

(12) Wirtschaftspatent

Erteilt gemäß § 18 Absatz 2 Patentgesetz

PATENTSCHRIFT

(19) DD (11) 277 819 A3

5(51) G 01 N 33/50
G 01 N 33/74

AMT FÜR ERFINDUNGS- UND PATENTWESEN

(21)	WP G 01 N / 317 877 3	(22)	13.07.88	(45)	18.04.90
(71)	Zentralinstitut für Diabetes „Gerhardt Katsch“, Greifswalder Straße 11 a, Karlsburg, 2201, DD				
(72)	Salzsieder, Eckard, Dr. rer. nat.; Albrecht, Günther, Dipl.-Math.; Fischer, Uwe, Prof. Dr. sc.; Fritze, Kathrin, Dipl.-Pharm., DD				
(54)	Verfahren zur simultanen Bestimmung der Wirkkinetik von Insulin				

(55) Pharmakokinetik, Pharmakodynamik, Glukosekonzentrationsmessung, Mikrorechnersystem, Glukose-Insulin-Regelsystem, Modellalgorithmus, Insulinprofil

(57) Die Erfindung betrifft ein Verfahren zur simultanen Bestimmung der allgemeinen oder individualspezifischen Insulinwirkkinetik, d. h. der Pharmakokinetik und der Pharmakodynamik, von therapeutischen Insulinpräparaten allein aus der gemessenen Glukosekonzentration auf der Basis eines Modells des physiologischen Glukose-Insulin-Stoffwechsels. Das Verfahren ist unabhängig von speziellen meß- und rechentechnischen Voraussetzungen und für beliebige Insulinformulationen und beliebige therapeutische Verabfolgungswege des Hormons einsetzbar. Dies wird dadurch erreicht, daß während einer durch einen Mikrorechner gesteuerten experimentellen Testphase bei diabetischen Individuen nach Erreichen und Aufrechterhalten einer initialen Glykämie von 8–10 mmol/l die Insulinpräflösung appliziert wird und anschließend die glykämische Reaktion über mehrere Stunden fortlaufend erfaßt und im Mikrorechnersystem abgespeichert wird. Nach Beendigung der experimentellen Testphase werden die abgespeicherten Glukosekonzentrationswerte mit dem Mikrorechnersystem mittels eines mathematischen Algorithmus zur Beschreibung des physiologischen Glukose-Insulin-Regelsystems ausgewertet, wobei iterativ qualitativ und quantitativ gemäß allgemeiner oder individueller Parameterwerte des Modellalgorithmus diejenigen Insulinwirkprofile berechnet werden, die die Glukoseauslenkung bewirkt haben. Diese, auf der Basis des Glukose-Insulin-Modells bestimmten Insulinprofile repräsentieren die therapeutisch relevante Pharmakokinetik und Pharmakodynamik von zu prüfenden Insulinpräparaten.

Patentansprüche:

1. Verfahren zur simultanen Bestimmung der Wirkkinetik von Insulin mit einem Mikrorechnersystem, das während einer Testphase on-line die kontinuierliche, konstante, intravenöse Infusionen von Glukose und Insulin zur Einstellung und Aufrechterhaltung einer initialen Glykämie von 8 bis 12 mmol/l beim diabetischen Individuum steuert, die gemessenen Glukosekonzentrationswerte abspeichert, **dadurch gekennzeichnet**, daß von diesem Mikrorechnersystem nach Einstellung der stabilen Glykämie die Applikation der Insulinprüflösung von 0,05 bis 0,5 IE/kg gesteuert und die sich danach einstellenden glykämischen Reaktionswerte im Zeitraum bis maximal 24 Stunden stündlich gemessen und abgespeichert werden, daß in einer anschließenden Auswertephase off-line die in den fortlaufenden Minutenintervallen für die Glukosekonzentrationsänderung verantwortliche Insulinmenge mittels eines mathematischen Algorithmus eines Modells des physiologischen Glukose-Insulin-Regelsystems, welches von dem Differentialgleichungssystem

$$\begin{aligned}\frac{dx}{dt} &= u - G_{exg} \\ \frac{du}{dt} &= -(b_1 + b_2)u - b_3y + b_1(b_0 - G_{exg}) \\ \frac{dy}{dt} &= -ky + I_{exg}(t) + I_{exg}\end{aligned}$$

