharmakodynamische Analyse nur 22 Patienten zur Verfügung standen, von de-

---

<sup>63</sup> Vgl. Saul et al. (2001a)

<sup>64</sup> Shi et al. (2001)

<sup>65</sup> Saul et al. (2001a)

nen sechs der Gruppe der Neugeborenen zuzuordnen sind. In der vorliegenden Arbeit konnten 32 Patienten pharmakodynamisch analysiert werden, unter ihnen neun Neugeborene, so dass die Patientenzahl sowohl in der Neugeborenenengruppe als auch insgesamt um etwa 50 % erhöht ist. Dies erhöht die Aussagefähigkeit der Ergebnisse.

Die QT-Intervallverlängerung durch Sotalol ist Ausdruck der Blockade von myokardialen Kaliumkanälen, welche für die Repolarisation der Herzmuskelzellen verantwortlich sind. Die Blockade dieser Kanäle führt zu einer Verlängerung des Aktionspotentials, was sich in einer QT-Intervallverlängerung niederschlägt. Verschiedene Kaliumkanäle sind an der Repolarisation der myokardialen Zellen beteiligt. Sotalol blockiert wie das reine Klasse III-Antiarrhythmikum Dofetilid<sup>66</sup> den verzögerten Gleichrichterstrom  $I_{Kr}$  und damit den Kaliumionenkanal HERG. Als Ursache für eine Veränderung der Empfindlichkeit für die Blockade durch Sotalol ist daher ein Reifungsprozess der myokardialen Kaliumkanäle möglich. Daten für Kinder sind jedoch bisher nicht vorhanden. Untersuchungen an Kardiomyozyten unterschiedlicher Spezies haben gezeigt, dass es an dem Ionenkanal HERG zu altersabhängigen Veränderungen bezüglich der Empfindlichkeit kommt<sup>67</sup>. Jedoch sind die Befunde widersprüchlich. Houyel et al. und Moak beobachteten eine erhöhte Empfindlichkeit bei neonatalen Hunden bzw. isolierten neonatalen Purkinjefasern von Hunden. Hingegen fanden Yabek et al. am isolierten Hundemyokard eine herabgesetzte Empfindlichkeit, die sich mit zunehmendem Alter an adulte Werte angleicht. Wang et al.<sup>68</sup> haben an Kardiomyozyten von Mäusen wiederum eine erhöhte Empfindlichkeit bei fetalen im Vergleich zu adulten Zellen gefunden. Als Ursache wird jeweils eine Unreife im Reizleitungssystem des Herzens postuliert. Diese Unreife könnte verschiedene Ursachen haben. Möglich wäre eine geringere Anzahl von funktionell aktiven Kaliumkanälen im Neugeborenen- und Säuglingsalter. Andererseits besteht auch die Möglichkeit einer strukturellen Veränderung mit einer erhöhten Affinität von Sotalol zum Kanal im frühen Kindesalter. Dies herauszufinden bedarf noch einer genauen elektrophysiologischen und molekularbiologischen Untersuchung.

Die Blockade von  $I_{Kr}$  betrifft nicht nur kardial wirksame Arzneistoffe wie Sotalol und Dofetilid. Auch nicht kardial wirksame Substanzen wie Terfenadin, Cisaprid, Erythromycin oder

---

<sup>66</sup> Vgl. Gwilt et al. (1991)

<sup>67</sup> Vgl. Houyel et al. (1992); Moak (1991); Yabek et al. (1988)

<sup>68</sup> Wang et al. (1996, 2000)

Clarithromycin<sup>69</sup> können diesen Kaliumkanal konzentrationsabhängig blockieren und somit eine Verlängerung des QT-Intervalls verursachen, was zu unerwünschten kardialen Arzneimittelwirkungen führen kann. Daher kann eine erhöhte Empfindlichkeit von Neugeborenen und Säuglingen gegenüber einer Blockade von  $I_{Kr}$  bei der Therapie verschiedener Erkrankungen in dieser Altersgruppe eine Rolle spielen. Gerade Erythromycin wird häufig, meist in Form von Säften, in der Pädiatrie angewendet. Vor allem bei Kombinationen von mehreren das QT-Intervall verlängernden Arzneimitteln muss mit proarrhythmischen Effekten gerechnet werden. Deshalb sollten Kombinationen von Arzneistoffen mit QT-intervallverlängerndem Effekt bei Neugeborenen und Säuglingen wenn möglich vermieden werden.

#### 1.5.4 Wirksame Sotalolplasmakonzentrationen bei pädiatrischen Patienten mit tachykarden Herzrhythmusstörungen

Bei 15 Patienten mit SVT im Alter zwischen elf Tagen und 13 Jahren wurden minimale effektive Sotalolplasmakonzentrationen von 0,21 bis 1,05 µg/ml gefunden, wobei die dazugehörigen Spitzenkonzentrationen zwischen 0,29 und 2,0 µg/ml lagen. Bislang gibt es nur bei erwachsenen Patienten Untersuchungen, welche eine Konzentrations-Wirkungsbeziehung für die antiarrhythmische Therapie mit Sotalol belegen<sup>70</sup>. Die  $EC_{50}$  für die Beta-Rezeptorenblockade lag dort bei 0,80 µg/ml, während für einen signifikanten Klasse III-antiarrhythmischen Effekt mit 2,55 µg/ml deutlich höhere Sotalolspiegel notwendig waren. Die in dieser Studie untersuchten 17 Patienten waren jedoch durchschnittlich 55 Jahre alt, hatten ventrikuläre Tachykardien und vielfach zusätzlich eine Herzinsuffizienz. Teilweise waren die Patienten vorher schon mit einem Beta-Rezeptorenblocker erfolglos therapiert worden. Aufgrund dieser Unterschiede ist diese Patientengruppe mit dem vorliegenden Kollektiv von Kindern nicht zu vergleichen und die Ergebnisse nicht auf Kinder übertragbar. Für Kinder selbst existieren solche Untersuchungen bisher nicht.

Ein Einfluss des Patientenalters auf die antiarrhythmische Wirksamkeit der Sotaloltherapie konnte in der Untersuchung nicht beobachtet werden. Aufgrund der verschiedenen pathophysiologischen Ursachen für die diagnostizierte Tachykardie und der geringen Fallzahlen kann hier jedoch keine Aussage über den Einfluss des Patientenalters auf die antiarrhythmische

---

<sup>69</sup> Vgl. Redfern et al. (2002)

<sup>70</sup> Vgl. Wang et al. (1986)

Wirksamkeit gemacht werden. Weitere Studien mit größeren Patientenzahlen sind dafür notwendig.

### 1.5.5 Entwicklung eines altersabhängigen Dosierungsschemas

Mithilfe eines pharmakokinetisch-pharmakodynamischen Modellings wurde ein altersabhängiges Dosierungsschema mit Start- und Zieldosis auf Basis einer 50- und 90-prozentigen Erfolgswahrscheinlichkeit für eine Sotaloltherapie entwickelt. Ein solches Dosierungsschema ist bislang in der Literatur nicht beschrieben. Die bisher verwendeten Dosierungsschemata für die Behandlung tachykarder Herzrhythmusstörungen bei Kindern basierten auf den Daten aus Studien mit Erwachsenen<sup>71</sup> und wurden in Abhängigkeit vom jeweiligen Körpergewicht berechnet, oder es handelte sich um zufällig empirisch gefundene Werte. Erst seit kurzem liegen pharmakokinetische Daten für die Sotaloltherapie bei Kindern vor<sup>72</sup>. Die vorliegenden Ergebnisse ermöglichen daher erstmals eine wissenschaftlich fundierte Therapie von tachykarden Herzrhythmusstörungen bei Kindern mit einem altersabhängigen Dosierungsschema auf der Basis pharmakokinetischer und pharmakodynamischer Daten. Dabei ist jedoch stets der mögliche proarrhythmische Effekt von Sotalol zu berücksichtigen. Aufgrund der erhöhten Empfindlichkeit der Neugeborenen gegenüber der sotalolinduzierten QTc-Intervallverlängerung sowie der langsameren Ausscheidung sollte diese Altersgruppe mit Sotalol nur besonders vorsichtig therapiert werden. Gegebenenfalls sollte auf einen anderen Arzneistoff ausgewichen werden.

---

<sup>71</sup> Vgl. Wang et al. (1986)

<sup>72</sup> Vgl. Læer et al. (2001a) ; Saul et al. (2001a/b)

## 2 *In vitro*-Mikrodialyseuntersuchungen

### 2.1 Intravenöse Mikrodialyse für pharmakokinetische Untersuchungen

#### 2.1.1 Intravenöse Mikrodialyse als Ersatz für Blutentnahmen

Klinisch pharmakokinetisch-pharmakodynamische Untersuchungen, wie sie im vorangegangenen Teil beschrieben wurden, gestalten sich bei pädiatrischen Patienten aufgrund verschiedener Faktoren prinzipiell komplizierter als bei Erwachsenen (Abschnitt 1). Je nach zu untersuchender Krankheit ist die Anzahl an Patienten sehr begrenzt. Dadurch geht zum einen die Motivation für eine Untersuchung nur von wenigen Patienten, Eltern oder Untersuchenden aus. Zum anderen bleibt aber auch die Aussagefähigkeit der Ergebnisse gering. Letzteres wird auch bedingt durch eine geringere Verfügbarkeit von biologischem Untersuchungsmaterial. Maximal 5 ml Blut pro Kilogramm Körpergewicht dürfen einem Kind innerhalb weniger Wochen abgenommen werden<sup>73</sup>. Für eine pharmakokinetische Untersuchung sind jedoch in Abhängigkeit vom jeweils verwendeten pharmakokinetischen Modell wenigstens neun Blutproben (je 1-2 ml) für die Beschreibung der pharmakokinetischen Phasen Aufnahme, Verteilung und Elimination notwendig (drei pro Phase). Bis zum jetzigen Zeitpunkt sind in Deutschland Untersuchungen nur an kranken Kindern zugelassen, die auch einen individuellen Nutzen aus der Untersuchung ziehen sollen<sup>74</sup>. Im Rahmen der Routinediagnostik bei kranken Kindern sind jedoch in der Regel ebenfalls Blutentnahmen notwendig, die dann die ohnehin geringe verfügbare Blutmenge weiter reduzieren oder vollständig aufbrauchen. Die Auswertung weniger Datenpunkte (sparse data sampling) durch eine populationspharmakokinetische Analyse stößt hier an ihre Grenzen, da die Präzision der gewonnenen Daten durch Aufzeichnungsfehler oder Complianceprobleme häufig zu schlecht ist<sup>75</sup>. Die Methode der Mikrodialyse dagegen ermöglicht prinzipiell eine Vielzahl von Proben aus Körperflüssigkeiten ohne die gleichzeitige Entnahme von körpereigenem Material. Eine intravenöse Anwendung dieser Technik umgeht die Limitierung der Messpunkte durch das verfügbare Blutvolumen. Nachdem im ersten Teil dieser Arbeit (Abschnitt 1) die Bedeutung von pharmakokinetisch-pharmakodynamischen Untersuchungen für die Therapie pädiatrischer Patienten näher erläutert wurde, sollte nun eine intravenös anwendbare Mikrodialysemethode zur Vereinfachung solcher Untersuchungen entwickelt werden. Um optimale Bedingungen für eine intravenöse Anwendung dieser Technik zu erhalten, wurde in diesem zweiten Teil der vorliegenden Ar-

---

<sup>73</sup> Vgl. Warkentin (1997)

<sup>74</sup> Vgl. § 40 Abs. 4 S. 1-2 AMG

<sup>75</sup> Vgl. Urquhart (1994)

beit eine *in vitro* Methode zur Bestimmung von Sotalolkonzentrationen aus Vollblut entwickelt. Diese Methode sollte anschließend *in vivo* getestet werden. Für die Entwicklung einer solchen *in vitro* Mikrodialysemethode ergaben sich folgende Fragestellungen:

- Ist die Bestimmung absoluter Sotalolkonzentrationen aus Vollblut mit Mikrodialyse möglich?
- Welches Perfusionsmittel eignet sich für die intravenöse Mikrodialyse?
- Welche Perfusionsgeschwindigkeit muss für die Bestimmung von Sotalol verwendet werden?

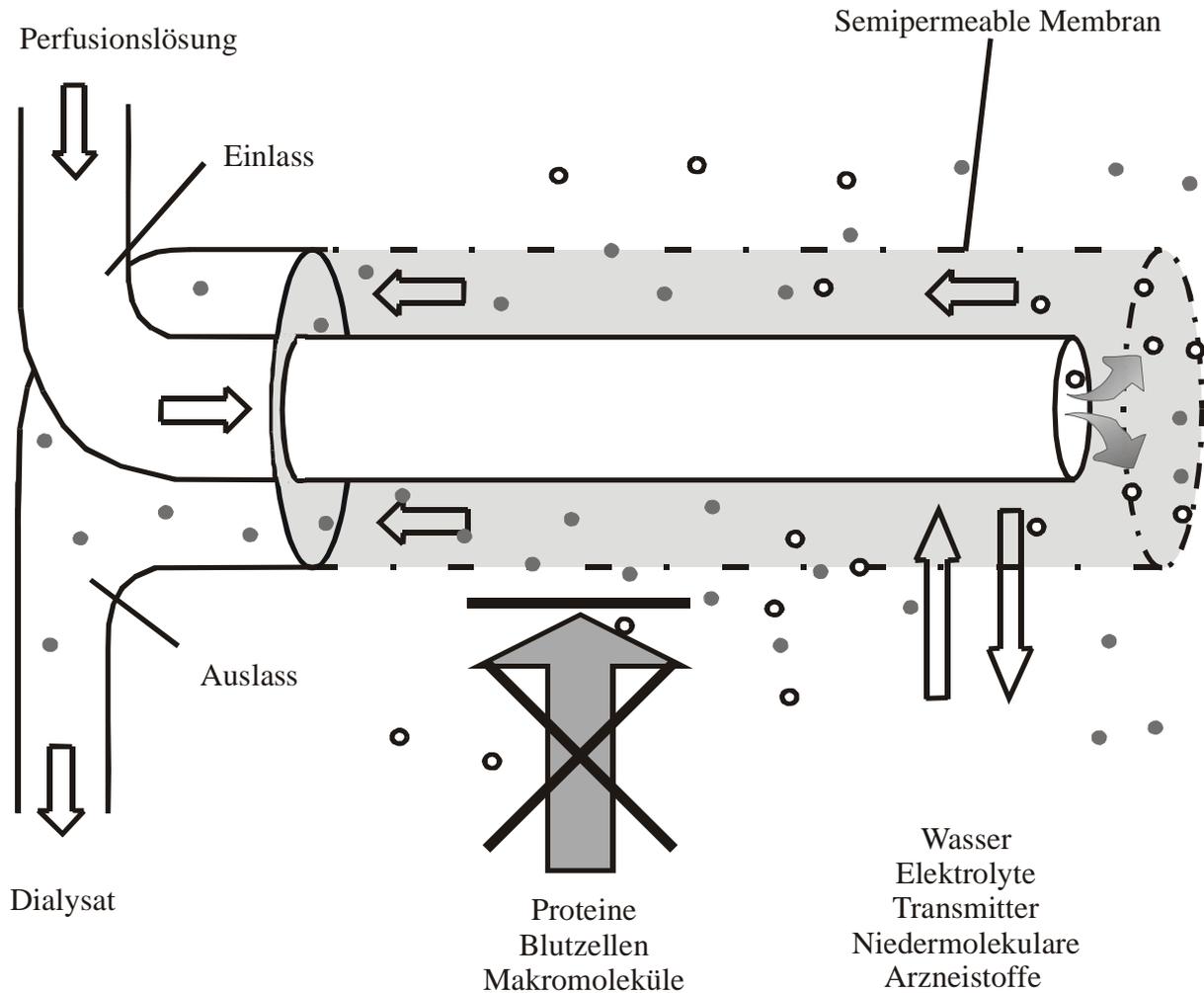
### 2.1.2 Funktionsprinzip Mikrodialyse

Das Prinzip der Mikrodialyse wurde Anfang der 70iger Jahre des letzten Jahrhunderts von dem Schweden Urban Ungerstedt erstmals angewendet<sup>76</sup>. Die Methode wurde zunächst rein experimentell angewendet, vor allem bei Nagern zur Beobachtung von Neurotransmitterbewegungen im zentralen Nervensystem. Seit Ende der 80iger Jahre erfolgt zunehmend auch eine experimentelle Anwendung am Menschen, vorwiegend im zentralen Nervensystem und in peripherem Muskel- und Fettgewebe. In den letzten Jahren wurde die Technik auch im klinischen Alltag angewendet, z. B. in der Neurologie<sup>77</sup>. Mikrodialyse arbeitet nach dem Prinzip der Osmose und ermöglicht die Untersuchung von Flüssigkeiten in nahezu jedem Bereich des Körpers. Verwendet werden schmale Mikrodialysesonden (Abb. 12), welche in das zu untersuchende Gewebe implantiert werden. Die Sonden bestehen aus zwei konzentrischen Röhren. Das Lumen der Sonde wird über eine Pumpe mit einer Perfusionsflüssigkeit durchspült, die der interstitiellen Flüssigkeit des umgebenden Gewebes in ihrer Zusammensetzung möglichst ähnlich ist. Häufig verwendet werden z. B. isotonische Kochsalzlösung oder Ringerlösung. Die Perfusionsflüssigkeit (Perfusat) gelangt über die innere Röhre in die Sonde hinein und über die äußere Röhre wieder heraus. Am Ende der äußeren Röhre befindet sich eine Membran, über die ein Stoffaustausch zwischen umgebender Flüssigkeit und Lumen der Sonde stattfindet. Die Größe der übertretenden Moleküle wird durch die Porengröße der Membran bestimmt (5-20 kD). Die aus der Sonde gelangende Flüssigkeit wird als Dialysat bezeichnet.

---

<sup>76</sup> Vgl. Ungerstedt und Pycock (1974)

<sup>77</sup> Vgl. Müller (2002)



**Abbildung 12** Schematische Zeichnung einer Mikrodialyse-sonde

Zwei konzentrische Röhren bilden die dargestellte Mikrodialyse-sonde. Durch die Einlassröhre wird mithilfe einer Pumpe eine Perfusionslösung ähnlich der interstitiellen Flüssigkeit in die innere Röhre gepumpt. Die Mikrodialyse arbeitet nach dem Prinzip der Osmose. Durch die Membran (gestrichelte Linie) findet der Stoffaustausch mit der Umgebung statt. Kleinere Moleküle wie Elektrolyte, Wasser, Transmitter und (die meisten) Arzneistoffe aus der Umgebung der Sonde (graue Kugeln) oder der Perfusionsflüssigkeit (weiße Kugeln) können im Gegensatz zu Makromolekülen oder Zellen die Membran ungehindert passieren. Am Auslass wird die Perfusionslösung als Dialysat zeitlich fraktioniert gesammelt.

Das gebildete Dialysat wird in zeitlichen Fraktionen gesammelt und anschließend analysiert<sup>78</sup>. Meistens ist für die Analyse keine weitere Aufarbeitung notwendig, da Proteine und andere Makromoleküle die Membran nicht passieren können. Idealerweise diffundieren die Analyten bis zum vollständigen Konzentrationsausgleich. Dies ist jedoch in der Praxis häufig nicht möglich. Limitierende Faktoren auf der Seite der Mikrodialyse sind die Durchlässigkeit der Membran je nach Porengröße und die Geschwindigkeit, mit der die Perfusionslösung durch

<sup>78</sup> Vgl. Ungerstedt (1997)

die Sonde fließt. Ein weiterer Faktor ist der spezifische Diffusionskoeffizient der betrachteten Substanz, welcher durch die jeweilige Teilchengröße mitbestimmt wird. Auch die Gewebeart, in welche die Sonde implantiert wird, beeinflusst durch die Menge an interstitieller Flüssigkeit die Diffusion in die Mikrodialyse-sonde. Die anteilige Konzentration eines Analyten im Dialysat an der tatsächlichen Konzentration im umgebenden Gewebe wird relative Wiederfindung genannt und nachfolgend nur als Wiederfindung bezeichnet. Es sei aber erwähnt, dass die absolute Wiederfindung die gesammelte Stoffmenge unabhängig von der Konzentration benennt.

Für die quantitative Bestimmung von Substanzen in Geweben mit Hilfe der Mikrodialyse ist es von entscheidender Bedeutung, die Wiederfindung (recovery) der untersuchten Substanz zu bestimmen. Um die Wiederfindung einer Substanz zu bestimmen sind verschiedene Kalibriermethoden etabliert worden. Die *No Net Flux*-Methode gehört zu den am häufigsten angewendeten Kalibriermethoden<sup>79</sup>. Dabei werden durch die bereits implantierte Mikrodialyse-sonde vor Beginn der Untersuchung Perfusionslösungen mit unterschiedlichen Konzentrationen der zu untersuchenden Substanz gepumpt. Verändert sich die Konzentration in einer Perfusionslösung nicht, so entspricht diese der tatsächlichen Konzentration. Mit den Verhältnissen zwischen Perfusatkonzentration und Dialysatkonzentration wird eine lineare Regression durchgeführt. Die Steigung der resultierenden Geraden entspricht dabei der Wiederfindung. Eine weitere Methode ist die Retrodialyse. Bei dieser Methode wird ebenfalls vor Beginn der Untersuchung eine Perfusionslösung mit der zu untersuchenden Substanz gepumpt. Da die Diffusion durch eine Membran in beide Richtungen im gleichen Ausmass verläuft, lässt sich aus der Auswärtsdiffusion (Retrodialyse) auf die Einwärtsdiffusion schließen. Mit einem internen Standard zur Bestimmung der Wiederfindung, wie es Wong et al.<sup>80</sup> bei Mikrodialyseuntersuchungen im zentralen Nervensystem von Kaninchen verwendet haben, kann für jedes einzelne Dialysat die Wiederfindung bestimmt werden. Wong et al. hatten in ihren Versuchen dem Perfusat einen der untersuchten Substanz in ihren physikochemischen Eigenschaften ähnlichen Stoff zugefügt und aus der Auswärtsdiffusion im Sinne einer Retrodialyse die Wiederfindung bestimmt. Auf dieses Prinzip wurde bei der vorliegenden Untersuchung zurückgegriffen.

---

<sup>79</sup> Vgl. Wang et al. (1993)

<sup>80</sup> Wong et al. (1992)

Hauptvorteil der Mikrodialyse ist ihre geringe Invasivität. Zwar muss eine Mikrodialysesonde in das zu untersuchende Gewebe implantiert werden, aber es wird weder Gewebe noch Flüssigkeit entnommen. Auch die durch Mikrodialyse entstehenden Gewebeschäden sind sehr gering. Daraus resultiert die Möglichkeit, Konzentrationen von Arzneistoffen oder endogenen Substanzen in Geweben über einen längeren Zeitraum zu beobachten, wie es beispielsweise bei der Betrachtung von Stoffwechselferänderungen im Muskelgewebe notwendig ist. Bisher ist es ausschließlich möglich gewesen, über einzelne Biopsien Informationen über Stoffkonzentrationen in Geweben zu erhalten. Weiterhin wird per Mikrodialyse nur die proteinungebundene Fraktion eines Arzneistoffs gesammelt. Da nur der ungebundene Anteil auch verantwortlich für die Wirkung eines Arzneistoffs ist, eignet sich die Mikrodialyse besonders gut für ein PK-PD-Modelling. Dies wurde bei Untersuchungen mit Antibiotika bereits gezeigt<sup>81</sup>. Aus diesen Gründen ist eine intravenöse Anwendung der Mikrodialyse vorteilhaft gegenüber der konventionellen Bestimmung der Plasmakonzentrationen.

### 2.1.3 Anwendungsmöglichkeiten der Mikrodialyse

Mikrodialysesonden können praktisch in jedes Körpergewebe implantiert werden. Früher ausschließlich experimentell eingesetzt, findet die Methode jetzt vermehrt auch Anwendung in klinischen Aufgabenfeldern<sup>82</sup>. Beispielsweise ist es mit dieser Technik gelungen, intrazerebrale Stoffwechselprozesse bei Patienten mit Kopfverletzungen zu beobachten und dadurch schwere Folgeschäden zu verhindern<sup>83</sup>. Die Überwachung solcher Patienten mit intrazerebraler Mikrodialyse ist daher auf schwedischen Intensivstationen bereits Routine geworden. Bolinder et al.<sup>84</sup> gelang mit Hilfe subkutaner Mikrodialyse die kontinuierliche Bestimmung von Glukosekonzentrationen. Dadurch konnte die Insulinversorgung von schwer einstellbaren Diabetikern stationär optimiert werden. Auch bei intensivmedizinisch versorgten Säuglingen hilft die subkutane Mikrodialyse, frühzeitig Stoffwechselentgleisungen wie niedrige Glukosespiegel zu erfassen und so Folgeschäden zu vermeiden<sup>85</sup>.

Nur wenige intravenöse Mikrodialyseuntersuchungen wurden bislang am Menschen durchgeführt<sup>86</sup>. In diesen Untersuchungen wurden endogene Parameter wie Serotoninplasmakon-

---

<sup>81</sup> Vgl. Liu et al. (2002)

<sup>82</sup> Vgl. Müller (2002)

<sup>83</sup> Vgl. Ståhl et al. (2001)

<sup>84</sup> Vgl. Bolinder et al. (1993)

<sup>85</sup> Vgl. Baumeister et al. (2001)

<sup>86</sup> Vgl. Páez und Hernandez (1998); Stjernström et al. (1993); Castejon et al. (1999)

zentrationen<sup>87</sup> oder Laktat-, Pyruvat- und Glukoseplasmakonzentrationen<sup>88</sup> gemessen. Pharmakokinetische Fragestellungen wurden bislang nicht untersucht.

Für kleine Tiere (vorwiegend Ratten) wurde die intravenöse Mikrodialyse kürzlich zur Bestimmung pharmakokinetischer Parameter entdeckt<sup>89</sup>, wobei die Motivation für die Anwendung dieser Technik hier ebenfalls die Einsparung von Blutentnahmen war. Da bei Ratten eine ausreichende Probenanzahl für ein pharmakokinetisches Profil durch Blutproben nicht erreichbar ist, wurde bisher aus den Daten mehrerer Ratten ein Profil zusammengesetzt. Dies hat den Nachteil, dass interindividuelle Differenzen die Ergebnisse verfälschen können. Intravenöse Mikrodialyse ermöglicht nun das kontinuierliche Sammeln von Arzneistoffkonzentrationen und damit die Bestimmung der Pharmakokinetik eines Arzneistoffs bei einer einzelnen Ratte<sup>90</sup>. Jedoch wurde auch hier auf eine durchgängige Kontrolle der Wiederfindung verzichtet, so dass Änderungen in der Wiederfindung nicht auszuschließen sind.

