FYSIOLOGIAAN PERUSTUVA FARMAKOKINEETTINEN MALLINNUS TIINEEN LAMPAAN JA SIKIÖN DIFENHYDRAMIINIALTISTUKSESTA

Emma Heikkinen

Pro gradu-tutkielma

Proviisorin koulutusohjelma

Itä-Suomen yliopisto, farmasian laitos

Toukokuu 2014

ITÄ-SUOMEN YLIOPISTO, terveystieteiden tiedekunta

Farmasian laitos

Proviisorin koulutusohjelma

Biofarmasia

HEIKKINEN EMMA, M: Fysiologiaan perustuva farmakokineettinen mallinnus tiineen lampaan ja sikiön difenhydramiinialtistuksesta

Pro gradu-tutkielma, 75 s, 1 liite (27 s.)

Ohjaajat: Aki Heikkinen, FaT; Veli-Pekka Ranta, FaT

Toukokuu 2014

Avainsanat: farmakokinetiikka, lammas, PBPK-mallinnus, raskaus, sikiö, difenhydramiini

Raskaudenaikainen lääkkeiden käyttö on yleistä siitä huolimatta, että monien lääkkeiden vaikutuksesta äitiin ja kehittyvään sikiöön ei ole kattavaa tietoa. Raskauden aikana naisen kehossa myös tapahtuu monia fysiologisia muutoksia, jotka vaikuttavat lääkeaineiden farmakokinetiikkaan. Lääkkeiden turvallisuuden ja farmakokinetiikan tutkiminen raskaana olevilla on kuitenkin eettisistä syistä haastavaa, joten ei-kajoavat työkalut raskaudenaikaisen farmakokinetiikan ja sikiöaltistuksen arviointiin olisivat tarpeellisia. Fysiologiaan perustuvan farmakokineettisen (PBPK) mallinnuksen avulla lääkeaineen farmakokinetiikka äidissä ja sikiössä voidaan kuvata matemaattisen mallin avulla.

Erikoistyön tarkoituksena oli rakentaa PBPK-malli, joka kuvaa tiineen lampaan ja sikiön difenhydramiinialtistusta loppuraskauden aikana. Mallin pohjana käytettiin Pousin (2013) rakentamaa mallia ihmiselle, johon lisättiin istukka ja sikiön kudostilat. Lääkeaineen istukanläpäisy kuvattiin sekä perfuusiorajoitteisella että permeaatiorajoitteisella istukkamallilla. Tiineen lampaan ja sikiön fysiologiset parametrit kerättiin kirjallisuudesta. Mallilla pyrittiin toistamaan difendydramiinin *in vivo*- plasmapitoisuuskuvaajat sovittamalla mm. vapaan lääkeaineen hepaatisen metabolian ominaispuhdistumat ja istukan permeaatiopuhdistumat. Akaiken informaatiokriteerin arvot laskettiin mallien suoriutumisen ja monimutkaisuuden arvioimiseksi. Herkkyysanalyysin avulla tutkittiin, ovatko sikiön kudosjakautumiskertoimiin sisällytetty vakio ja istukan permeaatiopuhdistuma merkityksellisiä simulaatioiden lopputuloksen kannalta. Sovitettuja parametriarvoja ja simuloituja AUC-arvoja verrattiin kirjallisuusarvoihin ja näin arvioitiin mallien suoriutumista.

Yksikään malleista ei onnistunut täysin toistamaan *in vivo*-datan havaintoja, tosin mallin monimutkaisuuteen ja kudostilojen lukumäärään nähden simulaatiot onnistuivat hyvin. Virhelähteen tunnistamiseksi istukkamallien toimivuutta voisi kokeilla yksinkertaisemmilla tilamalleilla. Simulaatioita voisi myös kokeilla toisilla lääkeaineilla mahdollisen systemaattisen virheen löytämiseksi. Erikoistyön ansioita ovat tiineen lampaan fysiologisten parametrien kokoaminen ja sikiön mallin rakentaminen. Kokonaisuudessaan malli toimii hyvänä pohjana jatkokehitystä varten. Laajemmassa mittakaavassa rakennettu malli on pieni kehitysaskel kohti raskaudenaikaisen lääkeainealtistuksen ja turvallisuuden arviointia.

UNIVERSITY OF EASTERN FINLAND, Faculty of health sciences

School of Pharmacy

Master of Science in Pharmacy program

Biopharmacy

HEIKKINEN EMMA, M: Physiologically based pharmacokinetic modeling of diphenhydramine exposure in pregnant sheep and fetus

Master's thesis, 75 p, 1 appendix (27 p.)

Supervisors: Aki Heikkinen, PhD; Veli-Pekka Ranta, PhD

May 2014

Keywords: pharmacokinetics, sheep, PBPK-modeling, gestation, fetus, diphenhydramine

Drugs are commonly used during pregnancy even though the effects of drugs on mother and developing fetus are not fully known. Many physiological changes occur in women's body through pregnancy and can affect drugs' pharmacokinetics. Due to ethical reasons pregnant women are often excluded from studies exploring drug safety and pharmacokinetics, and therefore novel tools for prediction of drug pharmacokinetics and fetal exposure are needed. PBPK-models are mathematical models for describing drug pharmacokinetics in mother and fetus.

The aim of Master's thesis was to build a PBPK-model which describes diphenhydramine exposure in pregnant ewe and fetus during late gestation. The model is based on a model for human pregnancy (Pousi 2013) into which placenta and fetal tissue compartments were included. The placental transfer of diphenhydramine was rescribed with both perfusion and permeability limited model of placenta. Physiological parameters of ewe and fetus were obtained from literature. The model was fitted to *in vivo*-plasma concentration data on diphenhydramine by estimating parameters such as intrinsic hepatic metabolic clearances and placental permeation clearance. Akaike's information criteria values were calculated to evaluate goodness of fit. Sensitivity analysis was performed to explore whether the coefficient included to tissue distribution coefficients of the fetus and placental permeation clearance were relevant for the simulations. Estimated parameter values and simulated AUC-values were compared to values obtained from literature and model performance was evaluated.

None of the models could completely simulate the *in vivo*-observations but considering the complexity of the model and the large number of tissue compartments, the simulations were successful. Future directions could be to identify the source of error by exploring the relevancy of placental model with a simpler compartmental model. The simulations could also be performed with other drugs to possibly find a systematic error resulting in model structure. On the credit side, the physiological parameters of ewe and fetus were collected and fetal compartments were built. All things considered, the model serves as a good basis for future development. In a broader perspective the model is a small step towards improved assessment of gestational drug exposure and safety.

ESIPUHE

Tämä Pro gradu-tutkielma on tehty Itä-Suomen Yliopistossa, farmasian laitoksella ja biofarmasian oppiaineella vuosina 2013–2014. Tutkielmaa tehdessäni olen tutustunut mielenkiintoiseen tutkimusalaan, jonka merkitys lääkekehityksessä tulee todennäköisesti tulevina vuosina kasvamaan. Haluan kiittää ohjaajiani Aki Heikkistä ja Veli-Pekka Rantaa mielenkiintoisesta aiheesta sekä avusta ja neuvoista, joita olen heiltä työn edetessä saanut. Kiitos myös siitä, että olette tarjonneet minulle haasteita ja avartaneet näkemystäni ammatillisesta suuntautumisestani. Suuri kiitos kuuluu perheelleni, ystävilleni, kanssaopiskelijoille ja poikaystävälleni – te olette iloinneet onnistumisistani sekä tukeneet ja kannustaneet minua tutkielman tekemisen aikana.

Kuopiossa 9.5.2014

Emma Heikkinen

LYHENTEET JA MÄÄRITELMÄT

PBPK-mallissa käytetyt lyhenteet ja nimeämislogiikka on esitetty tarkemmin liitteen 1 alussa.

$[AP^-]$	Happamien fosfolipidien pitoisuus kudoksessa
A	Määrä (amount)
a	Valtimoveri (arterial blood)
ADME	lääkeaineen imeytyminen, jakautuminen, metabolia ja erittyminen (eng. absorption, distribution, metabolism, excretion)
A_Metab	Metaboloituneen lääkeaineen määrä (metabolized amount)
Adi	Rasvakudos (adipose tissue)
Adr	Lisämunuaiset (adrenal glands)
AIC	Akaiken informaatiokriteeri
ATP	Adenosiinitrifosfaatti
AUC	Area under the curve
b	Koko very (blood)
Bo	Luut (bone)
BolusRate	Bolusinjektion annostelunopeus
BPRatio	Veri-plasma-jakautumiskerroin (blood to plasma ratio)
Br	Aivot (brain)
BW	Kehon paino (body weight)
C	Pitoisuus (concentration)
C_vT	Pitoisuus kudoksesta lähtevästä laskimoveressä
Car	Muut kudokset –tila (carcass)
CL_Pla	Istukan permeaatiopuhdistuma
CL_H	Plasmapuhdistuma
CLu_intH	Vapaan lääkeaineen ominaispuhdistuma

CO	sydämen minuuttitilavuus (cardiac output)
CYP	Sytokromi-P450-isoentsyymi
Den	Tiheys (density)
Endometrium	Kohdun sisäpinnan limakalvo
fEW	Solunulkoisen nesteen tilavuusosuus kudoksessa
fIW	Solunsisäisen nesteen tilavuusosuus kudoksessa
Fk	Sikiön kudosjakautumiskertoimia muuttava vakio
fNL	Neutraalien lipidien tilavuusosuus kudoksessa
fu_b	Lääkeaineen vapaa osuus veressä (fraction unbound in blood)
fu_p	Lääkeaineen vapaa osuus plasmassa (fraction unbound in plasma)
Gut	Suolisto (gut)
Hct	Hematokriitti
Hrt	Sydän (heart)
InfRate	Infuusionopeus
KaBC	Lääkeaineen affiniteettivakio verisolujen happamiin fosfolipideihin
Kid	Munuaiset (kidney)
Kotyledoni	Istukan lohko
Kpu	Kudospitoisuuden ja plasmassa olevan vapaan lääkeainepitoisuuden suhde
KpuBC	Verisoluissa olevan pitoisuuden ja plasmassa olevan vapaan pitoisuuden suhde
Liv	Maksa (liver)
Lu	Keuhkot (lung)
Mam	Maitorauhaset (mammary)
Mk	Emän kudosjakautumiskertoimia muuttava vakio
Msc	Lihakset (muscle)
P_Tb	Kudos-veri-jakautumiskerroin
P_Tp	Kudos-plasma-jakautumiskerroin

Pa	Haima (pancreas)
PBPK-malli	Fysiologiaan perustuva farmakokineettinen malli
pHIW	Solunsisäisen veden pH
pHp	Plasman pH
Pla	Istukka (placenta)
Q_T	Kudoksen verenvirtaus (l/h)
QF_dvPla	Sikiön laskimotiehyen kautta kulkeva osuus istukan verenvirtauksesta
QF_dvPv	Sikiön laskimotiehyen kautta kulkeva osuus porttilaskimon verenvirtauksesta
QF_T	Kudoksen verenvirtaus (osuutena sydämen minuuttitilavuudesta)
Septa	Istukan äidinpuoleisesta osasta kohoava väliseinä, joka erottaa kotyledonit toisistaan
Sk	Iho (skin)
Spl	Perna (spleen)
Trofoblasti	Alkion uloin solukerros, josta muodostuu istukan sikiönpuoleinen osa
UGT	uridiinidifosfaatti-glukuronyylitransferaasi
Ute	Kohtu (uterus)
v	Laskimoveri (venous blood)
W	Paino (weight)
V	Tilavuus (volume)
Vss	Näennäinen jakautumistilavuus vakaassa tilassa

Sisällys

I. KIRJALLISUUSOSA 8
1.1 Johdanto 8
1.2 Lammas raskaudenaikaisen farmakokinetiikan ja farmakodynamiikan tutkimuksessa 11
1.3 Ihmisen ja lampaan istukan ominaisuudet 13
1.4 Lääkeaineiden istukanläpäisy 17
1.5 Yhteenveto 22
II. KOKEELLINEN OSA 23
1 Tutkimuksen tavoitteet 23
2 Materiaalit ja menetelmät 24
2.1 Erikoistyössä käytetty *in vivo* -data 24
2.2 Mallin rakentaminen 25
2.2.1 Mallin rakenne 26
2.2.2 Kudosten painot ja verenvirtaukset 26
2.2.3. Mallin differentiaaliyhtälöt 29
2.3 Parametrien määrittäminen 42
2.3.1 Systeemiparametrit 42
2.3.2 Lääkeaineen parametrit 42
2.3.3 Yhdistelmäparametrit 43
3 Simulointi mallilla 47
3.1 Mallin testaus ja emän mallin simulointi 47
3.2 Koko mallin simulointi 48
3.2.1 Istukka yhtenä tilana 50
3.2.2 Istukka kahtena tilana 50
4 Akaiken informaatiokriteeri ja herkkyysanalyysi 51
5 Tulokset ja tulosten tarkastelu 52
5.1 Emän mallin simulointi 52
5.2 Koko mallin simulointi 53
5.2.1 Istukka yhtenä tilana 53
5.2.2 Istukka kahtena tilana 55
5.3 Sovituksissa estimoitujen parametrien arvot 58
5.4 Herkkyysanalyysi 61
5.4.1 Istukan puhdistuman tarkastelu 61

5.4.2 Fk-vakion tarkastelu 63
6 Pohdinta 67
6.1 Simulointi mallilla 67
6.2 Herkkyysanalyysi 68
6.3 Erikoistyön virhelähteet 68
6.4 Mallien jatkokehitys 69
7 Päätelmät 70
KIRJALLISUUS 71
LIITTEET 76
Liite 1: PBPK-malli tiineen lampaan difenhydramiinialtistukselle 76

I. KIRJALLISUUSOSA

1.1 Johdanto

Raskaudenaikainen lääkkeidenkäyttö on yleistä. Vuosina 1996–2000 USA:ssa tehdyn tutkimuksen mukaan noin puolet raskaana olevista naisista sai raskauden aikana sellaista lääkettä, jonka turvallisuutta raskauden aikana ei ollut tutkittu (Andrade ym. 2004). Vuosina 1996–2010 Suomessa synnyttäneistä naisista puolet oli ostanut vähintään yhtä sairausvakuutuskorvattavaa reseptilääkettä raskauden aikana ja näistä jopa yli 40 % oli tiedettävästi haitallisia tai niiden vaikutuksesta sikiöön ei ole tietoa (Lahesmaa-Korpinen 2013). Vaikka tutkimustieto jo markkinoilla olevista lääkkeistä ja niiden vaikutuksesta raskauteen, sikiöön tai vastasyntyneeseen lisääntyy, tieto ei ole kattavaa. Lisäksi lääkekehitykseen ja kliiniseen käyttöön tulee uusia lääkeaineita, joiden raskaudenaikaisen käytön turvallisuudesta ei ole tietoa.

Raskauden aikana naisen kehossa tapahtuu monia fysiologisia ja biologisia muutoksia (Lu ym. 2012). Raskauden aikana sydämen minuuttitilavuus, kudosten verenvirtaukset, keuhkojen toiminta, munuaisglomerulusten suodatusnopeus, kreatiniinipuhdistuma sekä joidenkin CYP- ja UGT-entsyymien aktiivisuudet kasvavat. Toisaalta äidin hematokriitti, plasman proteiinin määrä ja muun muassa CYP1A2-aktiivisuus pienentyvät. Äidin elimistössä tapahtuvien muutosten lisäksi myös istukka ja sikiö kehittyvät raskauden edetessä (Corley 2010, Xia ym. 2013). Nämä muutokset vaikuttavat vierasaineiden imeytymiseen, jakautumiseen, metaboliaan, eritykseen ja farmakodynamiikkaan (Gaohua ym. 2012, Lu ym. 2012). Raskaana olevalle äidille tehokas ja turvallinen lääkeannos voi näin ollen poiketa tavanomaisesta aikuisen annoksesta (Gaohua ym. 2012). Liian suuret lääkeannokset voivat aiheuttaa sekä äidille että sikiölle haittavaikutuksia ja liian pienet annokset taas heikentävät lääkehoidon tehoa, jolloin hoitamaton sairaus voi vaarantaa äidin terveyden tai sikiön kehityksen.

Raskaudenaikaisen lääkkeiden käytön tutkimiseen liittyy eettisiä ongelmia, joten raskaana olevia ei yleensä hyväksytä koehenkilöiksi kliinisiin lääketutkimuksiin

(Lahesmaa-Korpinen 2013). Tämän vuoksi systemaattinen lääketutkimustyö raskaana olevilla naisilla on vähäistä ja tietoa turvallisuudesta saadaan tapauksista, joissa lääkkeitä käyttänyt nainen ei ole tiennyt raskaudestaan tai äidin lääkehoito on koettu välttämättömäksi mahdollisista riskeistä huolimatta. Näiden ongelmien vuoksi olisi tärkeää luoda menetelmiä, joiden avulla voitaisiin arvioida lääkkeiden tehoa ja turvallisuutta raskaana olevilla naisilla.

Vierasaineiden kinetiikkaa kokonaisessa elimistössä voidaan mallintaa ja simuloida mekanistisilla PBPK-malleilla (Lu ym. 2012). Malleissa hyödynnetään mallinnettavan lajin anatomisia ja fysiologisia parametreja, tietoja vierasaineen ADME-ominaisuuksista sekä massatasapainon periaatteita (Corley 2010). PBPK-mallinnus on menetelmä, jolla prekliinistä tietoa voidaan käyttää aineen käyttäytymisen ennustamiseen ihmisessä. Mallien avulla voidaan esimerkiksi selittää *in vivo* -havaintoja, ennustaa annosvasteita ja tehdä riskinarviointeja. Teoreettinen malli on myös käytännöllinen silloin, kun *in vivo* -kokeet eivät ole mahdollisia teknisistä, eettisistä tai lainopillisista syistä. Raskaudenaikaisten kliinisten kokeiden toteuttaminen on yleensä vaikeaa tai mahdotonta, joten PBPK-mallit ovat käyttökelpoisia äidin ja sikiön lääkeaine- tai vierasainealtistuksen arvioinnissa.

PBPK-mallit pohjautuvat tietoon käytetyn lajin anatomisista ja fysiologisista piirteistä sekä erilaisilla *in vitro* - ja *in vivo* -menetelmillä määritettyihin biokemiallisiin parametreihin, kuten lääkeaineen kudosjakautumiskertoimiin, metabolianopeuksiin ja proteiineihin sitoutumiseen (Corley 2010). Rakennettu malli validoidaan vertaamalla simulaatioiden tuloksia mallissa käytetyn lajin *in vivo* -farmakokinetiikkaan (Corley 2010, Lu ym. 2012). Raskautta kuvaavien ihmismallien validointi on haastavaa siksi, että kliinistä dataa lääkkeiden farmakokinetiikasta äidissä ja sikiössä on hankalaa saada, koska raskaana olevia naisia ei yleensä hyväksytä kliinisten tutkimusten koehenkilöiksi. Lääkeainepitoisuuksien mittaaminen lapsesta syntymän jälkeen vaatii huolellisesti suunniteltua biomonitorointia (napaverinäytteet, vastasyntyneen verinäytteet tai sylki, uloshengityskaasut) ja kliinisiä tutkimuksia (Corley 2010). Lisäksi vastasyntyneen lapsen biomonitoroinnista saadun tiedon käyttöä rajoittaa heikko altistuksen sekä sen ajankohdan ja keston karakterisointi. Tietoa sikiön

lääkeainealtistuksesta pitkällä aikavälillä ja ennen syntymää on vielä haastavampaa saada nykyisin menetelmin. Lääkeainepitoisuuksien mittaaminen ja tiedon hyödyntäminen farmakokineettisissä tutkimuksissa onkin kokonaisuudessaan vaativaa.

Raskaudenaikaisia PBPK-malleja on kehitetty useille eri eläinlajeille ja merkittävimpien tutkimusryhmien rakentamia malleja on esitelty pääpiirteissään vuonna 2012 julkaistussa katsausartikkelissa (Lu ym. 2012). Raskaudenaikaisissa PBPK-malleissa käytetyimpiä eläinlajeja ovat ihminen, rotta, hiiri ja kani, mutta muutamia malleja on rakennettu myös hamsterille ja apinalle. Eri eläinlajien sopivuus ihmisraskauden mallintamiseen vaihtelee ja lajin valintaan vaikuttavat monet tekijät (Carter ym. 1971). Tiineyden kesto, syntyvän poikasen kehitysaste ja istukan rakenne poikkeavat eläinlajien kesken ja nämä seikat vaikuttavat tulosten yleistettävyyteen ihmisessä. Toisaalta eläinten ylläpidon vaatimukset ja näytteenoton helppous vaikuttavat *in vivo* -kokeiden toteuttamiseen ja tutkimustiedon käyttökelpoisuuteen.