mit den drei Zustandsgrößen Glukosekonzentration x , Insulinkonzentration y und die metabolischen Raten der Glukose, die von ihrem eigenen Konzentrationsgradienten u abhängig sind, beschrieben ist, schrittweise iterativ durch Approximation berechnet wird, und daß zur Verifizierung der so berechneten Insulinprofile in einem weiteren Berechnungsschritt die Reaktion der Glukosekonzentration und der Insulinkonzentration auf die berechneten Insulinprofile mittels des mathematischen Modellalgorithmus bestimmt und mit den gemessenen Konzentrationsverläufen der Glykämie und der Insulinämie verglichen werden.

2. Verfahren zur simultanen Bestimmung der Wirkkinetik von Insulin nach Anspruch 1, **dadurch gekennzeichnet**, daß die Insulinprofile, die sowohl Pharmakokinetik als auch Pharmakodynamik der verabfolgten Insulinprüflösung repräsentieren, gemäß gemessener Glukoseauslenkung auf der Basis allgemeiner Parameter des mathematischen Algorithmus des Modells des physiologischen Glukose-Insulin-Regelsystems berechnet werden, wenn ein Insulinpräparat charakterisiert werden soll, und vorzugsweise auf der Basis der individuellen Parameter des Algorithmus, wenn ein — Insulinpräparat an den Insulinbedarf des Patienten angepaßt wird.

Hierzu 2 Seiten Zeichnungen

Anwendungsgebiet der Erfindung

Die Erfindung betrifft ein Verfahren zur simultanen Bestimmung der Wirkkinetik, d. h. der Pharmakokinetik und der Pharmakodynamik, von Insulin auf der Basis eines Modells des natürlichen Glukose-Insulin Stoffwechsels, wobei die Wirkkinetik allein aus gemessenen Glukoseprofilen hergeleitet wird und somit unabhängig von spezifischen meßtechnischen Voraussetzungen für alle therapeutischen Verabfolgungswege und für beliebige Formulationen des Hormons eingesetzt werden kann.

Charakteristik des bekannten Standes der Technik

Das Gesundheitswesen aller Industrieländer ist mit einer steigenden Zahl von Diabetikern konfrontiert, die zur Aufrechterhaltung des Stoffwechsels und damit der Lebensfunktion der ständigen Zufuhr körperfremden Insulins bedürfen. Es ist bekannt, daß durch mehrmalige tägliche Injektionen des Hormons die Lebens- und Arbeitsfähigkeit der Patienten aufrechterhalten werden können. Das Lebensschicksal der Mehrzahl der betroffenen Patienten ist aber von einer gegenüber dem übrigen Bevölkerungsdurchschnitt deutlich erhöhten Multimorbidität, Frühinvalidität und Exzessmortalität bestimmt. Es ist weiterhin bekannt, daß sowohl die Zeitspanne bis zum Auftreten der diabetesspezifischen Komplikationen als auch deren Schweregrad von der Güte der individuellen Stoffwechselführung abhängig sind. Daher gewinnen Verfahren zur Optimierung der Insulintherapie zunehmend an Bedeutung. Eine Schlüsselstellung nimmt dabei die Entwicklung und der Einsatz von Insulinpräparaten mit physiologisch relevanten Verteilungs- und Wirkprofilen und deren individuelle Anpassung an den aktuellen Insulinbedarf der Patienten ein. Die individuelle Anpassung erfordert aber notwendig die genaue Kenntnis der In-vivo-Wirkkinetik, d. h. der Pharmakokinetik und der Pharmakodynamik der mittels Einzelinjektionen oder mittels Insulinpumpvorrichtungen in das Unterhautgewebe (subkutan), in das Blutgefäßsystem (intravenös) oder in die Bauchhöhle (peritoneal) verabfolgten Insulindosen.