#### 2.1.4 Ziel der Untersuchungen

In diesem Teil der vorliegenden Arbeit sollte eine Testapparatur zur Bestimmung von Bedingungen für eine intravasale Mikrodialysemethode konstruiert werden. Diese Apparatur sollte zur Entwicklung einer Mikrodialysemethode zur intravenösen Bestimmung von Sotalol dienen. Zwar haben Vergleiche zwischen Untersuchungen mit künstlicher Zerebrospinalflüssigkeit in *in vitro*-Gefäßen und *in vivo*-Mikrodialyseexperimenten im Hirngewebe gezeigt, dass die Wiederfindung *in vitro* und *in vivo* nicht identisch ist<sup>91</sup>. Jedoch im Unterschied zu Untersuchungen in Geweben wie Hirn oder Muskel, bei denen die Zellen eine Diffusionsbarriere darstellen, welche *in vitro* nur schlecht zu simulieren ist, können *in vitro*-Untersuchungen für intravenöse Zwecke im „Originalmedium“ Blut durchgeführt werden. Daher wird erwartet, dass die Wiederfindung von *in vitro*-Mikrodialyseexperimenten in Blut vergleichbar mit intravenösen *in vivo*-Untersuchungen ist. Falls dies nicht der Fall sein sollte, so ist dennoch eine *in vitro* Bestimmung optimaler Bedingungen notwendig, bevor die Anwendung am Menschen stattfinden kann. Als Pilotsubstanz wurde Sotalol verwendet. Sotalol eignet sich aufgrund seiner physikochemischen Eigenschaften besonders gut für die Etablierung einer intravenösen Mikrodialysemethode zur Bestimmung von pharmakokinetischen Parametern. Seine fehlende

---

<sup>87</sup> Vgl. Páez und Hernandez (1998); Castejon et al. (1999)

<sup>88</sup> Vgl. Stjernström et al. (1993)

<sup>89</sup> Vgl. Opezzo et al. (2001); Höcht et al. (2003); Höcht et al. (2004)

<sup>90</sup> Vgl. Opezzo et al. (2001); Höcht et al. (2003)

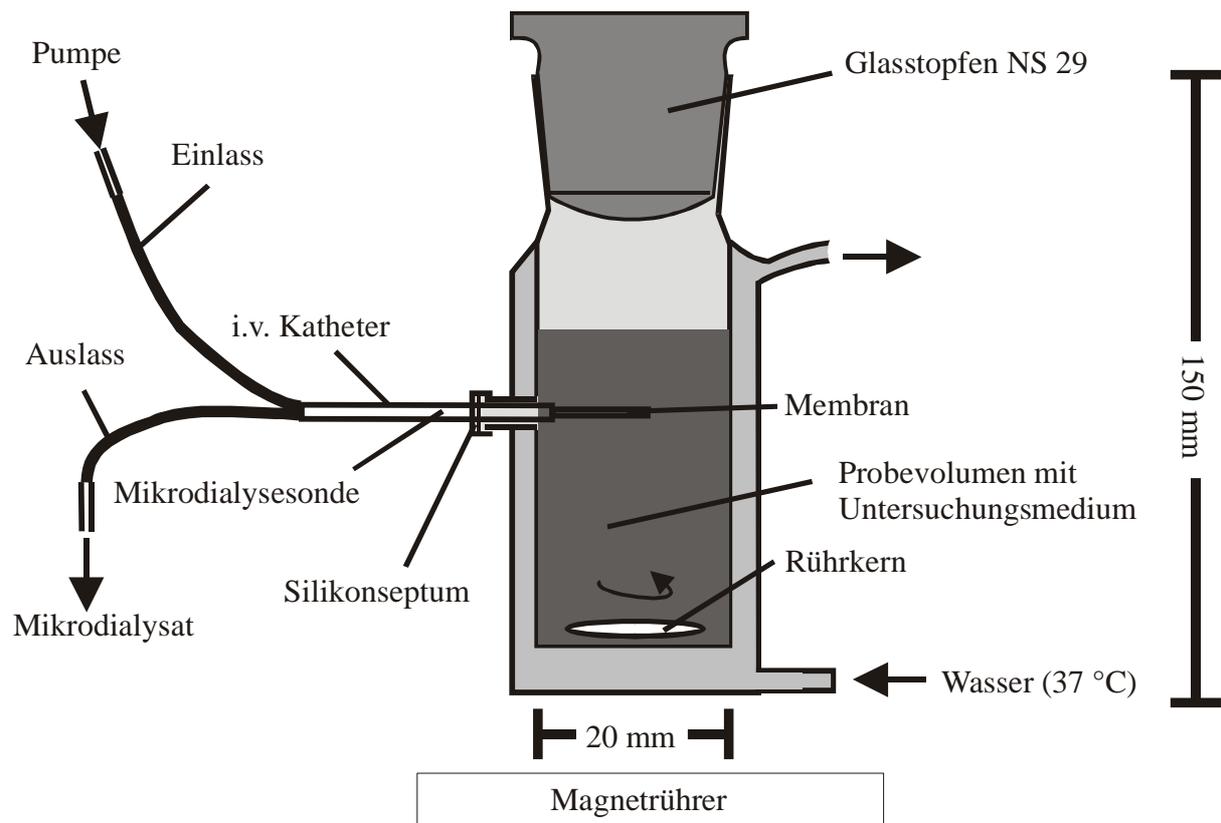
<sup>91</sup> Vgl. Glick et al. (1994)

Bindung an Plasmaproteine lässt den Arzneistoff ungehindert durch die Membran der Mikrodialysesonde diffundieren. Dies erleichtert die anschließende Analytik, da höhere Konzentrationen in der Perfusionsflüssigkeit erreicht werden. Außerdem wird die Substanz nicht metabolisiert, so dass keine Metaboliten mitbestimmt werden müssen.

## 2.2 *In vitro*-Mikrodialyse: Methoden

### 2.2.1 *In vitro*-System Mikrodialysezelle

Um die Übertragbarkeit der *in vitro*-Ergebnisse auf die *in vivo*-Bedingungen zu gewährleisten, wurde das *in vitro*-Testsystem Mikrodialysezelle (Abb. 13) so konzipiert, dass die Bedingungen in der Zelle eng an die *in vivo* vorherrschenden Bedingungen angelehnt sind. Da die Mikrodialysezelle inert gegenüber verschiedensten Inhaltsstoffen in den Untersuchungsmedien sein sollte, wurde sie aus Glas gefertigt.



**Abbildung 13** Schematische Darstellung der Mikrodialysezelle

Mikrodialysezelle zur *in vitro*-Bestimmung von Mikrodialysebedingungen für *in vivo*-Untersuchungen. Die Mikrodialysezelle ist ein doppelwandiges Glasgefäß mit integrierter Wasserheizung und einem Probevolumen von maximal 20 ml (Innendurchmesser 20 mm). In dieses Probevolumen wurden Ringerlösung, Plasma oder Vollblut gefüllt und mittels Rührkern gerührt. Die Mikrodialysesonde wurde seitlich über einen intravenösen Katheter (i.v.-Katheter) in das Probevolumen eingeführt. Zum Schutz vor Verdunstung war die Zelle mit einem Glasstopfen verschlossen. Über den Einlass wurde die Perfusionslösung in die Mikrodialysesonde hineingepumpt und am Auslass als Dialysat fraktioniert gesammelt.

Notwendige Bedingung für die Mikrodialysezelle war eine Temperierbarkeit auf Körpertemperatur (37 °C). Daher wurde die Mikrodialysezelle doppelwandig konstruiert und an ein temperiertes Wasserbad angeschlossen. Eine kontinuierliche Durchmischung des Untersu-

chungsmediums war ein weiterer wichtiger Aspekt, damit zwischen Innen- und Außenseite der Membran der Sonde, wie im intravenösen Blutstrom, stets ein Konzentrationsgradient herrschte. Dies wurde durch die Verwendung eines Rührkerns in Verbindung mit einem Magnetrührer unter der Mikrodialysezelle erreicht. Außerdem musste das Testsystem die einfache Einführbarkeit einer Mikrodialysezelle ermöglichen. Zu diesem Zweck wurde ein Einführkanal seitlich an die Mikrodialysezelle angebracht und mit einem Silikonseptum verschlossen, so dass Venenverweilkatheter unterschiedlicher Größen zur Einführung verschiedener Sonden verwendet werden konnten. Das Probevolumen wurde mit maximal 20 ml möglichst gering gehalten, da als Untersuchungsmedium auch Vollblut verwendet werden sollte und die Verfügbarkeit hier gering ist.

### 2.2.2 Untersuchungsmedien

In das Probevolumen der Mikrodialysezelle wurden verschiedene Untersuchungsmedien gegeben. Zunächst wurde Ringerlösung (Delta Pharma, Pfullingen) als Medium gewählt, um die Diffusionseigenschaften von Sotalol durch die Membran der Sonde zu untersuchen. In einem zweiten Schritt wurde Blutplasma als Medium verwendet, und als letzter Schritt Vollblut. Das Vollblut wurde gesunden Freiwilligen entnommen und sofort verwendet. Wirkstofffreies Plasma aus der Blutbank des Universitätsklinikums Hamburg-Eppendorf wurde bei  $-80\text{ °C}$  gelagert und vor den Versuchen bei  $37\text{ °C}$  aufgetaut. Das eingefüllte Volumen betrug 15,0 ml. Zu dem jeweiligen Untersuchungsmedium wurden 300  $\mu\text{l}$  der SotalolstammLösung (57,5  $\mu\text{g/ml}$ ) hinzugegeben. Dies ergab eine Sotalolkonzentration von 1,15  $\mu\text{g/ml}$ , welche im therapeutischen Bereich von Sotalol für Erwachsene liegt<sup>92</sup>.

### 2.2.3 Verwendete Mikrodialysesonden

Zwei verschiedene Mikrodialysesonden wurden verwendet. Da das Ziel der Methode eine intravenöse Anwendung am Neugeborenen und Säugling war, wurde der Durchmesser der Sonde möglichst gering gewählt. Die zunächst verwendeten Sonden besaßen eine Polyamidmembran (PA) mit einem molekularen Cut-off von 20 kD und hatten einen Durchmesser von 0,6 mm. Der Schaft der Sonde hatte einen Durchmesser von 0,9 mm. Der zweite Sondentyp besaß eine Cuprophanmembran (CUP) mit einem Cut-off von 6 kD und einem Durchmesser von 0,24 mm (Schaftdurchmesser 0,24 mm). Beide Membranen waren 20 mm lang.

---

<sup>92</sup> Vgl. Wang et al. (1986)

#### 2.2.4 Perfusionslösungen und Zugabe von Dextran

Die Auswahl der Perfusionslösung ist von entscheidender Bedeutung für die Durchführung einer Mikrodialyseuntersuchung. Die Perfusionslösung sollte der umgebenden Flüssigkeit möglichst ähnlich in ihrer Zusammensetzung und osmotischen Aktivität sein. Ist die Perfusionslösung hypoosmotisch im Vergleich zur Umgebung, so kommt es zu einer Überflutung der Sonde mit dem umgebenden Medium, was zu einer erhöhten Dialysatmenge im Vergleich zur erwarteten Menge führt. Andererseits ergibt eine hypoosmotische Perfusionslösung eine geringere Dialysatmenge durch einen Abzug der Perfusionslösung aus der Sonde<sup>93</sup>. Beides kann sich ungünstig auf den Diffusionsausgleich der untersuchten Substanz zwischen Perfusionslösung und umgebendem Medium auswirken, da durch die Bewegungen anderer Moleküle der Ausgleichsprozess der untersuchten Substanz gestört wird. In der vorliegenden Untersuchung wurde als Perfusionslösung Ringerlösung gewählt. Ringerlösung ist eine isotonische Elektrolytlösung, welche z. B. zur Volumenersatztherapie bei Dehydratation oder auch als Trägerlösung für Arzneistoffe zur Injektion und Infusion eingesetzt wird, und erschien daher geeignet für die intravasale Mikrodialyse.

Die ersten Mikrodialyseuntersuchungen in Plasma und Vollblut zeigten einen deutlichen Verlust an Perfusionslösung. Ursache hierfür ist wahrscheinlich der Proteingehalt von Plasma bzw. Vollblut. Da Proteine eine Vielzahl osmotisch aktiver Funktionalitäten wie z. B. Hydroxyl-, Carbonsäure- oder Aminogruppen enthalten, bilden sie große Hydrathüllen und üben somit einen osmotischen Druck, den sogenannten kolloidosmotischen Druck, aus. Aufgrund ihrer Molekülgröße ist es ihnen jedoch nicht möglich, durch die Poren von Membranen zu diffundieren. Dies hat zur Folge, dass ihrem kolloidosmotischen Druck Wassermoleküle nachfolgen, was einen Verlust an Perfusionslösung zur Folge hat. Um den kolloidosmotischen Druck auszugleichen wurde der Ringerlösung 4 % Dextran 70 hinzugefügt<sup>94</sup>. Dextran 70 hat eine mittlere Molekülgröße von 70 kD und ist deshalb ebenfalls nicht in der Lage, die Membran der Mikrodialysesonde zu überwinden. Aufgrund seiner zahlreichen alkoholischen Gruppen ist es osmotisch aktiv und kann daher dem kolloidosmotischen Druck der Proteine in Plasma und Vollblut entgegenwirken.

---

<sup>93</sup> Vgl. Rosdahl et al. (1997)

<sup>94</sup> Vgl. Rosdahl et al. (1997); Hamrin et al. (2002)

### 2.2.5 Versuchsanordnung, Versuchsdurchführung und Validierung

Alle *in vitro*-Mikrodialyseversuche wurden in der Mikrodialysezelle mit demselben Versuchsaufbau und nach demselben Versuchsprotokoll durchgeführt. Die gesamte Mikrodialyseanrüstung wurde genau auf eine Höhe gebracht, da bei unterschiedlicher Höhe z. B. von Mikrodialysepumpe und Sonde hydrostatische Druckdifferenzen entstehen. Dies kann zu Schwankungen der Dialysatmenge führen, was sich störend auf die Diffusion auswirkt<sup>95</sup>.

Die Mikrodialysezelle wurde zunächst mit Hilfe eines Wasserbades auf 37 °C temperiert. Anschließend wurde das jeweilige Untersuchungsmedium mit einer Sotalolkonzentration von 1,15 µg/ml in das Probevolumen gefüllt. Die Sonde wurde 10 Minuten bei einer Perfusionsgeschwindigkeit von 10 µl/min mit Perfusionslösung blasenfrei durchspült und danach mindestens 30 Minuten bei der zu verwendenden Perfusionsgeschwindigkeit perfundiert. Danach wurde die Sonde über einen Venenverweilkatheter (18 G, PA Sonde; 24 G, CUP Sonde) durch das Silikonseptum in das Probevolumen eingeführt. Es folgte eine Äquilibrationsphase von 30 Minuten, um das Totvolumen der Sonde zu spülen und ein Diffusionsgleichgewicht an der Membran zu erreichen (Totvolumen = Volumen zwischen Membran und Probenauslass). Dies ist notwendig, um Konzentrationsverfälschungen im ersten Dialysat zu vermeiden. Das Dialysat wurde in 0,5 ml-Eppendorfgläsern gesammelt, welche mittels Fraktionssammler gewechselt wurden. Die Dialysate wurden gewogen und aus dem Gewicht und der Dichte der Perfusionslösung wurde die Dialysatmenge berechnet. Anschließend wurden die Dialysate bis zur Analyse bei -80 °C eingefroren.

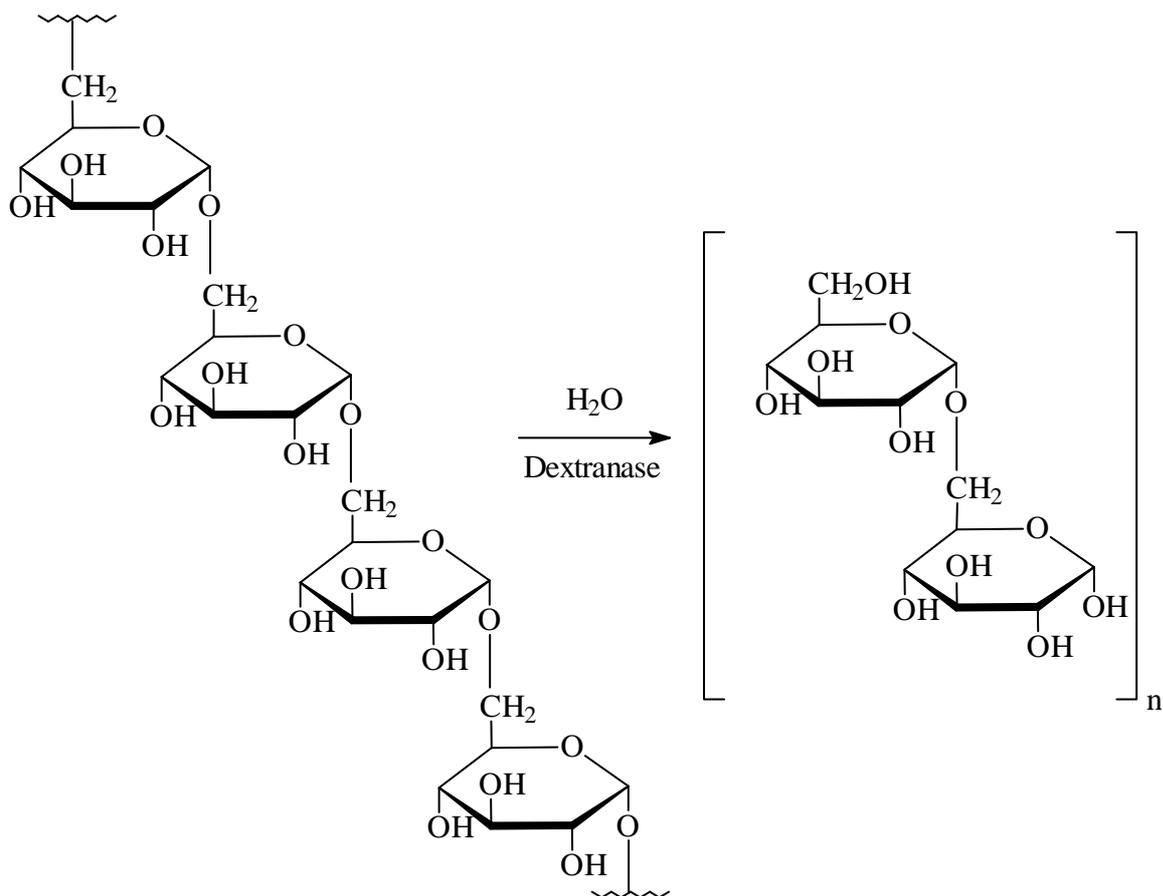
Um die Mikrodialysemethode zu validieren, mussten die Richtigkeit und Präzision der Mikrodialysatkonzentrationen und der Dialysatmengen überprüft werden. Dafür wurden in jedem Untersuchungsmedium jeweils sechs Mikrodialysate bei fünf verschiedenen Perfusionsgeschwindigkeiten (0,3, 0,5, 1,0, 2,0 und 5,0 µl/min) über je 35 Minuten gesammelt und analysiert. Dieser Prozess wurde an drei verschiedenen Tagen durchgeführt, so dass insgesamt 18 Proben pro eingestellter Perfusionsgeschwindigkeit in jedem Untersuchungsmedium zur Verfügung standen. Alle Versuche wurden einmal ohne und einmal mit Dextranszusatz durchgeführt. An jedem Versuchstag und für jedes Medium wurde eine neue Mikrodialysesonde verwendet.

---

<sup>95</sup> Vgl. Hamrin et al. (2002)

### 2.2.6 Enzymatischer Dextranabbau und –nachweis

Für das Erreichen adäquater Dialysatmengen war der Zusatz von Dextran zur Perfusionslösung notwendig (Abschnitt 2.2.4). Dextran kann jedoch als Makromolekül das Kapillarsystem und die Säule der HPLC-Anlage verstopfen und musste daher vor der Analyse wieder aus den Dialysaten entfernt werden. Dies sollte durch enzymatischen Verdau mit Dextranase erreicht werden. Dextranase spaltet hydrolytisch die 1,6-glykosidische Verknüpfung zwischen den Glukosebausteinen des Dextrans bis zum Disaccharid Isomaltose (Abbildung 14). Die zugegebene Menge an Enzym sollte dabei möglichst gering sein, da es sich auch bei Dextranase um ein Makromolekül handelt, welches zum Verstopfen des HPLC-Systems führen könnte. Gleichzeitig sollte die Inkubationszeit möglichst kurz sein, um für die Anwendung der Mikrodialysemethode für Studienzwecke und Therapiesteuerung beim Menschen möglichst schnelle Ergebnisse zu erzielen.



**Abbildung 14** Struktur und Abbau von Dextran

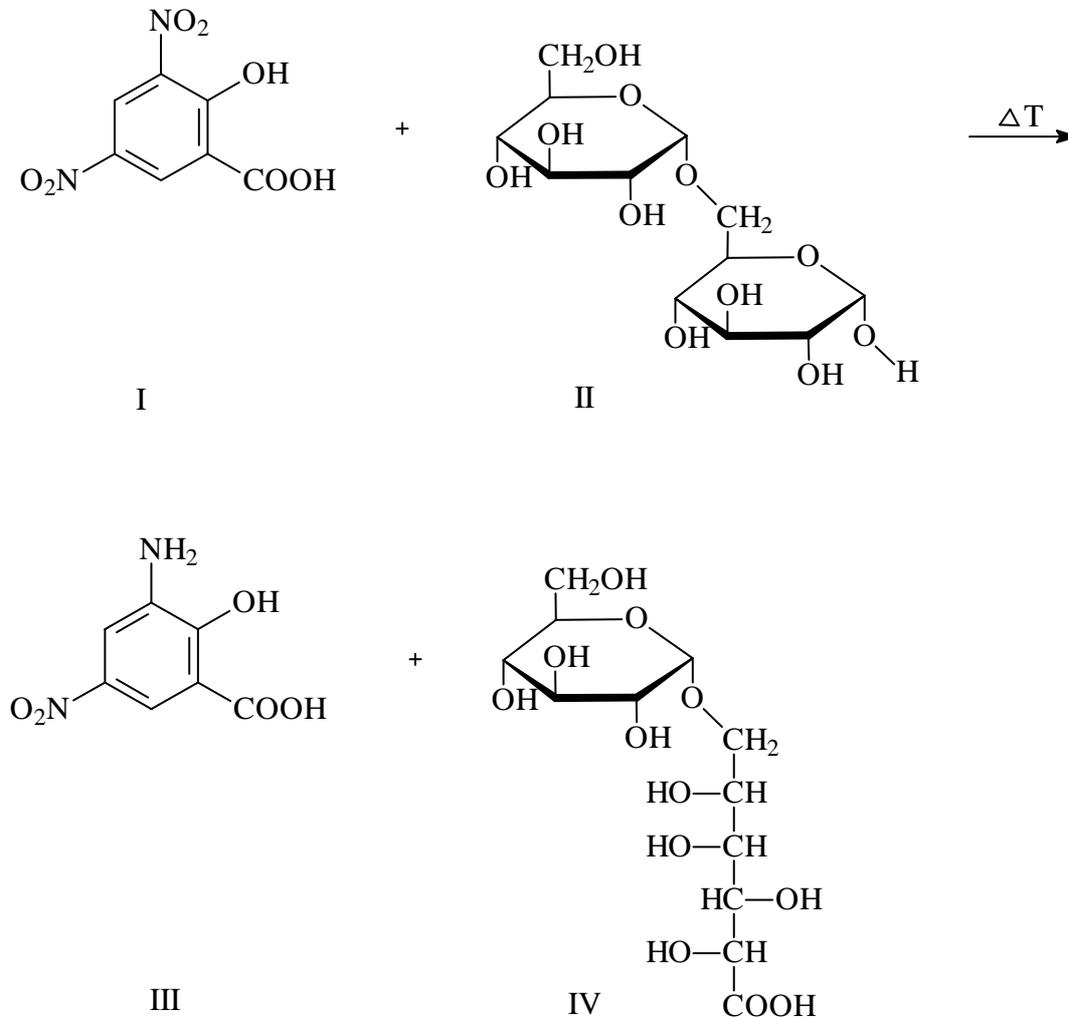
Struktur des Glucans Dextran (I) und dessen enzymatischer Abbau mit Dextranase zum Disaccharid Isomaltose (II). Der Abbau erfolgte bei 37 °C in bidestilliertem Wasser. Zahlreiche hier nicht aufgeführte Oligosaccharide unterschiedlicher Molekülgröße treten als Zwischenprodukte auf.

Um die optimale Dauer des Verdauungsprozesses bestimmen zu können, wurde über Zeiträume von einer halben Stunde bis zu 24 Stunden eine Verdauung durchgeführt. Der Fortschritt des Verdauungsprozesses wurde photometrisch gemessen. Dazu wurden jeweils 0,95 ml einer Ringerlösung mit 4 % Dextranzusatz mit 0,05 ml DextranaseLösung (2 U/ml, in bidestilliertem Wasser) versetzt. Jede Messlösung bekam eine Blindlösung ohne Dextranasezusatz zugeordnet. Beide Ansätze wurden dann über den gleichen Zeitraum bei 37 °C inkubiert. Nach der jeweiligen Inkubationszeit wurde zu beiden Ansätzen je 1,0 ml einer wässrigen Lösung aus 0,05 mM 3,5-Dinitrosalicylsäure und 1 M Kaliumnatriumtartrat hinzugefügt und die Lösungen für 15 Minuten vorsichtig im Wasserbad erhitzt. Nach Abkühlen der Lösungen auf Raumtemperatur unter fließendem Wasser wurde mit 10 ml destilliertem Wasser verdünnt. Von diesen Lösungen wurde dann die Absorption bei einer Wellenlänge von 540 nm gemessen und die Differenz zwischen Mess- und Blindlösung ermittelt. Änderte sich die Differenz der Werte nicht mehr, so wurde der Verdauungsprozess als beendet interpretiert.

Die nach der Inkubationszeit zugegebene 3,5-Dinitrosalicylsäure oxidiert die Aldehydfunktion der aus dem Dextran entstandenen Isomaltose und Oligosaccharide zur Carbonsäure und wird dabei zu 3-Amino-5-nitrosalicylsäure reduziert (Abb. 15). Die Bildung von 3-Amino-5-nitrosalicylsäure ist proportional zum Anteil des verdauten Dextrans. Daher kann der Fortgang des Verdaus über die Konzentrationsbestimmung von 3-Amino-5-nitrosalicylsäure bestimmt werden. Dazu wird die Absorption von 3-Amino-5-nitrosalicylsäure bei einer Wellenlänge von 540 nm gemessen.

Zur Optimierung der hinzugefügten Enzymmenge wurden Dextranaselösungen unterschiedlicher Konzentrationen (1, 2, 3 ... 10, 20, 30, 40 ... 200 U/ml) in doppelt destilliertem Wasser hergestellt. Je 0,5 ml dieser Lösungen wurden zu 0,5 ml einer Ringerlösung mit 4 % Dextran in ein 2,0 ml-Eppendorfgefäß gegeben. Anschließend erfolgte ein Verdaus über zwölf Stunden bei 37 °C in einem Schüttler (100 U/min). Von der verdauten Lösung wurden 2 µl auf eine Dünnschichtplatte (Silica Gel 60) aufgetragen. Als Referenzsubstanzen wurden Isomaltose und Dextran verwendet. Die nachfolgende Trennung der Inhaltstoffe wurde mit einem Fließmittelgemisch aus Butanon (60 %), Eisessig (20 %) und Methanol (20 %) auf einer Laufstrecke von 10 cm durchgeführt. Die Detektion erfolgte mit einer 1:1-Lösung aus ethanolischer Naphthoresorcinlösung (0,2 %) und Schwefelsäure (20 %) mit nachfolgendem fünfminütigen Erhitzen auf 110 °C. Die DC-Platten wurden visuell ausgewertet. Erwartet wurde eine Zu-

nahme der Abbauprodukte von Dextran mit zunehmender Enzymkonzentration bis zu einem Maximum, nach dem keine oder nur noch geringfügige Veränderungen auftreten. Die im Maximum verwendete Enzymkonzentration sollte für die nachfolgenden Versuche verwendet werden.