Tämä pro gradu-tutkielma keskittyy tiineen lampaan lääkeainealtistuksen PBPK-mallinnukseen. Lampaalle rakennettua ja *in vivo*-datan avulla validoitua mallia voidaan tulevaisuudessa käyttää ihmismallin pohjana. Kirjallisuuskatsauksessa käsitellään lampaiden käyttöä raskaudenaikaisen farmakokinetiikan ja farmakodynamiikan tutkimisessa sekä lampaan ja ihmisen istukan ominaisuuksia. Lisäksi esitellään lyhyesti aineiden istukanläpäisymekanismit ja niissä havaitut lajien väliset erot. Erikoistyössä kuvataan tiineen lampaan lääkeainealtistusta kuvaavan PBPK-mallin rakentaminen.

1.2 Lammas raskaudenaikaisen farmakokinetiikan ja farmakodynamiikan tutkimuksessa

Lammasta on perinteisesti käytetty synnytysopin tutkimuksissa, koska syntymän aikaan lampaan sikiö on suunnilleen saman painoinen kuin ihmisen sikiö, ja lampaan sikiön fysiologia tunnetaankin paremmin kuin minkään muun eläinlajin (Carter 2007). Monien pienikokoisten lajien, kuten jyrsijöiden, käyttöä *in vivo* -tutkimuksissa rajoittaa se, että toistuva näytteenotto emosta ja sikiöstä on teknisesti haastavaa. Lampaalla verinäytteiden ottaminen sekä emän että sikiön verenkierrosta on mahdollista verisuonikatetrien avulla myös eläimen ollessa hereillä ja fysiologisesti taspainoisessa tilassa (Carter 2007, Barry ja Anthony 2008). Lisäksi lampaat ovat helposti käsiteltäviä ja tiineet yksilöt kestävät hyvin invasiivisia toimenpiteitä (Carter 2007). Lampaiden käytön huonoja puolia ovat raskauden pitkä kesto ja kallis ylläpito.

Muun muassa sikiön kehitystä, fysiologiaa ja verenkiertoa sekä näihin vaikuttavia tekijöitä on tutkittu tiineillä lampailla ja aihepiiriin liittyen on julkaistu tuhansia artikkeleita usean vuosikymmenen kuluessa. Myös farmakokineettisiä tutkimuksia tiineillä lampailla on tehty runsaasti: PubMed -haussa hakusanayhdistelmä ”sheep, gestation, pharmacokinetics” tuotti 14.4.2014 noin 450 hakutulosta. Raskaudenaikaiseen farmakodynamiikkaan liittyviä julkaisuja tiineenä olevista lampaista oli saatavilla PubMed -viitetietokannasta lähes 7000. Tietoa äidin ja sikiön raskaudenaikaisesta lääkeainealtistuksesta onkin saatu merkittävissä määrin tutkimuksista, joissa on hyödynnetty tiineitä lampaita (Szeto 1995). Muutamia esimerkkejä tiineillä lampailla suoritetuista farmakodynamiikkaa ja farmakokinetiikkaa käsittelevistä tutkimuksista on koottu taulukkoon 1.

Taulukko 1: Esimerkkejä tiineillä lampailla suoritetuista farmakodynamiikan ja farmakokinetiikan tutkimuksista.

Kirjoittaja ja julkaisuvuosi	Julkaisun nimi	Tutkittu lääkeaine, käyttöaihe	Tutkimusongelma	Keskeisimmät johtopäätökset
Erkinaro ym. 2013	Fetal cardiac function after labetalol or pindolol for maternal hypertension in a sheep model of increased placental vascular resistance.	Labetaloli ja pindololi, hypertensio	Labetalolille tai pindololille altistetun sikiön sydän- ja keuhkotoiminta hypoksemian aikana	Labetalolin tai pindololin annostelu emälle ei merkittävästi vaikuttanut sikiön sydämen tai keuhkojen toimintaan hypoksemian aikana
Coonen ym. 2010	Transplacental transfer of remifentanil in the pregnant ewe.	Remifentaniili, kivun hoito	Remifentaniilin istukanläpäisy ja vaikutukset sikiön hemodynamiikkaan	Remifentaniili läpäisee istukan eikä vaikuta lampaan sikiön hemodynamiikkaan.
Kim ym. 2004	Stereoselective pharmacokinetics of fluoxetine and norfluoxetine enantiomers in pregnant sheep.	Fluoksetiini, masennuksen hoito	Fluoksetiinin ja sen aktiivisen metaboliitin norfluoksetiinin, stereoselektiivinen jakautuminen emään ja sikiöön raseemisen fluoksetiinin annon jälkeen, sikiön maksametabolia-kapasiteetti	Fluoksetiini ja norfluoksetiini läpäisevät istukan nopeasti. (S)-fluoksetiinin pitoisuudet sekä emän että sikiön plasmassa ovat korkeat. Stereoselektiivistä jakautumista ei havaittu norfluoksetiinilla. Sikiön maksa ei metaboloi fluoksetiinia.
Santos ym. 1999	The placental transfer and fetal effects of levobupivacaine, racemic bupivacaine, and ropivacaine.	Levobupivakaiini, raseeminen bupivakaiini ja ropivakaiini, paikallispuudutus, kivunhoito	Lääkeaineiden istukanläpäisy ja pitoisuudet sikiön kudoksissa, levobupivakaiinin vaikutus kohdun verenvirtaukseen ja sikiön hyvinvointiin	Levobupivakaiini ei muuttanut merkittävästi emän tai sikiön hemodynamiikkaa. Pitoisuudet sikiön plasmassa ja kudoksissa olivat kaikille kolmelle lääkeaineelle samankaltaiset eikä yksikään lääkeaineista vaikuttanut merkittävästi sikiön hyvinvointiin.
Yeleswaram ym. 1992	Pharmacokinetics and pharmacodynamics of labetalol in the pregnant sheep.	Labetaloli, hypertensio	Labetalolin istukanläpäisy sekä farmakokinetiikka ja farmakodynamiikka emässä ja sikiössä	Sikiön AUC on noin 14% emän AUC:sta, kun labetalolia annosteltiin emälle. Puoliintumisaika on sikiössä pidempi kuin emässä. Glukoosi- ja maitohappopitoi-suudet kasvoivat emäs-sä ja sikiössä. Suoraa yhteyttä sikiön labetalolipitoisuuksien ja happisaturaation laskun välillä ei havaittu.

Tiineillä lampailla suoritettujen farmakokineettisten tutkimusten tärkeimmät päätelmät on eritelty vuonna 1995 julkaistussa katsauksessa (Szeto 1995). Katsauksessa esitetyn yhteenvedon mukaan istukka ei suojele sikiötä vierasaineilta hyvin ja istukan läpäisevyyteen vaikuttavat aineen lipofiilisyys, koko, proteiineihin sitoutuminen ja ionisoitumisaste. Istukan permeaatiopuhdistumalla on havaittu olevan merkittävä rooli sikiössä tapahtuvan puhdistuman kannalta. Myös sikiön maksa ja munuaiset eliminoivat lääkeaineita ja tällä on suuri vaikutus sikiön lääkeainealtistukseen. Lisäksi lapsiveden on havaittu toimivan lääkeainevarastona, johon erityisesti polaariset metaboliitit voivat kertyä.

1.3 Ihmisen ja lampaan istukan ominaisuudet

Istukka on sikiön kasvulle ja kehitykselle välttämätön elin ja sillä on kolme päätehtävää (Lee 2005). 1. Istukka toimii raskauden aikana endokriinisenä elimenä, 2. suojelee sikiötä äidin immuunijärjestelmältä, 3. istukka toimii äidin ja sikiön plasman välissä rajapintana, jonka läpi äidin ja sikiön välinen ravintoaineiden, hapen ja metaboliatuotteiden, kuten urean, bilirubiinin ja hiilidioksidin vaihto tapahtuu (Schneider 1991, Lee 2005). Vaikka istukan päätehtävät ovat eri eläinlajeilla samat, on istukan rakenteessa merkittäviä lajienvälisiä eroja.

Istukkatyypit voidaan jaotella alaluokkiin niiden histologisen rakenteen ja äidin ja sikiön verenkiertoja erottavien kerrosten lukumäärän perusteella (Attila ja Sandholm 1998, Myren ym. 2007) (Taulukko 2). Hemoendoteliaalisessa istukassa äidin veri on suorassa kosketuksessa sikiön endoteelin kanssa (rotalla, marsulla) (Attila ja Sandholm 1998). Hemokoriaalisessa istukassa rajapinta koostuu vain sikiön kudoksista ja äidin veri on suorassa kosketuksessa istukan sikiönpuoleisen osan eli trofoblastin kanssa (ihmisellä, apinalla) (Myren ym. 2007). Endoteliokoriaalisessa istukassa trofoblasti on suorassa kontaktissa äidin kapillaariendoteelin kanssa (kissalla, koiralla). Epiteliokoriaalisessa istukassa kuusi kudoskerrosta erottaa äidin ja sikiön verenkierrot toisistaan (hevosella, sialla). Syndesmokoriaalisessa istukassa

äidin endoteelia ei ole, jolloin istukan sikiönpuoleinen osa on suorassa kontaktissa äidin kudosten kanssa (märehtijöillä).

Ihmisen istukka on hemokoriaalinen ja jakautuu 15–25 lohkoon eli kotyledoniin (Syrne ym. 2004, Härkönen ja Väänänen 2011) (Kuva 1). Kotyledoneja rajaavat äidin puolelta kohoavat istukkaseptat (Härkönen ja Väänänen 2011). Istukkaseptat eivät ulotu istukan sikiönpuoleiseen osaan, joten istukkalohkot ovat yhteydessä toisiinsa ja muodostavat yhtenäisen ontelon, johon istukan sikiönpuoleisen osan villukset työntyvät. Äidin kohtuvaltimoiden päätehaaroista muodostuvat spiraalivaltimot vievät verta katokalvon, eli pensassuonikalvostoon yhteydessä olevan endometriumin osan, läpi ja tämä valtimoveri virtaa istukan välitilaan huuhtelemaan sikiön villuksia. Äidin valtimoveri poistuu istukan välitilasta katokalvon laskimoihin.

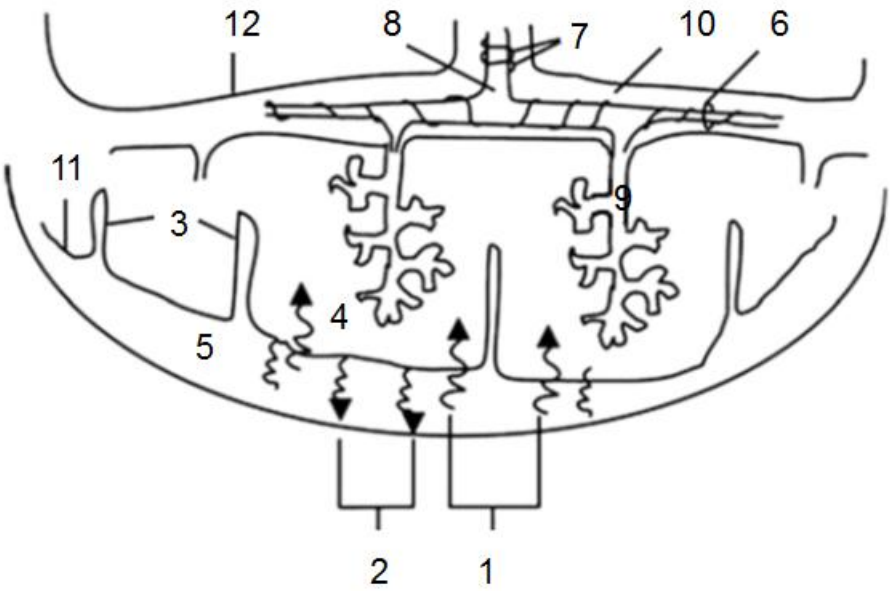
Taulukko 2: Istukkatyypit sekä lajienväliset erot äidin ja sikiön verenkiertoja erottavissa solukerroksissa.

Istukkatyyppi	Emo			Sikiö			Eläinlaji
	endo-teeli	side-kudos	epi-teeli	trofo-blasti	side-kudos	endo-teeli	
Epiteliokoriaalinen	+	+	+	+	+	+	Sika, hevonen
Syndesmokoriaalinen	+	+	-	+	+	+	Lehmä, lammas, vuohi
Endoteliokoriaalinen	+	-	-	+	+	+	Koira, kissa
Hemokoriaalinen	-	-	-	+	+	+	Ihminen, apinat
Hemoendoteliaalinen	-	-	-	-	-	+	Rotta, marsu, kaniini

+ istukassa on ko. rakenne
- istukassa ei ole ko. rakennetta
Lähde: Attila ja Sandholm 1998

Sikiön puolella istukassa hapettunut veri virtaa villuskapillaareissa laskimoita pitkin napalaskimoon ja sikiön verenkiertoon. Sikiöstä veri virtaa istukkaan napanuoran kahdessa napavaltimossa, jotka haarautuvat istukkaan saapuessaan pieniksi valtimoiksi ja edelleen villusten kapillaareiksi. Istukkaan äidin puolelta virtaava veri vaihtuu nopeasti ja koko välitilan veri vaihtuu 3–4 kertaa minuutissa. Ihmisellä

istukan verenvirtaus on raskausviikolla 10 noin 50 ml/min ja synnytyksen aikaan 600 ml/min (Syrne ym. 2004). Istukan läpäisyeste, joka erottaa äidin ja sikiön verenkierrot toisistaan, koostuu sikiön trofoblastista, sidekudoksesta ja endoteelistä (Attila ja Sandholm 1998). Kalvon paksuus on alkuraskaudessa 50–100 mikrometriä paksu ja se ohenee loppuraskauden aikana 4–5 mikrometrin paksuiseksi (Syrne ym. 2004). Suhteutettuna istukan painoon vaihtopinta-ala on noin 500 neliösenttimetriä yhtä grammaa kohti (Schröder 1995).



Kuva 1: Piirroskuva ihmisen täysiaikaisesta istukasta. Happipitoista äidin verta virtaa villusten väliseen tilaan ja aineiden vaihto tapahtuu villuspuuston kautta. Hapettunut veri virtaa villuspuista napalaskimon kautta sikiön verenkiertoon. 1) Endometriumin valtimosuonia 2) endometriumin laskimosuonia 3) istukkaseptoja, jotka rajaavat kotyledoneja 4) villusten välinen tila 5) decidua basalis eli katokalvo (endometriumin osa) 6) suonikalvolevy 7) napavaltimot 8) napalaskimo 9) villuspuusto 10) synsytiotrofoblasti eli istukan nukkalisäkkeiden pintakerros 11) sytotrofoblasti eli istukan sikiönpuoleisen osan (trofoblastin) sisempi solukerros 12) vesikalvo.

Lähde: Myren 2007

Lampaan istukka on syndesmokoriaalinen ja siinä on viisi solukerrosta, jotka erottavat emän ja sikiön verenkierrot toisistaan: emän endoteeli ja sidekudos sekä sikiön trofoblasti, endoteeli ja sidekudos (Attila ja Sandholm 1998). Lampaan istukka ei ole rakenteeltaan levymäinen kuten ihmisellä, mutta se koostuu kotyledoneista kuten ihmisen istukka (Barry ja Anthony 2008). Lampaan kohdun sisäpinnan limakalvossa, endometriumissa, on karunkkeleja eli runsaasti verisuonia sisältäviä alueita. Niihin kehittyy tiineyden edetessä monihaaraisia onkaloita, kryptoja, joihin sikiön villukset kasvavat. Lampaan istukassa on monta pientä kohtaa, plasentomia, joissa sikiön kotyledonit ja emän karunkkelit yhdistyvät. Erilaisesta rakenteestaan huolimatta lampaan sikiönpuoleinen verisuonisto muistuttaa ihmisen istukan verisuonistoa (Barry ja Anthony 2008). Lampaan istukan läpäisyeste on ihmisen täysiaikaiseen istukkaan verrattuna paksu, noin 23 mikrometriä (Schröder 1995). Lampaan istukassa pinta-ala on painoon suhteutettuna noin 220 neliösenttimetriä grammaa kohti. Lampaalla istukan verenvirtaus on loppuraskauden aikana noin 1500 ml/min (Rosenfeld ym. 1974). Ihmissikiöstä poiketen lampaalla on kaksi napalaskimoa (Kiserud 2005).

Taulukko 3: Ihmisen ja lampaan istukan ominaisuuksien vertailua

	Ihminen	Lammas
Raskauden kesto (vrk)	265[3]	145[3]
Istukan luokittelu	hemokoriaalinen[1]	syndesmokoriaalinen[1]
Äidin/emän ja sikiön verenkiertoja erottavien solukalvojen lukumäärä	3[1]	5[1]
Aineenvaihtoala (cm^2/g)	500[2]	220[2]
Solukerroksen paksuus loppuraskaudessa (μm)	4–5[4]	23[3]
Istukan verenvirtaus loppuraskaudessa (ml/min)	600[4]	1500[2]

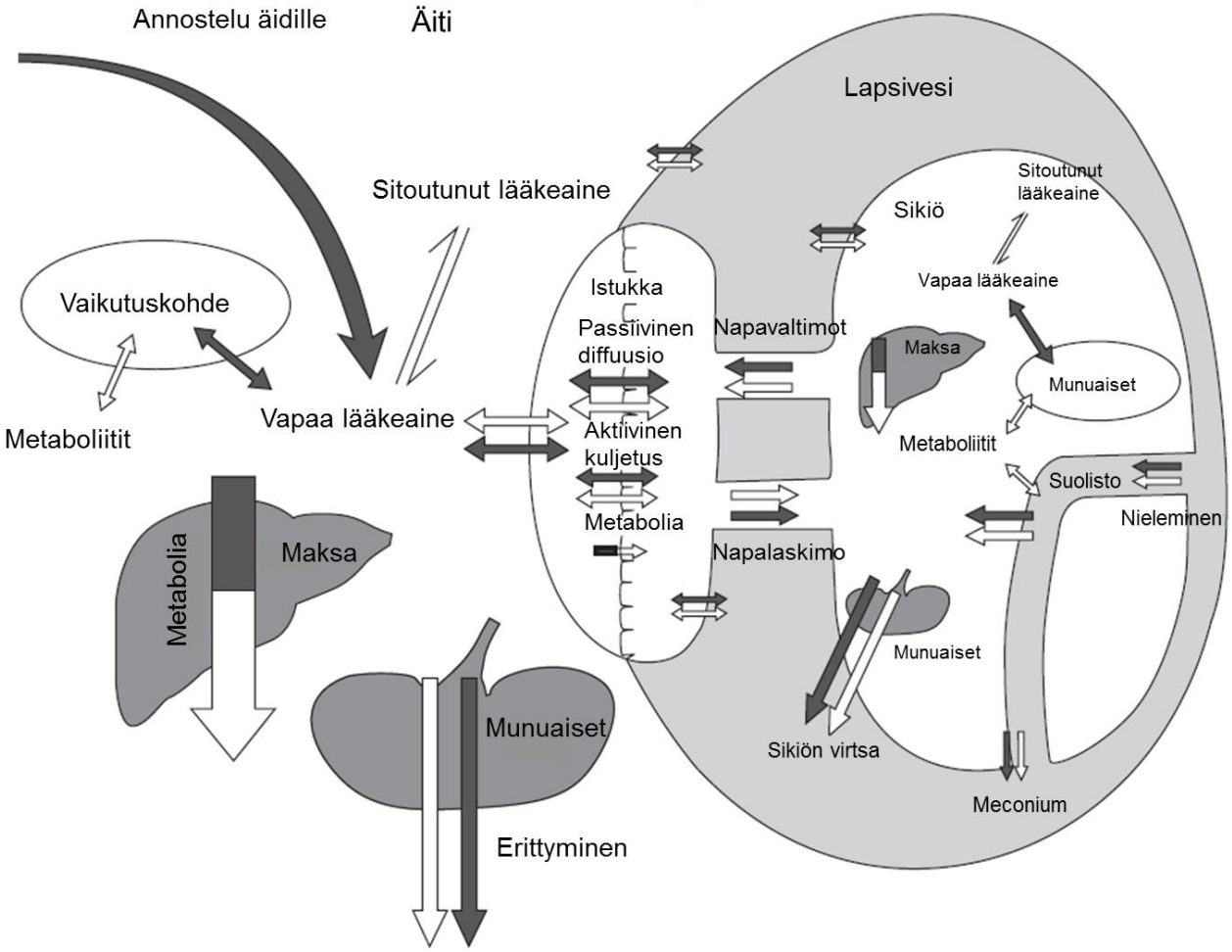
[1] Attila ja Sandholm (1998)
[2] Rosenfeld ym. (1974)
[3] Schröder ym. (1995)
[4] Syrne ym. (2004)

Eläinkokeissa saadulla tiedolla lääkeaineen farmakokinetiikasta raskauden aikana on rajallinen sovellettavuus ihmiseen (Myren ym. 2007). Istukan rakenne vaikuttaa vierasaineiden siirtymiseen ja metaboliaan ja tämän vuoksi lajienvälinen ekstrapolaatio on haastavaa.