Gemäß SU-US 1011126 und US-PS 4652547 wird die Insulinwirkung im Blutzuckersenkungstest an gesunden Kaninchen durch Vergleich mit einer Insulinstandardlösung ermittelt, wobei den Tieren an zwei aufeinanderfolgenden Tagen im Wechsel jeweils 0,2 IE/kg der Prüf- und der Standardlösung subkutan injiziert werden und die Absenkung der Glykämie nach 60, 120, 180 und 240 min gemessen wird. Aus der prozentualen Glykämiesenkung durch Standard- und Prüflösung wird die Insulinwirksamkeit der Prüflösung in Relation zur Standardlösung ermittelt. Obwohl dieses Verfahren grundsätzlich Aussagen zur Insulinwirksamkeit in vivo gestattet, entsprechen die Ergebnisse nicht den Erfordernissen moderner Verfahren zur Optimierung der Insulintherapie unter Einsatz von rechner- und modellgestützten Strategien, da einerseits nur qualitative Aussagen möglich sind und andererseits bekannt ist, daß zwischen gesunden und diabetischen Individuen nicht zu vernachlässigende Unterschiede in der Insulinwirksamkeit bestehen. Darüber hinaus sind mit dieser Methode weder Aussagen zu den tatsächlichen Anflutungsprofilen des Insulins im biologischen Verteilungsraum und damit zur Insulinkonzentration, der zunehmend eine Bedeutung bei der Entwicklung der diabetesspezifischen Spätkomplikationen beigemessen wird, noch zur präzisen zeitlichen Insulinwirkkinetik zu erzielen. Weiterhin ist das Verfahren zur relativen Insulinwirkungsbestimmung in vivo auf den Vergleich mit einer bekannten Standardlösung eingeschränkt, wodurch eine Veralgemeinerung der Bestimmungsmethode für beliebige Insulinformulationen und andere therapeutische Verabfolgungswege wie z. B. intravenös oder peritoneal nicht gegeben ist. Weiterhin sind durch Hirayama, H.; Kasaya, Y. et al.: Pharmacokinetic approach for reconstruction of predetermined plasma insulin profiles by continuous subcutaneous insulin infusion in depancreatized dogs, in J. Pharmacokinetics Biopharmaceutics, Heft 11, 1983, S. 595–609 und durch Gottesman, J. et al.: Use of glucose uptake and glucose clearance for the evaluation of insulin action in vivo, in Diabetes, Heft 33, 1984, S. 184–191 verschiedene Verfahren zur Bestimmung quantitativer Profile der Insulinpharmakokinetik oder -dynamik bekannt geworden. Die Insulinpharmakokinetik, d. h. die Bestimmung der Erscheinungs-, Verteilungs- und Abbauraten des Insulins im biologischen Verteilungsraum, wird entweder durch Messung der Insulinkonzentrationen oder der Radioaktivität nach Verabfolgung unmarkierten oder markierten Insulins unter Verwendung von entsprechenden pharmakokinetischen Modellen des Insulinstoffwechsels bestimmt. Nachteile dieser Verfahren sind, daß die Messung der Insulinkonzentration einen hohen methodischen Aufwand erfordert und insbesondere bei diabetischen Individuen von einem konzentrationsabhängigen methodischen Meßfehler von 6 bis 36% überlagert ist, was letztlich zu Fehlern in der Bestimmung der Insulinpharmakokinetik von mehr als 100% führen kann. Von Cobelli, C.; Marie, A. et al.: Reconstitution of the rate of subcutaneous insulin by deconvolution, in Am. J. Physiol., Heft 253 1987, S. 584–590 sind tracerkinetische Methoden beschrieben, die