



PHARMAKOKINETISCHES IN VITRO MODELL ZUR UNTERSUCHUNG
DER WIRKUNG UND DER OPTIMALEN DOSIERUNG VON ANTIBIOTIKA

Jürg Blaser

Medizinische Poliklinik
Departement für Innere Medizin
Universitätsspital
Rämistr. 100
8091 Zürich

Während der Entwicklung neuer Antibiotika werden zur Abklärung der Wirkungen und Nebenwirkungen viele Tierversuche durchgeführt. Tiere werden ebenfalls bei Untersuchungen im Zusammenhang mit der optimalen Dosierung von neuen und alten Antibiotika verwendet, wie beispielsweise beim Studium von Dosis-Wirkungs-Verläufen, der Bestimmung der optimalen Länge der Dosierungsintervalle oder bei der Suche nach Möglichkeiten zur Wirkungssteigerung durch kombinierte Verabreichung von zwei oder mehr Antibiotika.

Als Alternative zur Untersuchung der antimikrobiellen Wirkung von Antibiotika mit Tierversuchen wurde ein pharmakokinetisches in vitro Modell entwickelt (1). Kulturen pathogener Bakterien werden in diesem Modell zeitlich variablen Antibiotikakonzentrationen ausgesetzt. Die Konzentrationsverläufe werden so simuliert, wie sie beim Menschen im Anschluss an die Verabreichung von Antibiotika in verschiedenen Körperflüssigkeiten und Geweben auftreten (Abbildung 1). Je nach untersuchtem Antibiotikum wird das Modell so modifiziert, dass eine Verabreichung der Dosis als Infusion oder als Tablette simuliert wird. In der Regel wird die Wirkung einer Behandlung mit mehreren

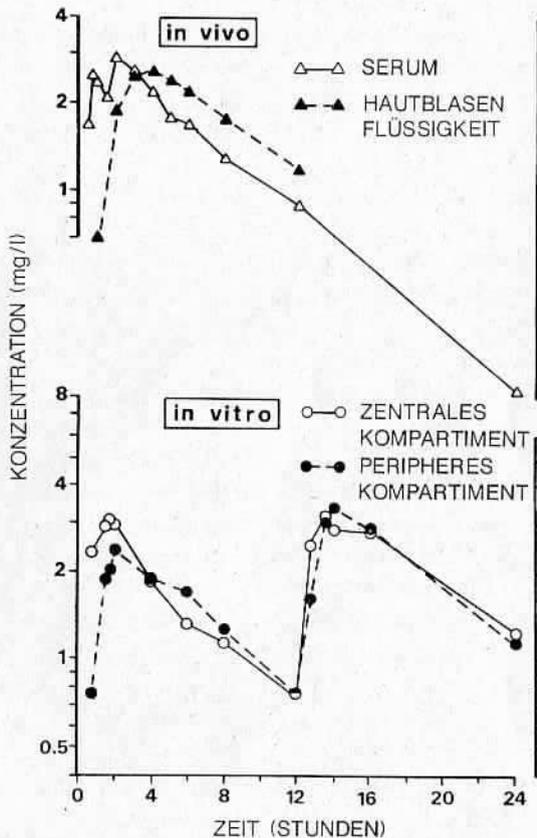


Abbildung 1: Konzentrationsverlauf von Enoxacin in einem zwei Kompartimenten in vitro Modell im Vergleich zur Pharmakokinetik im Menschen. Im oberen Diagramm sind die Konzentrationen im Serum und in der Flüssigkeit von Hautblasen nach der oralen Verabreichung einer Dosis von 600 mg Enoxacin, einem neuen Quinolon Antibiotikum, dargestellt. Das untere Diagramm zeigt die in vitro erreichten Konzentrationen während der Simulation einer zwölf- stündlichen Dosierung. Das zentrale Kompartiment des Modells ist steril, Bakterien werden in einem durch eine Membran abgetrennten peripheren Kompartiment gezüchtet.



Dosen über einen Zeitraum von ein bis drei Tagen untersucht. Es lassen sich in diesem Modell ebenfalls Behandlungen untersuchen, bei denen zwei Antibiotika gleichzeitig verabreicht werden. Zur Beurteilung der antibakteriellen Wirkung werden im Laufe der Experimente von den Kulturen periodisch Proben entnommen und die darin enthaltenen vermehrungsfähigen Bakterien gezählt.

Bei den klinisch üblicherweise verwendeten *in vitro* Methoden zur Untersuchung der Empfindlichkeit von bakteriellen Isolaten gegenüber Antibiotika werden die Konzentrationen der getesteten Substanzen zeitlich nicht variiert. Das Hinzufügen der pharmakokinetischen Dimension bei der *in vitro* Untersuchung erlaubt eine bezüglich der klinischen Situation wirklichkeitsnähere Beurteilung der Wirkung von Antibiotika.

Mit Hilfe von pharmakokinetischen Modellen lassen sich die Wechselwirkungen von Antibiotika und Bakterien unter Bedingungen untersuchen, welche bezüglich des zeitlichen Verlaufs der Antibiotikakonzentrationen der *in vivo* Situation im Menschen entsprechen. Dies ist im Vergleich zur Verwendung von Tiermodellen ein Vorteil, da die meisten Antibiotika in Labortieren vergleichsweise viel zu schnell eliminiert werden. Dieses Modell eignet sich deshalb insbesondere auch für den Vergleich der Wirkung von verschiedenen Dosen und unterschiedlich langen Dosierungsintervallen.