1.4 Lääkeaineiden istukanläpäisy

Lääkeaineen istukanläpäisy ja sen nopeus ovat riippuvaisia aineen fysikokemiallisista ja rakenteellisista ominaisuuksista sekä itse lajin että istukan fysiologisista ominaisuuksista (Myren ym. 2007). Sikiön lääkeainealtistukseen taas vaikuttavat istukanläpäisevyyden lisäksi useat farmakokineettiset tekijät (Kuva 2).

Kun lääkettä annostellaan äidille, lääkeainepitoisuus sikiön plasmassa alkaa kasvaa, koska pitoisuusgradientti äidin ja sikiön plasman välillä on suuri (Szeto 1995). Kun pitoisuusgradientti tasoittuu, lääkeainepitoisuudet äidin ja sikiön veressä saavuttavat tasapainotilan ja nettodiffuusiota puolelta toiselle ei ole. Tässä tasapainotilanteessa lääkeainepitoisuus sikiössä on korkeimmillaan. Tasapainotila vapaan aineen pitoisuudessa emän ja sikiön plasmassa vaikuttaa huippupitoisuuteen sikiön plasmassa ja tätä kautta sikiön lääkeainealtistukseen (Mihaly ja Morgan 1983). Nopeudella, jolla tasapainotila saavutetaan, ei sen sijaan ole sikiön lääkeainealtistuksen kannalta suurta merkitystä. Aineen siirtymisnopeus istukan läpi vaikuttaa sikiön lääkeainealtistukseen ainoastaan silloin, kun siirtymisnopeus on hitaampi kuin nopeus, jolla lääkeaine eliminoituu äidin verenkierrosta. Tällöin tasapainotilaa ja huippupitoisuuksia sikiön plasmassa ei koskaan saavuteta.



Kuva 2: Lääkeaineen jakautuminen äitiin ja sikiöön annosteltaessa lääkeainetta äidille. Useat farmakokineettiset tekijät, kuten istukanläpäisevyys, aktiivinen kuljetus ja metabolia, vaikuttavat lääkeaineen siirtymiseen äidistä sikiöön ja sikiön lääkeainealtistukseen. Vaikka kuva havainnollistaa ihmiselimistöä, samat mekanismit pätevät eri eläinlajeihin. Tummanharmaat nuolet kuvaavat varsinaista lääkeainetta eli parenttiainetta ja valkoiset lääkeaineen metaboliittia. Mukaillen Syrne ym. 2004.

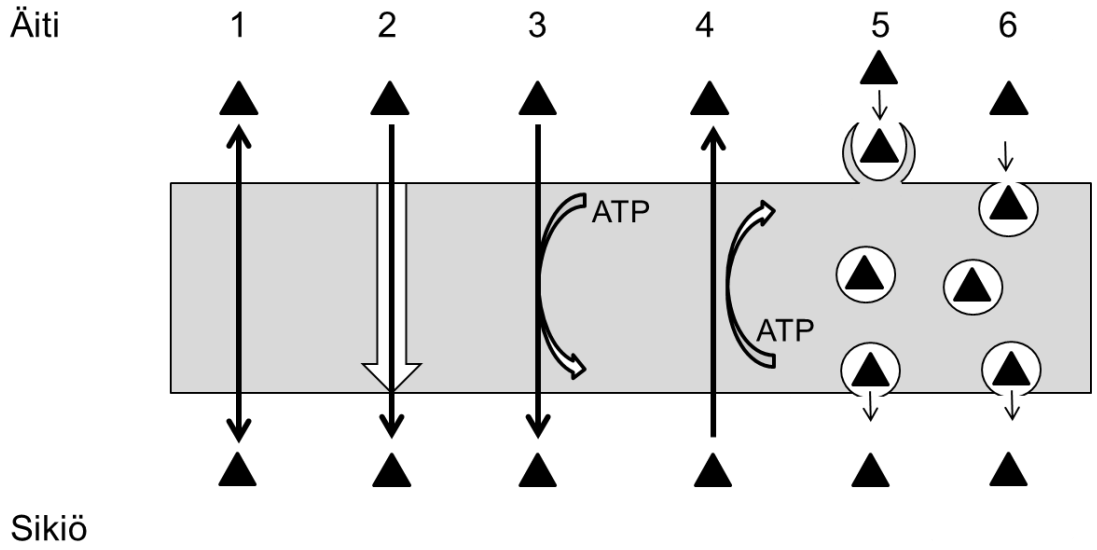
Vapaan lääkeainepitoisuuden tasapainotilaan ja sitä kautta sikiössä havaittaviin huippupitoisuuksiin vaikuttavat tekijät, kuten äidin ja sikiön plasman pH-ero, istukassa tapahtuva lääkeainemetabolia ja istukan aktiiviset kuljetusmekanismit, ovat merkittävimpiä sikiön lääkeainealtistuksen kannalta (Mihaly ja Morgan 1983). Lääkeaineen siirtymisnopeuteen istukan läpi vaikuttavat istukan membraanien paksuus ja pinta-ala, istukan verenvirtaus ja verisuoniston sijoittuminen, aineen molekyylikoko ja lipofiilisyys, plasman proteiineihin sitoutuminen sekä äidin ja sikiön veren pH (Mihaly ja Morgan 1983, Schneider 1991).

Aineiden kuljetusmekanismeja istukan läpi tiedetään olevan viisi: passiivinen diffuusio, avustettu diffuusio, aktiivinen kuljetus, fagosytoosi ja pinosytoosi (Syrne ym. 2004) (Kuva 3). Näistä passiivista diffuusiota on tutkittu kaikista eniten, vaikkakin useille lääkeaineille on löydetty myös aktiivisia kuljetusmekanismeja. Fagosytoosin ja pinosytoosin on havaittu olevan niin hitaita mekanismeja, ettei niillä yleensä ole merkittävää vaikutusta lääkeaineiden kuljetukseen istukan läpi.

Aineen diffuusionopeus istukan läpi voi olla verenvirtauksen (lipofiiliset aineet), permeabiliteetin (hydrofiiliset aineet) tai molempien rajoittamaa (Mihaly ja Morgan 1983, Syrne ym. 2004). Passiivisen diffuusion nopeus on riippuvainen membraanin pinta-alasta, rakenteesta, aineen pitoisuusgradientista ja aineen fysikokemiallisista ominaisuuksista (Schneider 1991). Sikiön ja emän verenkiertojen välisten kudosten rakenteet ja aineenvaihtopinta-alat vaihtelevat lajeittain ja riippuen aineen ominaisuuksista, kuten molekyylipainosta, varauksesta ja liukoisuudesta, rakenteiden erot voivat vaikuttaa aineiden diffuusionopeuteen istukan läpi. Myös plasman proteiineihin sitoutuminen vaikuttaa passiiviseen diffuusioon, sillä vain vapaa lääkeaine voi diffuntoitua membraanien läpi (Rudolph 1995).

Useimmat lääkeaineet ovat pieniä ja rasvaliukoisia ja niiden permeaationopeutta istukan läpi rajoittaa pitoisuusgradientin suuruus äidin ja sikiön verenkiertojen välillä (Rudolph 1995). Pitoisuusgradienttiin taas vaikuttaa pääasiassa istukan ja napasuonien verenvirtaus. Pienillä ja rasvaliukoisilla lääkeaineilla istukan tyyppi, verisuonten sijoittuminen toisiinsa nähden ja kudoskerrosten lukumäärä ei juuri vaikuta aineen diffuusionopeuteen (Mihaly ja Morgan 1983). Lajienväliset erot sikiön lääkeainealtistuksessa ovatkin pienillä, rasvaliukoisilla lääkeaineilla vähäisiä (Mihaly ja Morgan 1983, Szeto 1995). Yleisesti rasvaliukoisuutta on pidetty hyvänä määreenä siitä, läpäiseekö lääkeaine istukan helposti vai ei. On tosin havaittu, että rasvaliukoisuus ei aina ennusta täysin aineen istukanläpäisyä. Esimerkiksi kaptopriili, enalapriili ja losartaani ovat hyvin rasvaliukoisia aineita, mutta ne silti läpäisevät

istukan heikosti (Stevenson ym. 1995). Heikkoon istukanläpäisyyn voivat vaikuttaa mm. istukassa tapahtuva metabolia ja efflux-proteiinit.



Kuva 3: Lääkeaineen kuljetusmekanismit istukan läpi. 1) Passiivinen diffuusio kuljettaa lääkeaineita ilman ATP:tä pitoisuusgradientin mukaisesti; 2) Avustettu diffuusio; 3) ja 4) Aktiivinen kuljetus vaatii ATP:tä. Kuljetinproteiinit voivat toiminnastaan ja sijoittumisestaan riippuen joko kuljettaa lääkeaineita sikiöön tai heikentää niiden istukanläpäisyä; 5) ja 6) Fagosytoosilla ja pinosytoosilla ei ole havaittu olevan merkittävää roolia lääkeaineiden istukanläpäisyssä.

Heikosti permeoituvien, hydrofiilisten molekyylien permeaationopeuteen vaikuttaa merkittävimmin istukan permeabiliteetti ja lajienvälisiä eroja on selitetty istukan rakenne-eroilla sekä äidin ja sikiön verenkiertoja erottavien solukerrosten lukumäärän avulla (Mihaly ja Morgan 1983, Schneider 1991). Systemaattista vertailua hydrofiilisten molekyylien istukanläpäisystä eri lajeilla ei kuitenkaan ole tehty (Szeto 1995). Ihmisen hemokoriaalinen istukka läpäisee huomattavasti paremmin hydrofiilisiä ja suuria molekyylejä kuin lampaan syndesmokoriaalinen istukka (Szeto 1995, Schröder 1995). Läpäisevyyttä on tutkittu mm. mannitolilla, joka läpäisee ihmisen istukan helpommin kuin lampaan (Schröder 1995). Eroa on selitetty sillä, että hemokoriaalisen istukan kerrosten soluväleistä on löydetty veden täyttämiä huokosia, joiden kautta hydrofiiliset molekyylit läpäisevät istukan (Schneider 1991, Schröder 1995). Samanlaisia huokosia on löydetty myös muiden eläinlajien istukoista (lammas,

kani) ja huokosten läpimitan on huomattu vaihtelevan lajien välillä (Schröder 1995). Lampaan istukassa huokoset ovat läpimitaltaan pienempiä kuin ihmisen istukassa, minkä vuoksi lampaan istukan läpäisevyys hydrofiilisille aineille on heikompi kuin ihmisellä.

Aineen istukanläpäisy avustetulla diffuusiolla tapahtuu pitoisuusgradientin mukaisesti proteiinirakenteisten ionikanavien tai kantajaproteiinien avulla ja sen on esitetty olevan endogeenisten yhdisteiden, kuten hormonien ja nukleosidien, kuljetusmekanismi äidin puolelta synsytiotrofoblastiin. (Syrne ym. 2004, Myren ym. 2007). Avustetun diffuusion on osoitettu vaikuttavan esimerkiksi gansikloviirin istukanläpäisyyn ihmisellä (Henderson ym. 1993). Gansikloviirin istukanläpäisynopeutta rajoittavan tekijän havaittiin olevan kuitenkin passiivinen diffuusio: aluksi gansikloviiri siirtyy ja konsentroituu istukan äidinpuoleiseen osaan avustetulla diffuusiolla ja sen jälkeen siirtyy passiivisen diffuusion avulla sikiöön. Lampaalla avustetun diffuusion on havaittu vaikuttavan esimerkiksi hapen ja hiilimonoksidin istukanläpäisyyn (Bissonnette ym. 1977).

Aktiivisessa kuljetuksessa aine on ligandi kuljetinproteiinille ja voi läpäistä membraanin pitoisuusgradienttia vastaan (Myren ym. 2007). Riippuen kuljetinproteiinin sijoittumisesta ja toiminnasta, se voi myös heikentää vierasaineiden pääsyä istukan läpi (Myllynen ja Vahakangas 2013). Ihmisen istukasta on löydetty kymmeniä kuljetinproteiinia useista kuljetinperheistä, mm. P-glykoproteiinit ABCB1 ja ABCB4, mutta niiden vaikutusta sikiön lääkeainealtistukseen ei ole vielä tutkittu (Vahakangas ja Myllynen 2009). Ihmisen istukan kuljetinproteiineja sekä niiden vierasainesubstraatteja on esitelty kattavasti esimerkiksi vuonna 2009 julkaistussa Vähäkankaan ja Myllysen katsausartikkelissa. Kirjallisuushaun perusteella lampaan istukan kuljetinproteiinien vaikutusta ravintoaineiden, kuten glukoosin ja aminohappojen kuljetukseen on tutkittu, mutta niiden merkitystä vierasaineiden kuljetukselle ei vielä kovinkaan hyvin tunneta. Lampaan istukasta on kuitenkin löydetty aktiivinen kuljetusmekanismi esimerkiksi triamtereenille (Pruitt ym. 1975).

1.5 Yhteenveto

Vaikka lammasta onkin käytetty paljon raskaudenaikaisen farmakokinetiikan ja farmakodynamiikan tutkimisessa, on tiedon soveltaminen ihmisraskauteen ja lajienvälinen ekstrapolaatio haastavaa. Lääkkeiden raskaudenaikaiseen farmakokinetiikkaan ja sikiön lääkeainealtistukseen vaikuttavat monet fysiologiset ja anatomiset tekijät, joista vain yksi on istukan rakenne. Tutkimusten perusteella lajienväliset erot pienten, lipofiilisten aineiden istukanläpäisyssä ovat vähäisiä, mutta silti eläinkokeista saatujen johtopäätösten soveltaminen ihmiseen vaatii myös näillä lääkeaineilla varovaisuutta. Hydrofiilisten aineiden diffuusiossa istukan läpi on voi myös olla lajienvälisiä eroja solujen välisten vesihuokosten kokoerojen vuoksi, joskin aihe vaatii lisätutkimusta. Passiivisen diffuusion jälkeen ehkä eniten tutkittu kuljetusmekanismi on aktiivinen kuljetus, joskin senkään merkitystä lääkeaineiden istukanläpäisyssä eri eläinlajeilla ei tunneta täysin. Vaikka eläinkokeissa on saatu viitteitä siitä, että istukan kuljetinproteiinit saattavat olla merkityksellisiä istukan toiminnan ja sikiön vierasainealtistusten kannalta, ovat lajienväliset erot istukan rakenteessa ja toiminnassa suuria (Vahakangas ja Myllynen 2009). Tämän vuoksi aktiivisen kuljetuksen ekstrapolointi eläimistä ihmiseen on haastavaa. Vielä vähemmän tietoa on avustetun diffuusion merkityksestä lääkeaineiden kuljetuksessa istukan läpi, joskin muutamia tätä kuljetusmekanismia hyödyntäviä lääkeaineita on löydetty.

On myös huomattava, että raskaudenaikainen farmakokinetiikka on vain yksi osa-alue, joka vaikuttaa vierasaineiden vasteeseen sikiössä (Mihaly ja Morgan 1983). Farmakokinetiikan lisäksi olisi kiinnitettävä huomiota farmakodynaamisiin tekijöihin, kuten sikiön kehitysasteeseen ja herkkyyteen farmakologisille vaikutuksille, jotka vaikuttavat vasteeseen ja lääketurvallisuuteen.

II. KOKEELLINEN OSA

1 Tutkimuksen tavoitteet

Erikoistyön tarkoituksena oli rakentaa raskaudenaikainen PBPK-malli kuvaamaan tiineen lampaan ja sikiön difenhydramiinialtistusta. Erikoistyö on osa suurempaa tutkimuskokonaisuutta, jonka tarkoituksena on luoda työkaluja raskaudenaikaisen lääkeainealtistuksen ja lääketurvallisuuden arviointiin.

Mallinnettavaksi lääkeaineeksi valittiin difenhydramiini, koska lääkeaineesta on saatavilla yksityiskohtaista farmakokineettistä tietoa (Kumar ym. 1997) sekä emästä että sikiöstä, mikä mahdollistaa mallin testaamisen ilman kokeellisen työn tarvetta. Difenhydramiini läpäisee istukan passiivisella diffuusiolla (Yoo ym. 1986). Aineen metaboliaa sekä siihen vaikuttavia tekijöitä on tutkittu useassa julkaisussa ja kirjallisuusdataa difenhydramiinin pitoisuuksista tiineessä lampaassa löytyi riittävästi mallin rakentamista varten (Kumar ym. 1997, Kumar ym. 1999a, Kumar ym. 1999b, Kumar ym. 2000). Difenhydramiini on potentti histamiinireseptori-H1-antagonisti, jota käytetään raskaudenaikaisen pahoinvoinnin, oksentelun, unettomuuden, allergisen nuhan ja tavanomaisten ylähengitystieinfektioiden hoidossa, ja se läpäisee istukan nopeasti (Yoo ym. 1986, Kumar ym. 1999b). Suomessa difenhydramiinitabletit ja -injektioneste ovat erityislupavalmisteita, mutta esimerkiksi Yhdysvalloissa difenhydramiinitabletteja on saatavissa ilman reseptiä (Duodecim-lääketietokanta, Dailymed-tietokanta).

2 Materiaalit ja menetelmät

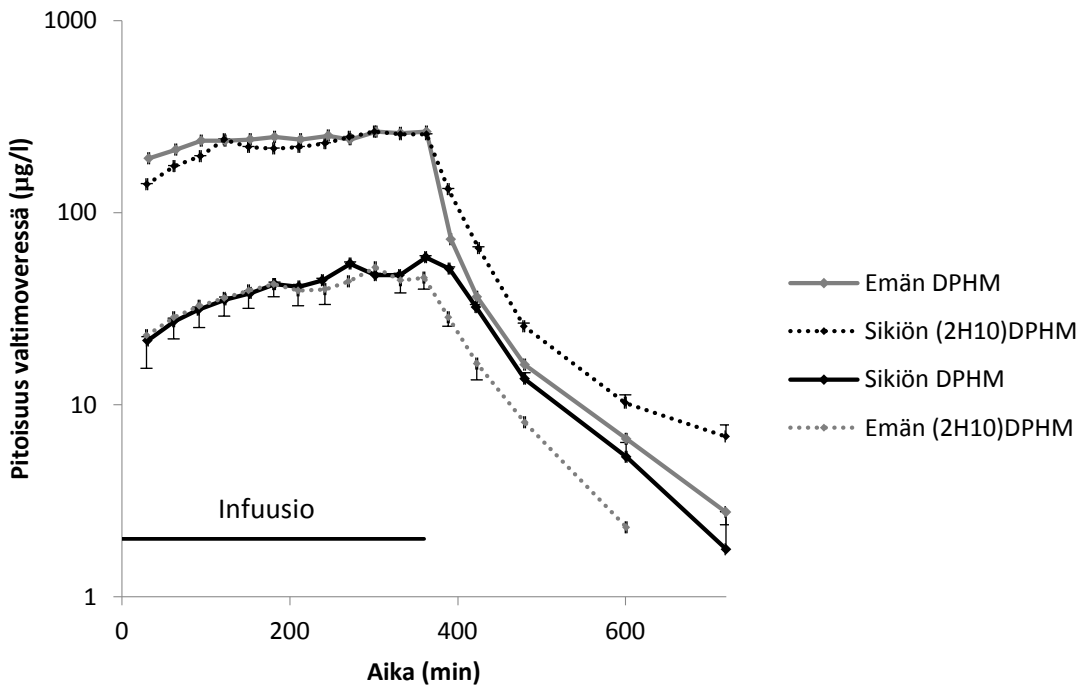
PBPK-mallin kehittäminen voidaan jakaa neljään eri vaiheeseen (Espie ym. 2009). Ensimmäisenä määritetään kudostilat, jotka malliin halutaan sisällyttää, ja kuvataan aineen siirtyminen näissä tiloissa differentiaaliyhtälöiden avulla. Seuraavaksi malliin lisätään fysiologisia, fysikokemiallisia ja biologisia parametreja, joita tarvitaan mallin yhtälöiden ratkaisemiseen. Tämän jälkeen malli simuloidaan, jolloin käytetty laskentaohjelmisto ratkaisee differentiaaliyhtälöt numeerisesti integrointialgoritmien avulla ja näin voidaan ennustaa lääkeaineen käyttäytymistä elimistössä. Viimeisessä vaiheessa malli validoidaan *in vivo* -datan avulla vertaamalla simulaatioiden tuloksia havaittuihin pitoisuuksiin ja herkkyysanalyysin avulla tutkitaan, mitkä tekijät vaikuttavat merkittävimmin simulaatioiden tuloksiin.