zwar brauchbare pharmakokinetische Resultate liefern, jedoch weder in der klinischen Routine noch in der tierexperimentellen Praxis anwendbar sind und zudem einen hohen ökonomischen und versuchstechnischen Aufwand bedingen. Diese Verfahren nach Hirayama, H.; Gottesman, J. und Cobelli, C. besitzen außerdem den gemeinsamen Nachteil, daß sie keine Aussage zur therapeutischen bedeutsamen Pharmakodynamik, d. h. zur qualitativen und quantitativen Kinetik der Insulinwirkung, auf die Glykämie liefern. Für die quantitative Ermittlung der Pharmakodynamik des Insulins ist durch US-PS 4652547 ein Verfahren auf der Basis von sogenannten Glukose-clamp-Techniken bekannt geworden. Die Anwendung dieser Verfahren erlaubt prinzipiell die Bestimmung des insulinstimulierten Glukoseumsatzes mit hoher Präzision. Die Methode ist jedoch nicht dazu geeignet, die tatsächliche Insulinanflutung und somit die Insulinpharmakokinetik ohne weitere Zusatzinformationen zu beschreiben. Alle bekannten Verfahren zur Ermittlung der In-vivo-Wirkkinetik von therapeutischen Insulinformulationen weisen somit die Nachteile auf, daß sie einerseits keine quantitativen Aussagen zur Wirkkinetik des Insulins zulassen und andererseits entweder nur die Pharmakokinetik oder nur die Pharmakodynamik des Hormons in vivo quantitativ zu beschreiben vermögen. Es ist weiterhin durch Salzsieder, E. et al.: Kinetic modeling of the glucoregulatory system to improve insulin therapy, in IEEE Trans. Biomed. Eng., Heft 32, 1985, S. 746–755 beschrieben, daß die Wirkkinetik des Insulins individualspezifischen Abhängigkeiten nach der therapeutischen Applikation unterliegt und somit die Insulindosierungen zweckmäßig für jeden diabetischen Patienten individuell zu adaptieren sind. Hierzu wurden bereits von Hirayama, H.; Kasuya, Y. et al.: Evaluation of the Botie model describing blood glucose response for the application to continuous subcutaneous insulin infusion, in J. Pharmacobio-Dyn., Heft 8, S. 808–818 und: The development of a non linear model to describe the blood glucose response for the determination of prandial insulin infusion, in J. Pharmacobio-Dyn., Heft 8, 1985, S. 819–829 modellgestützte Verfahren entwickelt, die jedoch entweder, bedingt durch ihre Einfachheit, nicht die individuelle Dynamik der Insulinwirkkinetik wiedergeben oder bedingt durch ihre Komplexität, nicht die individuelle Stoffwechselsituation zu identifizieren gestatten und somit insgesamt für eine individuelle Bestimmung der therapeutisch relevanten Insulinpharmakokinetik und Insulinpharmakodynamik ungeeignet sind. Durch Fischer, U. und Salzsieder, E.: New technology in diabetes management/Application of mathematical models, in Diabetes 1985 (Elsevier Science Publishers 1986, S. 1036–1042) ist eine komplexe Modellvariante zur Beschreibung des physiologischen Glukose-Insulin-Regelsystems beschrieben. Das dort angegebene Differentialgleichungssystem läßt jedoch keinen Aufschluß auf die Modifizierbarkeit zur simultanen Bestimmung der Wirkkinetik von Insulin erkennen, da der zeitabhängige Faktor zur Beschreibung der Insulinwirkkinetik und dessen Bestimmbarkeit nicht Gegenstand dieses Modells ist.