In verschiedenen Studien wurden mit diesem Modell unter anderem die optimale Länge der Dosierungsintervalle bei der Antibiotikatherapie, die synergistische oder antagonistische antibakterielle Wirkung von Antibiotikakombinationen und die Resistenzentwicklung von Bakterien während der Antibiotikaexposition studiert (1,2). Abbildung 2 zeigt ein Beispiel einer Dosis-Wirkungs-Untersuchung von Netilmicin gegen *Escherichia coli*.

Die Resultate solcher Versuche ergaben, dass es bei gewissen Antibiotika, wie etwa bei den Aminoglykosiden und Quinolonen, vorteilhafter ist, in grösseren Zeitabständen relativ hohe Einzeldosen zu verabreichen. Dies führt zu höheren Spitzenkonzentrationen als bei einer häufigen Verabreichung kleiner Dosen. Bei diesen

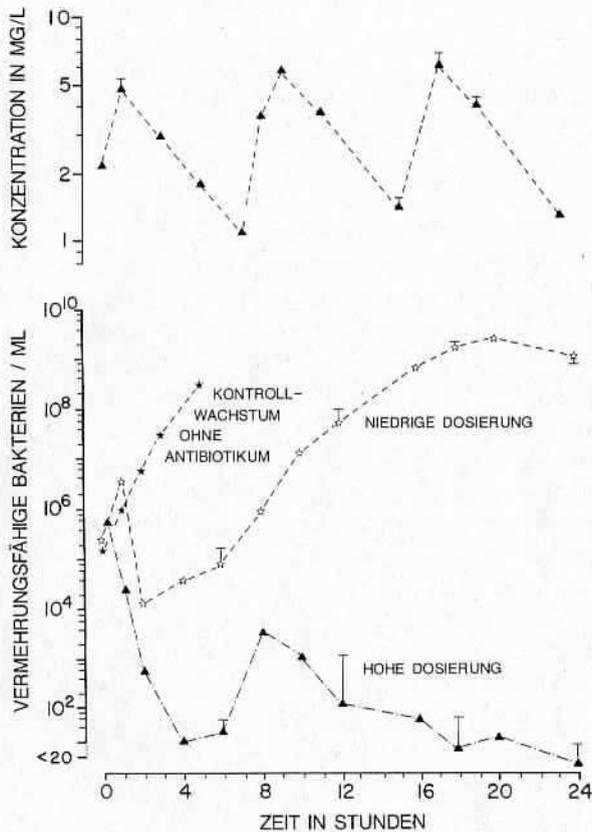


Abbildung 2: Antibakterielle Wirkung von Netilmicin, einem Aminoglykosid Antibiotikum, gegen *Escherichia coli* in einem pharmakokinetischen in vitro Modell. Der obere Teil der Abbildung zeigt den Konzentrationsverlauf von Netilmicin in der Brutkammer während eines Experimentes mit hoher Dosierung. Die dabei erzielten Konzentrationen entsprechen Werten, wie sie bei Patienten während einer Therapie in interstitieller Flüssigkeit erreicht werden. Im unteren Teil der Abbildung ist die abtötende Wirkung dieser Behandlung auf die bakterielle Kultur gezeigt. Im Gegensatz dazu bewirkt die Verabreichung von niedrigen Dosen (1/8 der hohen Dosierung) nur eine kurzfristige Reduktion der Keimzahl. Aufgrund von Resistenzentwicklung wird das Wiederanwachsen trotz der Verabreichung einer zweiten und dritten Dosis nicht verhindert.



Antibiotika bewirkt eine Erhöhung der Konzentration ein schnelleres und vollständigeres Abtöten der Bakterien. Im Gegensatz dazu ergaben sich bei Penicillin und Cephalosporin Antibiotika vorteilhaftere Resultate bei Behandlungen mit kurzen Dosierungsintervallen. Oberhalb eines Schwellwertes wird bei diesen Substanzen durch eine weitere Erhöhung der Antibiotikumkonzentration keine weitergehende Abtötung der Bakterien mehr erreicht.

Pharmakokinetische Modelle lassen sich ebenfalls zur Untersuchung der Wirkung von Zytostatika auf menschliche Zellkulturen verwenden. So wurden beispielsweise Leukämiezellen gezüchtet und die Wirkung unterschiedlicher Dosierungen von Methotrexat studiert. Auch toxikologische Fragen können mit dieser Methodik untersucht werden. Gegenwärtig wird in einer Studie die Wirkung verschiedener Dosierungen von Antibiotika auf das Wachstum menschlicher Zellen untersucht. Die Nährmedien, in welchen diese Zellen gezüchtet werden, enthalten dabei zeitlich variable Konzentrationen von Antibiotika, analog den Konzentrationsverläufen im Blut während der Therapie.

Die hier kurz vorgestellte Methode stellt bei der quantitativen Untersuchung der Wirkung von Medikamenten eine Alternative zu Tierversuchen dar. Pharmakokinetische Modelle wurden in den letzten Jahren insbesondere in der Antibiotikaforschung entwickelt und eingesetzt. In gewissem Masse lassen sich mit solchen in vitro Modellen ebenfalls Fragen über Wirkungen und Nebenwirkungen bei anderen Medikamenten untersuchen.

LITERATUR

1. Blaser J., Stone B.B., Zinner S.H. (1985): Efficacy of intermittent versus continuous administration of netilmicin in a new two compartment in vitro model. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 27:343-349.
2. Blaser J., Stone B.B., Groner M.C., Zinner S.H. (1985): Impact of netilmicin regimens on the activity of ceftazidime-netilmicin combinations against *Pseudomonas aeruginosa* in an in vitro pharmacokinetic model. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 28: 64-68.