2.1 Erikoistyössä käytetty *in vivo* -data

In vivo -data saatiin Kumarin ym. (1997) julkaisusta, jonka tietojen avulla sovitettiin mallissa käytetyt puhdistumat ja jakautumistilavuudet. Kumarin julkaisussa on kuvattu koe samanaikaisista difenhydramiiniannosteluista emän ja sikiön verenkiertoon. Kokeessa leimaamatonta difenhydramiinia annosteltiin emän laskimoon ja deuteriumilla leimattua sikiön laskimoon. Verinäytteitä otettiin infuusion aikana ja jälkeen sekä emän että sikiön puolelta ja näytteistä määritettiin leimaamattoman ja leimatun difenhydramiinin pitoisuudet. Kumarin ym. julkaisussa on esitetty difenhydramiinipitoisuudet emän ja sikiön valtimoveressä ja näitä pitoisuuksia käytettiin erikoistyön *in vivo* -datana (Kuva 4). Julkaisun tulokset mahdollistavat emän ja sikiön puolelle annosteltujen lääkeaineiden kinetiikan tarkastelun erikseen.

2.2 Mallin rakentaminen

Mallin pohjana käytettiin Pousin (2013) rakentamaa raskaudenaikaista PBPK-mallia ihmiselle, joka on rakennettu Gaohua ym. (2012) julkaiseman mallin mukaisesti. Pousin mallissa käytettyjen kudosten painojen ja verenvirtauksien sijasta käytettiin tiineen lampaan kudosten painoja ja verenvirtauksia. Pousin mallissa kuvataan äidin 15 kudostilaa, joista yksi on sikiö–istukka -tila. Tässä erikoistyössä rakennetussa mallissa istukka sen sijaan kuvattiin emän kudostilana, joka yhdistää sikiön verenkierron emän verenkiertoon. Malliin päätettiin sisällyttää vain yksi sikiö. Sikiön kudokset kuvattiin emän kudosten tavoin useana eri kudostilana, jotta mallia voitaisiin edelleen kehittää sikiön kudospitoisuuksien arviointiin. Verrokkidata Kumarin ym. (1997) julkaisuissa on mitattu lampaan loppuraskauden ajalta, joten erikoistyössä rakennettu malli keskittyy myös loppuraskauteen.



Kuva 4: Erikoistyössä käytetty verrokkidata, muokattu Kumar ym. (1997) julkaisusta.

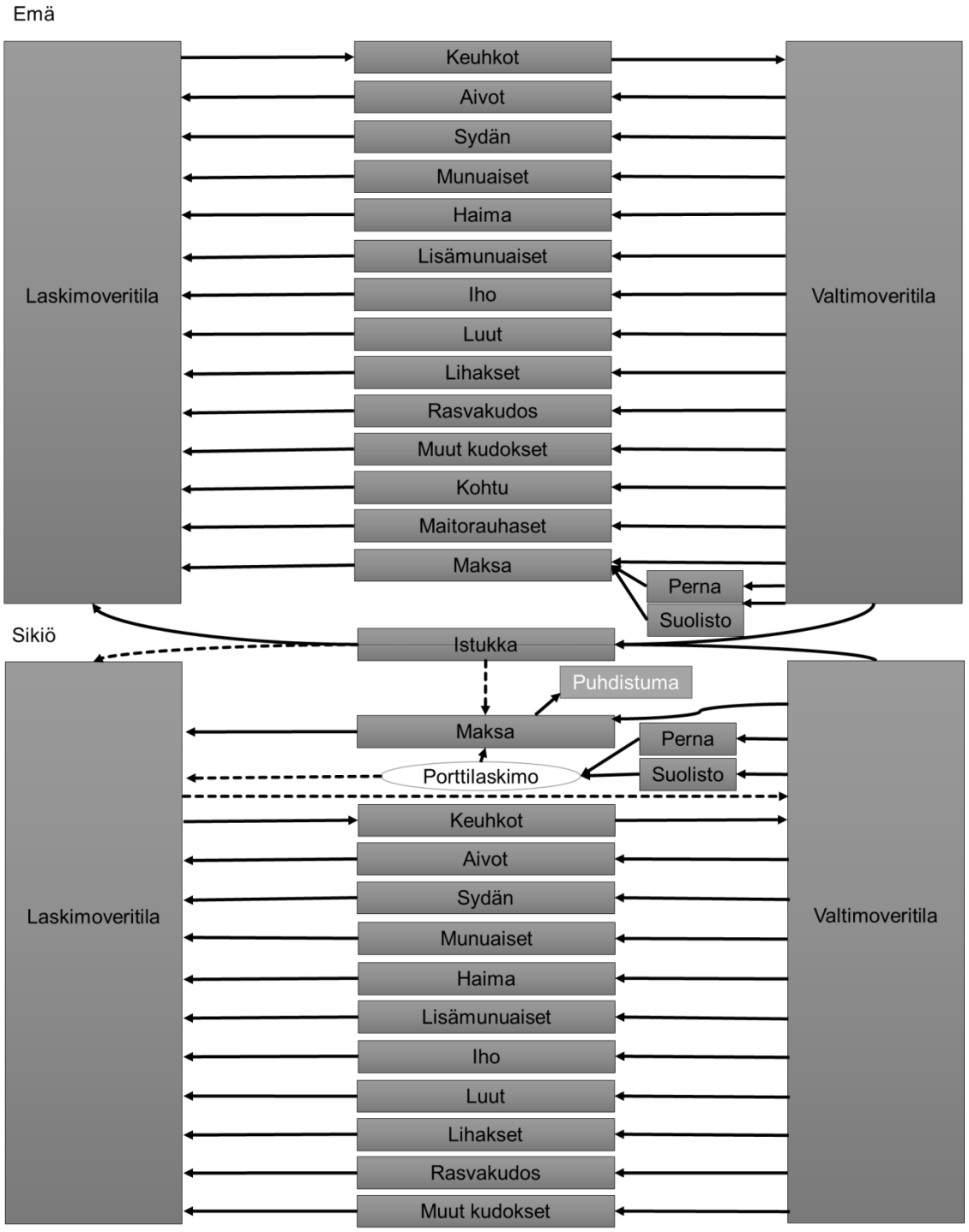
2.2.1 Mallin rakenne

Mallissa kuvataan emän 19 kudosta, joista yksi on istukka. Istukka yhdistää emän kudostilat sikiön 15 kudostilaan (Kuva 5).

2.2.2 Kudosten painot ja verenvirtaukset

Emän ja sikiön kudosten painot ja verenvirtaukset kerättiin useasta eri kirjallisuuslähteestä (Taulukko 4). Kudosten painoja on esitetty useassa julkaisussa ja arvot vaihtelivat riippuen käytetystä rodusta. Mallissa käytetyt arvot valikoitiin julkaisuista, joissa lampaan kokonaispaino oli lähellä tässä erikoistyössä käytettyjä kokonaispainoja, emän paino (sisältäen sikiön painon) 76,9 kg ja sikiön paino 2,61 kg. Sekä emän että sikiön kehon kokonaispainot saatiin Kumar ym. (1999, 2000) julkaisuista. Kudosten painoina ja verenvirtauksina pyrittiin ensisijaisesti käyttämään tiineillä lampailla ja lampaan sikiöillä määritettyjä arvoja, mutta joissain tapauksissa käytettiin tavallisen täysikasvuisen lampaan arvoja. Mikäli tietoja myöskään aikuisen lampaan kudoksista ei ollut saatavilla, käytettiin ihmisen kudosten arvoja. Laskimo- ja valtimoveren painot laskettiin Gaohua ym. (2012) julkaisun mukaisesti: valtimoveren massan oletettiin olevan 1/3 koko veren massasta ja laskimoveren massa 2/3.

Malliin sisällytettiin muut kudokset -kudostila (engl. termi ”carcass”), joka kuvaa kudoksia ja elimiä, joita ei kuvattu mallissa erillisinä tiloina, kuten kilpirauhasta, ylempiä hengitysteitä ja sukupuolielimiä. Muut kudokset -tilan paino laskettiin kehon kokonaispainon ja eri kudosten painojen erotuksena. Verenvirtaus laskettiin sydämen minuuttitilavuuden ja kaikkien kudosten, lukuun ottamatta keuhkoja, verenvirtausten erotuksena.



Kuva 5: Erikoistyössä luodun mallin rakenne. Emän malli rakentuu 19 kudostilasta mukaan lukien istukka. Sikiön malli rakentuu 16 kudostilasta. Sikiön porttilaskimo on selvyyden vuoksi esitetty tässä kuvassa, mutta sitä ei ole kuvattu mallissa omana kudostilanaan. Katkoviivalla on merkitty sikiön verenvirtaukset, jotka poikkeavat aikuisen yksilön verenvirtauksista. Osa istukan verestä (n. 50 %) virtaa suoraan sikiön laskimoveritilaan (ductus venosus -virtaus), kun taas osa päätyy maksaan. Myös pieni osa sikiön porttilaskimon verestä (n. 9 %) väistää maksan ja virtaa suoraan laskimoveritilaan. Suurin osa sikiön laskimoverestä ohittaa keuhkoverenkierron valtimotiehyttä pitkin.

Taulukko 4: Mallissa käytetyt kudosten painot ja verenvirtaukset.

Kudos	Paino (kg) Emä		Sikiö		(% kehon painosta) Emä	Sikiö	Verenvirtaus (l/h) Emä		Sikiö		(% sydämen minuuttitilavuudesta) Emä		Sikiö	
veri	4.29	d	0.19	2, e	5.58	7.22								
valtimoveri	1.43		0.06		1.86	2.41								
laskimoveri	2.86		0.13		3.72	4.81								
keuhkot	1.37	c	0.08	5, a	1.78	3.21			5.61				6.80	j
aivot	0.46	k	0.05	5, a	0.59	2.05	10.53		2.15		1.60	k	2.60	l
sydän	0.31	c	0.02	5, a	0.40	0.77	10.53		0.17		1.60	k	0.20	j
munuaiset	0.28	c	0.03	5, a	0.36	1.15	63.82		0.33		9.70	k	0.40	j
maksa	1.35	d	0.07	5, a	1.75	2.80	244.74		19.73		37.20		4.50	m
maksa (valtimoveri)											0.10	k	2.30	9
perna	0.26	d	0.002	5, a	0.34	0.16	13.16		0.08		2.00	k	0.10	j
suolisto	4.75	8	0.14	5, a	6.18	5.18	230.93		1.73		35.10	8	2.10	j
ohutsuoli	1.26	1, o			1.64						13.80	1, o		
paksusuoli	1.11	1, o			1.45						6.10	1, o		
maha	2.38	1, o			3.09						15.20	1, o		
haima	0.14	d	0.00	5, i	0.18	0.08	15.13		1.16		2.30	k	1.40	1, k
lisämunuaiset	0.01	c	0.00	5, a	0.02	0.04	0.66		0.17		0.10	k	0.20	j
iho	4.64	1, o	0.13	6, g	6.03	5.00	11.18		1.73		1.70	k	2.10	j
luu	3.90	c	0.28	6, g	5.07	10.57	32.90		4.13		5.00	3, f	5.00	3, f
lihas	12.47	1, o	0.60	6, g	16.22	22.86	34.21		1.65		5.20	k	2.00	1, k
rasvakudos	25.84	3, g	0.69	6, g	33.60	26.57	60.53		0.17		9.20	k	0.20	7, n
muut kudokset	5.96		0.32		7.75	12.36	56.58		32.76		8.60	k	41.70	
kohtu	5.73	k			7.46		18.42				2.80	k		
maitorauhaset	1.20	c			1.56		13.82				2.10	k		
istukka	0.34	a			0.44		84.87		34.42		12.90	k	39.70	l
sikiö	2.61	h			3.39									
lapsivesi	0.99	2, b			1.29									
yhteensä	76.90	h	2.61	h	100.00	100.00	657.91	4, k	82.53	4, l	100.00		100.00	

1 Arvo tavallisesta täysikasvuisesta lampaasta
2 Laskettu tilavuuden perusteella olettaen, että tiheys on 1,000 kg/l
3 Käytetty aikuisen ihmisen kudoksen painoa/verenvirtausta
4 Sydämen minuuttitilavuus (l/h)
5 Suhteutettu sikiön painoon
6 Käytetty ihmissikiön kudoksen painoa, suhteutettu sikiön painoon
7 Käytetty ihmissikiön verenvirtausta
8 Laskettu ohutsuolen, paksusuolen ja mahan painojen/verenvirtausten summana
9 Laskettu maksan, pernan ja suoliston verenvirtausten erotuksena
10 Maksan kokonaisvirtaus sis. suoliston ja pernan verenvirtaukset

Lähteet: a) Bazer ym. (2012), b) Brace ym. (2011), c) Carey Satterfield ym. (2012), d) Caton ym. (2009), e) Creasy ym. (1970), f) Gaohua ym. (2012), g) ICRP (2002), h) Kumar ym. (1999, 2000), i) Redmer ym. (2009) j) Rosenberg ym. (1984), k) Rosenfeld ym. (1977), l) Rudolph ym. (1970) m) Rudolph ym. (1991), n) Sweeney ym. (2009) o) Upton ym. (2008)

2.2.3. Mallin differentiaaliyhtälöt

Lääkeaineen jakautuminen kudoksissa voi olla perfuusion, diffuusion tai aktiivisen kuljetuksen rajoittamaa (Clewell ja Clewell 2008). Perfuusiorajoitteisessa PBPK-mallissa oletetaan, että lääkeaineen jakautumisnopeutta kudoksissa rajoittaa kudoksen verenvirtaus. Lisäksi kudoksen sisällä ei synny konsentraatioeroja ja kudospitoisuus on tasapainotilassa kudoksesta lähtevän laskimoveren pitoisuuden kanssa (hyvin sekoittunut malli, engl. termi ”well-stirred”) (Clewell ja Clewell 2008, Espie ym. 2009). Useimmissa kudoksissa tämän oletuksen voidaan ajatella kuvaavan lääkeaineen jakautumista, mutta joidenkin lääkeaineiden ja kudosten kohdalla lääkeaineen jakautumisnopeutta kudoksissa rajoittaa muu tekijä, kuten diffuusio. Tällöin lääkeaineen kulkeutumista kudokseen rajoittaa veren ja kudoksen välisen membraanin permeabiliteetti (Clewell ja Clewell 2008, Espie ym. 2009). Tällöin kudos voidaan jakaa kahteen tai kolmeen well-stirred-osatilaan, joiden välillä lääkeaineen siirtymistä rajoittaa permeabiliteetti (Espie ym. 2009). Diffuusion rajoittamia malleja on käytetty muun muassa ihon, istukan, maitorauhasten, aivojen ja rasvakudosten PBPK-mallinnukseen (Clewell ja Clewell 2008). Erikoistyössä lääkeaineen kudosjakautumisen oletettiin olevan lähtökohtaisesti perfuusion rajoittamaa, tosin istukan mallinnuksessa kokeiltiin myös diffuusion rajoittamaa mallia.

PBPK-malleissa aineen siirtymistä kudostiloissa kuvataan differentiaaliyhtälöillä, jotka perustuvat massatasapainoon (Espie ym. 2009). Differentiaaliyhtälö voidaan kuvata sanallisessa muodossa seuraavasti:

Aineen määrän muutos kudoksessa = kudokseen tulevan aineen määrä – kudoksesta poistuvan aineen määrä – kudoksesta eliminoituvan aineen määrä

Yhtälö 1

Suurin osa PBPK-mallin kudoksista kuvattiin yksinkertaisella differentiaaliyhtälöllä. Lääkeaineen määrän muutosnopeus kudoksissa kuvattiin seuraavasti:

$$d/dt(A_T) = Q_T(C_a - C_vT)$$

Yhtälö 2

jossa d/dt(A_T) on lääkeaineen määrän muutosnopeus, Q_T on kudoksen T verenvirtaus, C_a on lääkeainepitoisuus valtimoveressä ja C_vT on kudoksesta T lähtevän laskimoveren lääkeainepitoisuus.

Kudoksen tilavuus määriteltiin seuraavasti:

$$V_T = \frac{W_T}{Den_T}$$

Yhtälö 3

jossa V_T on kudoksen tilavuus, W_T on kudoksen paino ja Den_T on kudoksen tiheys. Kaikkien kudosten tiheyden oletettiin olevan 1,000 kg/L.

Kudoksen lääkeainepitoisuus määriteltiin seuraavasti:

$$C_T = \frac{A_T}{V_T}$$

Yhtälö 4

jossa C_T on kudoksen T lääkeainepitoisuus, A_T on kudoksessa olevan lääkeaineen määrä ja V_T on kudoksen tilavuus.

Hyvin sekoittuneessa mallissa kudoksen lääkeainepitoisuus on tasapainotilassa kudoksesta lähtevän laskimoveren lääkeainepitoisuuden kanssa (Espie ym. 2009).

Tämän oletuksen perusteella määritettiin kudoksesta lähtevän laskimoveren pitoisuus seuraavasti:

$$C_vT = \frac{C_T}{P_Tb}$$

Yhtälö 5

jossa C_vT kudoksesta lähtevän laskimoveren lääkeainepitoisuus, C_T on kudospitoisuus ja P_Tb on kudos-veri-jakautumiskerroin.

Kudos-veri- jakautumiskerroin (P_Tb) laskettiin seuraavalla yhtälöllä:

$$P_Tb = \frac{P_Tp}{BPRatio}$$

Yhtälö 6

jossa P_Tp on kudos-plasma-jakautumiskerroin ja BPRatio on veri-plasma-suhde.

Kudosten verenvirtaukset (l/h) määritettiin seuraavasti:

$$Q_T = CO \cdot QF_T$$

Yhtälö 7

jossa Q_T on kudoksen verenvirtaus, CO on sydämen minuuttitilavuus ja QF_T on kudoksen verenvirtaus suhteutettuna minuuttitilavuuteen.

Emän ja sikiön keuhkojen, laskimo- ja valtimoveritilan, maksan sekä istukan matemaattinen kuvaaminen kuitenkin poikkeaa muiden kudosten kuvaamisesta, eikä näitä kudoksia voida kuvata suoraan tässä kappaleessa esitetyillä perusyhtälöillä.

Edellä mainittujen kudosten matemaattinen kuvaaminen on esitelty tarkemmin seuraavissa kappaleissa.

2.2.2.1 Emän keuhkojen, valtimo- ja laskimoveritilan sekä maksan kuvaaminen

Emän valtimo- ja laskimoveri, keuhkot ja maksa kuvattiin eri tavalla kuin muut kudokset. Muista kudoksista poiketen emän keuhkoihin virtaa verta laskimoveritilasta ja keuhkoista poistuva veri virtaa valtimoveritilaan. Keuhkojen läpi myös virtaa täysikasvuisella lampaalla koko sydämen minuuttitilavuus. Näin ollen keuhkojen differentiaaliyhtälö kirjoitettiin seuraavasti:

$$\mathrm{d/dt(A_Lu)} = \mathrm{CO(C_v} - \mathrm{C_vLu)}$$

Yhtälö 8

jossa A_Lu on keuhkokudoksessa olevan lääkeainemäärä, CO on sydämen minuuttitilavuus, C_v on lääkeainepitoisuus laskimoveressä ja C_vLu lääkeainepitoisuus keuhkoista lähtevässä laskimoveressä.