Ziel der Erfindung

Das Ziel der Erfindung ist ein kostengünstiges und leistungsfähiges Verfahren zur qualitativen und quantitativen Bestimmung der Pharmakokinetik und Pharmakodynamik der therapeutischen Insulinpräparate unter Berücksichtigung des Anflutungsprofils des Pharmakons.

Darlegung des Wesens der Erfindung

Die Aufgabe der Erfindung besteht darin, ein Verfahren zur simultanen Bestimmung der Pharmakokinetik und Pharmakodynamik für beliebige Insulinpräparate und für beliebige therapeutische Verabfolgungswege des Hormons zu entwickeln, welches es gestattet, allein aus gemessenen Glukosekonzentrationsprofilen sowohl allgemeine als auch individualisierte therapierelevante Wirkkinetiken des Hormons herzuleiten.

Erfindungsgemäß wird diese Aufgabe dadurch gelöst, daß zur Bestimmung der Wirkkinetik von Insulin mit einem Mikrorechnersystem, das während einer Testphase on-line die kontinuierliche, konstante, intravenöse Infusion von Glukose und Insulin zur Einstellung und Aufrechterhaltung einer initialen Glykämie von 8–12 mmol/l gemessen beim diabetischen Individuum steuert, die gemessenen Glukosekonzentrationswerte abgespeichert. Von diesem Mikrorechnersystem wird danach bei konstanter Glykämie die nach Applizieren der Insulinprüflösung von 0,05 bis 0,5 IE/kg am Patienten im Zeitraum bis maximal 24 Stunden stündlich gemessene reaktive Glukosekonzentrationskurve während einer anschließenden Auswertephase off-line mittels eines mathematischen Algorithmus zur Beschreibung des physiologischen Glukose-Insulin-Regelsystems, welcher von einem Differentialgleichungssystem mit den drei Zustandsgrößen, nämlich die Konzentrationen von Glukose (x) und Insulin (y), welche direkt gemessen werden können, und die metabolischen Raten der Glukose, die abhängig von ihrem eigenen Konzentrationsgradienten (u) sind, repräsentiert ist, schrittweise iterativ approximiert, wobei für die in jedem Berechnungsschritt gemessene Glukosekonzentrationsänderung die dazu erforderliche Insulinmenge auf der Basis des Glukose-Insulin-Modells berechnet wird. Zur Verifizierung der so berechneten Insulinprofile werden in einem weiteren Berechnungsschritt die Reaktionen der Glukosekonzentration und der Insulinkonzentration auf die berechneten Insulinprofile mittels des mathematischen Modellalgorithmus bestimmt und mit den gemessenen Konzentrationsverläufen der Glykämie und der Insulinämie verglichen. Die Berechnung der Insulinprofile, die sowohl der Pharmakokinetik als auch die Pharmakodynamik der verabfolgten Insulinprüflösung repräsentieren, erfolgt dabei vorzugsweise auf der Basis allgemeiner Parameterwerte des mathematischen Algorithmus des Modells des physiologischen Glukose-Insulin-Regelsystems, wenn ein Insulinpräparat charakterisiert werden soll. Demgegenüber wird vorzugsweise auf die individuellen Parameterwerte des mathematischen Algorithmus zurückgegriffen, wenn ein Insulinpräparat an den Insulinbedarf des Patienten angepaßt werden soll.

Ausführungsbeispiel

Die Erfindung soll anhand eines Ausführungsbeispiels näher erläutert werden, wobei in diesem Beispiel die individuelle Pharmakokinetik und Pharmakodynamik einer unbekannten Insulinprüflösung nach subkutaner Verabfolgung des Hormons ermittelt wird.

Das diabetische Individuum wird zur fortlaufenden Erfassung der Glukosekonzentration an das bettseitige Mikrorechnersystem angeschlossen. Während einer Testphase von 6 Stunden werden die Meßwerte der Glukosekonzentration des Individuums im Mikrorechnersystem fortlaufend gespeichert. Das Mikrorechnersystem steuert ein Glukose- und Insulinpumpensystem an, welches durch konstante, kontinuierliche, intravenöse Glukoseinfusion von 4 mg/kg · min und Insulininfusion von 1 mE/kg · min initial eine Glykämie von 11,5 mmol/l einstellt und aufrechterhält.

Nach etwa 60 min vom Zeitpunkt der stabilen Glykämie ab wird zum Zeitpunkt „Null“ 0,2 IE/kg Insulinprüflösung subkutan injiziert und die Reaktion dieser Insulinprüflösung auf die Glukosekonzentration unter Beibehaltung der konstanten Infusion von Glukose und Insulin bis zum Zeitpunkt t = 420 min stündlich gemessen und im Mikrorechnersystem abgespeichert. Anschließend wird das diabetische Individuum vom Mikrorechnersystem getrennt. In der darauffolgenden Auswertephase erfolgt off-line die Bestimmung der Pharmakokinetik und der Pharmakodynamik der applizierten Insulinprüflösung erfindungsgemäß anhand des abgespeicherten Glykämieprofils. Dazu werden die zuvor ermittelten individuellen Parameter des mathematischen Algorithmus des Modells des physiologischen Glukose-Insulin-Regelsystems, welcher durch das Differentialgleichungssystem

$$\begin{aligned}\dot{x} &= u - G_{\text{ex}} \\ \dot{u} &= -(b_1 + b_2)u - b_3y + b_1(b_0 - G_{\text{ex}}) \\ \dot{y} &= -ky + I_{\text{ex}}(t) + I_{\text{ex}}\end{aligned}$$

gekennzeichnet ist, gleichfalls in das Mikrorechnersystem eingegeben.