**Abbildung 15** Quantifizierung des Dextranabbaus

Nachweisreaktion zur semiquantitativen Bestimmung des Dextranabbauproduktes Isomaltose (II) mit 3,5-Dinitrosalicylsäure (I) unter Zugabe von Natriumkaliumtartrat und Wärmeeinwirkung zu 3-Amino-5-nitrosalicylsäure (III) und  $\alpha$ -D-Glucopyranosyl-D-gluconsäure (IV). Die Absorption von 3-Amino-5-nitrosalicylsäure wird bei 540 nm gemessen.

Um zu überprüfen, ob die Zugabe von Dextran und der anschließende Verdau mit Dextranase Auswirkungen auf die Sotalol- und Atenololkonzentration der Dialysate hat, wurden Lösungen aus den Sotalol- und Atenololstandard-HPLC-Lösungen hergestellt (2,88  $\mu\text{g/ml}$  Sotalol, 2,61  $\mu\text{g/ml}$  Atenolol). Eine Lösung wurde mit 4 % Dextran versetzt. 0,5 ml dieser Lösung

wurden anschließend mit 0,5 ml Dextranlösung (10 U/ml) vermischt und über zwölf Stunden bei 37 °C verdaut. Die dextranfreie Lösung wurde lediglich mit Wasser 1:1 verdünnt. Im Anschluss wurden die Arzneistoffkonzentrationen bestimmt und verglichen. Es ergaben sich keine Unterschiede in den Konzentrationen der Lösungen ( $n = 20$ ,  $p_{\text{Sotalol}} = 0,225$ ,  $p_{\text{Atenolol}} = 0,522$ ). Die Zugabe von Dextran mit anschließendem Verdau beeinflusste die Sotalol- und Atenololkonzentration in den Dialysaten demnach nicht.

### 2.2.7 Bestimmung der Sotalolkonzentration im Mikrodialysat

Die Mikrodialysate wurden nach dem enzymatischen Verdau mit derselben HPLC-Methode analysiert wie die Festphasenextrakte der Plasmaproben (Abschnitt 1.2.8). Die Konzentration ( $C$ ) von Sotalol in den Mikrodialysaten wurde bestimmt, indem die Peakfläche des Sotalolpeaks in Relation zu einem externen Standard mit bekannter Sotalolkonzentration gebracht wurde. Folgende Formel wurde dazu verwendet:

$$C_{\text{Probe}} [\mu\text{g/ml}] = C_{\text{Standard}} [\mu\text{g/ml}] \cdot \frac{\text{Peakfläche}_{\text{Probe}}}{\text{Peakfläche}_{\text{Standard}}}$$

Der externe Standard wurde nach je zehn Proben erneut analysiert, um die Gleichmäßigkeit der Standardpeaks zu überprüfen. Die Wiederfindung von Sotalol im Dialysat wurde aus der Mikrodialysatkonzentration und der Konzentration im Medium berechnet:

$$\text{Wiederfindung}_{\text{Sotalol}} [\%] = \frac{C_{\text{Sotalol Mikrodialysat}} [\mu\text{g/ml}]}{C_{\text{Sotalol Medium}} [\mu\text{g/ml}]} 100 [\%]$$

*In vivo* könnte die Wiederfindung von Sotalol unter 100 % betragen könnte, und auch Veränderungen in der Wiederfindungsrate, beispielsweise durch Änderungen im Blutfluss, sind möglich<sup>96</sup>. Daher konnte die Bestimmung *in vivo* nicht über einen externen Standard erfolgen. Um absolute Sotalolkonzentrationen zu bekommen, müssen solche Veränderungen jedoch erkannt und berücksichtigt werden. Daher wurde die Möglichkeit der Verwendung von Atenolol als internem Standard in der Perfusionsflüssigkeit geprüft. Zu diesem Zweck wurden der Perfusionsflüssigkeit Sotalol und Atenolol zugefügt, so dass sich eine Konzentration von jeweils 1,0  $\mu\text{g/ml}$  ergab. Diese Konzentrationen wurden gewählt, da sie etwa vergleichbar sind mit den zu erwartenden Sotalolkonzentrationen im Blut<sup>97</sup>. Mit dieser Lösung wurde dann im

---

<sup>96</sup> Vgl. Evrard and Verbeeck (1994)

<sup>97</sup> Vgl. Wang et al. (1986)

Vollblut die Diffusion aus der Sonde betrachtet (Retrodialyse) und zwischen den zwei Arzneistoffen Sotalol und Atenolol verglichen. Bei gleicher Wiederfindung wäre es dann möglich, *in vivo* mithilfe der Auswärtsdiffusion von Atenolol Veränderung in der Wiederfindung von Sotalol zu registrieren und die erhaltenen Sotalolkonzentrationen in den Mikrodialysaten entsprechend zu korrigieren<sup>98</sup>. Dieses bisher bei humanen Untersuchungen nicht eingesetzte Verfahren zur Bestimmung der Wiederfindung wird als Retrodialyse mit Kalibrator bezeichnet.

### **2.2.8 Statistik**

Die angegebenen Werte sind arithmetische Mittelwerte und ihre Standardabweichung. Ausgewertet wurde mit dem Softwarepaket SPSS 9.0 (SPSS Inc., Chicago, USA). Die Werte der Sotalol- und Atenololwiederfindung sowie die Sotalol- und Atenololkonzentrationen mit und ohne Dextran und Dextranasebehandlung wurden mit einem Wilcoxon rank test für abhängige Stichproben verglichen. Ein p-Wert kleiner als 0,05 wurde als statistisch signifikant unterscheidend angesehen.

---

<sup>98</sup> Vgl. Bouw und Hammarlund-Udenaes (1998); Wong et al. (1992)

## 2.3 In vitro-Mikrodialyse: Material

Materialien, welche im Rahmen der klinischen Untersuchungen bereits verwendet wurden, werden nicht erneut aufgeführt.

### 2.3.1 Lösungsmittel und Reagenzien mit Gefahrenhinweisen, Lieferant und Sicherheitsratschlägen

Alle Substanzen wurden, wenn nicht anders angegeben, mit der höchsten im Handel befindlichen Reinheit verwendet.

Dextran 70	Amersham Pharmacia (Uppsala, S)	-	-
Dextranase (EC.3.2.1.11)	Sigma-Aldrich (Deisenhofen, D)	-	S 22-24/25
D-Maltose	Serva (Heidelberg, D)	-	S 22-24/25
3,5-Dinitrosalicylsäure	Fluka Chemie (Buchs, Sw)	R 32-37/38	S 22-24/25
Eisessig	Merck (Darmstadt, D)	R 10-35	S 23-26-45
Ethanol 96 %	Merck (Darmstadt, D)	R 11	S 7-16
Naphthoresorcin	Fluka Chemie (Buchs, CH)	R 36/37/38	S 26
Schwefelsäure (20 %)	Merck (Darmstadt, D)	R 35	S 26-30-45

### 2.3.2 Zusammensetzung der Perfusionslösungen

Standardperfusionslösung	Ringerlösung: 147 mM NaCl, 2,25 mM CaCl <sub>2</sub> , 4,0 mM KCL; Delta-Pharma, Pfullingen, Germany
Ringerlösung mit Dextran	40 g/l Dextran 70 in Ringerlösung (s. o.)
Perfusionslösung mit Dextran und Atenolol	1,0 µg/ml Atenolol in Ringerlösung mit Dextran
Perfusionslösung mit Dextran und Sotalol	1,0 µg/ml Sotalol in Ringerlösung mit Dextran
Perfusionslösung mit Dextran, Atenolol und Sotalol	1,0 µg/ml Atenolol und 1,0 µg/ml Sotalol in Ringerlösung mit Dextran (Retrodialyselösung)

Alle Perfusionslösungen wurden vor Gebrauch 15 Minuten in ein Ultraschallbad gestellt, um gelöste Gase zu entfernen.

### 2.3.3 Mikrodialysegerätschaften

CMA 102 Mikrodialyse Spritzenpumpe	CMA (Stockholm, S)
CMA 107 Mikrodialyse Spritzenpumpe	CMA (Stockholm, S)
CMA 70 Mikrodialysekatheter, human	CMA (Stockholm, S)
MAB 1.30.20 Mikrodialysekatheter	Microbiotech AB (Stockholm, S)
MAB 1.30.20 Mikrodialysekatheter, steril	Microbiotech AB (Stockholm, S; Sterilisiert mit Ethylenoxid)
CMA Verbindungstubes	CMA (Stockholm, S)
CMA Sammelgefäße	CMA (Stockholm, S)
Mikrodialysezelle	Brunswick (Hamburg, D)

### 2.3.4 Verbrauchsmaterial und Laborgeräte

Dünnschichtchromatographieplatten (Silica gel 60, 20 x 20 cm)	Merck (Darmstadt, D)
Eppendorfg Gefäße (0,5-2,0 ml)	Eppendorf (Hamburg, D)
Pipettenspitzen (10 µl, 100µl, 1 ml)	Treff Lab (Deggersheim, CH)
Sarstedt-Röhrchen	Sarstedt (Heidelberg, D)
Fraktionssammler Frac 100	Pharmacia (Uppsala, S)
Hettich Rotanta-Zentrifuge	Hettich (Tuttlingen, D)
Inkubator	Heidolph (Kehlheim, D)
Kühltruhen (-20 °C, -80 °C)	Kryotec (Hamburg, D)
Magnetrührer	Heidolph (Kehlheim, D)
Spektrophotometer	Perkin Elmer (Palo Alto, USA)
Ultraschallbad Bandelin Sonorex RK 100	Wilke (Hamburg, D)

## 2.4 *In vitro*-Mikrodialyseuntersuchungen: Ergebnisse

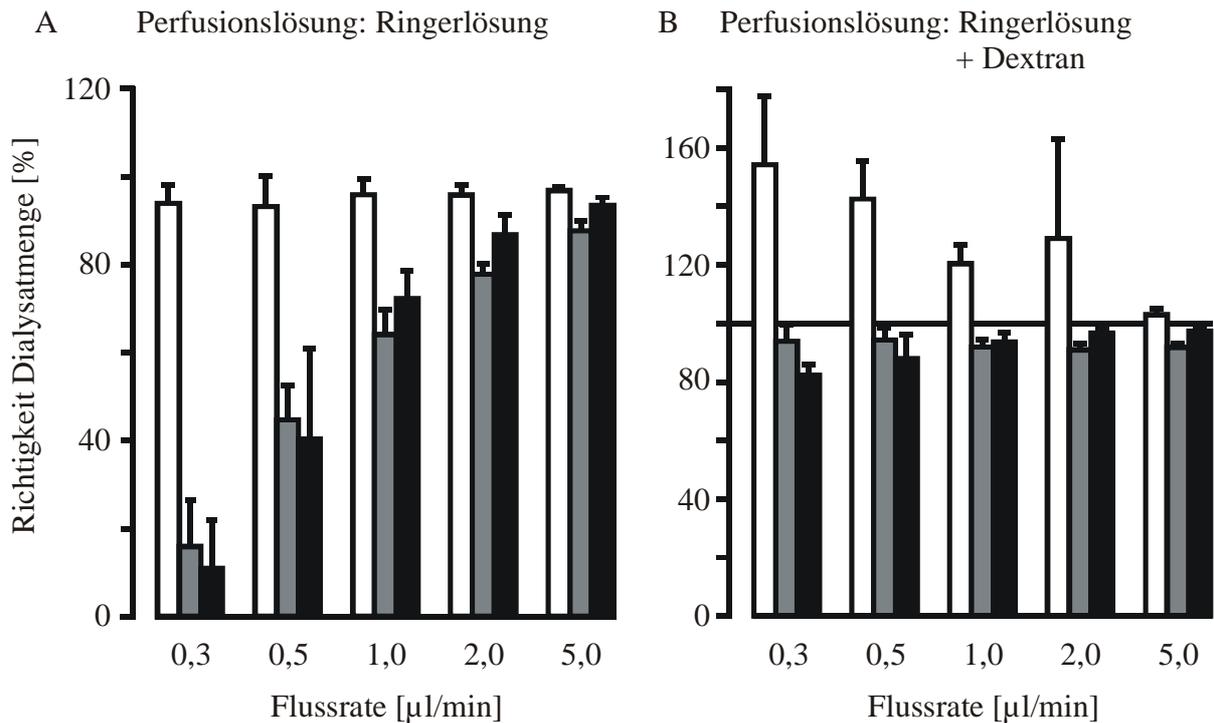
### 2.4.1 Optimierung der Diffusionsbedingungen an der Mikrodialysemembran durch Zugabe von Dextran zur Perfusionslösung

Die Diffusion einer Substanz durch die Membran einer Mikrodialysesonde hängt unter anderem von dem Verhältnis zwischen Einwärts- und Auswärtsstrom der Perfusions- und Umgebungsflüssigkeit ab<sup>99</sup>. Dieses Verhältnis spiegelt sich in der Menge an erhaltenem Dialysat wider. Ist die erhaltene Dialysatmenge höher als die berechnete, überwiegt der Einwärtsstrom in die Sonde und umgekehrt. Beides kann sich ungünstig auf die Diffusion eines Moleküls auswirken. Ein Ziel der *in vitro*-Mikrodialyseuntersuchungen war es daher, Bedingungen zu finden, unter denen die gewonnene Menge an Mikrodialysat möglichst der berechneten Menge entspricht, um somit die Diffusion der gesuchten Substanz zu optimieren.

Abbildung 16 A zeigt die gewonnenen Dialysatmengen über 35 Minuten in Prozent bei verschiedenen Flussraten (0,3-5,0 µl/min) in den drei unterschiedlichen Untersuchungsmedien mit Ringerlösung als Perfusionslösung. Während bei den Untersuchungen in Ringerlösung bei allen Flussraten die erwartete Dialysatmenge erhalten wurde, war dies in Plasma und Vollblut nur bei den hohen Flussraten von 2,0 µl/min ( $78 \pm 2,3$  % bzw.  $87 \pm 4,4$  %) und 5,0 µl/min ( $88 \pm 2,1$  % bzw.  $93 \pm 1,9$  %) annähernd möglich. Bei den niedrigeren Flussraten sank die Dialysatmenge in Plasma auf bis zu  $16 \pm 10,6$  % (0,3 µl/min), in Vollblut auf bis zu  $11 \pm 11,1$  % (0,3 µl/min). Die Zugabe von 4 % Dextran 70 zur Perfusionslösung führte zum Ausgleich des kolloidosmotischen Druckes beim Sammeln von Dialysaten in Plasma und Vollblut (Abb. 16 B). Die relativen Dialysatmengen lagen nun in Plasma bei  $94,0 \pm 5,7$  % (0,3 µl/min),  $94,3 \pm 4,4$  % (0,5 µl/min),  $91,9 \pm 2,6$  % (1,0 µl/min),  $90,98 \pm 2,2$  % (2,0 µl/min) und  $91,9 \pm 1,25$  % (5,0 µl/min). In Vollblut wurden ähnliche Werte mit  $82,4 \pm 3,45$  % (0,3 µl/min),  $97,9 \pm 8,42$  % (0,5 µl/min),  $93,7 \pm 3,26$  % (1,0 µl/min),  $96,7 \pm 2,1$  % (2,0 µl/min) und  $97,5 \pm 1,57$  % (5,0 µl/min) erreicht. In Ringerlösung wurden ebenfalls deutlich höhere Dialysatmengen erreicht, wobei die erzielten Werte alle über 100 % lagen und bei 0,3 µl/min sogar 154 % betragen. Dies lässt sich durch den nun im Vergleich zum umgebenden Medium in der Sonde erhöhten kolloidosmotischen Druck erklären.

---

<sup>99</sup> Vgl. Hamrin et al. (2002)



**Abbildung 16** Abhängigkeit der Dialysatmenge von Fließgeschwindigkeit und Dialyselösung

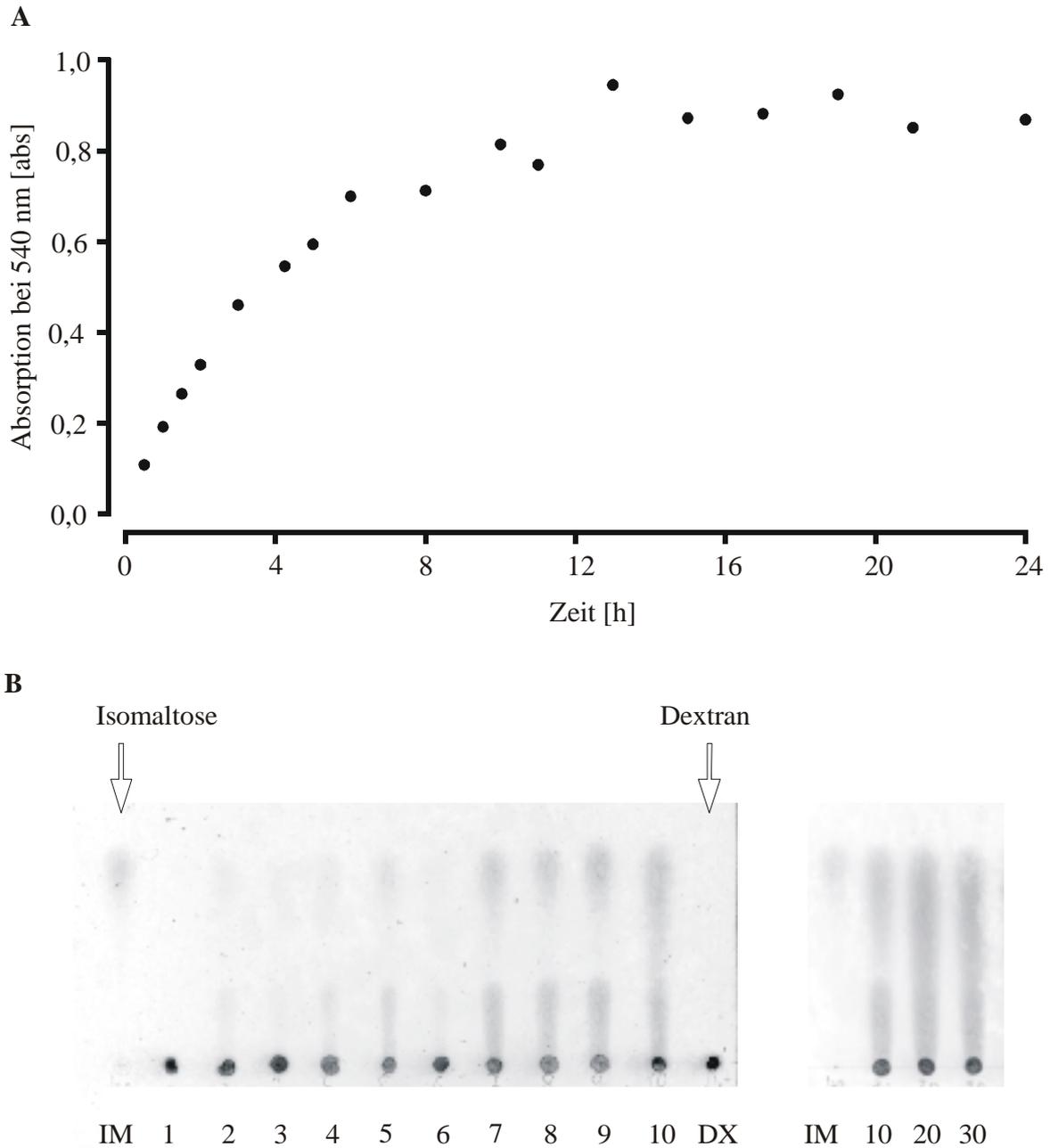
Relative Menge an Dialysat [% der erwarteten Menge] in Ringerlösung (weiße Balken), Plasma (graue Balken) und Vollblut (schwarze Balken) bei Flussraten von 0,3 bis 5,0 µl/min. Alle Versuche (18 pro Balken, drei Sonden pro Balken) wurden in der Mikrodialysezelle mit Mikrodialysesonden mit Polyamidmembran (Cut-off 20 kD, Membrandurchmesser 0,6 mm, 20 mm Länge) über ein Sammelintervall von 35 Minuten durchgeführt. Dargestellt sind die Mittelwerte  $\pm$  SD. In (A) wurde Ringerlösung als Perfusionslösung verwendet, in (B) Ringerlösung mit 4 % Dextranzusatz. Die horizontale Linie in (B) markiert 100 %.

#### 2.4.2 Enzymatischer Dextranabbau zur Vereinfachung der Analytik

Um eine Verstopfung von Kapillaren und HPLC-Säule zu vermeiden, sollte vor der Analyse das Makromolekül Dextran mithilfe des Enzyms Dextranase gespalten werden. Die optimale Dauer wurde durch die Konzentrationsbestimmung von Isomaltose als Endprodukt des enzymatischen Abbaus nach unterschiedlich langen Verdauzeiten evaluiert. Nach zwölf Stunden nimmt die Konzentration an Isomaltose nicht mehr zu (Abb. 17 A). Das bedeutet, dass sich jetzt ein Gleichgewicht zwischen Hin- und Rückreaktion eingestellt hat und kein weiterer Abbau mehr stattfindet. Daher wurden alle nachfolgenden Dextranverdauungen über zwölf Stunden durchgeführt. Abbildung 17 B zeigt eine Konzentrationsreihe von Dextranlösungen, welche einer Dextranlösung von 4 % zugesetzt wurden.

Es konnte eine Zunahme von Dextranabbauprodukten mit steigender Enzymkonzentration beobachtet werden. Dies steigerte sich bis zu einer Enzymkonzentration von 10 U/ml. Weitere

Steigerungen in der Enzymkonzentration bis 200 U/ml erbrachten keine zusätzlichen Verbesserungen bezüglich des Abbaus (Abb. 17 B zeigt die Versuche nur bis 30 U/ml).



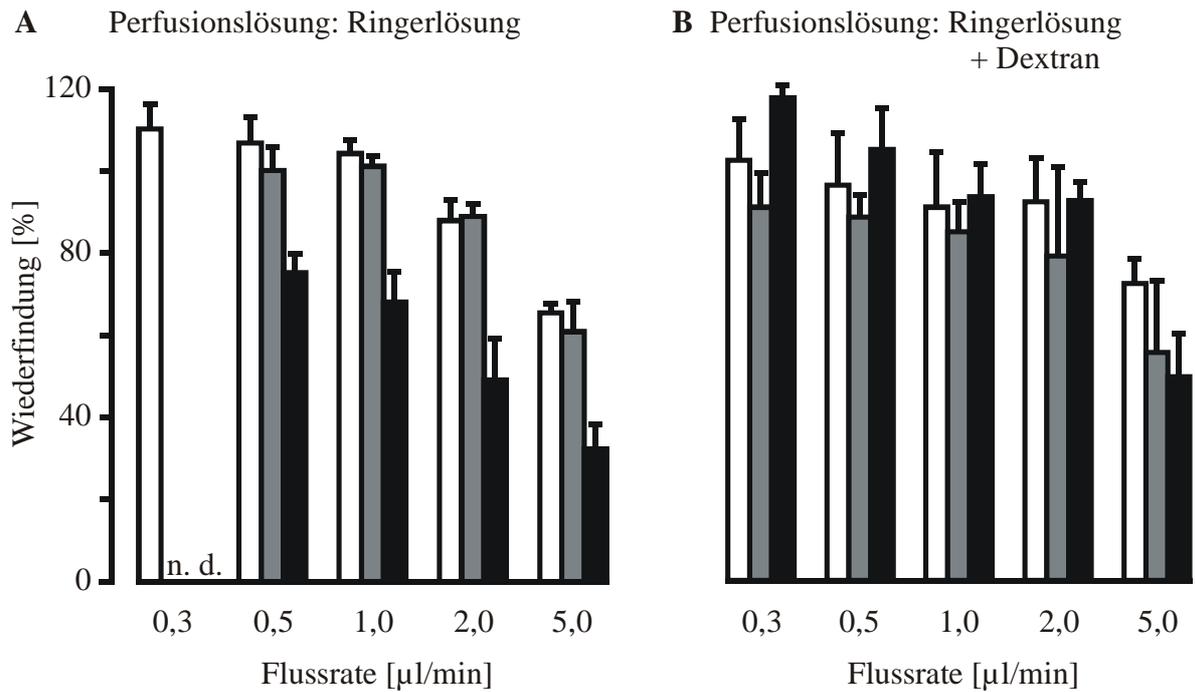
**Abbildung 17** Abhängigkeit des Dextranabbaus von der Verdauzeit und der Enzymmenge

(A) Exemplarischer Zeitverlauf des enzymatischen Abbaus von Dextran (4 %) mit Dextranase (0,1 U/ml) in bidestilliertem Wasser bei 37 °C über 24 Stunden. Die Abbauprodukte wurde mit 3,5-Dinitrosalicylsäure oxidiert, mit Wasser (1 + 5) verdünnt und die Konzentration der entstandenen 3-Amino-5-nitrosalicylsäure über die Absorption bei 540 nm bestimmt. (B) Exemplarische dünnschichtchromatographische Trennung von Dextran (DX) und seinen Abbauprodukten nach enzymatischer Spaltung einer Dextranlösung (4 %) mit verschiedenen Dextranasekonzentrationen (1–10, 20 und 30 U/ml, IM = Isomaltose) über zwölf Stunden. Die Detektion erfolgte mittels ethanolischer Naphthoresorcin/Schwefelsäurelösung mit anschließender Entwicklung im Trockenschrank (110 °C, fünf Minuten).

Optimale Gesamtbedingungen für den enzymatischen Abbau des Dextrans in den Mikrodialysaten mit Dextranase sind demnach ein Verdau bei 37 °C (Herstellerangabe) über einen Zeitraum von zwölf Stunden unter Zugabe einer DextranaseLösung mit der Konzentration von 10 U/ml.