Keuhkoista veri virtaa valtimoverenkiertoon, joka edelleen jakautuu mallin kudoksiin, ja valtimoveritilan läpi virtaa koko sydämen minuuttitilavuus. Näin ollen valtimoveritila kuvattiin seuraavalla yhtälöllä:

$$\mathrm{d/dt(A_a)} = \mathrm{CO(C_vLu} - \mathrm{C_a)}$$

Yhtälö 9

jossa A_a on lääkkeen määrä valtimoveressä, CO on sydämen minuuttitilavuus, C_vLu on keuhkoista tulevan valtimoveren lääkeainepitoisuus ja C_a on valtimoveren lääkeainepitoisuus.

Emän laskimoveritilaan tulee virtaus kaikista mallin kudoksista ja laskimoveritilasta veri virtaa edelleen keuhkoihin. Laskimoveritilan läpi virtaa koko sydämen minuuttitilavuus ja näin ollen laskimoveritila voidaan kuvata yhtälöllä 10.

$$\frac{d}{dt(A_v)} = \mathrm{BolusRate} + \mathrm{InfRate} + \sum(\mathrm{Q_T} \cdot \mathrm{C_vT}) - \mathrm{CO} \cdot \mathrm{C_v}$$

Yhtälö 10

jossa A_v on laskimoveren lääkeainemäärä, BolusRate on bolusannostelunopeus, InfRate on lääkeaineen infuusionopeus, Q_T on kudoksen T verenvirtaus, C_vT on kudoksesta tulevan laskimoveren lääkeainepitoisuus, CO on sydämen minuuttitilavuus ja C_v on laskimoveren lääkeainepitoisuus.

Emän maksaan tuleva verenvirtaus koostuu maksaan virtaavasta valtimoverestä sekä suoliston ja pernan kautta virtaavasta laskimoverestä. Maksaan tulevan valtimoveren virtaus laskettiin vähentämällä maksan kokonaisvirtauksesta suoliston ja pernan verenvirtaukset. Kuten muutkin kudokset, myös maksa kuvattiin hyvin sekoittuneella mallilla, jolloin lääkeaineen vapaa pitoisuus maksasta lähtevässä laskimoveressä on sama kuin vapaa konsentraatio maksassa. Tällöin

$$\mathrm{d/dt(A_metab)} = \mathrm{CLu_intH} \cdot \mathrm{fu_b} \cdot \mathrm{C_vLiv}$$

Yhtälö 11

jossa A_metab on metaboloituneen lääkeaineen määrä, CLu_intH on vapaan lääkeaineen ominaispuhdistuma, fu_b on lääkeaineen vapaa fraktio veressä ja C_vLiv on lääkeainepitoisuus maksasta lähtevässä laskimoveressä.

Emän maksan lääkeainemäärän muutosnopeus voidaan kuvata sanallisesti

Lääkeainemäärä maksassa = maksavaltimo tuoma ainemäärä valtimoveritilasta + pernasta tuleva ainemäärä + suolistosta tuleva ainemäärä – maksasta pois virtaava ainemäärä - maksassa metaboloituva ainemäärä

ja yhtälöllä

$$\mathrm{d/dt(A_Liv)} = (\mathrm{Q_Liv} - \mathrm{Q_Spl} - \mathrm{Q_Gut}) \cdot \mathrm{C_a} + \mathrm{Q_Spl} \cdot \mathrm{C_vSpl} + \mathrm{Q_Gut} \cdot \mathrm{C_vGut} - \mathrm{Q_Liv} \cdot \mathrm{C_vLiv} - \mathrm{CLu_intH} \cdot \mathrm{fu_b} \cdot \mathrm{C_vLiv}$$

Yhtälö 12

jossa A_Liv on lääkeainemäärä maksakudoksessa, Q_Liv on maksan kokonaisverenvirtaus, Q_Spl on pernan verenvirtaus, Q_Gut on suoliston verenvirtaus, C_a on valtimoveren lääkeainepitoisuus, C_vSpl on pernasta poistuvan laskimoveren lääkeainepitoisuus, C_vGut on suolistosta poistuvan laskimoveren lääkeainepitoisuus ja C_vLiv on maksasta poistuvan laskimoveren lääkeainepitoisuus.

2.2.2.2 Istukan kuvaaminen

Rakennetussa mallissa istukka kuvattiin kolmella eri tavalla (Kuva 6). Ensimmäisessä tavassa oletuksena on, että lääkeaine läpäisee istukan nopeasti. Istukka koostuu yhdestä tilasta, jonka kautta emän ja sikiön veri virtaa. Toisessa tavassa istukka koostuu kahdesta tilasta, joiden välissä on permeaatiopuhdistuma. Permeaatiopuhdistuma on kumpaankin suuntaan yhtä suuri. Kolmannessa tavassa istukka koostuu kahdesta tilasta ja tilojen välissä oleva permeaatiopuhdistuma on eri suuntiin erisuuruinen. Kahdessa viimeisessä istukkamallissa istukka rajoittaa lääkeaineen siirtymistä istukan emänpuoleiseen ja sikiönpuoleisen osan välillä.

Istukka kuvattiin yhtenä tilana, jonka läpi lääkeaine liikkuu vapaasti emän ja sikiön välillä (Kuva 6, A). Istukassa oleva lääkeainemäärä A_Pla ajan funktiona voidaan määritellä seuraavasti:

$$\mathrm{d/dt(A_Pla)} = \mathrm{MQ_Pla} \cdot (\mathrm{MC_a} - \mathrm{MC_vPla}) + \mathrm{FQ_Pla} \cdot (\mathrm{FC_a} - \mathrm{FC_vPla})$$

Yhtälö 13

jossa MQ_Pla on istukan emänpuoleinen verenvirtaus, MC_a on lääkeainepitoisuus emän valtimoveressä, MC_vPla on lääkeainepitoisuus istukasta lähtevässä emän laskimoveressä, FQ_Pla on istukan sikiönpuoleinen verenvirtaus, FC_a on lääkeainepitoisuus sikiön valtimoveressä ja FC_vPla on lääkeainepitoisuus istukasta lähtevässä sikiön valtimoveressä.

Istukan tilavuus määriteltiin yhtälöllä 3. Istukan lääkeainepitoisuus määritettiin yhtälöllä 4.

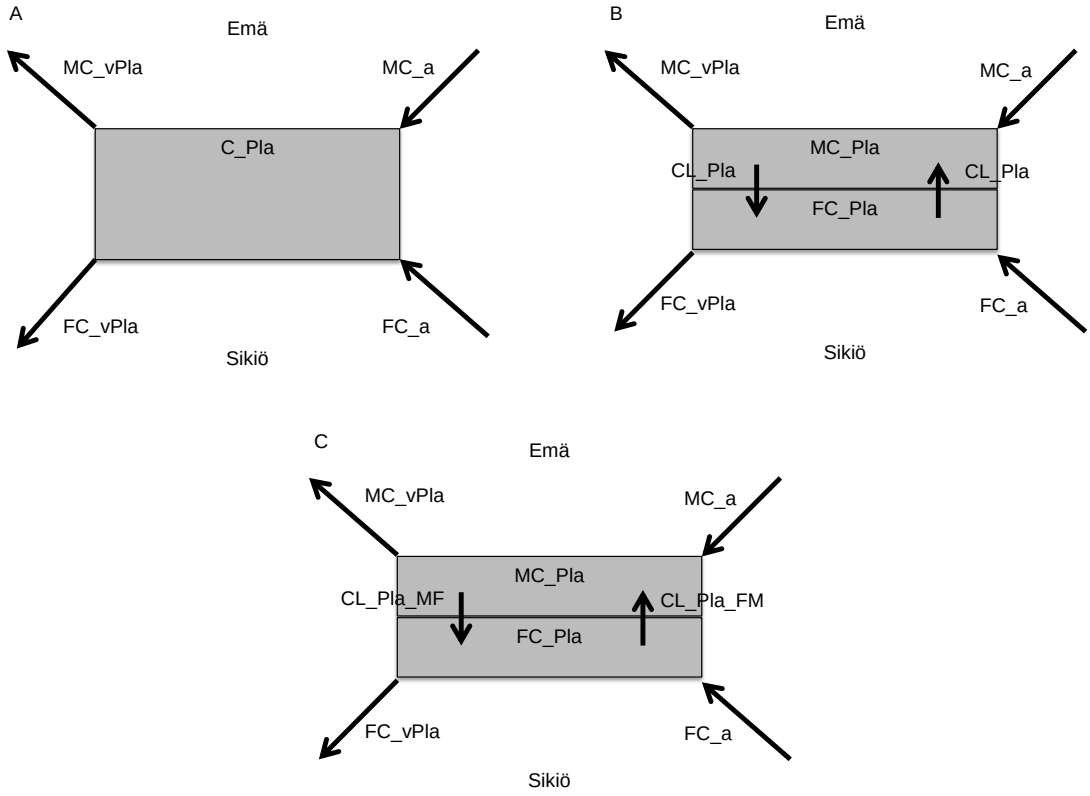
Istukasta lähtevän laskimoveren lääkeainepitoisuus C_vPla määritettiin seuraavasti:

$$\mathrm{C_vPla} = \frac{\mathrm{C_pla}}{\mathrm{P_Plab}}$$

Yhtälö 14

jossa C_Pla on istukan lääkeainepitoisuus ja P_Plab on istukka-veri-jakautumiskerroin.

Verenvirtausnopeus istukkaan määriteltiin yhtälöllä 7.



Kuva 6: Istukan kuvaaminen mallissa. A) Lääkeaine läpäisee istukan perfuusiorajoitteisesti ja istukka koostuu yhdestä tilasta. B) Lääkeaine istukanläpäisyyn vaikuttaa permeaatiopuhdistuma istukan kahden eri osatilan välillä. Permeaatiopuhdistuma on yhtä suuri molempiin suuntiin. C) Lääkeaine istukanläpäisyyn vaikuttaa permeaatiopuhdistuma istukan kahden eri osatilan välillä. Permeaatiopuhdistumat eri suuntiin ovat erisuuret.

MC_a ja FC_a pitoisuudet emän ja sikiön valtimoveressä; MC_vPla ja FC_vPla pitoisuudet istukasta lähtevässä laskimoveressä; C_Pla, MC_Pla ja FC_Pla pitoisuudet istukan emän- ja sikiönpuoleisissa osissa; CL_Pla, CL_Pla_MF ja CL_Pla_FM istukan osien väliset permeaatiopuhdistumat

Mallin simuloinnissa käytettiin myös kahdesta tilasta koostuvaa istukkaa. Emänpuoleisen tilan ja sikiönpuoleisen tilan välille määritettiin permeaatiopuhdistuma CL_Pla, joka rajoittaa lääkeaineen siirtymisnopeutta eri puolien välillä. Aluksi permeaatiopuhdistuman oletettiin olevan yhtä suuri lääkeaineen virtaukselle emästä sikiöön ja sikiöstä emään (Kuva 6, B). Lääkeaineen virtaus istukan emänpuoleisesta osasta sikiönpuoleiseen (J_Pla) määriteltiin seuraavasti:

$$\mathrm{J_Pla} = \mathrm{CL_Pla} \cdot \left(\frac{\mathrm{MC_Pla}}{Kpu_Pla} - \frac{\mathrm{FC_Pla}}{Kpu_Pla}\right)$$

Yhtälö 15

jossa MC_Pla ja FC_Pla ovat istukan eri osien lääkeainepitoisuuksia ja Kpu_Pla on kudospitoisuuden ja vapaan lääkeaineen plasmapitoisuuden suhde. Mikäli J_Pla on positiivinen, lääkeaine virtaa emänpuoleisesta osasta sikiönpuoleiseen osaan. J_Pla:n ollessa negatiivinen lääkeaine virtaa sikiönpuoleisesta osasta emänpuoleiseen osaan.

Mallissa kokeiltiin myös erisuuria permeaatiopuhdistumia emästä sikiöön ja sikiöstä emään päin liikkuvan lääkeaineen virtauksille eli määriteltiin erikseen CL_Pla_MF ja CL_Pla_FM (Kuva 6, C). Tällöin yhtälö 15 muuttuu muotoon

$$\mathrm{J_Pla} = \mathrm{CL_Pla_MF} \cdot \frac{\mathrm{MC_Pla}}{Kpu_Pla} - \mathrm{CL_Pla_FM} \cdot \frac{\mathrm{FC_Pla}}{Kpu_Pla}$$

Yhtälö 16

Istukan emänpuoleisessa tilassa oleva lääkeainemäärä (MA_Pla) ja sikiönpuoleisessa tilassa oleva lääkeainemäärä (FA_Pla) ajan funktiona ovat

$$\mathrm{d/dt(MA_Pla)} = \mathrm{MQ_Pla} \cdot (\mathrm{MC_a} - \mathrm{MC_vPla}) - \mathrm{J_Pla}$$

Yhtälö 17

$$\mathrm{d/dt(FA_Pla)} = \mathrm{FQ_Pla} \cdot (\mathrm{FC_a} - \mathrm{FC_vPla}) + \mathrm{J_Pla}$$

Yhtälö 18

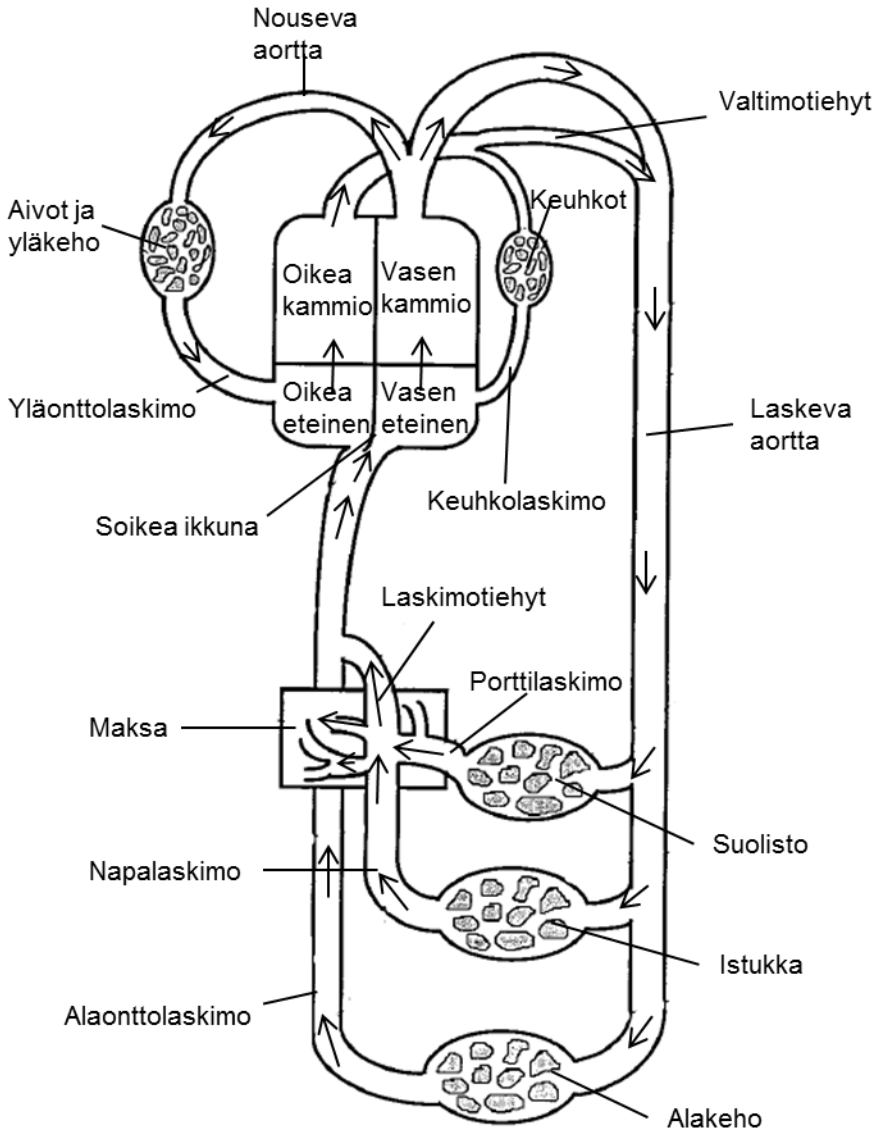
Istukan eri tilojen oletettiin jakavan koko istukan tilavuuden kahteen yhtä suureen osaan. Näin ollen istukan eri tilojen tilavuudet ovat

$$\mathrm{MV_Pla} = \mathrm{FV_Pla} = \frac{\mathrm{MW_Pla}}{\mathrm{Den_Pla}} \cdot ½$$

Yhtälö 19

Istukan eri osien lääkeainepitoisuudet, osista lähtevien laskimovirtaukset ja verenvirtausnopeudet kuvattiin samoin kuin muissakin kudoksissa (ks. luku 2.2.3).

2.2.2.3 Sikiön keuhkojen, valtimo- ja laskimoveritilan sekä maksan kuvaaminen



Kuva 7: Sikiön verenkierron ominaispiirteitä. Sydämen eteisten välinen aukko, soikea ikkuna, ohjaa osan alaonttolaskimosta tulevasta verestä suoraan sydämen vasemmalle puolelle, josta se edelleen virtaa yläkehoon ja laskevaan aorttaan. Sydämen oikealle puolelle virtaava veri voi päätyä sikiön keuhkoihin tai suoraan laskevaan aorttaan valtimotiehyttä pitkin. Sikiön verenkierto poikkeaa aikuisen yksilön verenkierrosta myös siten, että osa porttilaskimon verestä ohittaa maksan laskimotiehyttä pitkin. Samaa laskimotiehyttä pitkin suoraan alaonttolaskimoon virtaa myös osa napalaskimosta tulevasta verestä. Mukaillen Kumar ym. (1997).

Sikiön verenkierto poikkeaa aikuisen yksilön verenkierrosta (Kuva 7). Ductus venosus eli laskimotiehyt ohittaa maksan ja laskee suoraan laskimoveritilaan. Tämä vaikuttaa istukan sekä sikiön maksan, pernan ja suoliston verenvirtauksiin. Myös keuhkojen verenkierto poikkeaa aikuisen yksilön keuhkoverenkierrosta. Sikiön fysiologisten ominaispiirteiden vuoksi sikiön maksa, keuhkot sekä laskimo- ja valtimoveritila kuvattiin muista kudoksista poikkeavalla tavalla.

Veri virtaa sikiöön istukan kautta ja noin 50 % tästä virtauksesta päätyy suoraan sikiön laskimotiehyen kautta laskimoverenkiertoon (Rudolph ja Heymann 1970, Edelstone ym. 1978, Kumar ym. 1997) (Kuva 8). Loput istukan verenvirtauksesta päätyy sikiön maksaan. Laskimotiehyen kautta suoraan sikiön laskimoverenkiertoon virtaa myös pieni osa, noin 9 % porttilaskimon verestä eli suoliston ja pernan verenvirtauksesta (Edelstone ym. 1978). Nämä seikat otettiin huomioon differentiaaliyhtälöissä siten, että malliin määritettiin laskimotiehyen kautta kulkeva osuus istukan verenvirtauksesta QF_dvPla = 0,53 ja verenvirtaus istukasta sikiön maksaan 1 – QF_dvPla. Porttilaskimolle määriteltiin vastaavasti laskimotiehyen kautta kulkeva osuus porttilaskimon verenvirtauksesta QF_dvPv = 0,09 ja verenvirtaus porttilaskimosta maksaan 1-QF_dvPv.