In diesem mathematischen Algorithmus repräsentieren

G_{ex} die zeitkonstante exogene Infusionswerte von Glukose,

I_{ex} die zeitkonstante exogene Informationswerte von Insulin in den Verteilungsraum

$I_{\text{ex}}(t)$ die zeitvariable Insulininfusionsrate, welche entweder komplexen intravenösen Infusionsausführungen oder Absorptionsrate von Injektionsstellen als intravaskulär entspricht

Die Modellparameter b_i , die das Verhalten des diabetischen Stoffwechselsystems unter der Open-loop-Insulin-Regulierung beschreiben, sind definiert als

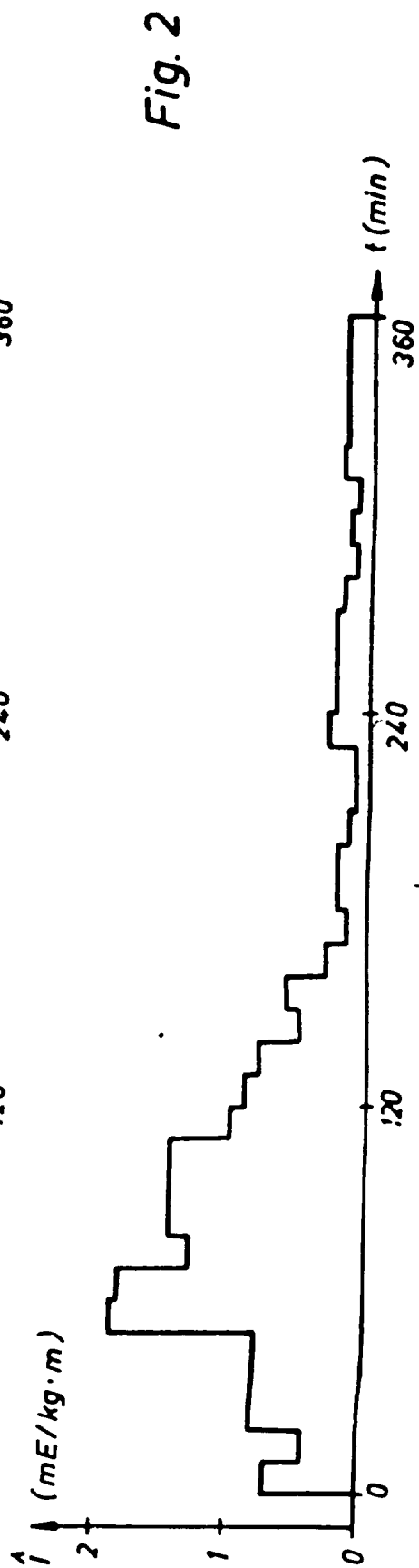
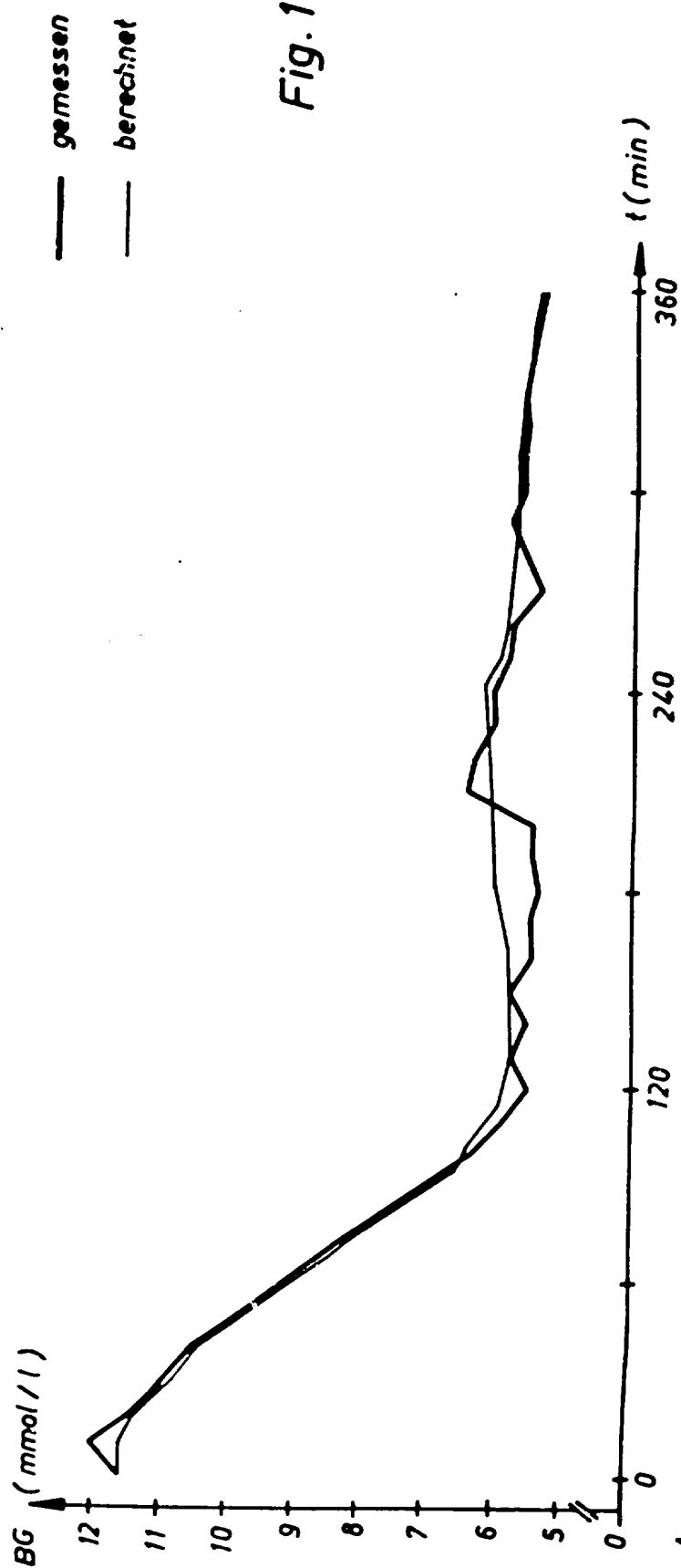
b_0 = endogene Glukose-Erscheinungsrate