### **2.4.3 Abhängigkeit der Sotalolwiederfindung von der Flussrate**

Bei den meisten Mikrodialyseuntersuchungen ist die Kontaktzeit zwischen Perfusionsflüssigkeit und umgebendem Medium zu kurz und die Diffusionsgeschwindigkeit der untersuchten Substanz zu langsam, um eine Wiederfindungsrate von 100 % zu erreichen (Abschnitt 2.1.2). Um die tatsächliche Konzentration von Sotalol im Blut bestimmen zu können, ist es daher wichtig, die Wiederfindungsrate des Arzneistoffs zu kennen. Bei der Anwendung von Ringerlösung ohne Dextranzusatz als Perfusionslösung zeigten Messungen der Sotalolkonzentration in den Dialysaten, dass die Wiederfindungsrate von Sotalol bei den niedrigen Flussraten am höchsten war und kontinuierlich mit steigender Flussrate abnahm (Abb. 18 A). Bei Flussraten von 0,3 bis 1,0 µl/min betrug die Wiederfindung 100 %, während bei 2,0 µl/min  $88,0 \pm 5,1$  % und bei 5,0 µl/min  $65,5 \pm 2,3$  % erreicht wurden. Ähnlich verhielt es sich bei den Untersuchungen in Plasma, auch hier lag die Wiederfindung bis zu einer Flussrate von 1,0 µl/min bei 100 %, um dann auf  $89,0 \pm 3,2$  % bei 2,0 µl/min und  $61,0 \pm 7,35$  % bei 5,0 µl/min abzusinken. Bei einer Flussrate von 0,3 µl/min war aufgrund zu geringer oder ausbleibender Dialysatmengen keine Auswertung möglich. Die Ergebnisse in Vollblut lagen grundsätzlich auf deutlich niedrigerem Niveau. Hier waren maximale Wiederfindungsraten von  $75,4 \pm 4,4$  % bei 0,5 µl/min zu finden, mit einem kontinuierlichen Rückgang auf  $68,1 \pm 7,6$  % bei 1,0 µl/min,  $49,2 \pm 10,0$  % bei 2,0 µl/min und nur noch  $32,3 \pm 6,0$  % bei 5 µl/min. Unter 0,3 µl/min Flussrate gab es wie in Plasma aufgrund zu niedriger oder nicht vorhandener Dialysatmengen keine Ergebnisse.



**Abbildung 18** Sotalolwiederfindung mit und ohne Dextransatz

Wiederfindung von Sotalol im Dialysat [% der erwarteten Menge] in Ringer Lösung (weiße Balken), Plasma (graue Balken) und Vollblut (schwarze Balken) bei Flussraten von 0,3 bis 5,0 µl/min. Alle Versuche (18 pro Balken, drei Sonden pro Balken) wurden in der Mikrodialysezelle mit Mikrodialysemembranen aus Polyamid mit 20 kD molekularem Cut-off und einem Außendurchmesser von 0,6 mm über ein Sammelintervall von 30 Minuten durchgeführt. Angegeben sind Mittelwerte ± SD. In (A) wurde Ringerlösung als Perfusionslösung verwendet, in (B) Ringerlösung mit 4 % Dextransatz. Aufgrund von zu geringen Dialysatmengen nicht detektierbare Konzentrationen sind mit n. d. gekennzeichnet.

Abbildung 18 B zeigt, dass die Zugabe von Dextran zur Perfusionslösung sowohl in Plasma als auch in Vollblut eine deutliche Anhebung der Wiederfindungsrate bewirkte. Ein deutliches Absinken der Wiederfindungsrate konnte erst bei einer Flussrate von 5,0 µl/min festgestellt werden, wie dies auch schon in Ringerlösung ohne die Zugabe von Dextran der Fall war. Im Einzelnen lagen die Werte in Plasma bei 91,0 ± 8,3 % (0,3 µl/min), 88,6 ± 5,3 % (0,5 µl/min), 85,0 ± 7,4 % (1,0 µl/min), 79,1 ± 21,7 % (2,0 µl/min) und 55,6 ± 17,6 % (5,0 µl/min). Auch in Vollblut ergaben sich durch den Zusatz an Dextran deutlich höhere Wiederfindungsraten mit 117,7 ± 7,4 % bei 0,3 µl/min, 105,0 ± 10,0 % bei 0,5 µl/min, 93,5 ± 7,9 bei 1,0 µl/min, 92,6 ± 4,6 % bei 2,0 µl/min und 49,7 ± 10,4 % bei 5,0 µl/min. In Ringerlösung lagen die Wiederfindungsraten bis 2,0 µl/min zwischen 90 und 100 % und fielen erst bei der höheren Flussrate von 5,0 µl/min deutlich auf 72,4 ± 6,1 % ab.

#### 2.4.4 Kontrolle der Sotalolwiederfindung per Kalibrator

Die Dextranzugabe verbesserte erheblich die Diffusionsbedingungen bei den *in vitro*-Arbeiten im Zielmedium Vollblut. Da *in vivo* jedoch mit Änderungen in der Wiederfindung z. B. durch Veränderungen in der Blutflussrate des Gefäßes zu rechnen ist<sup>100</sup>, sollte für jedes Dialysat eine Bestimmung der Wiederfindung von Sotalol möglich sein. Daher wurde Atenolol aufgrund seiner ähnlichen physikochemischen Eigenschaften im Vergleich zu Sotalol als Kalibrator für diese Methode geprüft. Atenolol und Sotalol wurden der Perfusionslösung zugesetzt, um die Diffusionseigenschaften von Atenolol und Sotalol zu vergleichen. Tabelle 4 zeigt dazu die Wiederfindungsraten von Sotalol und Atenolol in den beiden verwendeten Sonden. Es stellte sich heraus, dass Atenolol unabhängig von der verwendeten Sonde in gleichem Maße aus der Sonde herausdiffundiert wie Sotalol in die Sonde hineindiffundiert, wenngleich die Wiederfindung mit der CUP-Sonde etwa 18 % niedriger liegt. Ein Wilcoxon rank Test für gepaarte Stichproben ergab keinen signifikanten Unterschied ( $p \gg 0,05$ ). Daher eignet sich Atenolol zur Berechnung des Korrekturfaktors der Wiederfindungsrate von Sotalol.

Sonde	(n)	Sotalol (S)	Kalibrator (A)	Abweichung $ S-A /S \cdot 100$
PA	25	88,0 ± 1,4 %	88,8 ± 0,7 %	1,0 %
CUP	47	70,8 ± 6,6 %	69,8 ± 7,9 %	2,3 %

**Tabelle 4** Wiederfindung von Sotalol und Atenolol (Kalibrator) in verschiedenen Mikrodialysesonden

Dargestellt ist das arithmetische Mittel ± SD. Für die Berechnung der Abweichung der Wiederfindungen wurde die Differenz der Wiederfindungen der einzelnen Dialysate gebildet und in Prozent der Sotalolwiederfindung angegeben. PA = Polyamidmembran, molekularer Cut-off von 20 kD, Außendurchmesser 0,6 mm; CUP = Cuprophanmembran, molekularer Cut-off von 6 kD, Außendurchmesser 0,24 mm.

Die Wiederfindungsrate von Sotalol in Blut wurde dementsprechend nach folgender Gleichung berechnet:

$$C_{\text{Sotalol}} [\mu\text{g/ml}] = 100 \cdot (100 - \text{Wiederfindungsrate}_{\text{Atenolol}} [\%])^{-1} \cdot C_{\text{Sotalol Microdialysate}} [\mu\text{g/ml}]$$

<sup>100</sup> Vgl. Evrard und Verbeeck (1994)

## 2.5 *In vitro*-Mikrodialyse: Diskussion

### 2.5.1 Die Mikrodialysezelle als *in vitro*-Testsystem zur Evaluierung von Bedingungen für *in vivo*-Untersuchungen

Die Mikrodialysezelle wurde für die *in vitro*-Untersuchungen zur Evaluation von Mikrodialysebedingungen für die Bestimmung von exogenen und endogenen Substanzen in Vollblut und anderen Körperflüssigkeiten entwickelt. Mithilfe dieser Mikrodialysezelle war es möglich, Bedingungen für die intravenöse Anwendung der Mikrodialysetechnik zu bestimmen. Alle für eine intravenöse Mikrodialyseuntersuchung notwendigen Parameter wie Flussrate und geeignete Perfusionslösung oder das Material der Sondenmembran konnten in der Apparatur getestet werden. Die Hauptergebnisse der Entwicklung der intravenösen *in vitro*-Mikrodialysemethode werden im Anschluss genannt und nachfolgend diskutiert.

- Die Bestimmung absoluter Sotalolkonzentrationen aus Vollblut ist mit den verwendeten Mikrodialysesonden möglich. Durch die Einführung einer permanenten Kontrolle der Wiederfindung durch eine Retrodialyse mit Atenolol als Kalibrator können auch bei eventuellen Veränderungen der Wiederfindung absolute Sotalolkonzentrationen bestimmt werden.
- Für die Untersuchungen in Vollblut zeigte sich Ringerlösung mit einem Zusatz von 4 % Dextran als optimale Perfusionslösung. Der Dextransatz gleicht dabei den kolloidosmotischen Druck der Plasmaproteine aus und ermöglicht so Untersuchungen mit konstanter, richtiger und präziser Dialysatmenge.
- Als optimale Perfusionsgeschwindigkeit wurde 1,0  $\mu\text{l}/\text{min}$  gefunden. Bei dieser Geschwindigkeit war die Wiederfindung *in vitro* annähernd 100 %. Gleichzeitig wurde durch kurze Sammelintervalle von 35 Minuten eine gute zeitliche Auflösung bei ausreichender Dialysatmenge für die Analyse ermöglicht. Dadurch wird eine sinnvolle pharmakokinetische Auswertbarkeit der Daten erreicht.

### 2.5.2 Erhöhung der Dialysatmenge durch Zugabe von Dextran zur Perfusionslösung

Die relative Dialysatmenge ist abhängig vom osmotischen Druckunterschied zwischen Innen- und Außenseite der Membran. Bei Verwendung von Ringerlösung als Perfusionslösung findet durch den kolloidosmotischen Druck der Proteine in Plasma und Vollblut ein Abzug von Flüssigkeit aus der Perfusionslösung statt. Für die intravenöse Anwendung der Mikrodialyse bedeutet dies, dass nur unter einer Flussrate von 2 oder 5  $\mu\text{l}/\text{min}$  ausreichende Dialysatmen-

gen erreicht werden und langsamere Flussraten für die Anwendung nicht in Frage kommen. Mit Zugabe von 4 % Dextran zur Perfusionslösung wurde jedoch bei jeder verwendeten Perfusionsgeschwindigkeit die erwartete Dialysatmenge erreicht. Die Zugabe von 4 % Dextran zur Perfusionslösung führt in Plasma und Vollblut zur osmotischen Homöostase, da Dextran als Makromolekül den kolloidosmotischen Druck der Plasmaproteine auszugleichen vermag<sup>101</sup>. Vergleichbare Ergebnisse wurden bei Mikrodialyseuntersuchungen in Skelettmuskulatur und subkutanem Fettgewebe gefunden<sup>102</sup>. Bei Mikrodialyseexperimenten in Vollblut wurde bisher nicht über Verluste von Perfusionslösung berichtet<sup>103</sup>. In diesen Untersuchungen wurde isotone NaCl- oder Ringerlösung ohne einen Zusatz für einen eventuellen Ausgleich des kolloidosmotischen Drucks verwendet. Da unter diesen Bedingungen mit einem Verlust an Perfusionslösung zu rechnen ist, ist entweder der Verlust aufgrund der fehlenden Bestimmung der Dialysatmenge nicht bemerkt worden oder er wurde ignoriert. Unter Homöostase sind die Diffusionsbedingungen für Mikrodialyseexperimente optimal<sup>104</sup>. Daher sollte für Mikrodialyseexperimente, bei denen absolute Konzentrationen erhalten werden sollen, immer osmotische Homöostase angestrebt werden.

Die deutliche Überschreitung von hundert Prozent relativer Dialysatmenge bei den Untersuchungen in Ringerlösung als Untersuchungslösung unter Verwendung von Perfusionslösung mit Dextran bedeutet eine Überflutung der Perfusionslösung durch Wasser aus dem umgebenden Medium. Dies ist durch den in diesem Fall in der Sonde deutlich höheren kolloidosmotischen Druck durch das Dextran im Vergleich zur umgebenden Ringerlösung zu erklären. Dieses Ergebnis unterstützt die These des kolloidosmotischen Druckunterschiedes zwischen Perfusionslösung und umgebendem Medium als Ursache für Differenzen zwischen erwarteter und tatsächlicher Dialysatmenge.

### 2.5.3 Abhängigkeit der Sotalolwiederfindung von der Flussrate

Die Wiederfindung von Sotalol ist in allen drei Untersuchungsmedien bei niedrigen Flussraten höher als bei höheren Flussraten. Diese Abhängigkeit der Wiederfindung von der Flussrate ist allgemein bekannt und geht zurück auf das Fick'sche Diffusionsgesetz. Danach ist die Diffusionsgeschwindigkeit abhängig von dem stoffspezifischen Diffusionskoeffizienten und

---

<sup>101</sup> Vgl. Edsman und Sundelöf (1987)

<sup>102</sup> Vgl. Hamrin et al. (2002); Rosdahl et al. (1997)

<sup>103</sup> Vgl. Páez und Hernandez (1998); Stjernström et al. (1993); Castejon et al. (1999)

<sup>104</sup> Vgl. Hamrin et al. (2002); Rosdahl et al. (1997)

der durchwanderten Fläche sowie dem Konzentrationsgradienten. Pro Zeiteinheit kann demnach nur eine bestimmte Menge eines Stoffs durch eine Membran hindurchwandern. Wenn die Flussrate erhöht wird, so erhöht sich die Lösungsmittelmenge, in der sich die Substanzmenge löst, so dass die Konzentration sinkt. Nach Zugabe von Dextran zur Perfusionslösung verbesserte sich jedoch die Wiederfindung bei den höheren Flussraten (1,0 - 5,0  $\mu\text{l}/\text{min}$ ). Nachdem mit Ringerlösung bei 1,0  $\mu\text{l}/\text{min}$  in Blut nur etwa 68 % erreicht wurden, waren es nach Dextranzugabe etwa 94 % (Abschnitt 2.4.3). Auch bei 2,0 und 5,0  $\mu\text{l}/\text{min}$  stieg die Wiederfindung mit dem Dextraneinsatz deutlich an. Die Verbesserung der Diffusionsbedingungen durch die Zugabe von Dextran gleicht demnach auch die Unterschiede in der Wiederfindungsrate zwischen Vollblut, Plasma und Ringerlösung aus. Für die Mikrodialysemethode bedeutet dies, dass die Wiederfindung *in vitro* bei Flussraten von 1,0  $\mu\text{l}/\text{min}$  und niedriger annähernd 100 % beträgt. Bei Flussraten von 0,3 oder 0,5  $\mu\text{l}/\text{min}$  beträgt die Menge an Dialysat über einen Zeitraum von beispielsweise einer halben Stunde jedoch nur 9 bzw. 15  $\mu\text{l}$ , bei 1,0  $\mu\text{l}/\text{min}$  schon 30  $\mu\text{l}$ . Da bei 1,0  $\mu\text{l}/\text{min}$  die erhaltene Menge an Dialysat am größten ist, wurde diese Flussrate für alle nachfolgenden Untersuchungen ausgewählt.

#### 2.5.4 Kontrolle der Sotalolwiederfindung per Kalibrator

Als Resultat der permanenten Durchspülung der Mikrodialysesonde mit Perfusionslösung kommt es aufgrund der kurzen Kontaktzeit zwischen Perfusionslösung und umgebendem Medium je nach Diffusionseigenschaften des Analyten meist nur zu einem unvollständigen Konzentrationsausgleich. Im vorliegenden Fall wurden *in vitro* nahezu 100 % Wiederfindung erreicht. *In vivo* könnte jedoch die Wiederfindung geringer ausfallen oder es könnten Veränderungen in der Wiederfindung auftreten. Bei der Beobachtung von endogenen Substanzen ist eine Beschreibung der relativen Konzentrationsveränderung ausreichend, sofern der Bezug zu einer Basisgröße vorhanden ist. Da dies bei pharmakokinetischen Untersuchungen normalerweise nicht möglich ist, ist die Bestimmung absoluter Konzentrationen essentiell. Für die Bestimmung absoluter Konzentrationen aus Mikrodialysaten gibt es verschiedene Lösungsansätze. In den bisher durchgeführten humanen intravenösen Mikrodialyseuntersuchungen wurde die Wiederfindung entweder vor den eigentlichen Untersuchungen durch die von Lönnroth et al.<sup>105</sup> eingeführte *No Net Flux*-Methode bestimmt<sup>106</sup> oder aber durch den Vergleich mit konventionellen Plasmaproben<sup>107</sup>. Die Bestimmung der Wiederfindung über parallel gezogene

---

<sup>105</sup> Vgl. Lönnroth et al. (1987)

<sup>106</sup> Vgl. Páez und Hernandez (1998); Castejon et al. (1999)

<sup>107</sup> Vgl. Stjernström et al. (1993)

Blutproben macht eine intravenöse Mikrodialyse letztlich unsinnig, da gerade keine Blutentnahme erfolgen soll. Nachteilig bei der *No Net Flux*-Methode ist, dass Veränderungen der Wiederfindung, beispielsweise durch Verminderung des Blutflusses<sup>108</sup>, während des Untersuchungszeitraums nicht registriert werden können. Dadurch können die erhaltenen Dialysatkonzentrationen falsch interpretiert werden, da als Wiederfindung nur ein vor der Untersuchung ermittelter, fester Wert verwendet werden kann. Eine kontinuierliche Überwachung der Wiederfindung ist nicht möglich, da sie für jedes Dialysat einzeln durchgeführt werden müsste. Dies ist aufgrund des zeitlichen Aufwands nicht durchführbar. Im Hinblick auf pharmakokinetische Veränderungen ist diese Methode daher ungeeignet, sofern mit Veränderungen der Wiederfindung gerechnet werden muss.

Eine andere Möglichkeit, rechnerisch absolute Konzentrationen eines Analyten zu erhalten, ist die *Endogene Referenz-Methode*<sup>109</sup>. Bei dieser Methode wird für eine endogene Substanz, z. B. Harnstoff, die *in vitro*- und *in vivo*-Wiederfindung bestimmt und das Verhältnis der beiden Werte gebildet. Man geht davon aus, dass das Verhältnis zwischen *in vitro*- und *in vivo*-Wiederfindung für verschiedene Substanzen gleich ist, und kann dann bei Kenntnis der *in vitro*-Wiederfindung des Analyten auch dessen *in vivo*-Wiederfindung berechnen<sup>110</sup>. Allerdings konnte diese Methode der Wiederfindungsbestimmung von anderen Arbeitsgruppen nicht bestätigt werden<sup>111</sup>, es wurden hier Abweichungen um 66 % von der *No-Net-Flux*-Methode gefunden, die auf Unterschiede in den Diffusionseigenschaften des Analyten und der endogenen Referenz zurückgeführt wurden.

Als weitere Alternative besteht auch die Möglichkeit, die Wiederfindung durch Absenken der Perfusionsrate *in vivo* auf 100 % zu bringen. Durch eine langsame Perfusionsgeschwindigkeit besteht prinzipiell die Möglichkeit für eine quantitative Diffusion, jedoch vermindert dies die pro Zeiteinheit gewonnene Dialysatmenge. Um das gewonnene Dialysat per HPLC analysieren zu können, durfte im vorliegenden Fall eine Dialysatmenge von 10 µl nicht unterschritten werden, so dass langsamere Perfusionsgeschwindigkeiten zu längeren Sammelintervallen führen. Dies wiederum setzt die zeitliche Auflösung herab, d. h. es werden weniger Proben im gleichen Zeitraum gesammelt. Jede einzelne Probe wird zusätzlich in ihrer Aussage unschär-

---

<sup>108</sup> Vgl. Evrard und Verbeeck (1994)

<sup>109</sup> Vgl. Strindberg und Lönnroth (2000)

<sup>110</sup> Vgl. Sjöstrand et al. (1999)

<sup>111</sup> Vgl. Brunner et al. (2000)

fer, da durch die Sammlung über ein Zeitintervall, ähnlich wie bei pharmakokinetischen Bestimmungen aus Urindaten, ein Mittelwert aus dem Intervall erzielt wird. Je größer das Intervall, desto unschärfer wird die Aussage über die Konzentration. Bei pharmakokinetischen Analysen sollte die zeitliche Auflösung möglichst hoch sein.

Eine Möglichkeit, den Transport des Analyten über die Membran zu verbessern, ist die Zugabe von Cyclodextrinen zur Perfusionslösung<sup>112</sup>. Dabei wird zusätzlich zur osmotischen Diffusion ein anderer physikalischer Prozess, nämlich der Einschluss des Analyten in das Cyclodextrin, genutzt. Der Analyt wird dem osmotischen Prozess entzogen und der Konzentrationsgradient erhöht, was zu einer verstärkten Diffusion des Analyten in die Mikrodialysesonde führt. Diese Methode kann jedoch nur für Substanzen verwendet werden, die mit Cyclodextrinen Einschlussverbindungen eingehen, wie z. B. Ibuprofen. Der Transport von Sotalol könnte mit dieser Methode verbessert werden. Allerdings entfällt unter diesen Umständen die Anwendung des Kalibrators Atenolol zur Bestimmung der Wiederfindung, da dieser aus der Sonde herausdiffundieren muss. Da auch Atenolol Einschlussverbindungen mit Cyclodextrinen eingeht, wird die Auswärtsdiffusion von Atenolol voraussichtlich verhindert. Eine permanente Bestimmung der Wiederfindung wird dadurch unmöglich gemacht. Weiterhin kann es durch den Entzug des Analyten aus dem Diffusionsgleichgewicht auch zu erhöhten Konzentrationen im Dialysat im Vergleich zur Umgebung kommen. Daher ist fraglich, ob unter diesen Bedingungen ein Rückschluss von der Konzentration im Mikrodialysat auf die Konzentration im Blut zulässig ist.

In den vorliegenden Untersuchungen wurde die Wiederfindung des Arzneistoffs Sotalol nach dem Prinzip der Retrodialyse bestimmt. Diese Methode wurde bislang meist mit dem eigentlichen Analyten zur Bestimmung der Wiederfindung verwendet, wobei vor Beginn oder nach Beendigung des Versuches die Diffusion aus der Sonde heraus gemessen wird<sup>113</sup>. Eine Bestimmung der Wiederfindung einer Substanz über den gesamten Zeitraum des Versuchs ist damit jedoch nicht möglich. Deshalb wurde eine weiterentwickelte Variante, die Retrodialyse per Kalibrator, verwendet<sup>114</sup>. Bei dieser Variante wird die Diffusion des eigentlichen Analyten anhand einer zweiten Substanz mit ähnlichen physikochemischen Eigenschaften bestimmt, welche jedoch aus der Sonde herausdiffundiert. Der für die Untersuchungen ausgewählte Ka-

---

<sup>112</sup> Vgl. Khrarov und Stenken (1999)

<sup>113</sup> Vgl. Bouw und Hammarlund-Udenas (1998)

<sup>114</sup> Vgl. Wong et al. (1992); Bouw und Hammarlund-Udenas (1998)

librator Atenolol zeigte unabhängig von der verwendeten Sonde gleiche Diffusionseigenschaften wie Sotalol und kann daher für die Bestimmung der Sotalolwiederfindung verwendet werden. Damit wird die Bestimmung der Wiederfindung in jedem einzelnen Dialysat ermöglicht, wie es bereits bei intrazerebraler Mikrodialyse im Tierversuch gezeigt wurde<sup>115</sup>.

Da die Auswärtsdiffusion eines Arzneistoffs aus der Mikrodialyse-sonde *in vivo* einer Applikation gleichkommt, stellt sich die Frage nach der vom Kalibrator ausgehenden zusätzlichen Gefahr für das untersuchte Individuum. Verwendet man eine Perfusionslösung mit einer Konzentration von 1,0 µg/ml Atenolol, so kann maximal eine Konzentration von 2 ng/ml im Plasma erreicht werden, betrachtet man den Fall eines Neugeborenen mit einem Blutvolumen von 400 ml. Dabei ist die Elimination des Arzneistoffs noch nicht berücksichtigt, die tatsächliche Konzentration wird daher niedriger sein. 2 ng/ml sind jedoch weit unterhalb jeglicher pharmakologischen Aktivität von Atenolol<sup>116</sup>. Mit einer Gefahr durch den verwendeten Kalibrator ist demnach im vorliegenden Fall nicht zu rechnen. Eine mögliche Toxizität muss jedoch für jede als Kalibrator verwendete Substanz neu überdacht werden. Bei zu untersuchenden toxischen Arzneistoffen sollte nach Substanzen aus einer Arzneistoffgruppe mit geringerer Toxizität gesucht werden.

Mit den *in vitro* ermittelten Mikrodialysebedingungen für die Bestimmung von Sotalol aus Vollblut sollte eine intravenöse Anwendung der Mikrodialyse *in vivo* möglich sein. Die Anwendung am Menschen ist Inhalt des nächsten Abschnitts.

---

<sup>115</sup> Vgl. Wong et al. (1992)

<sup>116</sup> Vgl. Tabacova und Kimmel (2002)

### 3 *In vivo*-Mikrodialyseuntersuchungen

#### 3.1 Einleitung

Die im ersten Teil dieser Arbeit beschriebene klinische Studie an Kindern mit supraventrikulären Tachykardien hat gezeigt, wie wichtig die Beantwortung pharmakokinetischer und pharmakodynamischer Fragestellungen bei Kindern unterschiedlicher Altersstufen ist. Die damit verbundene Notwendigkeit von Blutproben macht solche Untersuchungen insbesondere bei Neugeborenen und Säuglingen aufgrund des geringen Blutvolumens besonders kritisch, da die für eine solche Untersuchung notwendige Blutmenge oft die verfügbare Menge übersteigt. Deshalb wurde im zweiten Teil dieser Arbeit das *in vitro*-Testsystem Mikrodialysezelle zur Evaluation von intravenösen Mikrodialysemethoden konstruiert. Mithilfe dieser Mikrodialysezelle wurde eine Mikrodialysemethode zur blutentnahmefreien Bestimmung von Sotalolkonzentrationen in Vollblut entwickelt. Bevor eine solche Methode bei Neugeborenen oder Säuglingen verwendet werden kann, muss ihre *in vivo*-Anwendbarkeit bei Erwachsenen getestet werden. Ziel des dritten Teils dieser Arbeit war daher, die *in vitro* entwickelte Methode bei einem kleinen Kollektiv gesunder freiwilliger Probanden einzusetzen und dadurch ihre *in vivo*-Anwendbarkeit zu belegen. Dabei wurde die intravenöse Mikrodialyse mit einer konventionellen Methode zur Bestimmung von Sotalolplasmakonzentrationen aus Blutproben verglichen und statistisch ausgewertet. Zwei Mikrodialysesonden mit unterschiedlichen Durchmessern (0,6 und 0,24 mm) wurden verwendet, wobei die größere Sonde die grundsätzliche Verwendbarkeit der Methode für diesen Zweck belegen sollte. Die zweite, vom Durchmesser deutlich kleinere Sonde passt selbst in die kleinsten bei Neugeborenen angewendeten Venenverweilkatheter. Folgende Fragen sollten mit der Probandenstudie beantwortet werden.

- Lässt sich die *in vitro* evaluierte Mikrodialysemethode auf die *in vivo*-Verhältnisse übertragen und welchen Einfluss haben Veränderungen in der Wiederfindung von Sotalol auf das Versuchsergebnis?
- Liefert die *in vivo*-Mikrodialysemethode zur konventionellen Plasmakonzentrationsbestimmung vergleichbare pharmakokinetische Ergebnisse?
- Ist eine Übertragbarkeit der Mikrodialysemethode auf neugeborenengerechte Sonden möglich?
- Lassen sich auch pharmakodynamische Untersuchungen mit der intravenösen Mikrodialysemethode kombinieren?