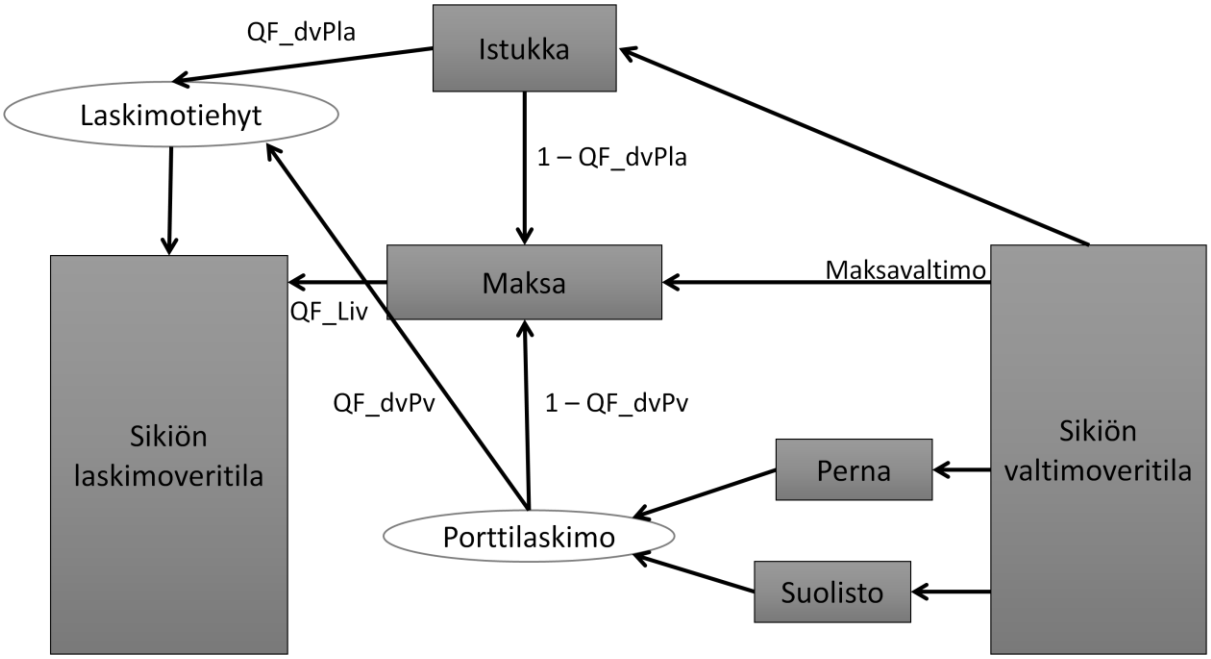
Sikiön laskimoverenkierron lääkeainepitoisuus FA_v kuvattiin yhtälöllä

$$\mathrm{d/dt(FA_v)} = \mathrm{BolusRate} + \mathrm{InfRate} + \mathrm{QF_dvPla} \cdot \mathrm{FQ_Pla} \cdot \mathrm{FC_vPla} + \sum(\mathrm{FQF_T} \cdot \mathrm{FC_T}) + \mathrm{QF_dvPv} \cdot \mathrm{FQ_Spl} \cdot \mathrm{FC_vSpl} + \mathrm{QF_dvPv} \cdot \mathrm{FQ_Gut} \cdot \mathrm{FC_vGut} - \mathrm{FCO} \cdot \mathrm{FC_v}$$

Yhtälö 20

jossa BolusRate ja InfRate ovat annostelunopeuksia, FQ_Pla on istukan verenkierron osuus sikiön koko verenvirtauksesta, FC_vPla on lääkeainepitoisuus istukasta lähtevässä sikiön laskimoveressä, FQF_T on kudosten verenvirtaus, FC_T on kudosten lääkeainepitoisuus, FQ_Spl ja FQ_Gut ovat pernan ja suoliston verenvirtaukset, FC_vSpl ja FC_vGut ovat pernasta ja suolistosta lähtevien

laskimoverien lääkeainepitoisuudet, FCO on sikiön sydämen minuuttitilavuus ja FC_v on sikiön laskimoveren lääkeainepitoisuus.



Kuva 8: Sikiön laskimotiehyt ja maksa. Noin 50 % istukasta tulevasta verestä (QF_dvPla) virtaa laskimotiehyeen ja ohittaa maksaverenkierron. Myös noin 9 % porttilaskimon verenkierrosta (QF_dvPv) virtaa laskimotiehyen kautta sikiön laskimoveritilaan.

Emän fysiologiasta poiketen sikiön maksaan virtaa siis verta myös istukasta ja kaikki porttilaskimon veri ei virtaa maksaan. Täten maksan lääkeainemäärä on istukasta, porttilaskimosta, pernasta ja suolistosta tulevien verenvirtausten mukana saapuvien ainemäärien summa, josta vähennetään maksasta verenvirtauksen mukana poistuva ja metaboloituva lääkeainemäärä. Sikiön maksakudoksen lääkeainemäärän FA_Liv muutos voidaan kuvata seuraavasti:

Ainemäärän muutos maksassa = istukasta tuleva ainemäärä + maksavaltimosta tuleva ainemäärä + pernasta tuleva ainemäärä + suolistosta tuleva ainemäärä – maksasta lähtevä ainemäärä – maksassa metaboloitunut ainemäärä

$$d/dt(FA_Liv) = [(1 - QF_dvPla) \cdot FQ_Pla] \cdot FC_vPla + [FQ_Liv - (1 - QF_dvPv) \cdot FQ_Spl - (1 - QF_dvPv) \cdot FQ_Gut - (1 - QF_dvPla) \cdot FQ_Pla] \cdot FC_a + (1 - QF_dvPv) \cdot FQ_Spl \cdot FC_vSpl + (1 - QF_dvPv) \cdot FQ_Gut \cdot FC_vGut - FQ_Liv \cdot FC_vLiv - FCLu_intH \cdot Ffu_b \cdot C_vLiv$$

Yhtälö 21

Sikiön keuhkot eivät hapeta keuhkojen läpi virtaavaa verta ja sikiö saakin kudosten tarvitseman hapen istukan kautta. Tämän vuoksi sikiön keuhkojen läpi ei virtaa sydämen koko minuuttitilavuutta niin kuin aikuisilla yksilöillä, vaan verenvirtaus keuhkoissa takaa vain keuhkokudoksen hapensaannin. Sikiön keuhkojen lääkeainemäärä FA_Lu määriteltiin seuraavasti:

$$d/dt(FA_Lu) = FQ_Lu \cdot (FC_v - FC_vLu)$$

Yhtälö 22

Suurin osa sikiön laskimoverestä ei kulje keuhkojen kautta niin kuin aikuisilla yksilöillä. Ductus arteriosus eli sikiön valtimotiehyt yhdistää aortan ja keuhkovaltimon toisiinsa, joten vain osa sydämestä pumpattavasta verestä kulkeutuu keuhkoverenkiertoon. Suurin osa verestä virtaa sydämestä aorttaan ja edelleen muihin kudoksiin. Näin ollen sikiön valtimoveren lääkeainemäärä FA_a on keuhkoista ja laskimoverestä tulevien ainemäärien summa, josta vähennetään valtimoveren mukana kudoksiin lähtevä lääkeainemäärä. FA_a kuvattiin yhtälöllä

$$d/dt(FA_a) = FQ_Lu \cdot FC_vLu + FCO \cdot (1 - FQF_Lu) \cdot FC_v - FCO \cdot FC_a$$

Yhtälö 23

2.3 Parametrien määrittäminen

Mallin rakenteen ja kudostilojen määrittämisen sekä aineen siirtymisen matemaattisen kuvaamisen jälkeen määritetään tai estimoidaan fysiologiset ja lääkeaineen parametrit, joita tarvitaan yhtälöiden kuvaamiseen ja ratkaisemiseen (Espie ym. 2009). Parametrit voidaan jaotella systeemiparametreihin, lääkeaineparametreihin ja yhdistelmäparametreihin. Systeemiparametrit, kuten kudosten koot ja verenvirtaukset, ovat ominaisia käytetylle lajille. Lääkeaineen parametrit, kuten fysikokemialliset parametrit, ovat ominaisia lääkeaineelle. Yhdistelmäparametrit, kuten kudosjakautumiskertoimet ja lääkeaineen sitoutuminen plasman proteiineihin, ovat riippuvaisia sekä lääkeaineesta että käytetystä lajista. Tässä erikoistyössä kaikki parametrit ennustettiin tai kerättiin kirjallisuudesta eikä kokeellisia määrityksiä suoritettu työn puitteissa.

2.3.1 Systeemiparametrit

Mallissa käytettyjä systeemiparametreja ovat kudosten painot, kudosten tiheys, verenvirtaukset, sydämen minuuttitilavuudet sekä veren ja plasman koostumukset. Kudosten painojen, tiheyksien, verenvirtausten sekä sydämen minuuttitilavuuden määrittäminen on käsitelty luvussa 2.1.2. Veren ja plasman koostumuksista malliin sisällytettiin hematokriitti (Hct), koska sen avulla saadaan laskettua difenhydramiinin veri-plasma-suhdeluku (BPRatio). Emän hematokriitin arvona käytettiin 28 % (Rumball ym. 2008). Sikiön hematokriitti oli 31 % (Marsh ym. 2002).

2.3.2 Lääkeaineen parametrit

Mallissa käytettiin lääkeaineen logP-arvoa, vapaata osuutta plasmassa (fu) ja veri-plasma-jakautumiskerrointa (BPRatio). Difenhydramiinin logP-arvo on 3,31 (Poulin ja Theil 2009). Vapaat osuudet plasmassa sekä emän että sikiön puolella saatiin Kumarin ryhmän (1999) julkaisussa mitatuista arvoista. Veri-plasma-

jakautumiskertoimet sekä emälle että sikiölle laskettiin Rowlandin ja Tozerin (2011) (s. 704) esittämällä kaavalla

$$\mathrm{BPRatio} = 1 + \mathrm{Hct} \cdot (\mathrm{fu} \cdot \mathrm{KpuBC} - 1)$$

Yhtälö 24

jossa Hct on hematokriitti ja KpuBC on punasoluissa olevan lääkeainepitoisuuden ja plasmassa olevan vapaan lääkeainepitoisuuden suhde ($C_{T(BC)}/Cu_p$) (ks. seuraava kappale).

2.3.3 Yhdistelmäparametrit

Mallissa käytettyjä yhdistelmäparametreja olivat KpuBC, kudosjakautumiskertoimet ja puhdistumat. Ihmisessä määritetty KpuBC (engl. blood cell to plasma water concentration ratio) eli verisoluissa olevan pitoisuuden ja plasmassa olevan vapaan lääkeaineen pitoisuuden suhde, jonka arvo 6,25, saatiin kirjallisuudesta (Poulin ja Theil 2009). Kudosjakautumiskertoimet laskettiin Rodgers ym. (2005) julkaisun tietojen perusteella ja näiden määrittäminen on kuvattu edempänä. Sekä emän että sikiön ominaispuhdistumat vapaalle lääkeaineelle sovitettiin simulaatioiden avulla.

Kudosjakautumiskertoimien määritys perustui Rodgers ym. (2005) julkaisuun. Difenhydramiinin pKa-arvo on 9,1 (Lombardo ym. 2002). Rodgersin ym. (2005) julkaisun luokittelun mukaan difenhydramiini on pKa-arvonsa perusteella vahva emäs, joten sen kudosjakautumista voidaan ennustaa julkaisussa kuvattujen yhtälöiden, rotan kudoskoostumusten ja muusta kirjallisuudesta poimittujen lääkeaineen fysikokemiallisten parametrien avulla. Erikoistyössä päätettiin hyödyntää julkaisun yhtälöitä ja rotan kudoskoostumuksia siksi, että käyttökelpoista tietoa lampaan kudoskoostumuksista tai difenhydramiinin kudosjakautumiskertoimista lampaassa ei löytynyt. Rodgersin julkaisussa ei ole mainittu kaikkien mallissa käytettyjen kudosten koostumuksia, joten lisämunuaisten, muut kudokset -tilan,

kohdun ja maitorauhasten koostumusten oletettiin olevan samanlaiset kuin lihaksessa. Lisäksi istukan kudoskoostumuksen oletettiin olevan sama kuin aivoissa, sillä näitä kudoksia ympäröivät läpäisyesteet ovat fysiologisilta ja biokemiallisilta ominaisuuksiltaan samankaltaiset (Gaohua ym. 2012).

Kpu-arvojen eli kudoksessa olevan lääkeainepitoisuuden ja plasmassa olevan vapaan lääkeainepitoisuuden suhteen laskemiseksi laskettiin ensin KaBC eli lääkeaineen affiniteettivakio verisolujen happamiin fosfolipideihin (Rodgers ym. 2005):

$$KaBC = \left(Kpu_{BC} - \left(\frac{1 + 10^{pKa-pHBC}}{1 + 10^{pKa-pHp}} \cdot fIW, BC \right) - \left(\frac{(P \cdot fNL, BC + (0.3P + 0.7) \cdot fNP, BC)}{1 + 10^{pKa-pHp}} \right) \right) \cdot \left(\frac{1 + 10^{pKa-pHp}}{[AP^-]_{BC} \cdot 10^{pKa-pHBC}} \right)$$

Yhtälö 25

jossa Kpu_{BC} on lääkeaineen affiniteetti punasoluihin, pH_{BC} on punasolujen pH, pHp on plasman pH, $f_{IW,BC}$ on punasolujen solunsisäisen veden pH, $f_{NL,BC}$ on neutraalien lipidien tilavuusosuus punasoluissa, $f_{NP,BC}$ on neutraalien fosfolipidien tilavuusosuus punasoluissa ja $[AP^-]_{BC}$ on happamien fosfolipidien pitoisuus punasoluissa.

Kpu-arvojen eli kudoksessa olevan lääkeainepitoisuuden ja plasmassa olevan vapaan lääkeainepitoisuuden suhteen laskemiseen käytettiin seuraavaa yhtälöä (Rodgers ym. 2005):

$$\mathrm{Kpu} = \mathrm{fEW} + \left(\frac{1 + 10^{\mathrm{pKa-pHIW}}}{1 + 10^{\mathrm{pKa-pHp}}} \cdot \mathrm{fIW} \right) + \left(\frac{\mathrm{KaBC} \cdot [\mathrm{AP-}]\mathrm{T} \cdot 10^{\mathrm{pKa-pHp}})}{1 + 10^{\mathrm{pKa-pHp}}} \right) + \left(\frac{\mathrm{P} \cdot \mathrm{fNL} + ((0{,}3\mathrm{P} + 0{,}7) \cdot \mathrm{fNP})}{1 + 10^{\mathrm{pKa-pHp}}} \right)$$

Yhtälö 26

jossa fEW solunulkoisen nesteen tilavuusosuus kudoksessa, pHIW on solunsisäisen veden pH, pHp on on plasman pH, fIW on solunsisäisen nesteen tilavuusosuus kudoksessa, [AP^-] on happamien fosfolipidien pitoisuus kudoksessa, fNL on neutraalien lipidien tilavuusosuus kudoksessa ja fNP on neutraalien fosfolipidien tilavuusosuus kudoksessa.

Taulukko 5: Mallissa käytetyt Kpu-arvot

Kudos	Kpu-arvo
Keuhkot	70.49
Aivot	8.78
Sydän	41.21
Munuaiset	89.57
Maksa	81.60
Suolisto	44.97
Perna	57.30
Haima	32.51
Lisämunuaiset	28.73 [1]
Iho	26.47
Luu	13.29
Lihas	28.73
Rasvakudos	41.21
Carcass	28.73 [1]
Kohtu	28.73 [1]
Maitorauhaset	28.73 [1]
Istukka	8.78 [2]

[1] Käytetty lihaksen kudoskoostumusta

[2] Käytetty aivojen kudoskoostumusta

Mallissa käytetyt Kpu-arvot on esitetty taulukossa 5. Näistä edelleen laskettiin lääkeaineen kudos-plasma-jakautumiskertoimet (P_Tp) seuraavasti:

$$P_Tp = Kpu \cdot fu$$

Yhtälö 27

Jakautumiskertoimia kuvaaviin yhtälöihin sisällytettiin vakiot Mk ja Fk, joilla voidaan vaikuttaa kudosjakautumiskertoimien arvoihin ja tätä kautta lääkeaineen näennäiseen jakautumistilavuuteen.

$$\mathrm{P_Tp} = \mathrm{Kpu} \cdot \mathrm{fu} \cdot \mathrm{Mk}$$

$$\mathrm{P_Tp} = \mathrm{Kpu} \cdot \mathrm{fu} \cdot \mathrm{Fk}$$

Yhtälö 28

Lääkeaineen kudos-plasma-jakautumiskertoimet (P_Tp) muutettiin kudos-veri-jakautumiskertoimiksi (P_Tb) yhtälöllä 6.

Vapaan lääkeaineen ominaispuhdistumat (CLu_int) estimoitiin. Plasmapuhdistumat (CL_H) laskettiin Rowlandin ja Tozerin (2011, s. 706) esittämällä kaavalla

$$CLH = \frac{QH \cdot fu_p \cdot CLu_int}{QH + fu_p \cdot \frac{CLu_int}{BPRatio}}$$

Yhtälö 29

jossa Q_H on maksan verenvirtaus, fu on lääkeaineen vapaa osuus plasmassa ja BPRatio on veri-plasma-jakautumiskerroin.

3 Simulointi mallilla

Erikoistyössä luodun mallin rakentamiseen ja simuloimiseen käytettiin Berkeley Madonna-ohjelmaa (versio 8.13.18, R. Macey ja G. F. Oster, University of California, Berkeley, California). Yhtälöiden ratkaisemiseen käytettiin Rosenbrock stiff -integraatioalgoritmia. Mallin koodi on kokonaisuudessaan esitetty liitteessä 1. Ennen simulaatioiden aloittamista Kumar ym. (1997) artikkelissa esitetystä plasmapitoisuuskuvaajasta poimittiin datapisteet DigitizeIt -ohjelmistolla (versio 1.5.86, Bormann I, Braunschweig, Saksa). Pitoisuusarvoista otettiin kymmenkantaiset logaritmit, jotta korkeat ja alhaiset pitoisuusarvot saavat sovituksessa yhtä suuren painotuksen.

Lääkeaineen annostelu toteutettiin Kumar ym. (1997) julkaisun mukaisesti. Emälle annosteltiin 20 mg bolusinjektio yhden minuutin aikana ja boluksen päättymisen jälkeen 670 µg/min infuusio kuuden tunnin ajan. Sikiölle annosteltiin 5,0 mg bolusinjektio yhden minuutin aikana ja tämän jälkeen 170 µg/min infuusio kuuden tunnin ajan. Selvyyden ja yksinkertaisuuden vuoksi annostelu sikiölle määritettiin alkamaan ajanhetkenä 48 tuntia: tällä ajanhetkellä edellisestä annostelusta on kulunut jo niin pitkä aika, että lääkeainepitoisuudet kudostiloissa ovat hyvin lähellä nollaa eivätkä siten aiheuta tuloksiin merkittäviä virheitä. Verrokkidata leimatusta difenhydramiinista muutettiin simulaation kestoa vastaavaksi lisäämällä leimatun aineen annostelun aikapisteisiin 48 tuntia.

3.1 Mallin testaus ja emän mallin simulointi

Aluksi mallin toimivuutta testattiin simuloimalla ainoastaan emän difenhydramiinialtistus mallilla, jossa oli määritetty vain emän kudokset ja istukka yhtenä kudostilana. Kudosten kokonaisverenvirtausta verrattiin sydämen minuuttitilavuuteen ja näin varmistettiin, että kokonaisverenvirtaus on yhtä suuri kuin minuuttitilavuus. Myös kudoksissa olevaa lääkeainemäärän, emän laskimotilaan

annosteltavan lääkeainemäärän ja metaboloituneen ainemäärän summaa verrattiin lääkeannokseen, jolloin voitiin varmistaa, ettei mallista häviä lääkeainetta.

Emän puolen malli todettiin toimivaksi ja simuloidut emän laskimotilan logaritmiset plasmapitoisuudet sovitettiin curve fit -toiminnolla Kumar ym. (1997) julkaisun logaritmisiin plasmakuvaajiin. Estimoitavaksi muuttujaksi valittiin emän vapaan lääkeaineen ominaispuhdistuma maksassa MCLu_intH. Kuvaajasta havaittiin, että simuloidut pitoisuudet vastaavat hyvin havaittuja pitoisuuksia infuusion aikana, mutta eivät sen jälkeen. Tästä syystä mallin kudos-plasma-jakautumiskertoimiin lisättiin vakiot Mk ja Fk, jotka estimoimalla simuloitu data saatiin vastaamaan tarkemmin verrokkidataa.