b_1, b_2 = Parameter für die Abhängigkeit der endogenen Nettoglukosebilanz u von der Glukosekonzentration

b_3 = Insulin/Glukose-Wirkfaktor

Außerdem ist in den analytischen Modellgleichungen der Regressionskoeffizient k zur Beschreibung des Insulinmetabolismus enthalten.

Im ersten Berechnungsschritt gemäß Schema in Fig. 1 werden die für die in fortlaufenden Minutenintervallen gemessenen Blutglukosekonzentrationsauslenkungen, beginnend mit dem Zeitpunkt „Null“ bis 360 min erforderlichen Insulinmengen, die in jedem Zeitintervall die Absenkung der Glykämie hervorgerufen haben, auf der Basis des mathematischen Algorithmus des Glukose-Insulin-Modells iterativ mittels numerischer Integration des Modellgleichungssystems berechnet. Die berechneten Erscheinungsraten des metabolisch effektiven Insulins (mE/kg · min) sind in Fig. 2 dargestellt. Zur Verifizierung des berechneten Profils der Insulinwirkkinetik gemäß Fig. 2 wird dieses Profil als Eingangsgröße für das Modellgleichungssystem betrachtet und durch numerische Integration der Modellgleichungen die Reaktion auf die Glykämie und die Insulinämie mittels des Modells berechnet und mit den gemessenen Glukose- und Insulinkonzentrationsverläufen verglichen. Die gemessene und berechnete immunoreaktive Insulinkonzentration in nmol/l sind nach subkutaner Injektion der Insulinprüflösung zum Zeitpunkt „Null“ in Fig. 3 schematisch dargestellt. Sowohl die gemessenen und berechneten Glykämieprofile als auch die Insulinkonzentrationen weisen eine exzellente Übereinstimmung auf, so daß das in Fig. 2 dargestellte Insulinprofil in der Tat die In-vivo-Pharmakokinetik und Pharmakodynamik der subkutan verabfolgten Insulinprüflösung repräsentiert.