## **3.2 *In vivo*-Mikrodialyse: Methoden**

### **3.2.1 Studiendesign**

Bei der Studie handelt es sich um eine pharmakokinetisch-pharmakodynamische Untersuchung an erwachsenen Probanden nach oraler Einzelgabe von Sotalol. Das Studienprotokoll wurde von der Ethikkommission der Ärztekammer Hamburg (Nr. 1448) genehmigt. Jeder Proband wurde vor der Untersuchung sowohl schriftlich als auch mündlich ausführlich über Nutzen und Risiko aufgeklärt. Alle Probanden gaben schriftlich ihr Einverständnis.

### **3.2.2 Studienpopulation mit Ein- und Ausschlusskriterien**

Für die Probandenstudie sollten sechs gesunde freiwillige Männer im Alter zwischen 18 und 35 Jahren rekrutiert werden. Aufnahmebedingung war ein 12-Kanal-EKG mit Normalbefund, analysiert durch einen Kardiologen, um eventuelle Anomalien der Repolarisation des Herzens auszuschließen. Probanden mit bestehender QT-Intervallverlängerung (long-QT-Syndrom) waren von der Studie ausgeschlossen. Eine Nierenerkrankung oder eine erhöhte Serumkreatininkonzentration durfte nicht vorliegen. Ebenfalls ausgeschlossen wurden Probanden mit Psoriasis oder bekannten allergischen Reaktionen auf Atenolol, Sotalol, Sulfonamide oder einen Hilfsstoff aus den verwendeten Arzneiformulierungen.

### **3.2.3 Abbruchkriterien beim einzelnen Probanden**

- Symptomatische Hypotonie oder Bradykardie mit Schwindelanfällen, Übelkeit und Erbrechen.
- Auftreten einer erhöhten Serumkreatininkonzentration.
- Auftreten einer beim Probanden bislang unbekanntes Allergie.
- Auftreten von schwerwiegenden proarrhythmischen Effekten.
- Unverträglichkeitsreaktionen an der Sondenimplantationsstelle.

### **3.2.4 Verwendete Mikrodialysesonden**

- PA-Sonde CMA 70 (CMA, Stockholm, S), ab Werk sterilisiert per Betastrahlung.
- CUP-Sonde MAB 1.30.20 (MAB, Stockholm, S), sterilisiert mit Ethylenoxid.

### **3.2.5 Studienprotokoll und Versuchsdurchführung**

Die humanen Mikrodialyseversuche wurden über eine Gesamtdauer von 24 Stunden durchgeführt. Während des gesamten Untersuchungszeitraums lagen die Probanden in einem Patien-

tenbett. Aufstehen war aufgrund der zu erwartenden hydrostatischen Druckunterschiede in der Mikrodialyseapparatur untersagt. Zwei Stunden vor Beginn des Versuches sowie bis eine Stunde nach Sotalolgabe durfte keine Nahrungsaufnahme erfolgen. Flüssigkeit in Form von Tee oder Kaffee durfte nach Bedarf konsumiert werden. Die Probanden wurden mit einem Venenverweilkatheter (18 G) in der rechten Kubitalvene versorgt, aus dem konventionell Blutproben entnommen wurden. Ein weiterer Venenverweilkatheter (18 G, im Falle der CUP Sonde 24 G) in der Kubitalvene des linken Arms wurde für die Aufnahme der Mikrodialyse-sonde verwendet. Um die Lage des für die Sondenaufnahme bestimmten Venenverweilkatheters im Gefäß zu belegen, wurde die erste Blutprobe im Versuch (Nullwert) über diesen abgenommen und erst anschließend die Sonde eingeführt. Weiterhin wurde ein 12-Kanal-EKG-Gerät für die Aufzeichnung von EKG-Messungen angelegt.

Innerhalb des Untersuchungszeitraumes wurden folgende Maßnahmen zur Vorbereitung und Durchführung der Untersuchungen vollzogen:

- Die Mikrodialysesonde wurde zunächst mit der Retrodialyselösung (Atenolol + Sotalol, Abschnitt 2.3.2) über 30 Minuten äquilibriert, um das Totvolumen der Sonde zu spülen. Im Anschluss wurden über 90 Minuten sechs Retrodialysate gesammelt, um auch *in vivo* die Vergleichbarkeit der Diffusion von Sotalol und dem Kalibrator Atenolol zu überprüfen. Gleichzeitig wurde eine Blutprobe als Nullwert entnommen. Danach wurde die Retrodialyselösung gegen eine Perfusionslösung mit Kalibrator, aber ohne Sotalol, ausgetauscht und erneut 30 Minuten äquilibriert. Anschließend wurden drei Basisdialysate gesammelt, um die Stabilität der Atenololwiederfindung zu belegen.
- Nach Sammlung der Basisdialysate erfolgte die orale Applikation von 160 mg Sotalol. Nun wurde alle 35 Minuten das Sammelgefäß für das Dialysat gewechselt. Im gleichen Zeitintervall, jedoch zwölf Minuten nach dem Wechsel des Sammelgefäßes, erfolgte je eine Blutentnahme von 1 ml. Diese zeitliche Verschiebung war notwendig, da die im Dialysat gemessene Arzneistoffkonzentration einen Mittelwert über das Sammelintervall von 35 Minuten darstellt, die Plasmakonzentration jedoch einen Punktwert genau zum Zeitpunkt der Entnahme ist. Als Annäherung an diesen Mittelwert sollte daher die Plasmakonzentration in der Mitte des Sammelintervalls bestimmt werden. Der Blutentnahmezeitpunkt zwölf Minuten nach Dialysatwechsel berücksichtigte dabei die Totzeit. Dies ist die

Zeit, die das Dialysat benötigt, um von der Membran zum Sammelgefäß gepumpt zu werden (5 Minuten und 30 Sekunden). Zwölf Stunden nach Sotalolgabe wurde nur noch einmal pro Stunde ein Dialysat über 35 Minuten gesammelt und die entsprechende Blutprobe entnommen.

- Vor Sotalolgabe wurde mindestens ein Basis-EKG aufgezeichnet, um das QT-Intervall ohne Sotaloleinfluss bestimmen zu können. Während der ersten acht Stunden nach Sotalolgabe wurde alle 15 Minuten ein 12-Kanal-EKG aufgenommen. Zwischen Stunde acht und Stunde zwölf erfolgte alle 30 Minuten eine Aufzeichnung, ab Stunde zwölf alle 60 Minuten. Aus den EKG-Daten wurde die Herzfrequenz ermittelt sowie das QT-Intervall bestimmt und nach Bazett für die Herzfrequenz korrigiert<sup>117</sup>.

### 3.2.6 Quantifizierung von Sotalol in Plasma und Mikrodialysat

Die konventionelle Bestimmung der Sotalolplasmakonzentrationen erfolgte nach der in Abschnitt 1.2.8 beschriebenen HPLC-Methode mit vorgeschalteter Festphasenextraktion.

Für die Quantifizierung der Sotalolkonzentration in den Mikrodialysaten wurde zunächst das Dextran nach der in Abschnitt 2.2.6 beschriebenen Methode verdaut. Anschließend wurden 10 µl der verdauten Lösung äquivalent zu den Festphasenextrakten aus den Plasmaproben analysiert. Wegen möglicher Veränderungen in der Diffusion wurde die Wiederfindung des Arzneistoffes Sotalol über die Wiederfindung des Kalibrators Atenolol bestimmt (Retrodialysemethode, Abschnitt 2.2.7 und 2.4.4). Die Konzentrationen von Sotalol in den humanen Mikrodialysaten wurden wie folgt errechnet:

$$C_{\text{Sotalol}} [\mu\text{g/ml}] = 100 [\%] \cdot (100 - \text{Wiederfindung}_{\text{Atenolol}} [\%])^{-1} \cdot C_{\text{Sotalol Mikrodialysat}} [\mu\text{g/ml}]$$

Dabei entspricht  $C_{\text{Sotalol}}$  der Konzentration im Plasma und  $C_{\text{Sotalol Mikrodialysat}}$  der im Dialysat gemessenen Sotalolkonzentration.  $\text{Wiederfindung}_{\text{Atenolol}}$  meint hier die im Dialysat gemessene Konzentration relativ zu der im Perfusat eingesetzten Konzentration (%).

### 3.2.7 Pharmakokinetische und pharmakodynamische Analyse

Die pharmakokinetische und pharmakodynamische Analyse der Probandendaten wurden genauso durchgeführt wie für die Patienten in Abschnitt 1.2.9 und 1.2.10 dargestellt.

---

<sup>117</sup> Vgl. Bazett (1920)

### 3.2.8 Sterile Herstellung der Perfusionslösungen

Die Perfusionslösungen für die humane Anwendung wurden unter sterilen Bedingungen unter einem Laminar Air Flow-Gerät hergestellt. Dafür wurden zu 998,0 ml Ringerinfusionslösung 2,0 ml Tenormin® Injektionslösung (Atenolol: 0,5 mg/ml) gegeben und anschließend 40 g Dextran 70 darin gelöst. Für die Retrodialyselösung wurden zu 997,9 ml Ringerlösung 2,0 ml Tenormin® und 100 µl Sotalol® Injektionslösung (Sotalol: 10 mg/ml) zugegeben, so dass die Arzneistoffe jeweils in einer Konzentration von 1,0 µg/ml in den Perfusionslösungen enthalten waren. Auch hier erfolgte anschließend die Zugabe von 40 g Dextran. Die Lösungen wurden zweimal über einen Membranfilter mit 0,22 µm Porengröße sterilfiltriert und in sterile 10 ml PVC-Röhrchen aliquotiert. Mit den Membranfiltern wurde nach der Sterilfiltration als Funktionsprüfung ein Bubblepointtest durchgeführt. Von den Lösungen wurden je 5 Proben über 96 Stunden bei 37 °C inkubiert. Ein bakterielles Wachstum konnte nicht festgestellt werden.

### 3.2.9 Statistik

Die statistische Auswertung der Daten erfolgte mit dem Programm SPSS 9 (SPSS Inc., Chicago, USA). Sofern nicht anders angegeben sind die Daten als Mittelwert  $\pm$  Standardabweichung (MW  $\pm$  SD) dargestellt; n bezeichnet die Anzahl der Einzelwerte. Die pharmakokinetischen und pharmakodynamischen Ergebnisse der *in vivo*-Mikrodialyse wurden mittels Wilcoxon rank test für abhängige Stichproben mit den konventionellen Ergebnissen verglichen. Ein p-Wert kleiner als 0,05 wurde als statistisch signifikant angenommen.

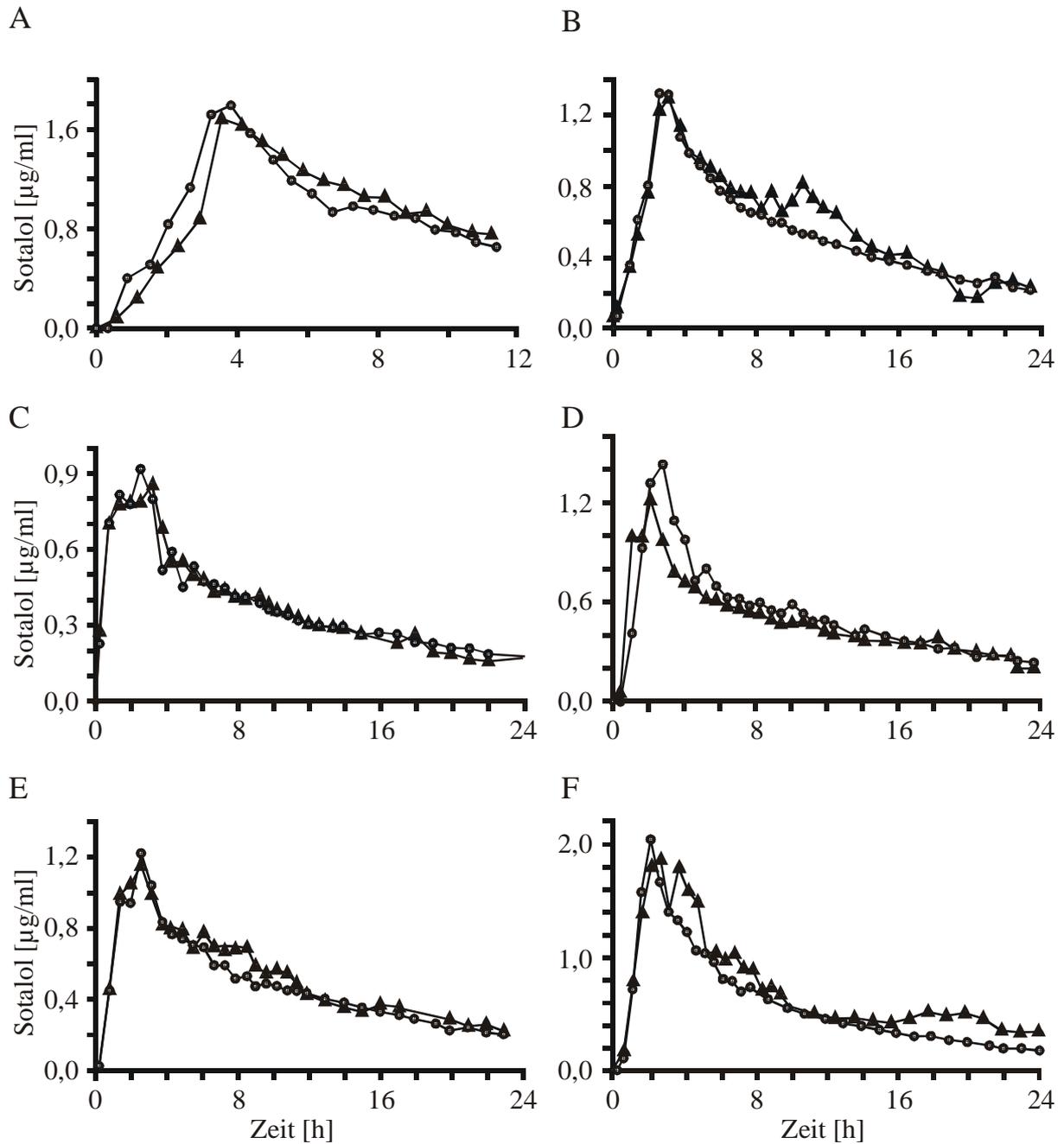
### 3.3 *In vivo*-Mikrodialyseuntersuchungen: Ergebnisse

Sechs gesunde männliche Probanden im Alter zwischen 24 und 29 Jahren wurden für die *in vivo*-Mikrodialyseuntersuchungen rekrutiert. Im Folgenden wird die *in vivo*-Anwendung der *in vitro* erprobten Mikrodialysebedingungen präsentiert. Um die Gleichwertigkeit beider Methoden zu überprüfen wurden die parallel gewonnenen Sotalolplasma- und Mikrodialysatkonzentrationen sowohl einzeln miteinander verglichen als auch kompartimentell analysiert und nachfolgend die resultierenden Parameter verglichen. Zusätzlich wurde als pharmakodynamischer Parameter das QT-Intervall gemessen und mit Sotalolplasma- bzw. Mikrodialysatkonzentration verknüpft. Die Berechnung der Konzentrationen erfolgte mithilfe des pharmakokinetischen Modells.

#### 3.3.1 Ergebnisse der pharmakokinetischen Untersuchungen

Abbildung 19 zeigt die Konzentrations-Zeitprofile der sechs Probanden nach oraler Gabe von 160 mg Sotalol über 24 Stunden. Bei dem Probanden (A) musste die Untersuchung aufgrund einer defekten Sonde nach zwölf Stunden abgebrochen werden. Alle Sotalolkonzentrationen in den Mikrodialysaten wurden über den Kalibrator Atenolol korrigiert.

Die Plasmakonzentrations-Zeitprofile und die Mikrodialysatkonzentrations-Zeitprofile der Probanden liegen nahezu exakt übereinander. Ein Vergleich der Wertepaare aus Plasma- und Mikrodialysatkonzentration ergibt eine Übereinstimmung der Konzentrationen von  $103 \pm 3,3 \%$  (MW  $\pm 90 \%$  C.I.) über alle Zeitpunkte gerechnet (Mikrodialysatkonzentration in Prozent der Plasmakonzentration). Für die kompartimentelle Analyse lieferte ein Einkompartimentmodell mit einer Absorption und Elimination erster Ordnung die besten Ergebnisse. Die darauf basierende Berechnung der pharmakokinetischen Parameter ergab ebenfalls vergleichbare Ergebnisse zwischen den beiden Methoden. Die Fläche unter der Konzentrations-Zeitkurve (AUC) lag bei den Mikrodialyseuntersuchungen bei  $111 \pm 10,0 \%$  der mittels konventioneller Plasmakonzentrationsbestimmung errechneten Werte. Die aus den Mikrodialysatkonzentrationen berechneten Werte für die Zeit bis zum Erreichen der maximalen Sotalolkonzentration ( $t_{\max}$ ) betragen  $111 \pm 11,2 \%$  der konventionellen Werte.



**Abbildung 19** Sotalolpharmakokinetik konventionell vs. Mikrodialyse

Sotalolkonzentrations-Zeitprofile von sechs erwachsenen männlichen Probanden über zwölf Stunden (A) bzw. 24 Stunden (B-F) nach oraler Gabe von 160 mg Sotalol. Die Kreise (○) stellen die konventionell gewonnenen Sotalolplasmakonzentrationen dar, die Dreiecke (▲) die Konzentrationen in den intravenös gewonnenen Mikrodialysaten. Die Mikrodialysatkonzentrationen lagen bei  $103 \pm 3,3 \%$  der Sotalolplasmakonzentrationen ( $MW \pm 90 \%$  C. I.). Zu beachten ist die unterschiedliche Skalierung der Ordinate in den einzelnen Diagrammen.

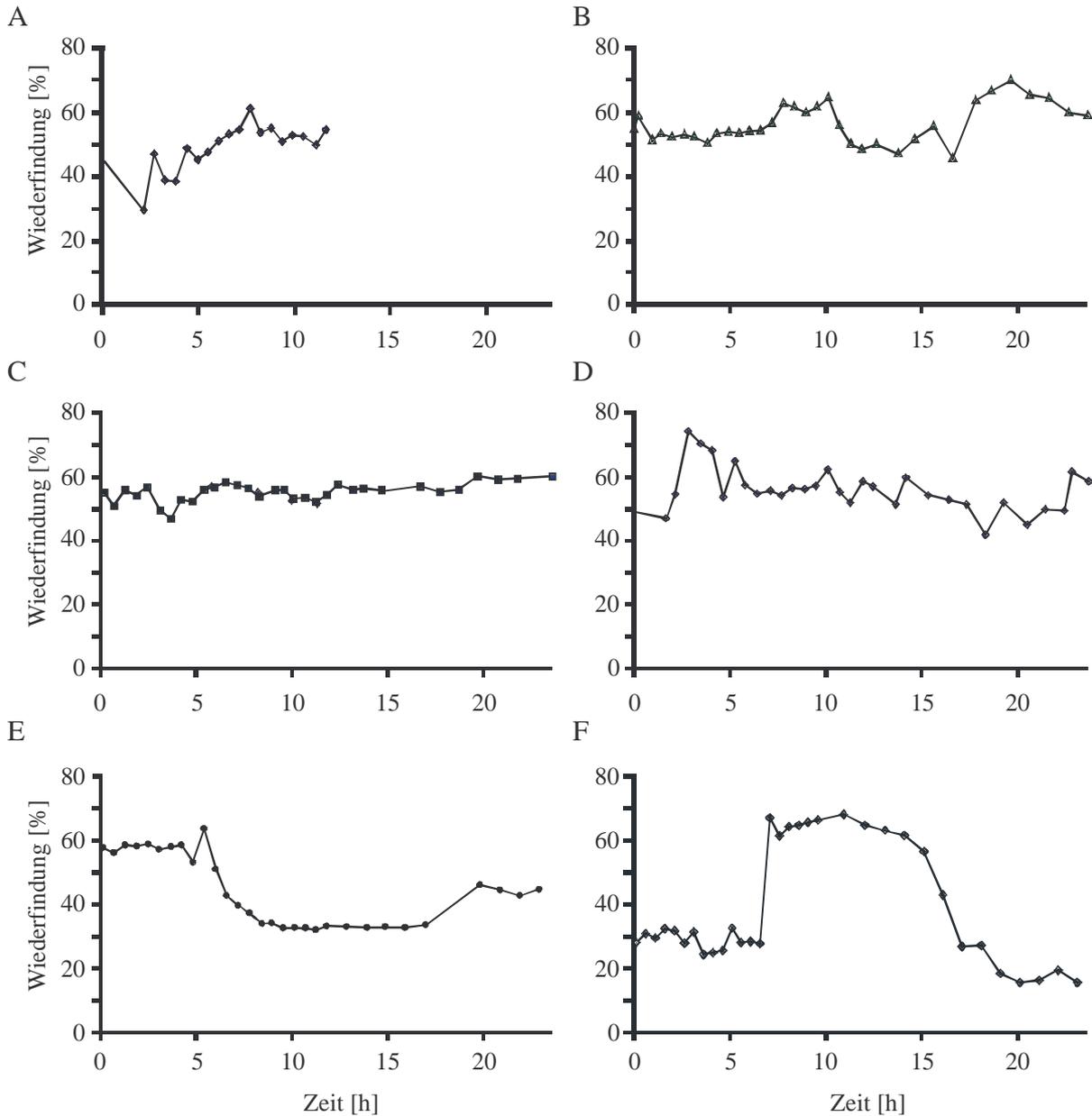
Sonde	PA	PA	PA	PA	PA	CUP	Richtigkeit (MW $\pm$ SD)
Proband	A	B	C	D	E	F	
AUC <sub>konv</sub> [ $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{ml}$ ]	14,95	14,21	9,98	13,63	12,53	13,47	
AUC <sub>MD</sub> [ $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{ml}$ ]	14,96	16,32	9,81	15,14	14,13	16,90	
AUC <sub>MD</sub> [% konv.]	100,1	114,8	98,4	111,1	112,8	125,5	110,5 $\pm$ 10,0
C <sub>max konv.</sub> [ $\mu\text{g}/\text{ml}$ ]	1,51	1,11	0,76	0,88	0,92	1,68	
C <sub>max MD</sub> [ $\mu\text{g}/\text{ml}$ ]	1,44	1,80	0,77	0,88	0,95	1,66	
C <sub>max MD</sub> [% konv.]	95,4	97,3	101,3	100,0	103,3	98,8	99,4 $\pm$ 2,8
t <sub>max konv</sub> [h]	3,65	2,68	1,46	2,13	2,46	1,68	
t <sub>max MD</sub> [h]	4,20	3,37	1,47	2,13	2,56	1,66	
t <sub>max MD</sub> [% konv.]	115,1	125,7	100,1	100,0	104,1	101,2	111,3 $\pm$ 11,2
t <sub>1/2 konv.</sub> [h]	4,98	7,72	8,02	9,14	7,51	5,00	
t <sub>1/2 MD</sub> [h]	4,63	8,44	7,77	9,73	8,30	6,10	
t <sub>1/2 MD</sub> [% konv.]	92,3	109,3	96,9	106,5	110,5	122,0	106,4 $\pm$ 10,4

**Tabelle 5** Pharmakokinetische Parameter der sechs Probanden: konventionell vs. Mikrodialyse

Pharmakokinetische Parameter AUC (Fläche unter der Konzentrations-Zeitkurve), C<sub>max</sub> (maximale Sotalolplasmakonzentration), t<sub>max</sub> (Zeit bis zum Erreichen der maximalen Sotalolplasmakonzentration) und t<sub>1/2</sub> (terminale Sotalolhalbwertszeit) der Probanden (A-F) nach oraler Gabe von 160 mg Sotalol, berechnet durch kompartimentelle Analyse der konventionellen Plasmakonzentrationen (konv.) und Mikrodialysatkonzentrationen (MD). Die Richtigkeit der Mikrodialyseparameter wurde in Prozent der konventionellen Parameter berechnet (MW  $\pm$  SD). PA = Polyamidmembran (Außendurchmesser 0,6 mm), CUP = Cuprophanmembran (Außendurchmesser 0,24 mm).

Die Halbwertszeit (t<sub>1/2</sub>) erreichte 106  $\pm$  10,4 % der konventionell bestimmten Halbwertszeit, und bei der maximalen Plasmakonzentration (c<sub>max</sub>) wurde 99  $\pm$  2,8 % Übereinstimmung mit der konventionellen Methode erreicht. Die Einzelwerte aller pharmakokinetischen Parameter weichen zwischen den Methoden nicht mehr als 26 % voneinander ab. Tabelle 5 zeigt die Einzelwerte für die pharmakokinetischen Parameter, errechnet über die Sotalolmikrodialysatkonzentrationen und über die konventionellen Sotalolplasmakonzentrationen, sowie die Mikrodialysatwerte als jeweils prozentualen Anteil der Plasmawerte. Ein Wilcoxon-Test für abhängige Stichproben zeigte, dass keine signifikanten Unterschiede zwischen konventioneller Methode und Mikrodialyse bestehen (p > 0,05). Abbildung 19 F zeigt die Ergebnisse des Versuchs mit der für Neugeborene und Säuglinge verwendbaren CUP-Sonde. Die überlagerten Sotalolkonzentrations-Zeitkurven zeigen, dass eine Übereinstimmung der zwei Bestimmungsmethoden auch bei der Anwendung der kleineren CUP-Sonde vorliegt. Die per Mikrodialyse erhaltenen pharmakokinetischen Daten in diesem Versuch waren AUC 125,5 %, C<sub>max</sub> 98,8 %, t<sub>max</sub> 101,2 % und t<sub>1/2</sub> 122,0 % (% der konventionellen Plasmawerte).

Während der sechs *in vivo*-Experimente wurde die Wiederfindung von Sotalol über die Auswärtsdiffusion von Atenolol aus der Sonde berechnet (Retrodialyse per Kalibrator, Abschnitt 3.2.6). Es zeigten sich Unterschiede zwischen den verschiedenen Sondentypen (Abb. 20). Während bei der PA-Sonde eine mittlere Wiederfindungsrate von  $54,4 \pm 9,8 \%$  in einem Bereich zwischen 32 und 80 % gefunden wurde ( $n = 163$ ), zeigte die CUP-Sonde eine Wiederfindungsrate von  $40,3 \pm 18,6 \%$  ( $n = 37$ ) mit minimal 15 % und maximal 67 %.



**Abbildung 20** Sotalolwiederfindung *in vivo*

Sotalolwiederfindung im Dialysat während der sechs *in vivo*-Mikrodialyseversuche (A-F) über die Zeit, berechnet über die Auswärtsdiffusion des Kalibrators Atenolol.

Bei vier der Probanden (Abb. 20 A-D) bewegte sich die Wiederfindung zwischen 30 % und 60 % (A), 47 % und 70 % (B), 47 % und 60 % (C) sowie 42 % und 56 % (D). Dabei traten kurzfristige Auf- und Abwärtsbewegungen auf, die etwa eine halbe bis eine Stunde anhielten und anschließend wieder in die entgegengesetzte Richtung verliefen. Bei den beiden übrigen Probanden zeigten sich Veränderungen über mehrere Stunden in der Wiederfindung (Abb. 20 E, F). Bei Proband E fiel die Wiederfindung von 60 % auf 30 %, um dann gegen Ende des Versuches wieder auf 45 % zu steigen. Bei Proband F stieg die Wiederfindung von 30 % auf 60 %, um dann auf 15 % abzufallen. Bei allen Versuchen kam die Wiederfindung gegen Ende in etwa wieder auf den Ausgangswert zurück.