3.2 Koko mallin simulointi

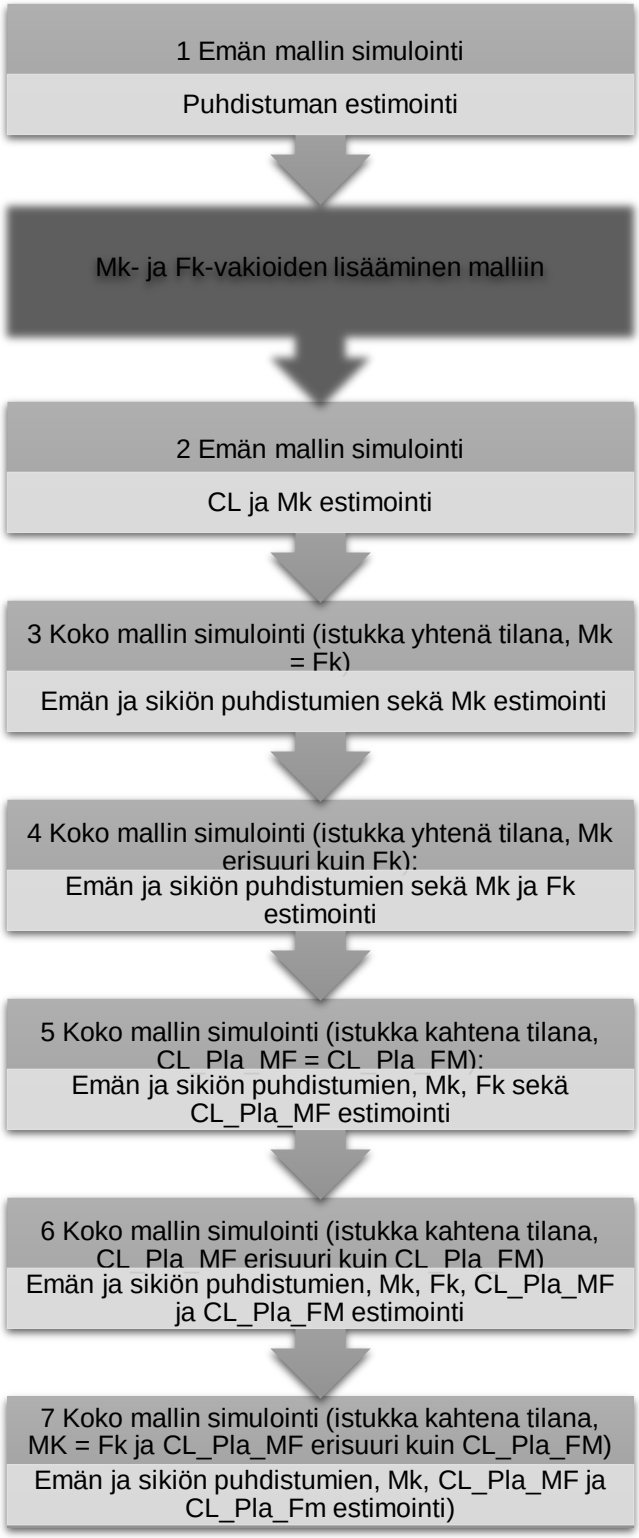
Emän puolen simuloinnin jälkeen difenhydramiinialtistus simuloitiin kokonaisuudessaan emän, istukan ja sikiön mallissa. Koko mallin simuloinnissa käytettiin erilaisia istukkamalleja ja myös estimoitavia parametreja vaihdeltiin työn edetessä simulaatioiden tulosten perusteella (Kuva 9). AUC-arvot määritettiin koko mallin simulaatioissa aikavälille 0-500 tuntia, sillä 500 tunnin jälkeen AUC-arvot eivät enää muuttuneet. Lisäksi AUC-arvot määritettiin aikavälille 0–12 tuntia. Koko mallin simulaatioista määritetyistä AUC-arvoista laskettiin suhteellinen virhe alla olevalla yhtälöllä (Yhtälö 30), joka valittiin siksi, että se helpottaa negatiivisten ja positiivisten virheiden keskinäistä vertailua.

$$Suhteellinen\ virhe = -\frac{obs}{pred}, obs > pred$$

$$Suhteellinen\ virhe = \frac{obs}{pred}, pred > obs$$

Yhtälö 30

jossa obs on havaittu arvo, pred simuloitu arvo.



Kuva 9: Erikoistyön simulaatioiden kulku ja estimoidut parametrit.

3.2.1 Istukka yhtenä tilana

Ensimmäisissä simulaatioissa käytettiin istukkaa, joka koostuu vain yhdestä tilasta ja jonka läpi lääkeaine kulkeutuu sikiöön perfuusiorajoitteisesti. Sikiön kudos-plasma-jakautumiskertointen korjausvakio Fk määritettiin aluksi olevan yhtä suuri kuin emän kudos-plasma-jakautumiskerrointen korjausvakio Mk. Mallin toimivuuden varmistamiseksi verenvirtauksia ja lääkkeen ainemäärän summaa vertailtiin luvussa 3.1 mainituin periaattein. Estimoitavia parametreja olivat sekä emän että sikiön puhdistumat ja vakio Mk. Kuvaajien piirtämistä varten simuloitu data muokattiin alkuperäiseen verrokkidataan sopivaksi vähentämällä sikiön puolelle annostelun ajalta pitoisuuksien aikapisteistä 48 tuntia.

Kolmas simulaatio toteutettiin samoin kuin edellä mainittu, mutta vakio Fk lisättiin estimoitaviin parametreihin. Simulointia päätettiin jatkaa mallilla, jossa istukka on kuvattu yhden tilan sijasta kahtena tilana, joiden välillä on permeaatiopuhdistuma.

3.2.2 Istukka kahtena tilana

Simulaatioita tehtiin myös mallilla, jossa istukka on kuvattu kahtena tilana. Aluksi istukan permeaatiopuhdistuman oletettiin olevan yhtä suuri sekä emästä sikiöön että sikiöstä emään päin. Estimoitavia parametrit tässä simulaatiossa olivat puhdistumat MCLint_H ja FCLint_H, vakiot Mk ja Fk sekä CL_Pla_MF.

Malli simuloitiin myös siten, että permeaatiopuhdistuman emästä sikiöön päin oletettiin olevan erisuuri kuin sikiöstä emään päin. Tässä simulaatiossa estimoitavia parametreja olivat puhdistumat MCLint_H ja FCLint_H, vakiot Mk ja Fk sekä CL_Pla_MF ja CL_Pla_FM. Sama simulaatio toteutettiin myös siten, että Fk-vakion oletettiin olevan yhtä suuri kuin Mk.

4 Akaiken informaatiokriteeri ja herkkyysanalyysi

Suoritetuille koko mallin simulaatioille laskettiin sovitusten jälkeen Akaiken informaatiokriteeri (AIC), jotta eri mallien paremmuutta voitaisiin vertailla keskenään. AIC laskettiin kaavalla (Gabrielsson ja Weiner 2006)

$$AIC = Nobs \cdot \ln(WRSS) + 2 \cdot Npar$$

Yhtälö 31

jossa Nobs on verrokkidatan havaintopisteiden lukumäärä (67), ln(WRSS) on painotettu simulaation ja verrokkidatan plasmapitoisuuksien erotusten neliösumma ja Npar on estimoitavien parametrien lukumäärä simulaatiossa. Mitä pienempi AIC-arvo on, sitä paremmin tarkasteltu malli onnistuu simulaatiossa.

Herkkyysanalyysissa päätettiin tutkia mallia 5, jossa istukka on kuvattu kahtena tilana, Mk on erisuuri kuin Fk ja CL_Pla_MF on yhtä suuri kuin CL_Pla_FM. Tarkasteltavaksi parametriksi valittiin CL_Pla_MF, jonka estimoitu arvo oli 189,5 l/h. Malli simuloitiin CL_Pla_MF:n arvoilla 94,75 l/h (puolet alkuperäisestä) ja 379,0 l/h (kaksinkertainen). Simulaatioissa tarkasteltiin istukan puhdistuman vaikutusta aika-plasmapitoisuus-kuvaajiin sekä AUC-arvoihin (0–12 tuntia).

Lisäksi tutkittiin mallia 4, jossa istukka on kuvattu yhtenä tilana ja Mk on erisuuri kuin Fk. Simulaatioissa tarkasteltiin sitä, kuinka Fk-arvon vaihtelu vaikuttaa aika-plasmapitoisuus-kuvaajiin ja AUC-arvoihin. Fk:n tutkittavina arvoina käytettiin estimoitua arvoa 1,1 sekä 0,55 (puolet alkuperäisestä) ja 2,2 (kaksinkertainen).

5 Tulokset ja tulosten tarkastelu

Aika-pitoisuus-kuvaajissa käytetty yhtenäinen viiva kuvaa simuloituja datapisteitä ja yksittäiset vinoneliöt Kumar ym. (1997) verrokkidatan pisteitä. Emän plasmapitoisuus on kuvattu harmaalla värillä ja sikiön mustalla.

5.1 Emän mallin simulointi

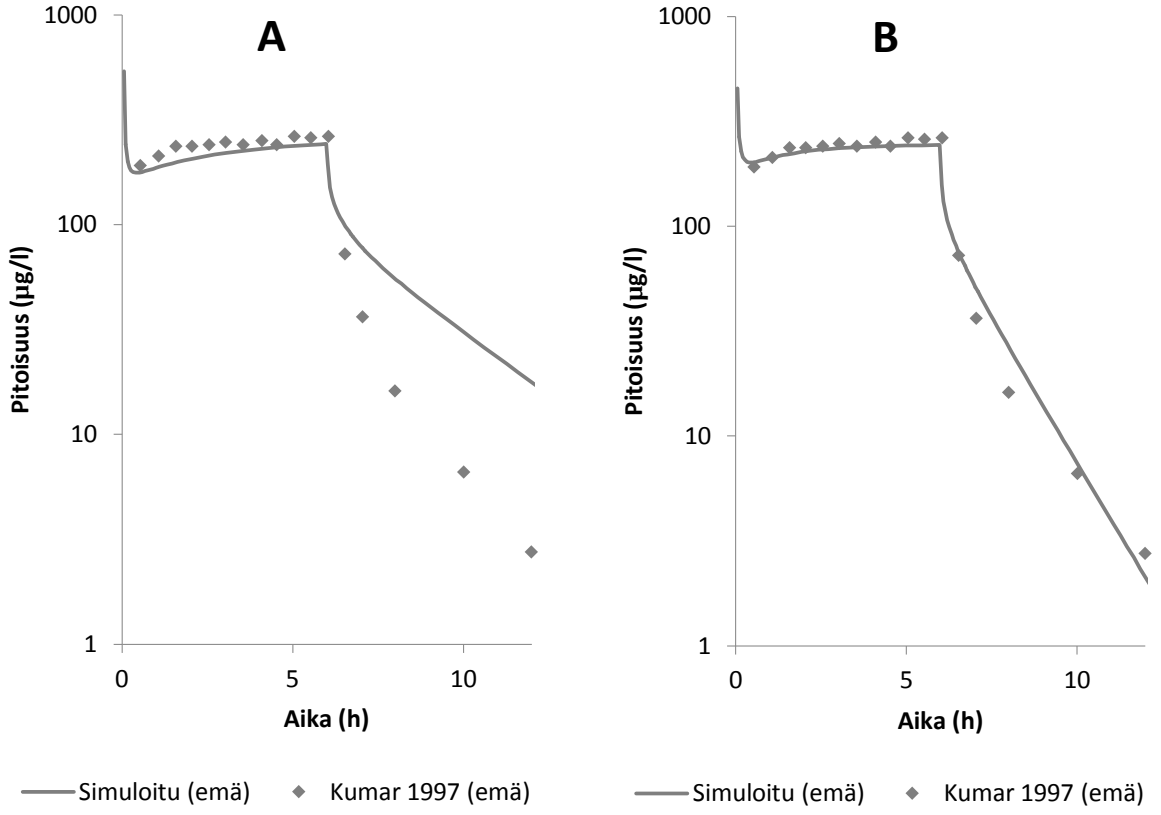
Emän mallin simulaatioiden tuloksista voidaan havaita, että vain ominaispuhdistuma (CLu_intH) estimoimalla simulaation tulos ei ole kovinkaan hyvä ja varsinkin infuusion jälkeen (T = 6 h) simuloidut datapisteet ovat kaukana verrokkidatasta (Kuva 10). Kun mallin kudosjakautumiskertoimiin lisättiin vakio Mk, joka on sama kaikille kudoksille, saatiin simuloitu data vastaamaan paremmin verrokkidataa kaikissa aikapisteissä.

Emän mallin simuloinnin tulosten perusteella myös sikiön kudosjakautumiskertoimiin päätettiin lisätä vakio Fk. Mk- ja Fk-arvot vaikuttavat kudosjakautumiskertoimiin ja niiden kautta yksittäisten kudosten jakautumistilavuuksiin ja näennäiseen jakautumistilavuuteen (Vss):

$$Vss = \sum V_T \cdot Kp_T + Vp$$

Yhtälö 32

jossa V_T on kudoksen tilavuus, Kp_t on kudos-plasma-jakautumiskerroin ja Vp on plasman tilavuus.



Kuva 10: Emän mallin simulointi. A) Estimoitavana parametrina ominaispuhdistuma MCLu_intH B) estimoitavina parametreina MCLu_intH ja kudosjakautumiskertoimien vakio Mk.

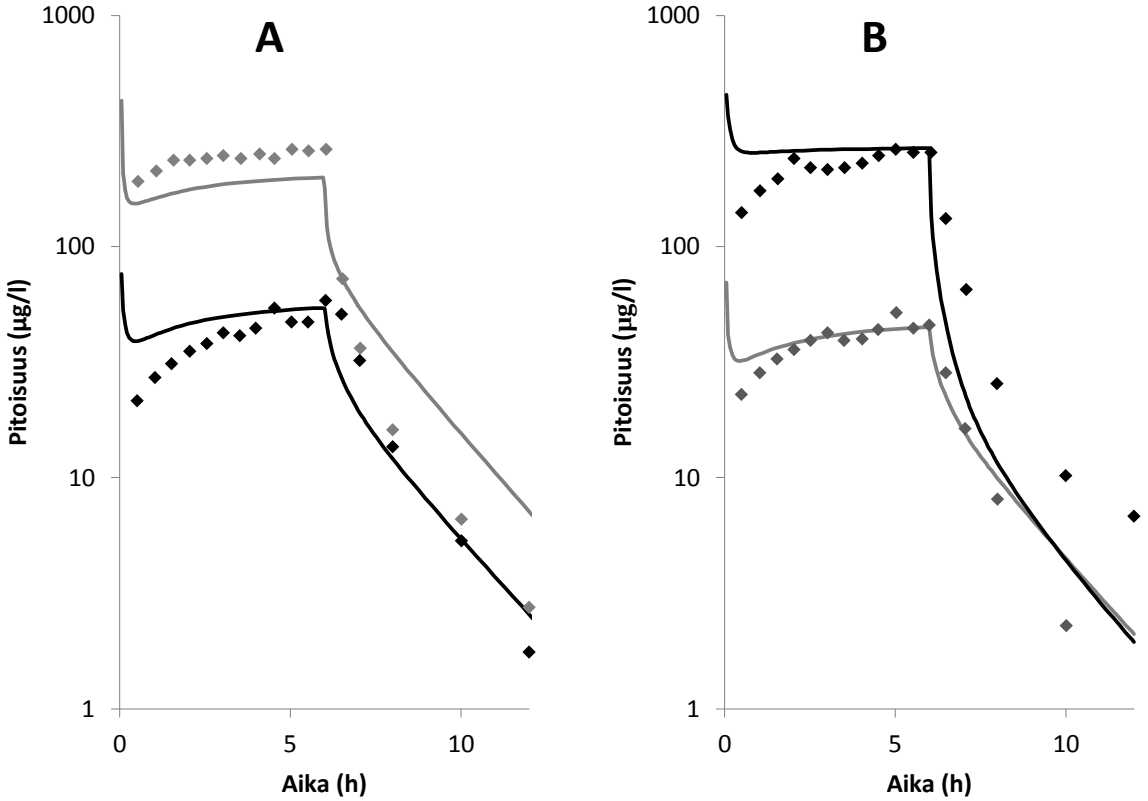
5.2 Koko mallin simulointi

Aika-pitoisuus-kuvaajissa pitoisuudet emän plasmassa on merkitty harmaalla, sikiön mustalla. Neliöt kuvaavat *in vivo*-datan havaintopisteitä ja yhtenäiset viivat kuvaavat simuloituja pitoisuuksia.

5.2.1 Istukka yhtenä tilana

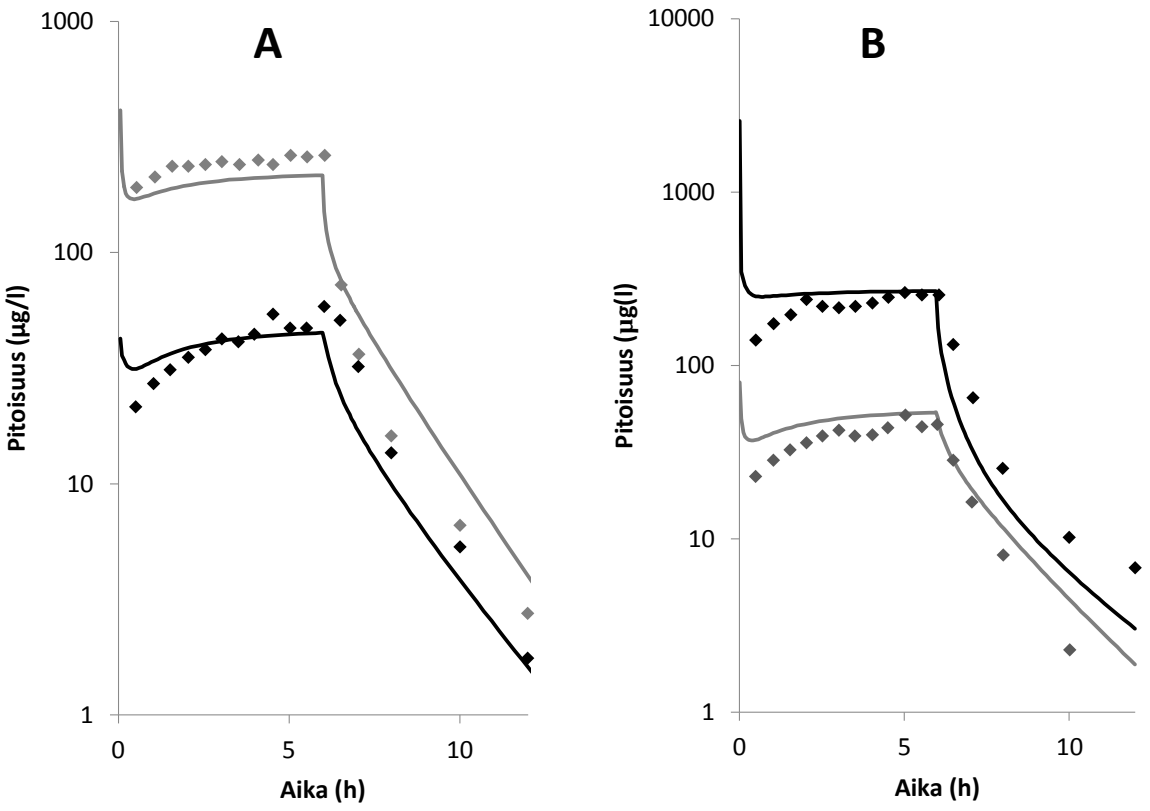
Aluksi lääkeaineen kulkeutumisen istukan läpi oletettiin olevan perfuusiorajoitteista ja istukan koostuvan yhdestä tilasta. Kudosjakautumisvakioiden oletettiin olevan yhtä

suuria eli Mk = Fk ja estimoitavia parametreja olivat Mk sekä emän ja sikiön ominaispuhdistumat MCLu_intH ja FCLu_intH (Kuva 11).



Kuva 11: Koko mallin simulointi, istukka yhtenä tilana. Estimoitavina parametreina emän ja sikiön ominaispuhdistumat MCLu_intH ja FCLu_intH sekä vakio Mk. Annostelu A) emän B) sikiön laskimoveritilaan.