277819

54

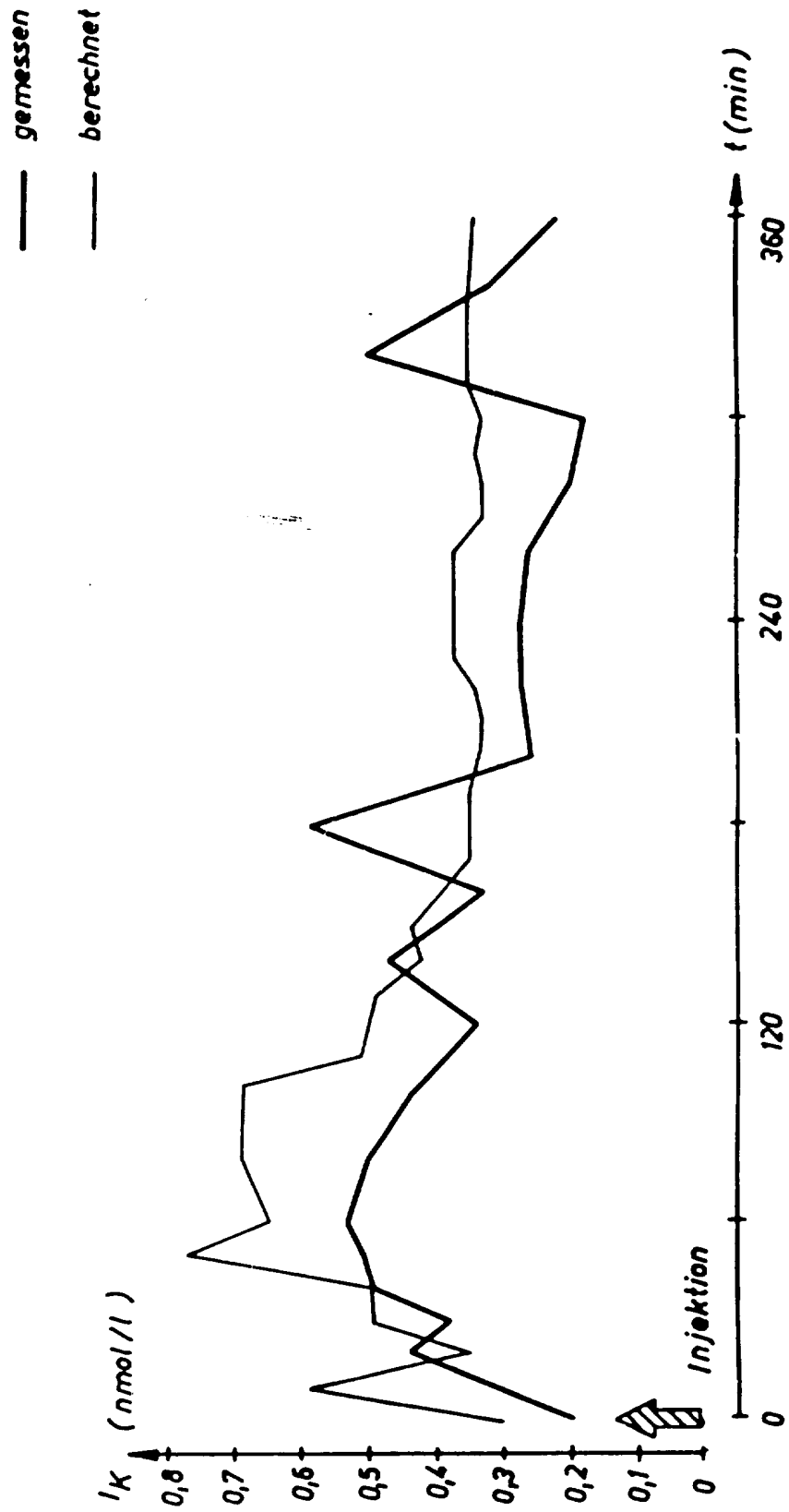


Fig. 3