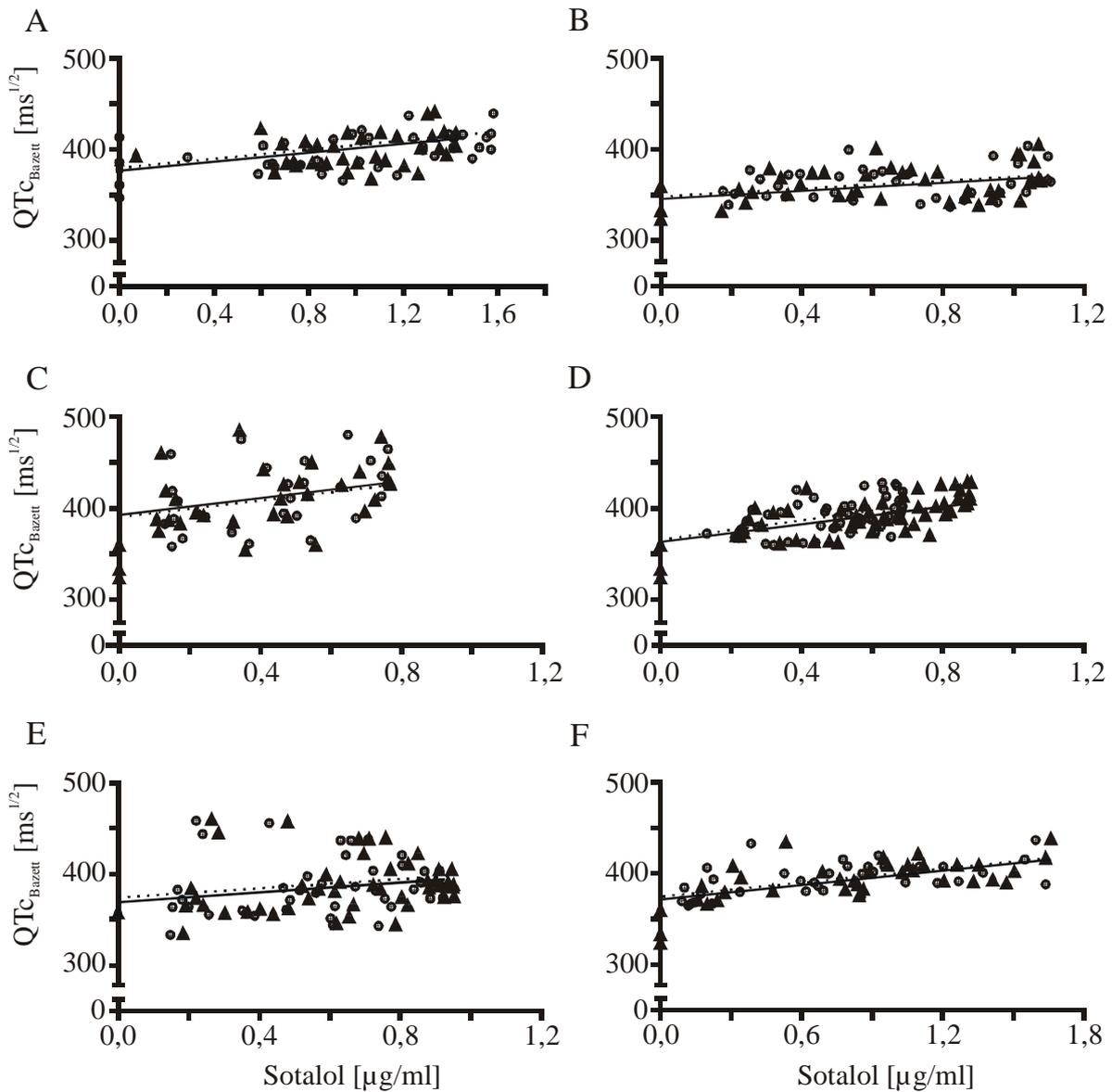
### 3.3.2 Ergebnisse der pharmakodynamischen Untersuchungen

Um die Kombinierbarkeit pharmakodynamischer Untersuchungen mit pharmakokinetischen Mikrodialyseuntersuchungen zu überprüfen, wurde zu 52 Zeitpunkten während jeder Mikrodialyseuntersuchung das korrigierte QT-Intervall<sup>118</sup> der Probanden bestimmt. Mithilfe der kompartimentellen Analyse wurde die per Mikrodialyse bzw. konventionell bestimmte Sotalolplasmakonzentration für den Zeitpunkt der jeweiligen QT-Intervallmessung berechnet, so dass nun eine Verknüpfung zwischen Sotalolkonzentration und QTc-Intervall möglich wurde (Abschnitt 1.2.11). In Abbildung 21 A-F sind die Beziehungen zwischen QTc-Intervall und Sotalolkonzentration (per Mikrodialyse oder konventionell) für die sechs Probanden dargestellt. Wie bei den pädiatrischen Patienten ergibt sich auch hier ein linearer Zusammenhang zwischen Sotalolkonzentration im Blut und QTc-Intervallverlängerung, der sich über eine lineare Regression mit einer Geradengleichung des Typs  $y = mx + b$  beschreiben lässt. Die Steigungsfaktoren ( $m$ ) der einzelnen Regressionsgeraden sowie die Basiswerte des QTc-Intervalls ( $b$ ) wurden für jeden Probanden individuell berechnet und sind in Tabelle 6 zusammengefasst ( $b = E_0$ ). Ein Vergleich der Steigungsfaktoren beider Methoden zeigt eine Übereinstimmung von  $99,5 \% \pm 6,5 \%$  (mikrodialysebasierte Werte in Prozent der konventionellen Werte). Die Richtigkeit der Basiswerte  $E_0$  beträgt  $99,7 \% \pm 0,5 \%$  (mikrodialysebasierte Werte in Prozent der konventionellen Werte). Weder für den Steigungsfaktor  $m$  noch für die Basiswerte  $E_0$  konnte mit einem Wilcoxon-Test für abhängige Stichproben ein signifikanter Unterschied zwischen beiden Methoden festgestellt werden ( $p > 0,05$ ). In Abbildung 21 F ist das Ergebnis gezeigt, welches mit der für Neugeborene geeigneten CUP-Sonde erzielt wurde. Auch hier konnte kein Unterschied zwischen konventionellen und mikrodialysebasierten Wer-

---

<sup>118</sup> QTc-Intervall, korrigiert nach Bazett

ten festgestellt werden. Unterschiede zu den PA-Sonden konnten ebenfalls nicht festgestellt werden.



**Abbildung 21** Sotalolpharmakodynamik konventionell vs. Mikrodialyse

Herzfrequenzkorrigiertes QT-Intervall (nach Bazett, 1920; QTc<sub>Bazett</sub>) aufgetragen gegen die konventionell ermittelte Sotalolkonzentration (○) bzw. gegen die intravenöse Sotalolmikrodialysatkonzentration (▲) bei sechs Probanden (A-F). Es wurde ein lineares pharmakodynamisches Modell nach der Gleichung  $E = E_0 + m \cdot c$  ( $E$  = Effekt,  $E_0$  = Basiseffekt,  $m$  = Steigung,  $c$  = Konzentration) für die Verknüpfung von Sotalolkonzentration und Effekt verwendet. Die Linien stellen die Regressionsgeraden für den Zusammenhang zwischen Sotalolkonzentration und QTc-Intervall dar (gestrichelt = konventionelle Plasmakonzentration, durchgezogen = Mikrodialysatkonzentration).

Parameter	PA	PA	PA	PA	PA	CUP	Richtigkeit [%]
Proband Nr	1	2	3	4	5	6	
$m_{\text{Plasma}}$ [ms·ml <sup>-1</sup> /μg]	28,8	21,4	94,6	53,6	26,9	25,6	
$m_{\text{Dialysat}}$ [ms·ml <sup>-1</sup> /μg]	30,5	22,5	94,0	48,1	25,2	26,3	
$m_{\text{Dialysat}}$ [% Plasma]	106,0	105,3	99,4	89,8	93,9	102,5	99,5 ± 6,5
$E_0$ Plasma [ms]	376	348	389	365	374	375	
$E_0$ Dialysat [ms]	377	346	390	363	373	372	
$E_0$ Dialysat [% Plasma]	100,3	99,4	100,3	99,5	99,7	99,2	99,7 ± 0,5

**Tabelle 6** Pharmakodynamische Parameter der Probanden: konventionell vs. Mikrodialyse

Vergleich der Steigungsfaktoren  $m$  sowie der Basiswerte  $E_0$  des linearen pharmakodynamischen Modells  $E = E_0 + m \cdot c$  ( $E$  = Effekt,  $E_0$  = Basiseffekt,  $c$  = Arzneistoffkonzentration) zwischen konventioneller Methode und Mikrodialyse bei sechs Probanden (A-F). Größere Steigung ( $m$ ) bedeutet höhere Empfindlichkeit des Probanden bezüglich der sotalolinduzierten QTc-Intervallverlängerung. Die Richtigkeit der Werte ist angegeben als Mittelwert der Mikrodialysewerte [% der Plasmawerte ± SD].

### 3.4 *In vivo*-Mikrodialyseergebnisse: Diskussion

#### 3.4.1 Zusammenfassung der Ergebnisse

Bei sechs Probanden wurde eine intravenöse Mikrodialyse nach oraler Einnahme von 160 mg Sotalol und eine Verknüpfung mit dem pharmakodynamischen Parameter QTc-Intervallverlängerung durchgeführt. Die Ergebnisse der Mikrodialyse wurden mit einer konventionellen Methode verglichen. Die Verknüpfung der sotalolinduzierten QTc-Intervallverlängerung mit den pharmakokinetischen Daten erfolgte linear über ein *direct-link*-Modell. Die Ergebnisse dieser Untersuchungen sind nachfolgend zusammengefasst und werden anschließend diskutiert.

- Die *in vitro*-Mikrodialysemethode lies sich auf *in vivo*-Verhältnisse übertragen. Die Anwendung von Atenolol ermöglichte dabei die Bestimmung der Wiederfindung und damit die korrekte Ermittlung der Sotalolkonzentration in den Mikrodialysaten.
- Die intravenöse Mikrodialyse lieferte zur konventionellen Methode vergleichbare pharmakokinetische Ergebnisse. Die Richtigkeit der per Mikrodialyse bestimmten pharmakokinetischen Parameter lag zwischen 89,8 % und 125,5 % der konventionell ermittelten.
- Die Miniaturisierung der Methode auf eine bei Neugeborenen anwendbare Mikrodialyse-sonde erwies sich auch *in vivo* als durchführbar. Dabei wurde die Bestimmung der Sotalolkonzentration nicht durch niedrigere Wiederfindung oder Veränderungen in der Wiederfindung beeinflusst, da durch den Kalibrator Atenolol jederzeit die aktuelle Wiederfindung bestimmt werden konnte. Die Methode sollte sich demnach auch auf andere Sonden übertragen lassen können.
- Die gleichzeitige Ermittlung pharmakodynamischer Parameter ergab mit 99,5 % und 99,7 % nahezu identische Ergebnisse im Vergleich zur konventionellen Bestimmung. Daher ist die Durchführung von PK-PD Studien mit intravenöser Mikrodialyse möglich.

#### 3.4.2 Humane Anwendung der Mikrodialyse

Im Verlauf der letzten zehn Jahre ist die Mikrodialysetechnik in die klinische Forschung integriert worden<sup>119</sup>, wobei verschiedenste Gewebearten untersucht wurden. Beispielsweise wurden Untersuchungen bezüglich der Konzentration von Antibiotika im infizierten Gewebe durchgeführt<sup>120</sup>. Bei Intensivpatienten mit schweren Kopfverletzungen wurde per intrakraniell-

---

<sup>119</sup> Vgl. Müller (2002); Stahl et al. (2002)

<sup>120</sup> Vgl. Joukhadar et al. (2001)

ler Mikrodialyse die Stoffwechsellage im zentralen Nervensystem monitoriert<sup>121</sup>. In einer weiteren Studie wurden pharmakokinetische Untersuchungen von antineoplastischen Substanzen in Tumorgewebe durchgeführt<sup>122</sup>. Es gibt einige wenige intravenöse humane Mikrodialyseuntersuchungen, pharmakokinetische Untersuchungen in Blut wurden bislang jedoch nicht publiziert.

Páez und Hernandez veröffentlichten 1998 die Veränderung von Serotoninplasmaspiegeln bei 24 männlichen Probanden unter Fluoxetingabe. Dafür verwendeten sie Mikrodialysesonden mit einer Membranlänge von 20 mm und einem Durchmesser von 1,4 mm, die über einen Venenverweilkatheter in die Kubitalvene gelegt wurden. Die Membran der Sonde bestand aus Zellulose und hatte einen molekularen Cut-off von 13 kD. Als Perfusionslösung diente isotonische NaCl-Lösung und die Flussrate betrug 1,0 µl/min bei 30minütigen Sammelintervallen. Die Wiederfindung des endogenen Serotonins wurde zu Versuchsbeginn mithilfe der *No-Net-Flux*-Methode bestimmt<sup>123</sup>. Mit 98,6 % war die gemessene *in vivo*-Wiederfindungsrate sehr hoch. Eine permanente Bestimmung der Wiederfindung erfolgte jedoch nicht. Die von Páez und Hernandez angewendete Mikrodialysemethode ähnelt der hier vorgestellten Untersuchung in Aufbau und Durchführung. Perfusionsrate und Sammelintervalle sind vergleichbar, und auch die Lage der Sonden unterscheidet sich nicht. Allerdings ist die verwendete Sonde mit einem Membrandurchmesser von 1,4 mm deutlich zu groß für die Anwendung bei Kindern.

Stjernström et al. haben 1993 Glukose, Laktat und einige weitere endogene Parameter mittels intravenöser Mikrodialyse bestimmt. Als Perfusionslösung wurde hier Ringerlösung bei einer Flussrate von 2 und 5 µl/min und Membranen von 20 mm Länge und 0,9 mm Durchmesser eingesetzt, das Sammelintervall betrug 60 Minuten. Die erhaltenen Werte wurden mit parallel gewonnenen Blutwerten verglichen. Es wurde eine konstante Wiederfindung von 90 bis 100 % für alle Substanzen bei einer Flussrate von 2 µl/min angegeben. Eine Möglichkeit für die Bestimmung der Wiederfindung ohne die hier verwendeten Blutproben wird jedoch nicht genannt, so dass die Methode nicht übertragbar auf Substanzen ist, welche eine deutlich geringere Wiederfindung als 100 % aufweisen, da sich bei Veränderungen im Blutfluss auch die Wiederfindung ändern kann (Abschnitt 3.4.4).

---

<sup>121</sup> Vgl. Ståhl et al. (2001)

<sup>122</sup> Vgl. Brunner und Müller (2002)

<sup>123</sup> Vgl. Lönnroth et al. (1987)

### 3.4.3 Ursachen für grundsätzliche Unterschiede in der Wiederfindungsrate

Die Wiederfindung einer Substanz wird wesentlich durch ihre Diffusion bestimmt. Die Diffusion ist unter anderem abhängig von der Oberfläche und Dicke der verwendeten Membran und der Partikelgröße der betrachteten Substanz (Fick'sche Diffusionsgesetze). Die Partikelgröße bei gelösten Teilchen wird durch ihre Molekülgröße und ihren Dissoziationsgrad sowie ihre Hydrathülle bestimmt. Der Massentransport durch die Membran verhält sich direkt proportional zur Membranoberfläche, wohingegen die Membrandicke umgekehrt proportional zum Massentransport steht. Da die CUP-Sonde durch ihren schmalere Durchmesser im Vergleich zur PA-Sonde (0,24 mm zu 0,6 mm) eine nur etwa halb so große Membranoberfläche besitzt wie die PA-Sonde, sind die beobachteten Unterschiede in der Wiederfindung zwischen den beiden verwendeten Sonden (PA: 54 %, CUP: 40 %) vermutlich auf die kleinere Oberfläche der CUP-Sonde zurückzuführen. Da keine Halbierung der Wiederfindung stattfand, ist anzunehmen, dass die CUP-Membran deutlich dünner als die PA-Membran ist. Leider liegen dazu keine Angaben vor.

Die von Páez und Hernandez verwendete Sonde ist bei gleicher Länge etwa 0,8 mm im Durchmesser größer als die PA-Sonde und hat dadurch eine doppelt so große Oberfläche. Hier könnte daher die Ursache für die fast doppelt so hohe Wiederfindung von Serotonin im Vergleich zu Sotalol liegen, jedoch fehlt auch hier die Angabe der Membrandicken. Ebenfalls eine Rolle könnten die unterschiedlichen Diffusionseigenschaften der Substanzen spielen, da Serotonin im Vergleich zu Sotalol ein deutlich geringeres Molekulargewicht besitzt (176 vs. 272). Da die  $pK_a$ -Werte von Serotonin ( $pK_a$  9,1) und Sotalol ( $pK_a$  9,6) recht ähnlich sind, werden sich Dissoziationsgrad und Hydrathülle vermutlich nicht sehr unterscheiden.

Von Stjernström et al.<sup>124</sup> werden für verschiedene endogene Substanzen mit einem Molekulargewicht zwischen 60 und 180 g/mol (Sotalol: 272 g/mol) Wiederfindungen zwischen 90 und 100 % bei einer Perfusionsgeschwindigkeit von 2,0  $\mu$ l/min angegeben. Auch hier spielt möglicherweise die Oberfläche der verwendeten Membran eine bedeutende Rolle: Sie ist um etwa 50 % größer als die hier verwendete PA-Membran und könnte daher ebenfalls einen Teil zur größeren Wiederfindung beitragen. Eine weitere Ursache für die deutlich bessere Wiederfindung in diesen Untersuchungen verglichen mit den vorliegenden ist möglicherweise die geringere Molekülgröße. Darauf deutet vor allem hin, dass die Substanz mit der größten mo-

---

<sup>124</sup> Stjernström et al. (1993)

lekularen Masse (Glukose: 180 g/mol) die geringste Wiederfindung aufwies (90 %). Zusätzlich beeinflussende Faktoren könnten ein geringerer Dissoziationsgrad oder eine kleinere Hydrathülle sein.

Die in der Mikrodialysezelle gefundenen Wiederfindungsraten sind mit etwa 93 % jedoch höher als die *in vivo* gefundenen 54 % (PA-Sonde). Dieses Phänomen ist auch bei Mikrodialyseuntersuchungen in Muskel- und Fettgewebe beobachtet worden<sup>125</sup>. Bei dem Vergleich von *in vitro*-Untersuchungen mit *in vivo*-Studien in Geweben ist diese Differenz allerdings damit zu erklären, dass die Substanzen *in vivo* durch die Zellen des Gewebes hindurch- oder um sie herumdiffundieren müssen. Bei *in vitro*-Untersuchungen ist dies nicht der Fall. In den vorliegenden Untersuchungen in Vollblut war jedoch eine solche Differenz zwischen *in vitro*- und *in vivo*-Wiederfindung nicht erwartet worden, da das Medium Blut auch in der Zelle verwendet wurde. Eine mögliche Erklärung für die geringere Wiederfindung *in vivo* ist die Lage der Sonde im Gefäß. In der Mikrodialysezelle ist die Membran der Sonde stets nach allen Seiten frei, so dass die Diffusion in alle Richtungen stattfinden kann. Im Gefäß liegt die Membran möglicherweise am Endothel an. Dies könnte die Diffusion beeinträchtigen, da in dieser Situation nur ein Teil der Membranoberfläche zur Verfügung steht.

#### **3.4.4 Ursachen für zeitliche Veränderungen in der Wiederfindungsrate**

Die Ergebnisse der Untersuchungen zeigten unterschiedliche Wiederfindungsraten auch während der Versuche. Bei den Probanden A-D war die Wiederfindung nur kurzen Schwankungen von etwa einer Stunde Dauer unterlegen (1-2 Dialyseintervalle). Bei den Probanden E und F zeigten sich Perioden von mehreren Stunden, in denen die Wiederfindung um 50 % oder mehr erhöht oder erniedrigt war. Bei allen Probanden erreichte die Wiederfindung am Ende der Untersuchung wieder annähernd den Ausgangswert.

Ein Grund für die Veränderungen der Sotalolwiederfindung während der intravenösen Mikrodialyseuntersuchung könnte sein, dass die Sonde nicht korrekt in der Vene positioniert worden war. Dies würde bedeuten, dass die Membran der Sonde gar nicht intravenös, sondern im Gewebe lag. Dies kann jedoch in unseren Untersuchungen ausgeschlossen werden, da die erste Blutprobe im Versuch immer aus dem Venenverweilkatheter für die Sondenaufnahme entnommen wurde. Weiterhin wurde die freie Bewegbarkeit der Sonde im Gefäß geprüft. Ei-

---

<sup>125</sup> Vgl. Brunner et al. (2000)

ne weitere Möglichkeit zur Erklärung der Veränderung der Wiederfindung während einer Untersuchung ist eine Veränderung in dem die Sonde umgebenden Blutfluss. Evrard und Verbeeck beobachteten 1994 in *in vitro*-Experimenten, dass die Wiederfindung mit langsamem Fluss um die Membran der Sonde absinkt. Daher empfahlen sie, für *in vivo*-Untersuchungen ein Gefäß auszusuchen, welches ausreichenden Blutfluss bietet, um keine Veränderungen in der Wiederfindung zu erhalten<sup>126</sup>. Es könnte deshalb sein, dass der Anstieg der Wiederfindung bei Proband F durch eine Steigerung des Blutflusses zustande kam, wohingegen der Abfall bei Proband E durch eine verringerte Durchblutung verursacht wurde.

Zusätzlich ist es auch möglich, dass sich die Lage der Sonde durch die Strömung des Blutes zeitweise verändert hat, so dass die Membran der Sonde an der Endothelwand gelegen hat. Dies hätte eine Verringerung der für die Diffusion zur Verfügung stehenden Membranoberfläche zur Folge mit dem Effekt einer schlechteren Wiederfindung, da die Wiederfindung proportional von der Membranoberfläche abhängt. Bei erneuter Veränderung der Lage würde sich auch die Wiederfindung wieder verändern. Dies könnte zusätzlich durch Bewegungen des Arms, in dem sich die Sonde befindet, beeinflusst werden.

Zu beachten ist in diesem Zusammenhang, dass die von Páez und Hernandez zur Bestimmung der Wiederfindung verwendete *No-Net-Flux*-Methode nur die Wiederfindung vor Beginn der eigentlichen Untersuchung angibt. Allenfalls könnte zusätzlich am Ende der Untersuchung eine erneute Bestimmung der Wiederfindung durchgeführt werden. Änderungen in der Wiederfindung können daher mit dieser Methode nicht beobachtet werden. Es ist deshalb möglich, dass in diesen Untersuchungen nicht über den gesamten Zeitraum die angegebene Wiederfindung von etwa 98 % erreicht wurde. Auch in den Untersuchungen von Stjernström et al.<sup>127</sup> wurde keine kontinuierliche Bestimmung der Wiederfindung durchgeführt. Jedes Dialysat wurde jedoch mit einer konventionellen Blutprobe verglichen, so dass hier kein Zweifel an der Richtigkeit der Werte besteht.

### **3.4.5 Gründe für die Anwendung der Retrodialysemethode**

Verschiedene Faktoren können die Wiederfindung einer Substanz beeinflussen. Länge, Durchmesser und Dicke der Membran sowie die Perfusionsgeschwindigkeit und die Perfusi-

---

<sup>126</sup> Vgl. Evrard et al. (1995)

<sup>127</sup> Stjernström et al. (1993)

onslösung sind Faktoren, die von der Mikrodialyseapparatur abhängen und bis zu einem bestimmten Grad beeinflusst werden können. Molekülgröße, Grad der Dissoziation und Hydrathülle sind substanzspezifische Faktoren, welche die grundsätzliche Höhe der Wiederfindung mitbestimmen. Dagegen sind die Blutflussrate oder bewegungsbedingte Änderungen der Sondenlage im Gefäß Faktoren, die für kurz- und mittelfristige Veränderungen der Wiederfindung als mögliche Erklärungen in Frage kommen.

Veränderungen während des Dialyseprozesses sind schwer zu registrieren und auch nur schlecht zu beeinflussen. Sowohl interindividuell als auch intraindividuell sind in den vorliegenden Untersuchungen Veränderungen der Wiederfindung von 50 % und mehr aufgetreten. Dies erklärt die Notwendigkeit einer permanenten Bestimmung der Wiederfindung. Ohne die mittels Atenolol durchgeführte Korrektur der Mikrodialysekonzentrationen wäre eine fehlerfreie Auswertung der erhaltenen pharmakokinetischen Daten nicht möglich gewesen. Eine permanente Messung der Wiederfindung ist daher für intravenöse Mikrodialyseuntersuchungen essentiell, gerade im Hinblick auf die Zielgruppe (Neugeborene und Säuglinge). Durch die Größe der Gefäße werden Veränderungen im Blut viel schneller relevant. Zum jetzigen Zeitpunkt ist Retrodialyse mit Kalibrator dafür die einzig praktikable Methode.

### **3.4.6 Mikrodialyse und Pharmakodynamik**

Die im Zusammenhang mit der Ermittlung pharmakokinetischer Parameter ebenfalls erhobenen pharmakodynamischen Daten wurden anschließend einer pharmakodynamischen Analyse unterzogen. Dies wurde sowohl für die konventionell gewonnenen als auch mit den durch Mikrodialyse gewonnenen Sotalolkonzentrationen durchgeführt. Die dabei erhaltenen Ergebnisse waren vergleichbar.

Aufgrund der guten Übereinstimmung der pharmakokinetischen Daten war dies auch zu erwarten. Da Sotalol nicht an Plasmaproteine gebunden wird<sup>128</sup>, unterscheiden sich die mit Mikrodialyse oder konventionell messbaren Konzentrationen nicht voneinander und entsprechen außerdem den pharmakologisch aktiven Konzentration. Dies belegt die grundsätzliche Anwendbarkeit der Mikrodialyse für pharmakodynamische Untersuchungen, wie sie auch bereits mit Antibiotika in infiziertem Gewebe gezeigt wurde<sup>129</sup>. Die Anwendung einer Mikrodialysemethode bei proteingebundenen Arzneistoffen würde zu geringeren Arzneistoffkonzentrationen

---

<sup>128</sup> Vgl. Anttila et al. (1976)

<sup>129</sup> Vgl. Joukhadar et al. (2001); Liu et al. (2002)

nen im Vergleich zu konventionellen Bestimmungsmethoden führen, da mit Mikrodialyse nur der nicht proteingebundene Anteil gemessen wird. Da dieser jedoch ausschließlich auch für den pharmakodynamischen Effekt verantwortlich ist, eignet sich die Mikrodialyse besonders für pharmakokinetisch-pharmakodynamische Untersuchungen.

Prinzipiell eignet sich die Mikrodialyse für die Messung der Arzneistoffkonzentration im Zielgewebe, wie dies Joukhadar et al.<sup>130</sup> und Liu et al.<sup>131</sup> für Antibiotika im Muskelgewebe gezeigt haben. Dies konnte in der vorliegenden Untersuchung nicht durchgeführt werden, da es sich bei dem Zielgewebe von Sotalol um das Myokard handelt. Eine Annäherung durch die Messung der Arzneistoffkonzentration in der Skelettmuskulatur wäre denkbar. Zahlreiche Untersuchungen zu verschiedenen Arzneistoffkonzentrationen sind in Skelettmuskulatur durchgeführt worden<sup>132</sup>. Diese Untersuchungen sind jedoch schmerzhaft und erfordern zusätzlich den Einsatz eines Lokalanästhetikums<sup>133</sup>. Die hier vorgestellte Methode ist jedoch für die Anwendung bei Neugeborenen, Säuglingen und Kleinkindern entwickelt worden, um möglichst schonend pharmakokinetische Untersuchungen durchzuführen. Daher ist die Implantation einer Mikrodialysesonde im Skelettmuskelgewebe wegen der damit verbundenen Schmerzen und des Risikos einer Muskelentzündung für die gedachte Anwendung nicht sinnvoll.

---

<sup>130</sup> Vgl. Joukhadar et al. (2000)

<sup>131</sup> Vgl. Liu et al. (2002)

<sup>132</sup> Vgl. De la Peña et al. (2000)

<sup>133</sup> Vgl. Tegeder et al. (1999)

## 4 Ausblick

Aufgrund der Ergebnisse der vorliegenden Untersuchungen über die Pharmakokinetik und Pharmakodynamik von Sotalol kann die Therapie von tachykarden Herzrhythmusstörungen mit diesem Arzneistoff jetzt erstmals nach einem wissenschaftlich fundierten Dosierungsschema durchgeführt werden. Dadurch verkürzt sich die Zeit der Dosisfindung und somit auch des Krankenhausaufenthalts. Auch die Gefährdung des Kinds durch die Rhythmusstörung wird durch die schnellere Dosisfindung minimiert. Bei unwirksamer Therapie kann über eine Talspiegelkontrolle festgestellt werden, ob sich die Konzentrationen im erwarteten Bereich befinden. Danach kann entweder eine individuelle Korrektur stattfinden oder aber auf ein anderes Antiarrhythmikum umgestellt werden. Die erhöhte Empfindlichkeit von Neugeborenen und Säuglingen bis zu sechs Monaten gegenüber der sotalolinduzierten QT-Intervallverlängerung zeigt eine Altersabhängigkeit der Kaliumkanalblockade von Sotalol. Es konnte jedoch weder eine erhöhte Wirksamkeit noch ein erhöhtes proarrhythmisches Risiko der Sotaloltherapie in dieser Altersgruppe festgestellt werden. Auch eine mögliche Differenzierung der notwendigen Dosis je nach Ursache der tachykarden Rhythmusstörung war im Rahmen der Untersuchung nicht möglich. Für die Beantwortung dieser Fragen sind weitere Studien mit einer größeren Patientenzahl notwendig.

Für zukünftige pharmakokinetische Studien von Sotalol eignet sich die in dieser Arbeit vorgestellte Mikrodialysemethode. Durch die erhöhte Anzahl der Messwerte im Vergleich zur konventionellen Methode werden detailliertere Informationen erhalten. Gleichzeitig ist die Gewinnung des Analysenmaterials für die Patienten schonender. Interindividuelle pharmakokinetische Unterschiede innerhalb einer pädiatrischen Altersgruppe machen auch zukünftig individuelle pharmakokinetische Untersuchungen bei der Therapie tachykarder Herzrhythmusstörungen notwendig. Auch diese können mithilfe der Mikrodialysetechnik durchgeführt werden.

Die erhöhte Empfindlichkeit von Neugeborenen und Säuglingen gegenüber der sotalolinduzierten Kaliumkanalblockade kann auch bei der Therapie mit anderen Arzneistoffen, die das QT-Intervall verlängern, eine Rolle spielen. Zum Beispiel das Antibiotikum Erythromycin, welches häufig in der Pädiatrie verwendet wird, verlängert ebenfalls das QT-Intervall und

kann proarrhythmische Effekte auslösen<sup>134</sup>. Es ist daher möglich, dass auch Erythromycin bei Neugeborenen und Säuglingen eine verstärkte Verlängerung des QT-Intervalls bewirkt. Zukünftig sollte daher bei der Therapie von Krankheiten im Neugeborenen- und Säuglingsalter besonders sorgfältig auf eine mögliche QT-Intervallverlängerung durch Arzneistoffe geachtet werden. Insbesondere Komedikationen mit QT-Intervallverlängernden Arzneistoffen sollten vermieden werden.

Für die Weiterentwicklung der beschriebenen Mikrodialysemethode ist als wichtiger nächster Schritt die Anwendung bei Kindern zu nennen. Dies sollte zunächst im Rahmen einer Pilotuntersuchung bei einem Kind zwischen fünf und zehn Jahren parallel zu einer konventionellen Plasmabestimmung durchgeführt werden. Im Anschluss kann die Methode im Rahmen einer individuellen Dosiseinstellung auch bei kleineren Kindern angewendet werden. Hier empfiehlt sich zunächst noch die Abnahme einer Kontrollblutprobe vor oder nach der Untersuchung.

Die hier entwickelte Mikrodialysezelle zur Bestimmung von Bedingungen für intravenöse Mikrodialysemethoden könnte auch auf andere Arzneistoffe ausgeweitet werden. Zusätzlich ist es möglich, verschiedene andere Parameter wie z.B. Glukose<sup>135</sup> oder Elektrolyte bei Mikrodialyseuntersuchungen mitzubestimmen, um damit weitere Blutentnahmen überflüssig zu machen. Die Etablierung von Mikrodialysemethoden für andere in der Pädiatrie eingesetzte Arzneistoffe ermöglicht eine Verbesserung der Arzneistofftherapie von Kindern mit verschiedensten Krankheiten. Hier könnte die intravenös angewendete Mikrodialyse alternativ zur Populationspharmakokinetik angewendet werden. Der Vorteil der Mikrodialyse gegenüber der Populationspharmakokinetik ist die große Menge an Daten, die beim individuellen Patienten gewonnen wird. Dadurch wird die erhaltene Information präziser als bei einer populationspharmakokinetischen Analyse, welche zwar nur geringe Datenmengen benötigt, jedoch bei der Voraussage für einen einzelnen Patienten mit größeren Ungenauigkeiten behaftet ist. Damit könnte zukünftig die Mikrodialysetechnik intravenös zur schonenden und effektiven Durchführung von PK-PD-Studien bei Neugeborenen und Säuglingen angewendet werden und einen großen Beitrag zur Verbesserung der Pharmakotherapie in dieser Population leisten.

---

<sup>134</sup> Vgl. Redfern et al. (2002)

<sup>135</sup> Vgl. Baumeister et al. (2001)

## 5 Zusammenfassung

Tachykarde Herzrhythmusstörungen können für Neugeborene, Säuglinge und Kleinkinder eine lebensbedrohliche Erkrankung darstellen. Eine medikamentöse Therapie ist bei diesen Patienten meist die einzige Behandlungsmöglichkeit. Im ersten Teil dieser Arbeit wurde deshalb eine prospektive, nicht plazebokontrollierte Therapiestudie mit Sotalol zur Behandlung pädiatrischer Patienten mit tachykarden Herzrhythmusstörungen durchgeführt. Sotalol wurde gewählt, da es als einziger Beta-Rezeptorenblocker auch Klasse III-antiarrhythmische Eigenschaften besitzt und bei einem breiten Spektrum von Tachykardien effektiv ist. Aufbauend auf einer Studie, aus der bereits pharmakokinetischen Informationen gewonnen wurden, sollten Informationen über den Zusammenhang zwischen Konzentration, antiarrhythmischer Wirksamkeit und Sicherheit der Therapie erhalten werden. 55 Patienten mit tachykarden Herzrhythmusstörungen im Alter von 11 Tagen bis 40 Jahren wurden mit Sotalol in steigenden Dosen behandelt. Bei effektiver Therapie wurde ein Sotalolplasmakonzentrations-Zeitprofil über 12 Stunden bestehend aus 8 Plasmaproben erstellt. Die Analyse der Plasmakonzentrationen erfolgte mit einer validen HPLC-Methode. Aus den pharmakokinetischen Untersuchungen ergaben sich altersabhängige Unterschiede bei Clearance, Halbwertszeit und Verteilungsvolumen, sowie eine erhöhte Arzneimittelexposition bei Neugeborenen. Bei einer Subgruppe von 32 Patienten wurde der Effekt der sotalolinduzierten QT-Intervallverlängerung beobachtet. Dafür wurde aus über 30 12-Kanal-EKG-Aufzeichnungen während des Profils in Ableitung II das QT-Intervall bestimmt. Diese QT-Intervalle wurden für die Herzfrequenz korrigiert und mit den Sotalolplasmakonzentrationen verknüpft, um die sotalolinduzierte QTc-Intervallverlängerung zu beurteilen. Es zeigte sich bei Neugeborenen und Säuglingen eine um 180 bis 290 % erhöhte QTc-Intervallverlängerung verglichen mit älteren Kindern. Neugeborene reagieren demnach deutlich empfindlicher auf Sotalol. Eine weitere Subgruppe von 15 Patienten wurde nach einem engeren Dosierungsschema unter permanenter EKG-Kontrolle behandelt, um einen therapeutischen Bereich zu erhalten. Bei einem Sotaloltalspiegel von 0,4 µg/ml wurde eine therapeutische Erfolgswahrscheinlichkeit von 50 % und bei 0,6 µg/ml von 90 % gefunden. Aus diesen Talspiegeln ergaben sich mithilfe eines pharmakokinetisch-pharmakodynamischen Modellings für jeden Patienten Start- und Zieldosen, nach denen ein Dosierungsschema entwickelt wurde: Neugeborene und Patienten über 6 Jahre werden mit einer Startdosis von 2 mg/kg und einer Zieldosis von 4 mg/kg therapiert, Säuglinge (1-6 Monate) und Kinder zwischen 2 und 6 Jahren mit einer Startdosis von 3 mg/kg und einer Zieldosis von 5 mg/kg, Kleinkinder (7 Monate bis 2 Jahre) mit 3 bis 6 mg/kg. Damit steht erstmals

ein wissenschaftlich fundiertes Dosierungsschema für eine schnelle, sichere und effektive Therapie tachykarder Herzrhythmusstörungen mit Sotalol bei Kindern zur Verfügung.

Bei Neugeborenen und Säuglingen ist die Menge an verfügbarem Blut der limitierende Faktor für pharmakokinetisch-pharmakodynamische Untersuchungen. Eine intravenöse Mikrodialysemethode würde keine Blutentnahmen für die Bestimmung von Arzneistoffkonzentrationen benötigen. Im zweiten Teil dieser Arbeit wurden deshalb *in vitro*-Bedingungen für eine solche Methode ermittelt, für die zunächst eine geeignete *in vitro*-Testapparatur entwickelt wurde. Als Pilotsubstanz wurde Sotalol verwendet. Es geht keine Bindung mit Proteinen ein, diffundiert gut durch die Mikrodialysemembran und wird auch in der Zielgruppe der Neugeborenen und Säuglinge eingesetzt. Als geeignetes Perfusionsmittel zeigte sich Ringerlösung mit einem Zusatz von 4 % Dextran. Das Dextran war essentiell zum Ausgleich des onkotischen Drucks und wurde dem Dialysat vor der Analyse zum Schutz der HPLC-Anlage enzymatisch entzogen. Die Perfusionsgeschwindigkeit war bei 1,0 µl/min optimal. Bei dieser Geschwindigkeit betrug die *in vitro*-Wiederfindung  $94 \pm 7,9$  % (MW  $\pm$  SD). Zum Ausgleich möglicher Veränderungen der Wiederfindung *in vivo* wurde Atenolol als Kalibrator für eine permanente Kontrolle der Wiederfindung von Sotalol nach dem Prinzip der Retrodialyse evaluiert.

Im dritten Teil wurde die *in vitro* evaluierte Mikrodialysemethode intravenös bei sechs Probanden nach Applikation von 160 mg Sotalol angewendet. Gleichzeitig wurde die Pharmakokinetik konventionell über Blutentnahmen bestimmt und die dabei gewonnenen pharmakokinetischen Parameter mit den per Mikrodialyse erhaltenen verglichen. Dies ergab eine Übereinstimmung der bestimmten Mikrodialysat- und Plasmakonzentrationen von  $103 \pm 3,3$  % (MW  $\pm$  90 % CI). Die daraus berechneten pharmakokinetischen Parameter waren zwischen den beiden Methoden vergleichbar. Auch die gleichzeitig durchgeführte pharmakodynamische Untersuchung erbrachte für beide Methoden nahezu identische Ergebnisse mit  $100 \pm 0,5$  % (MW  $\pm$  SD) für den Basiseffekt (QT-Intervall) und  $100 \pm 6,5$  % für die Empfindlichkeit (mikrodialysebasierte Analyse bezogen auf die konventionelle Analyse). Die Mikrodialysemethode zeigte somit gleichwertige Ergebnisse zur konventionellen Methode. Vorteile der Mikrodialyse sind das Ausbleiben von Blutentnahmen sowie die damit verbundene höhere zeitliche Auflösung durch das kontinuierliche Sammeln von Mikrodialysat. Da durch Mikrodialyse ausschließlich die proteinungebundene und damit wirkbestimmende Arzneistofffraktion bestimmt wird, ist dieses Verfahren auch besonders gut für ein PK-PD Modelling geeignet.

## Summary

Supraventricular tachycardia can be life-threatening for newborns and infants. An antiarrhythmic pharmacotherapy often is the only therapeutic option in this population. Therefore, in the first part of this work a prospective clinical trial was carried out for the treatment of tachycardia in newborns, infants, and children using sotalol. Sotalol was selected as it combines class II- and class III-antiarrhythmic properties, and it is effective in the treatment of different types of tachycardia. Based on a study that gave some information about the pharmacokinetics of sotalol in children, the relation between plasma concentration and antiarrhythmic effect should be investigated in this population. 55 patients aged between 11 days and 40 years were treated with rising doses of sotalol to answer these questions. Eight plasma concentrations were sampled over 12 hours if the therapy was effective. The plasma samples were analyzed using a validated HPLC assay. The pharmacokinetic investigations showed age-related differences in clearance, volume of distribution, and half life, and a larger drug exposure in the newborns. The sotalol-induced QT-interval prolongation was investigated in a subgroup of 32 patients. Therefore, more than 30 12-lead-electrocardiograms were recorded during the pharmacokinetic investigations. The QT-interval was measured in lead II and corrected for heart rate. Afterwards the QT-intervals were connected with the plasma concentrations to get the sotalol-induced QT-interval prolongation. The data showed a 180 to 290 % higher QT-interval prolongation for newborns compared to older children at the same sotalol plasma levels. Accordingly, newborns react more sensitive to the sotalol-induced QT-interval prolongation than older patients. A second subgroup of 15 patients was treated with smaller incremental dosages under permanent electrocardiographic control in order to find a therapeutic range for the treatment of tachycardia with sotalol in children. Half of the children converted to sinus rhythm at trough levels of 0.4 µg/ml, and 90 % of the patients converted to sinus rhythm at trough levels of 0.6 µg/ml. These trough levels were used in a pharmacokinetic-pharmacodynamic model to calculate the individual necessary dose for each patient to reach 50 or 90 % probability for an effective therapy. An age-related dosing schedule was established from the gathered individual doses: newborns and children over 6 years of age start with sotalol doses of 2 mg/kg/day. The target dose is 4 mg/kg. Infants (1–6 months) and patients between 2 and 6 years of age have a starting dose of 3 mg/kg and a target dose of 5 mg/kg. Toddlers (7 months to 2 years) start with 3 mg/kg and the target dose is 6 mg/kg. This is the first age-related dosing schedule based on pharmacokinetic and pharmacodynamic data enabling a safe and effective treatment of tachycardia in this population.

In newborns and infants, the low available blood volume limits pharmacokinetic-pharmacodynamic investigations. The use of intravenous microdialysis would avoid blood samples for plasma concentrations of drugs. Therefore, in the second part of this work an *in vitro* test devices was developed to evaluate an *in vitro* microdialysis method for *in vivo* intravenous application. The beta receptor blocker sotalol served as a test drug. It shows no protein binding, and therefore it is expected to diffuse excellently through the microdialysis membrane. Furthermore, sotalol often is used in the target group of this method, newborns and infants. As perfusion fluid, ringer's solution with addition of 4 % dextran was selected. The addition of dextran is necessary to cope with the oncotic pressure of the proteins in blood. Before analysis, the dextran was removed enzymatically to prevent the HPLC system from clotting. A microdialysis flow rate of 1.0 µl/min was optimal. Using this flow rate, the *in vitro* recovery of sotalol was  $94 \pm 7.9$  % (mean  $\pm$  SD). For the reason of possible changes in the *in vivo* recovery due to the variability in blood flow, atenolol was added to the perfusion fluid as a calibrator following the principle of retrodialysis.

In the third part of this work the microdialysis method was applied intravenously to six healthy male volunteers over 24 hours after ingestion of 160 mg sotalol. Simultaneously conventional plasma samples were collected. The pharmacokinetic data gathered from both methods were compared afterwards. Microdialysis method and conventional method led to comparable pharmacokinetic parameters. Microdialysate sotalol concentrations were also comparable to the conventional plasma concentrations with  $103 \pm 3.3$  % (percent of plasma concentration; mean  $\pm$  90 % CI). The simultaneously performed pharmacodynamic analysis led to almost identical results with  $100 \pm 0.5$  % (mean  $\pm$  SD) for the baseline effect (QT-interval) and  $100 \pm 6.5$  % for the sensitivity (microdialysis based parameters in percent of conventional parameters). Therefore, the presented microdialysis method showed equally good results compared to the conventional plasma sampling. The great advantage of this new method is the blood free sampling of drug concentrations in plasma and the higher temporal resolution that can be reached sampling continuously. As only the unbound fraction of the drug is sampled, this method will be even more suitable for pharmacokinetic-pharmacodynamic modelling than conventional plasma sampling, as it is only the unbound fraction of the drug that is responsible for the effect.

## 6 Literaturverzeichnis

- Alcorn J, McNamara PJ (2003) Pharmacokinetics in the newborn. *Adv Drug Deliv Rev* 55: 667-686
- Anttila M, Arstila M, Pfeffer M, Tikkanen R, Vallinkoski V, Sundquist H (1976) Human pharmacokinetics of sotalol. *Acta Pharmacol Toxicol* 39: 118-128
- Barbey JT, Sale ME, Woosley RL, Shi J, Melikian AP, Hinderling PH (1999) Pharmacokinetic, pharmacodynamic, and safety evaluation of an accelerated dose titration regimen of sotalol in healthy middle-aged subjects. *Clin Pharmacol Ther* 66: 91-99
- Baumeister FAM, Rolinski B, Busch R, Emmerich P (2001) Glucose monitoring with long-term subcutaneous microdialysis in neonates. *Pediatrics* 108: 1187-1192
- Bazett HC (1920) An analysis of time-relations of the electrocardiogram. *Heart* 7: 353-370
- Benveniste H (1989) Brain microdialysis. *J Neurochem* 52: 1667-1679
- Bertilsson L (1995) Geographical/interracial differences in polymorphic drug oxidation. Current stat of knowledge of cytochromes-P450 (CYP) -2D6 and -2C19. *Clin Pharmacokinet* 29: 192-209
- Bolinder J, Ungerstedt U, Arner P (1993) Long-term continuous glucose monitoring with microdialysis in ambulatory insulin-dependent diabetic patients. *Lancet* 342: 1080-1085
- Bouw MR, Hammarlund-Udenaes M (1998) Methodological aspects of the use of a calibrator in in vivo microdialysis – further development of the retrodialysis method. *Pharm Res* 15: 1673-1679
- Brunner M, Joukhadar C, Schmid R, Erovic B, Eichler HG, Müller M (2000) Validation of urea as an endogenous reference compound for the in vivo calibration of microdialysis. *Life Sciences* 67: 977-984
- Brunner M, Müller M (2002) Microdialysis: an in vivo approach for measuring drug delivery in oncology. *Eur J Clin Pharmacol* 58: 227-234
- Castejon AM, Páez X, Hernandez L, Cubeddu LX (1999) Use of intravenous microdialysis to monitor changes in serotonin release and metabolism induced by cisplatin in cancer patients: comparative effects of granisetron and ondansetron. *J Pharmacol Exp Ther* 291: 960-966
- Committee for proprietary medicinal products (1997) Points to consider: the assessment of the potential for QT interval prolongation by non-cardiovascular medicinal products. CPMP/986/96
- Conroy S, Choonara I, Impicciatore P, Mohn A, Arnell H, Rane A, Knoepfel C, Seyberth H, Pandolfini C, Raffaelli MP, Rocchi F, Bonati M, t'Jong G, de Hoog M, van den Anker J (2000) Survey of unlicensed and off label drug use in paediatric wards in European countries. *BMJ* 320: 79-82
- De la Peña A, Liu P, Derendorf H (2000) Microdialysis in peripheral tissues. *Adv Drug Deliv Rev* 45: 189-216
- Echt DS, and the CAST investigators (1991) Mortality and morbidity in patients receiving encainide, flecainide or placebo. *NEJM* 324: 781

- Edsman K, Sundelöf LO (1987) Determination of thermodynamic interaction in mixed polymer solutions by a rapid and precise osmotic method. The system dextran/poly(vinylpyrrolidone)/water. *Polymer* 28: 2267-2274
- Evrard PA, Deridder G, Verbeeck RK (1995) Microdialysis in the mouse and the rat: development and pharmacokinetic application of a new probe. *Pharm Res* 13: 12-17
- Evrard PA and Verbeeck RK (1994) Effects of flow and albumin concentration of sample solution on the in vitro recovery by an i.v. microdialysis probe. *Pharm Res* 11: S-363
- Fish FA, Gillette PC, Benson DW Jr (1991) Proarrhythmia, cardiac arrest and death in young patients receiving encainide and flecainide. The Pediatric Electrophysiology Group. *J Am Coll Cardiol* 18: 356-365
- Fridericia LS (1920) Die Systolendauer im Elektrokardiogramm bei normalen Menschen und bei Herzkranken. *Acta Med Scand* 53: 469-486
- Funck-Brentano C, Jaillon P (1993) Rate-corrected QT interval: techniques and limitations. *Am J Cardiol* 72: 17B-22B
- Garson A, Gillette PC, McNamara DG (1981) Supraventricular tachycardia in children: clinical features, response to treatment, and long-term follow-up in 217 patients. *J Pediatr* 98: 875-882
- Glick SD, Dong N, Keller RW Jr, Carlson JN (1994) Estimating extracellular concentrations of dopamine and 3,4-dihydroxyphenylacetic acid in nucleus accumbens and striatum using microdialysis: relationships between in vitro and in vivo recoveries. *J Neurochem* 62: 2017-2021
- Guccione P, Paul T, Garson A (1990) Long-term follow-up of amiodarone therapy in the young: continued efficacy, unimpaired growth, moderate side effects. *J Am Coll Cardiol* 15: 1118-1124
- Gwilt M, Arrowsmith JE, Blackburn KJ, Burges RA, Cross PE, Dalrymple HW, Higgins AJ (1991) UK-68, 798: a novel, potent and highly selective class III antiarrhythmic agent which blocks potassium channels in cardiac cells. *J Pharmacol Exp Ther* 256: 318-324
- Hamrin K, Rosdahl H, Ungerstedt U, Henriksson J (2002) Microdialysis in human skeletal muscle: effects of adding a colloid to the perfusate. *J Appl Physiol* 92: 385-393
- Hanyok JJ (1993) Clinical pharmacokinetics of sotalol. *Am J Cardiol* 72: 19A-26A
- Höcht C, Di Verniero C, Opezzo JAW, Taira CA (2004) In vivo and in vitro pharmacodynamic properties of metoprolol in aortic coarctated rats. *Pharmacol Res* 47: 181-188
- Höcht C, Opezzo JAW, Taira CA (2003) Pharmacokinetics and the cardiovascular effects of irbesartan in aortic coarctated rats. *Pharmacology* 70: 23-30
- Holford NHG, Sheiner LB (1981) Understanding the dose-effect relationship: clinical application of pharmacokinetic-pharmacodynamic models. *Clin Pharmacokinet* 6: 429-453
- Houyel L, Fournier A, Duchame G, Chartrand C, Davignon A (1992) Electrophysiologic effects of sotalol on the mammalian heart. *J Cardiovasc Pharmacol* 19: 134-139
- International conference on harmonisation (2000) E11: Clinical investigation of medicinal products in the pediatric population. CPMP/ICH/2711/99
- Joukhadar C, Derendorf H, Müller M (2001) Microdialysis. A novel tool for clinical studies of anti-infective agents. *Eur J Clin Pharmacol* 57: 211-219

- Kearns GL, Reed MD (1989) Clinical pharmacokinetics in infants and children. A reappraisal. *Clin Pharmacokin* 17 (Suppl 1): 29-67
- Khamrov AN, Stenken JA (1999) Enhanced microdialysis extraction efficiency of ibuprofen in vitro by facilitated transport with  $\beta$ -cyclodextrin. *Anal Chem* 71: 1257-1264
- Kugler JD, Danford DA, Deal BJ, Gillette PC, Perry JC, Silka MJ, Van Harre GF, Walsh EP (1994) Radiofrequency catheter ablation for tachyarrhythmias in children and adolescents. *N Engl J Med* 330: 1481-1487
- Läer S, Wauer I, Behn F, Scholz H, Mir TS, Weil J, Meibohm B, Hulpke-Wette M (2001a) Pharmacokinetics of sotalol in different age groups of children with tachycardia. *J Pediatr Pharmacol Ther* 6: 50-59
- Läer S, Wauer I, Scholz H (2001b) Small blood volumes from children for quantitative sotalol determination using high-performance liquid chromatography. *J Chromatogr B* 753: 421-425
- Läer S, Mir TS, Behn F, Eiselt M, Scholz H, Venske A, Meibohm B, Weil J (2002) Carvedilol therapy in pediatric patients with congestive heart failure: a study investigating clinical and pharmacokinetic parameters. *Am Heart J* 143: 916-922
- Lee SD, Newman D, Ham M, Dorian P (1997) Electrophysiologic mechanisms of antiarrhythmic efficacy of a sotalol and class Ia drug combination: elimination of reverse use dependence. *J Am Coll Cardiol* 29: 100-105
- Liu P, Müller M, Grant M, Webb AI, Obermann B, Derendorf H (2002) Interstitial tissue concentrations of cefpodoxime. *J Antimicrob Chemother* 50, T1: 19-22
- Lönnroth P, Jansson PA, Smith U (1987) A microdialysis method allowing characterization of the intercellular water space in humans. *Am J Physiol* 253: E228-E231
- Ludomirsky A, Garson A Jr (1990) Supraventricular syndromes. In: Pediatric arrhythmias: electrophysiology and pacing. 2nd edition, eds.: Gillette PC, Garson A Jr, WB Saunders Company, Philadelphia, Pennsylvania: 380-426
- Luedtke SA, Kuhn RJ, McCaffrey FM (1997a) Pharmacologic management of supraventricular tachycardias in children. Part 1: Wolff-Parkinson-White and atrioventricular nodal reentry. *Ann Pharmacother* 31: 1227-1243
- Luedtke SA, Kuhn RJ, McCaffrey FM (1997b) Pharmacologic management of supraventricular tachycardias in children. Part 2: atrial flutter, atrial fibrillation, and junctional ectopic tachycardia. *Ann Pharmacother* 31: 1347-1359
- Mason JW (1993) A comparison of seven antiarrhythmic drugs in patients with ventricular tachyarrhythmias. *N Engl J Med* 329: 452-458
- Meibohm B, Derendorf H (1997) Basic concepts of pharmacokinetic/pharmacodynamic (PK/PD) modelling. *Int J Clin Pharmacol Ther* 35: 401-413
- Moak JP (1991) Developmental cellular electrophysiologic effects of d-sotalol on canine cardiac purkinje fibers. *Pediatr Res* 29: 104-109
- Moak JP (2000) Supraventricular tachykardia in the neonate and infant. *Progr Pediatr Cardiol* 11: 25-38
- Moss AJ (1993) Measurement of the QT interval and the risk associated with QTc interval prolongation: a review. *Am J Card* 72: 23B-25B

- Moss AJ, Schwartz PJ, Crampton RS, Locati E, Carleen E (1985) The long QT syndrome: a prospective international study. *Circulation* 71: 17-21
- Müller M (2002) Microdialysis. Science, medicine, and the future. *BMJ* 324: 588-592
- Opezzo JAW, Höcht C, Taira CA (2001) Pharmacokinetic study of methyldopa in aortic coarctated rats using a microdialysis technique. *Pharmacol Res* 43: 155-159
- Páez X, Hernández L (1998) Plasma serotonin monitoring by blood microdialysis coupled to high-performance liquid chromatography with electrochemical detection in humans. *J Chromatogr B* 720: 33-38
- Paul T, Bertram H, Bökenkamp R, Hausdorf G (2000) Supraventricular tachycardia in infants, children and adolescents. *Paediatr Drugs* 3: 171-181
- Paul T, Guccione P (1994) New antiarrhythmic drugs in pediatric use: amiodarone. *Pediatr Cardiol* 15: 132-138
- Paul T, Janousek J (1994) New antiarrhythmic drugs in pediatric use: propafenone. *Pediatr Cardiol* 15: 190-197
- Perry JC, Garson A Jr (1990) Supraventricular tachycardia due to Wolff-Parkinson-White syndrome in children: early disappearance and late recurrence. *J Am Coll Cardiol* 16: 1215-1220
- Perry JC, McQuinn RL, Smith RT, Gothing C, Fredell P, Garson A Jr (1989) Flecainid acetate for resistant arrhythmias in the young: efficacy and pharmacokinetics. *J Am Coll Cardiol* 14: 185-191
- Pfammatter JP, Paul T (1997) New antiarrhythmic drugs in pediatric use: sotalol. *Pediatr Cardiol* 18: 28-34
- Pfammatter JP, Stocker FP (1998) Results of restrictive use of antiarrhythmic drugs in the chronic treatment of atrioventricular reentrant tachycardias in infancy and childhood. *Am J Cardiol* 82: 72-75
- Poirier JM, Jaillon P, Lecocq B, Lecocq V, Ferry A, Cheymol G (1990) The pharmacokinetics of d-sotalol and d,l-sotalol in healthy volunteers. *Eur J Clin Pharmacol* 38: 579-582
- Price JF, Kertesz NJ, Snyder CS, Friedman RA, Fenrich AL (2002) Flecainide and sotalol: a new combination therapy for refractory supraventricular tachycardia in children < 1 year of age. *J Am Coll Cardiol* 39: 517-520
- Redfern WS, Carlsson L, Davis AS, Lynch WG, MacKenzie I, Palethorpe S, Siegl PKS, Strang I, Sullivan AT, Wallis R, Camm AJ, Hammond TG (2002) Relationships between preclinical cardiac electrophysiology, clinical QT interval prolongation and torsades de pointes for a broad range of drugs: evidence for a provisional safety margin in drug development. *Cardiovasc Res* 58: 32-45
- Roden DM (1993) Current status of class III antiarrhythmic drug therapy. *Am J Cardiol* 72: 44B-49B
- Rosdahl H, Ungerstedt U, Henriksson J (1997) Microdialysis in human skeletal muscle and adipose tissue at low flow rates is possible if dextran-70 is added to prevent loss of perfusion fluid. *Acta Physiol Scand* 159: 261-262
- Salazar DE, Much DR, Nichola PS, Seibold JR, Shindler D, Slugg PH (1997) A pharmacokinetic-pharmacodynamic model of d-sotalol Q-Tc prolongation during intravenous administration to healthy subjects. *J Clin Pharmacol* 37: 799-809

- Saul JP, Ross B, Schaffer MS, Beerman L, Melikian AP, Shi J, Williams J, Barbey JT, Jin J, Hinderling PH, and the Pediatric Sotalol Investigators (2001a) Pharmacokinetics and pharmacodynamics of sotalol in a pediatric population with supraventricular and ventricular tachyarrhythmia. *Clin Pharmacol Ther* 69: 145-157
- Saul JP, Schaffer MS, Karpawich PP, Erickson CC, Epstein MR, Melikian AP, Shi J, Karara AH, Cai B, Hinderling PH (2001b) Single-dose pharmacokinetics of sotalol in a pediatric population with supraventricular and/or ventricular tachyarrhythmia. *J Clin Pharmacol* 41: 35-43
- Schwartz PJ, Moss AJ, Vincent GM (1993) Diagnostic criteria for the long QT syndrome: an update. *Circulation* 88: 782-784
- Sheiner LB (1969) Computer-aided long-term anticoagulation therapy. *Comput Biomed Res* 2: 507-518
- Sherwood MC, Lau KC, Sholler GF (1998) Adenosin in the management of supraventricular tachycardia in children. *J Pediatr Child Health* 34: 53-56
- Shi J, Ludden TM, Melikian AP, Gastonguay MR, Hinderling PH (2001) Population pharmacokinetics and pharmacodynamics of sotalol in pediatric patients with supraventricular or ventricular tachyarrhythmia. *J Pharmacokinetic Pharmacodyn* 28: 555-575
- Singh BN (1993) Electrophysiologic basis for the antiarrhythmic actions of sotalol and comparison with other agents. *Am J Cardiol* 72: 8A-18A
- Singh BN, Deedwania P, Nademanee K, Ward A, Sorkin EM (1987) Sotalol: a review of its pharmacodynamic and pharmacokinetic properties, and therapeutic use. *Drugs* 34: 311-349
- Sjörstrand M, Holmäng A, Lönnroth P (1999) Measurement of interstitial insulin in human muscle. *Am J Physiol* 276: E151-E154
- Soyka LF, Wirtz C, Spangenberg RB (1990) Clinical safety profile of sotalol in patients with arrhythmias. *Am J Cardiol* 65: 74A-81A
- Stahl M, Bouw R, Jackson A, Pay V (2002) Human microdialysis. *Curr Pharm Biotechnol* 3: 165-178
- Ståhl N, Mellergård P, Hallström A, Ungerstedt U, Nordström CH (2001) Intracerebral microdialysis and bedside biochemical analysis in patients with fatal traumatic brain lesions. *Acta Anaesthesiol Scand* 45: 977-985
- Stjernström H, Karlsson T, Ungerstedt U, Hillered L (1993) Chemical monitoring of intensive care patients using intravenous microdialysis. *Intensive Care Med* 19: 423-428
- Strindberg L, Lönnroth P (2000) Validation of an endogenous reference technique for the calibration of microdialysis catheters. *Scand J Clin Lab Invest* 60: 205-212
- Sundquist H, Anttila M, Simon A, Reich JW (1979) Comparative bioavailability and pharmacokinetics of sotalol administered alone and in combination with hydrochlorothiazide. *J Clin Pharmacol* 19: 557-564
- Tabacova SA, Kimmel CA (2002) Atenolol: pharmacokinetic/dynamic aspects of comparative developmental toxicity. *Reprod Toxicol* 16: 1-7

- Tegeder I, Muth-Selbach U, Lötsch J, Rüsing G, Oelkers R, Brune K, Meller S, Kelm GR, Sörgel F, Geisslinger G (1999) Application of microdialysis for the determination of muscle and subcutaneous tissue concentrations after oral and topical ibuprofen administration. *Clin Pharmacol Ther* 65: 357-368
- Turner S, Nunn AJ, Fielding K, Choonara I (1999) Adverse drug reactions to unlicensed and off-label drugs on paediatric wards: a prospective study. *Acta Paediatr* 88: 965-968
- Ungerstedt U (1991) Microdialysis – principles and applications for studies in animals and man. *J Intern Med* 230: 365-373
- Ungerstedt U (1997) Microdialysis – a new technique for monitoring local tissue events in the clinic. *Acta Anaesthesiol Scand Suppl* 110: 123
- Ungerstedt U, Pycock C (1974) Functional correlates of dopamine neurotransmission. *Bull Schweiz Akad Med Wiss* 1278: 1-13
- Urquhart J (1994) Role of patient compliance in clinical pharmacokinetics. *Clin Pharmacokin* 27: 202-215
- Vetter VL (1993) Arrhythmias. In: Textbook of pediatric critical care. 1st edition, ed.: Holbrook PL, WB Saunders Company, Philadelphia, Pennsylvania: 384-412
- Villain E, Vetter VL, Garcia JM, Herre J, Cifarelli A, Garson A (1990) Evolving concepts in the management of congenital junctional ectopic tachycardia: a multicenter study. *Circulation* 81: 1544-1549
- Wang L, Feng ZP, Kondo CS, Sheldon RS, Duff H (1996) Developmental changes in the delayed rectifier  $K^+$  channels in mouse heart. *Circ Res* 79: 79-85
- Wang L, Swirp S, Duff H (2000) Age-dependent response of the electrocardiogram to  $K^+$  channel blockers in mice. *Am J Physiol Cell Physiol* 278: C73-C80
- Wang T, Bergstrand RH, Thompson KA, Siddoway LA, Duff HJ, Woosley RL, Roden DM (1986) Concentration-dependent pharmacologic properties of sotalol. *Am J Cardiol* 57: 1160-1165
- Wang Y, Wong SL, Sawchuk RJ (1993) Microdialysis calibration using retrodialysis and zero-net flux: application to a study of the distribution of zidovudine to rabbit cerebrospinal fluid and thalamus. *Pharm Res* 10: 1411-1419.
- Warkentin PI (1997) Blood component therapy for the neonate. In A. Fanaroff and R. Martin (eds.), *Neonatal-perinatal medicine: diseases of the fetus and the infant*, St. Louis
- Wong SL, Wang Y, Sawchuk RJ (1992) Analysis of zidovudine distribution to specific regions in rabbit brain using microdialysis. *Pharm Res* 9: 332-338
- Yabek SM, Kato R, Ikeda N, Singh BN (1988) Cellular electrophysiologic responses of isolated neonatal and adult cardiac fibers to d-sotalol. *JACC* 11: 1094-1049
- Yonesaka S, Takahashi T, Tomimoto K, Kinjo M, Sunagawa Y, Sato S, Nakada T, Matubara T, Oura H, Koda M, Furukawa H (1996) Clinical and histopathological studies in children with supraventricular tachycardia. *Jpn Circ J* 60: 560-566

Teile der vorliegenden Arbeit wurden bereits wie folgt publiziert:

### **I. Originalarbeiten**

- Albers S, Elshoff JP, Völker C, Richter A, Läer S (2004) HPLC quantification of metoprolol in small plasma volumes with solid phase extraction for the drug monitoring of pediatric patients. *Biomed Chromatogr* 18
- Elshoff JP, Läer S (2005) Intravenous microdialysis as a tool for pharmacokinetic and pharmacodynamic drug investigations in humans. *J Pharm Tox Methods* (in press)
- Elshoff JP, Läer S (2004) Development of an intravenous microdialysis method for pharmacokinetic investigations in humans. Submitted
- Läer S, Elshoff JP (2004) Pharmacokinetic/pharmacodynamic modeling as a tool to guide individual therapy in an infant with incessant supraventricular tachycardia. Submitted
- Läer S, Elshoff JP, Meibohm B, Weil J, Mir TS, Zhang W, Hulpke-Wette M (2004) Development of a safe and effective pediatric dosing regimen for sotalol based on population pharmacokinetics and pharmacodynamics in children with supraventricular tachycardia. Submitted

### **II. Vorträge und Poster mit publiziertem Abstract**

- Elshoff JP, Scholz H, Läer S. (2002) Microdialysis as a tool for pharmacokinetic studies in special populations – experiments with sotalol. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 365 (Suppl): R 109
- Elshoff JP, Läer S, Wauer I, Behn F, Scholz H. (2000) Microdialysis in venous blood samples adding a colloid to the perfusion fluid – an in vitro study. *Eur J Clin Pharmacol* 56: A 24
- Läer S, Behn F, Elshoff JP, Scholz H, Wauer I, Hulpke-Wette M, Meibohm B, Mir TS, Weil J. (2001) Drug response in pediatric patients with heart disease. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 363 (Suppl): R 117
- Läer S, Elshoff JP, Scholz H, Wauer I, Meibohm B, Mir TS, Weil J, Hulpke-Wette M. (2001) Developmental changes in proarrhythmic and antiarrhythmic action of sotalol in children with tachycardia. *Circulation* 104 (Suppl II): 488-489

#### *Vortrag ohne publiziertes Abstract*

- Elshoff JP. Anwendungsbeispiele der Mikrodialyse in der klinischen Praxis. Forschungseminar des Dr. Margarethe Fischer-Bosch-Institut für Klinische Pharmakologie, 05. Juni 2002, Stuttgart

## 7 Verzeichnis der verwendeten Abkürzungen

A	Atenolol
AF	Vorhofflattern
AFL	Vorhofflattern (englisch: <i>atrial flutter</i> )
ANOVA	Varianzanalyse (englisch: <i>analysis of variances</i> )
AUC	Fläche unter der Plasmakonzentrations-Zeitkurve eines Wirkstoffs (englisch: <i>area under the curve</i> )
AV-Knoten	Atrioventrikularknoten (englisch: <i>atrioventricular node</i> )
AV-RT	AV-Knoten-Reentrytachykardie
C	Plasmakonzentration
C <sub>max</sub>	Maximale Plasmakonzentration eines Wirkstoffs innerhalb eines Dosierungsintervalls
C.I.	Konfidenzintervall (englisch: <i>confidence interval</i> )
Cl	Totale Körperclearance aus Plasma
CPMP	Ausschuss der EG für Arzneispezialitäten (englisch: <i>Committee for Proprietary Medicinal Products</i> )
CUP	Mikrodialysemembran aus Cuprophan
C.V.	Variationskoeffizient (englisch: <i>coefficient of variation</i> )
CYP2D6	Enzym Zytochrom-P450-2D6
CYP3A4	Enzym Zytochrom-P450-3A4
D	Arzneistoffdosis
DAB	Deutsches Arzneibuch
Dextran	Dextran 70 (Molekulargewicht 70 Kilodalton)
dQTc	QTc-Intervallverlängerung
E	Effekt
E <sub>0</sub>	Basaler Wert der gemessenen Effektgröße vor Arzneistoffgabe
EAT	Ektope atriale Tachykardie
EC <sub>50</sub>	Konzentration, die zum halbmaximalen Effekt führt
EKG	Elektrokardiogramm
EMA	European Agency for the Evaluation of Medicinal Products
F	Bioverfügbarkeit
°C	Grad Celsius
γ-GT	Gamma-Glutamat-Transferase
GFR	Glomeruläre Filtrationsrate
GOT	Glutamat-Oxalat-Transaminase

---

GPT	Glutamat-Pyruvat-Transaminase
h	Stunde
HERG	Genlocus des Kaliumkanals für den verzögerten Gleichrichterstrom (englisch: <i>human ether a go go related gene</i> )
HF	Herzfrequenz
HPLC	Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (englisch: <i>High Performance Liquid Chromatography</i> )
ICH	Internationale Harmonisierungskonferenz (englisch: <i>International Conference on Harmonisation</i> )
$I_{kr}$	Kaliumkanal für den verzögerten Gleichrichterstrom
i.v.	Intravenös
JET	Junktionale ektope Tachykardie
$k_a$	Absorptionsgeschwindigkeitskonstante
kD	Kilodalton
$k_e$	Eliminationsgeschwindigkeitskonstante
kg	Kilogramm
KG	Körpergewicht
Ko	Komedikation
l	Liter
ln	natürlicher Logarithmus zur Basis e
LOQ	Untere Bestimmungsgrenze (englisch: <i>Limit of Quantitation</i> )
LZ-EKG	24 Stunden Langzeit-Elektrokardiogramm
m	Männlich
MetOH	Methanol
ml	Milliliter
min	Minuten
mm	Millimeter
ms	Millisekunden
mV	Millivolt
$\mu$ l	Mikroliter
$\mu$ m	Mikrometer
MW	Arithmetischer Mittelwert
n	Anzahl
nm	Nanometer
NaOH	Natriumhydroxid

P	Wahrscheinlichkeit (englisch: <i>probability</i> )
p-Welle	Strecke im Elektrokardiogramm
pH	negativer dekadischer Logarithmus der H <sub>3</sub> O <sup>+</sup> -Ionenkonzentration
PA	Mikrodialysemembran aus Polyamid
PD	Pharmakodynamik
PJRT	Permanente junktionale Reentrytachykardie
PK	Pharmakokinetik
PK-PD	Pharmakokinetisch-pharmakodynamisch
QRS-Komplex	Wegstrecke im EKG (Q bis S)
QT	Wegstrecke im EKG (Q bis Ende T-Welle)
QT <sub>c</sub>	Korrigiertes QT-Intervall
QT <sub>cB</sub>	Korrigiertes QT-Intervall nach Bazett
QT <sub>cF</sub>	Korrigiertes QT-Intervall nach Fridericia
R	Korrelationskoeffizient
RR	Wegstrecke im EKG (R bis R)
s	Sekunde
S	Sotalol
Sotalol	Razemat aus D- und L-Sotalol
SD	Standardabweichung
ss	Fließgleichgewicht (englisch: <i>steady state</i> )
SVES	Supraventrikuläre Extrasystole
SVT	Supraventrikuläre Tachykardie
t	Zeitpunkt nach Arzneimittelapplikation
t <sub>1/2</sub>	Terminale Eliminationshalbwertszeit
t <sub>lag</sub>	Verzögerungszeit zwischen Medikamenteneinnahme und Plasmakonzentrationsanstieg
t <sub>max</sub>	Zeitpunkt nach Medikamenteneinnahme bei Erreichen der maximalen Plasmakonzentration des Wirkstoffs
U/min	Umdrehungen pro Minute
VES	Ventrikuläre Extrasystole
V <sub>d</sub>	Verteilungsvolumen (englisch: <i>Volume of Distribution</i> )
V/V	Volumen pro Volumen
VT	Ventrikuläre Tachykardie
w	Weiblich
WPW-Syndrom	Wolff-Parkinson-White-Syndrom

## 8 Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1	Untersuchungs- und Therapieschema der pädiatrischen Sotalolstudie. ....	13
Abbildung 2	Repräsentative Chromatogramme .....	15
Abbildung 3	Analyse pharmakokinetischer Daten .....	18
Abbildung 4	Definition der Abschnitte im Elektrokardiogramm.....	19
Abbildung 5	Pharmakokinetisch-pharmakodynamisches Modell .....	23
Abbildung 6	Struktur von Sotalol und Atenolol.....	25
Abbildung 7	PK-PD Modelling zur individuellen Therapiesteuerung bei einem dreijährigen Patienten. ....	31
Abbildung 8	Dosisnormierte AUC in Abhängigkeit vom Patientenalter .....	34
Abbildung 9	Altersabhängigkeit der QT-Intervallverlängerung unter verschiedenen Herzfrequenzkorrekturen.....	36
Abbildung 10	Wirksame Sotalolplasmakonzentrationen .....	38
Abbildung 11	Sotalol Start- und Zieldosis für Kinder verschiedener Altersstufen.....	40
Abbildung 12	Schematische Zeichnung einer Mikrodialyse sonde .....	50
Abbildung 13	Schematische Darstellung der Mikrodialyse zelle .....	55
Abbildung 14	Struktur und Abbau von Dextran .....	59
Abbildung 15	Quantifizierung des Dextranabbaus .....	61
Abbildung 16	Abhängigkeit der Dialysatmenge von Fließgeschwindigkeit und Dialyselösung .....	67
Abbildung 17	Abhängigkeit des Dextranabbaus von der Verdauzeit und der Enzymmenge ..	68
Abbildung 18	Sotalolwiederfindung mit und ohne Dextranszusatz .....	70
Abbildung 19	Sotalolpharmakokinetik konventionell vs. Mikrodialyse.....	84
Abbildung 20	Sotalolwiederfindung <i>in vivo</i> .....	86
Abbildung 21	Sotalolpharmakodynamik konventionell vs. Mikrodialyse .....	88

## 9 Tabellenverzeichnis

Tabelle 1	Demographische Parameter der pädiatrischen Patienten.....	28
Tabelle 2	Berechnete und gemessene QTc-Intervalle eines dreijährigen Patienten.....	32
Tabelle 3	Basalwerte der pädiatrischen Patienten für Herzfrequenz und QT-Intervall.....	37
Tabelle 4	Wiederfindung von Sotalol und Atenolol (Kalibrator) in verschiedenen Mikrodialysesonden.....	71
Tabelle 5	Pharmakokinetische Parameter der 6 Probanden: konventionell vs. Mikrodialyse .....	85
Tabelle 6	Pharmakodynamische Parameter der Probanden: konventionell vs. Mikrodialyse .....	89

## **Erklärung**

An Eides statt versichere ich, dass ich die der Universität Hamburg zur Promotion eingereichte Dissertation mit dem Titel

**Pharmakokinetik und Pharmakodynamik von Sotalol bei Kindern mit tachykarden Herzrhythmusstörungen und Entwicklung einer intravenösen Mikrodialysetechnik zur blutentnahmefreien Bestimmung von Sotalolplasmakonzentrationen**

im Instituts für Experimentelle und Klinische Pharmakologie unter der Leitung von Frau PD Dr. S. Lär ohne sonstige Hilfe durchgeführt und bei der Abfassung der Dissertation keine anderen als die dort aufgeführten Hilfsmittel benutzt habe.

---

(Ort, Datum, Unterschrift)



## **Lebenslauf**

### **Persönliche Daten**

Name Jan-Peer Stefan Elshoff  
geboren 24.04.1973 in Buchholz in der Nordheide  
Eltern Regine Elshoff, geborene Weiss  
Helmut Elshoff  
Wohnort Fiefstücken 29 A, 22297 Hamburg

### **Schulbildung**

1979 - 1983 Besuch der Grundschule am Schloss in Ahrensburg  
1983 - 1992 Besuch der Stormarnschule in Ahrensburg  
22.05.1992 Abitur

### **Wehrdienst**

10/1992 - 09/1993 Wehrdienst beim Heer in Wentorf

### **Hochschulstudium**

1994 -1998 Studium der Pharmazie an der Universität Hamburg  
05.09.1996 Erster Abschnitt der Pharmazeutischen Prüfung  
04/1998 - 06/1998 Industriepraktikum bei der Firma Desitin, Hamburg  
13.10.1998 Zweiter Abschnitt der Pharmazeutischen Prüfung

### **Praktische Ausbildung**

11/1998 - 04/1999 Thalia Apotheke, Hamburg  
05/1999 - 10/1999 Krankenhausapotheke des Universitätsklinikums Hamburg-Eppendorf

### **Abschluss der pharmazeutischen Ausbildung**

23.12.1999 Dritter Abschnitt der Pharmazeutischen Prüfung  
27.12.1999 Approbation als Apotheker

### **Wissenschaftliche Tätigkeit**

01/2000 – 12/2003 Durchführung eines Forschungsprojekts im Rahmen einer naturwissenschaftlichen Promotion im Institut für Experimentelle und Klinische Pharmakologie des Universitätsklinikums Hamburg-Eppendorf in der Arbeitsgruppe von Frau PD Dr. S. Lärer unter der Leitung von Herrn Prof. Dr. H. Scholz, emeritiert 2002, und der Betreuung von Herrn Prof. Dr. H.-J. Duchstein von Institut für Pharmazie zur Erlangung des Doktorgrades des Fachbereichs Chemie der Universität Hamburg



## **Danksagungen**

Herrn Prof. Dr. Hasso Scholz möchte ich sehr herzlich danken für die Möglichkeit, diese Arbeit am Institut für Experimentelle und Klinische Pharmakologie des Universitätsklinikums Hamburg-Eppendorf durchzuführen. Außerdem danke ich für die fortwährende Förderung und Unterstützung meiner wissenschaftlichen Arbeit.

Herrn Prof. Dr. Hans-Jürgen Duchstein danke ich sehr für die Betreuung meiner Arbeit im Fachbereich Chemie der Universität Hamburg.

Für die Ermöglichung der Untersuchungen in der Abteilung für Kinderkardiologie des Universitätsklinikums Hamburg-Eppendorf und die Möglichkeit, an den Chefarztvisiten teilzunehmen, danke ich Herrn Prof. Dr. Jochen Weil.

Gleichfalls bedanke ich mich bei Herrn Prof. Dr. Joachim Bürsch und Herrn Dr. Martin Hülpe-Wette für die Ermöglichung der Untersuchungen und die gute Kooperation in der Abteilung für Kinderkardiologie der Universität Göttingen.

Ganz besonders herzlich danke ich Frau PD Dr. Stephanie Läer für die Überlassung dieses sehr interessanten Themas, für ihre andauernde Unterstützung und Förderung und die vielfältigen Möglichkeiten und zahlreichen anregenden Kontakte im Rahmen meiner Arbeit.

Herr Dr. Michele Eiselt, Herr Dr. Götz Müller und Herr Dr. Christian Müller-Wolf haben die Patienten auf der Kinderherzstation im Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf betreut und die Durchführung der Studienuntersuchungen ermöglicht. Ich bedanke mich recht herzlich dafür.

Auch den übrigen Ärzten und Schwester auf den beiden kinderkardiologischen Stationen danke ich für ihre Hilfsbereitschaft und ihre Rücksichtnahme im Klinikalltag.

Mein ganz besonderer Dank gilt auch den freiwilligen Probanden und den Eltern der Patienten für ihr Verständnis, ihre Bereitschaft und Geduld. Den Patienten der Studie wünsche ich alles Gute für ihre Zukunft.

Bedanken möchte ich mich auch bei Frau Dr. Frederike Behn für die stete Hilfsbereitschaft und gute Zusammenarbeit in der Arbeitsgruppe von Frau PD Dr. Stephanie Läer.

Ich danke Dr. Tobias Mauz, Katrin Schlüter und Frank Steffens für die sorgfältige Durchsicht meiner Arbeit und die vielen hilfreichen Kommentare und Anregungen.

Meinen Eltern danke ich für dafür, dass sie mir diesen Weg ermöglicht haben, und für ihre stete Motivation und Unterstützung. Meinem Bruder danke ich für die Lösung vielfältiger Hard- und Softwareprobleme.

Der Deutschen Stiftung für Herzforschung und der Kinderherzstiftung gilt mein Dank für die finanzielle Unterstützung dieser Arbeit.