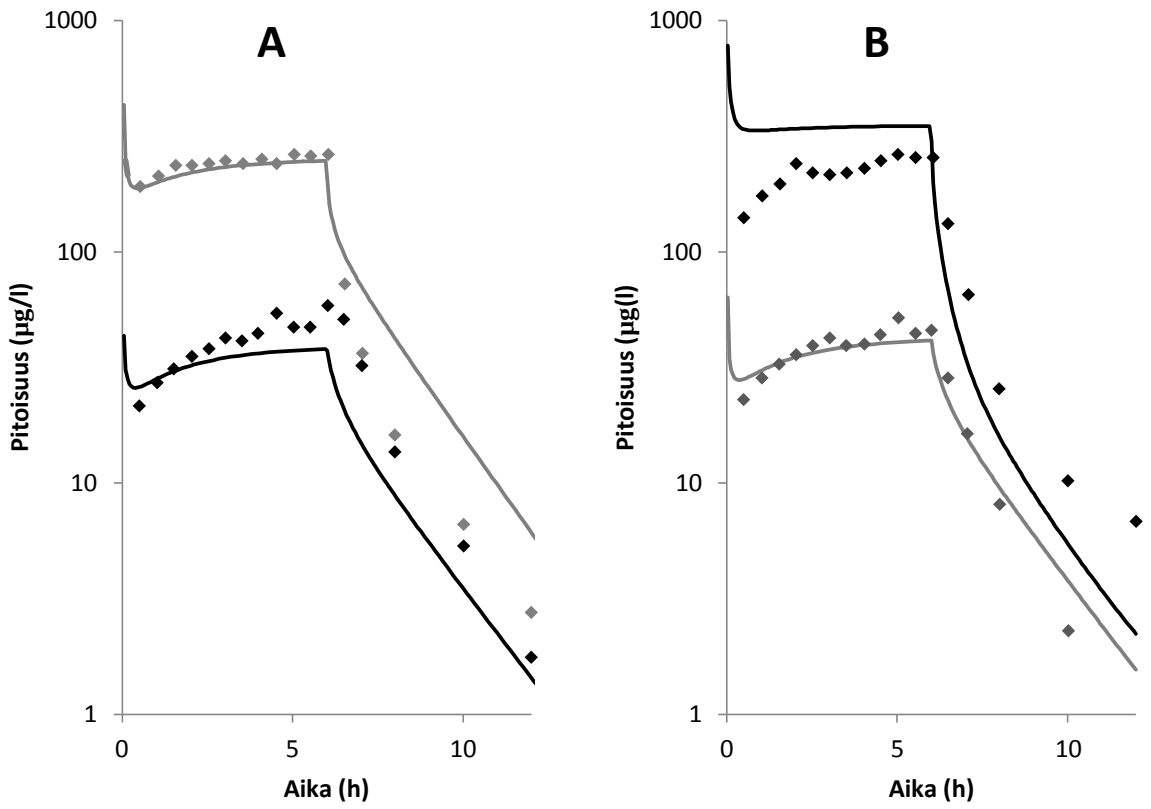
Seuraavassa simulaatiossa estimoitavia parametreja olivat emän ja sikiön ominaispuhdistumat sekä vakiot Mk ja Fk (Kuva 12).



Kuva 12: Koko mallin simulointi, istukka yhtenä tilana. Estimoitavina parametreina emän ja sikiön ominaispuhdistumat sekä vakiot Mk ja Fk. Annostelu A) emän B) sikiön laskimoveritilaan.

5.2.2 Istukka kahtena tilana

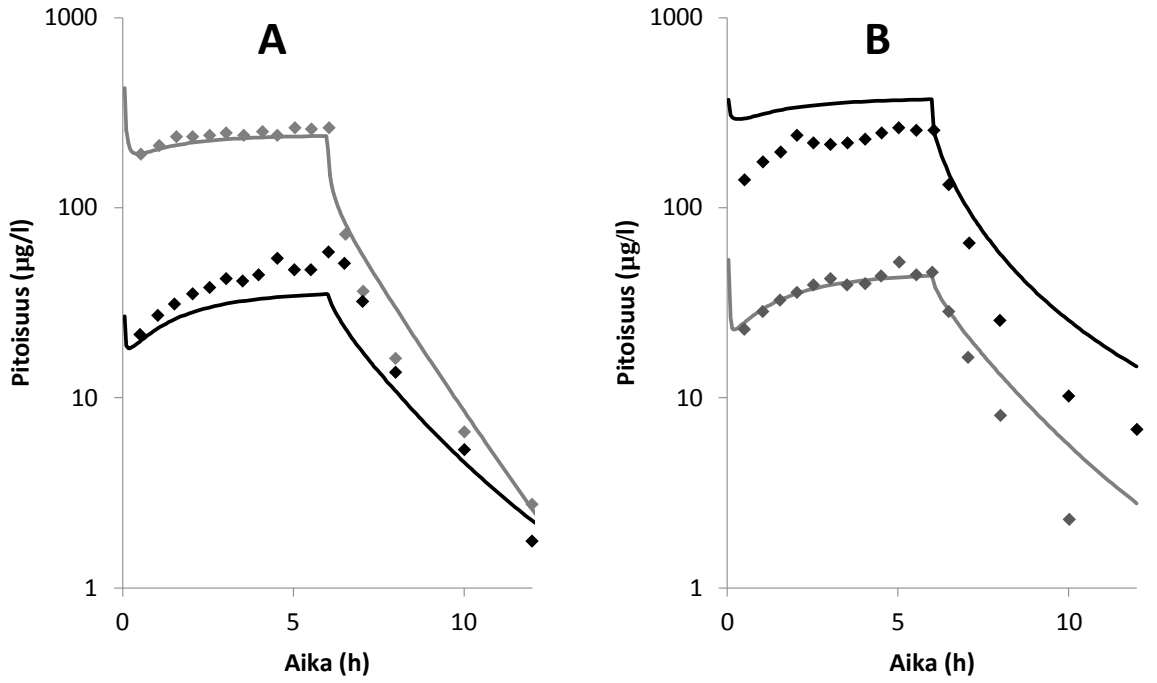
Simulaatioissa kokeiltiin myös permeaatiorajoitteista istukkamallia. Aluksi oletettiin, että CL_Pla_MF = CL_Pla_FM, jolloin estimoitavia parametreja olivat emän ominaispuhdistumat, vakiot Mk ja Fk sekä puhdistuma CL_Pla_MF (**Virhe. Viitteen lähdettä ei löytynyt.**).



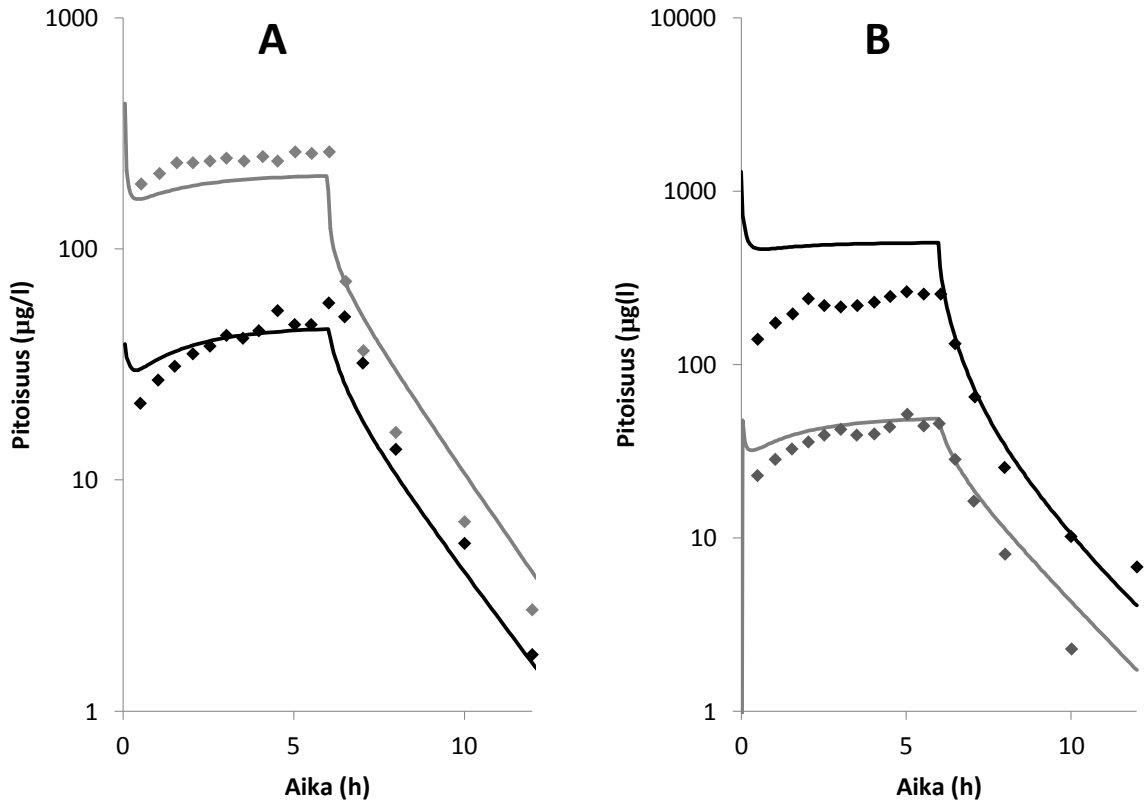
Kuva 13: Koko mallin simulointi, istukka kahtena tilana. Estimoitavina parametreina emän ja sikiön ominaispuhdistumat, vakiot Mk ja Fk sekä CL_Pla_MF. Annostelu A) emän B) sikiön laskimoveritilaan.

Seuraavassa vaiheessa estimoitavia parametreja olivat emän ja sikiön puhdistumat, vakiot Mk ja Fk sekä istukan puhdistumat CL_Pla_MF ja CL_Pla_FM (Kuva 14).

Sovituksen yksinkertaistamiseksi simulaatio suoritettiin myös olettaen, että Mk = Fk. Estimoitavia parametreja olivat MCLu_intH, FCLu_intH, Mk, CL_Pla_MF ja CL_Pla_FM (Kuva 15).



Kuva 14: Koko mallin simulointi, istukka kahtena tilana. Estimoitavina parametreina emän ja sikiön ominaispuhdistumat, vakiot Mk ja Fk sekä CL_Pla_MF ja CL_Pla_FM. Annostelu A) emän B) sikiön laskimoveritilaan.



Kuva 15: Koko mallin simulointi, istukka kahtena tilana. Estimoitavina parametreina emän ja sikiön ominaispuhdistumat, vakio Mk sekä CL_Pla_MF ja CL_Pla_FM. Annostelu A) emän B) sikiön laskimoveritilaan

5.3 Sovituksissa estimoitujen parametrien arvot

Eri mallien sovituksissa estimoitujen parametrien arvot, AIC-arvot, plasmapuhdistumat, jakautumistilavuudet, AUC-arvot ja simulaatioille lasketut AIC -arvot on koottu taulukoihin 6, 7 ja 8. Selkeyden vuoksi mallit on numeroitu kuvan 9 mukaisesti. AIC -arvojen perusteella malli 4 olisi rakennetuista parhain, sillä tälle mallille laskettu AIC -arvo oli pienin (Taulukko 6). Myös mallille 6 laskettu AIC-arvo ovat muihin verrattuna pienehkö.

Taulukko 6: Simulaatioissa estimoitujen parametrien arvot ja AIC-arvot.

Simuloitu malli	Sovituksessa estimoidut parametrit						
	Mk	Fk	MCLu_intH (l/h)	FCLu_intH (l/h)	CL_Pla_MF (l/h)	CL_Pla_FM (l/h)	AIC
1. Emä			5992.19				
2. Emä	0.4	Mk	8477.8				
Koko malli							
3. Istukka yhtenä tilana	0.8	Mk	9967.4	79.2			62.8
4. Istukka yhtenä tilana	0.6	1.1	8013.8	0.03			32.5
5. Istukka kahtena tilana	0.6	0.7	4124.2	132.7	189.5	189.5	105.4
6. Istukka kahtena tilana	0.5	2.2	5064.1	2.2	194.5	65.5	48.5
7. Istukka kahtena tilana	0.6	Mk	9996.8	6.0	124.9	205.3	65.0

Taulukko 7: Ominaispuhdistumista lasketut plasmapuhdistumat (CL_H) ja näennäinen jakautumistilavuus (Vss).

Simuloitu malli	CL_H (l/h)		Vss (l/kg)	
	Emä	Sikiö	Emä	Sikiö
3. Istukka yhtenä tilana	191.2	12.2	3.19	8.05
4. Istukka yhtenä tilana	184.0	0.0	2.33	10.94
5. Istukka kahtena tilana	155.9	15.4	2.35	7.19
6. Istukka kahtena tilana	165.5	0.7	1.83	21.91
7. Istukka kahtena tilana	191.3	1.7	2.45	6.18

Kirjallisuudessa tiineen lampaan vapaan difenhydramiinin ominaispuhdistuman on arvioitu olevan 1242,6 ml/min/kg eli 76,9-kiloiselle eläimelle 5733,4 l/h (Kumar ym. 2000). Sovitetut ominaispuhdistumat ovat samassa suuruusluokassa kirjallisuusarvon kanssa ja tarkimmin ominaispuhdistuman simuloi malli 6 (Taulukko 6).

Tulosten perusteella voidaan havaita, että emän plasmapuhdistumiin verrattuna sikiön plasmapuhdistumat ovat hyvin pieniä (Taulukko 7). Sikiölle lasketut plasmapuhdistumat poikkeavat toisistaan ja mallin valinnalla on merkitystä sikiön puhdistuman estimoinnin kannalta. Kumarin ym. (1997) tutkimuksen mukaan sikiön maksa osallistuu difenhydramiinin metaboliaan ja arvio sikiön hepaattisesta puhdistumasta on julkaisun mukaan noin 120 ml/min/kg eli 2,61 kg painavalle sikiölle 18,8 l/h. Malleilla 3 ja 5 simuloidut sikiön plasmapuhdistumat 12,2 ja 15,4 l/h ovat samassa kokoluokassa Kumar ym. julkaisun tuloksen kanssa.

Myös emälle laskettu plasmapuhdistuma vaihtelee valitun mallin perusteella jonkin verran. Tulokset ovat loogisia: kun emän plasmapuhdistuma on pienimmillään (155,9 l/h), sikiön plasmapuhdistuma on suurimmillaan (15,4 l/h).

Kirjallisuuden perusteella difenhydramiinin jakautumistilavuus on emässä 2,1–3,2 l/kg ja sikiössä 13,1 l/kg (Yoo ym. 1986, Kumar ym. 1999a). Simuloidut jakautumistilavuudet ovat samassa suuruusluokassa kirjallisuusarvojen kanssa ja ero emän ja sikiön jakautumistilavuuksissa on samansuuntainen (Taulukko 7). Mallilla 4 simuloidut jakautumistilavuudet ovat lähimpänä Kumarin ryhmän määrittämiä arvoja (Taulukko 8).

Taulukko 8: Simuloidut ja verrokkidatan AUC- ja niistä laskettu suhteellinen virhe. E:llä on merkitty emän AUC-arvot, S:llä sikiön.

Simuloitu malli		AUC 0 - 500 h (mikrog/min · l)		Suhteellinen virhe	
		DPHM	[2H10]DPHM	DPHM	[2H10]DPHM
3. Istukka yhtenä tilana	E	80145	18266	-1.23	1.05
	S	11154	104675	-1.71	1.09
4. Istukka yhtenä tilana	E	85176	21586	-1.16	1.24
	S	18147	106038	-1.05	1.10
5. Istukka kahtena tilana	E	98410	16676	-1.00	-1.04
	S	15368	137757	-1.24	1.43
6. Istukka kahtena tilana	E	93635	18488	-1.06	1.07
	S	14805	153179	-1.29	1.59
7. Istukka kahtena tilana	E	81778	5566	-1.21	-3.12
	S	18194	75009	-1.05	-1.28
Verrokki-data		AUC 0 - ∞ (mikrog/min · l)			
Kumar ym. 1997	E	98877	17341		
	S	19102	96065		

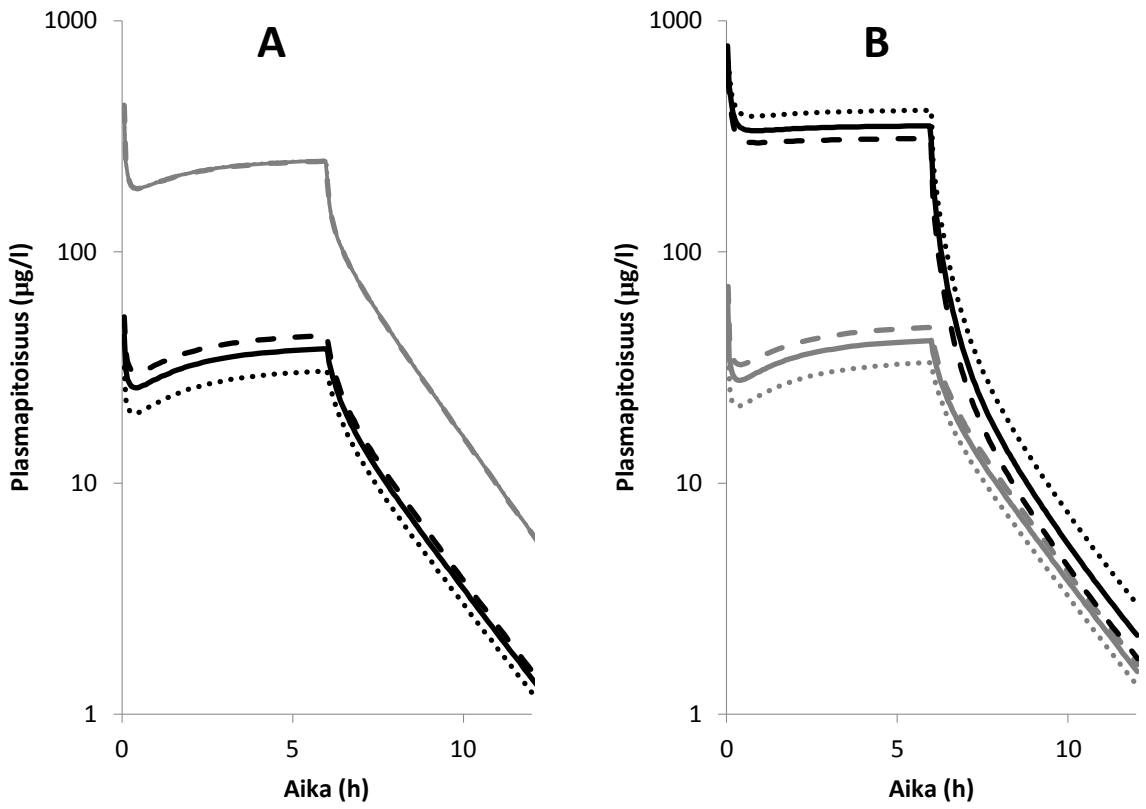
Jotta simulaatioiden tuloksia voitaisiin vertailla Kumar ym. (1997) julkaisemiin AUC-arvoihin, simulaatioiden AUC-arvot määritettiin aikavälille 0–500 tuntia. Tulosten perusteella voidaan havaita, että simuloidut AUC-arvot ovat samassa kokoluokassa verrattuna Kumarin ym. julkaisun arvoihin (Taulukko 8). AUC-arvoista laskettujen virheiden perusteella emän AUC-arvot onnistuu parhaiten simuloimaan malli 5. Sikiön AUC-arvon emälle annostellulle difenhydramiinille simuloi parhaiten malli 6. Sikiön AUC:n leimatulle, sikiön laskimoon annostellulle difenhydramiinille taas simuloi parhaiten malli 3. Kokonaisuudessaan sekä emän että sikiön AUC-arvot hyvin simuloi malli 4.

5.4 Herkkyysanalyysi

5.4.1 Istukan puhdistuman tarkastelu

Tarkasteltaessa mallia 5 herkkyysanalyysin avulla havaittiin, että kun lääkeainetta annosteltiin emälle, CL_Pla_MF vaikutti ainoastaan lääkeainepitoisuuksiin sikiön plasmassa (Kuva 16). Kun istukan permeaatiopuhdistuma laskettiin puoleen estimoidusta, pitoisuudet sikiön plasmassa laskivat noin 7 µg/l ja pitoisuudet emän plasmassa pysyivät samoina. Kun istukan permeaatiopuhdistuma kaksinkertaistettiin, pitoisuudet sikiön plasmassa nousivat noin 5 µg/l ja pitoisuudet emän plasmassa pysyivät edelleen samana. Myös emän ja sikiön AUC–arvoja vertailtiin istukan puhdistuman suhteen (Kuva 17). Tuloksista voidaan havaita, että kun lääkeainetta on annosteltu emälle, istukan puhdistuman muuttuessa emän AUC ei juuri muutu, kun taas sikiön AUC kasvaa istukan puhdistuman kasvaessa. AUC-arvojen muutos on samassa linjassa lääkeainepitoisuuksien muutosten kanssa.

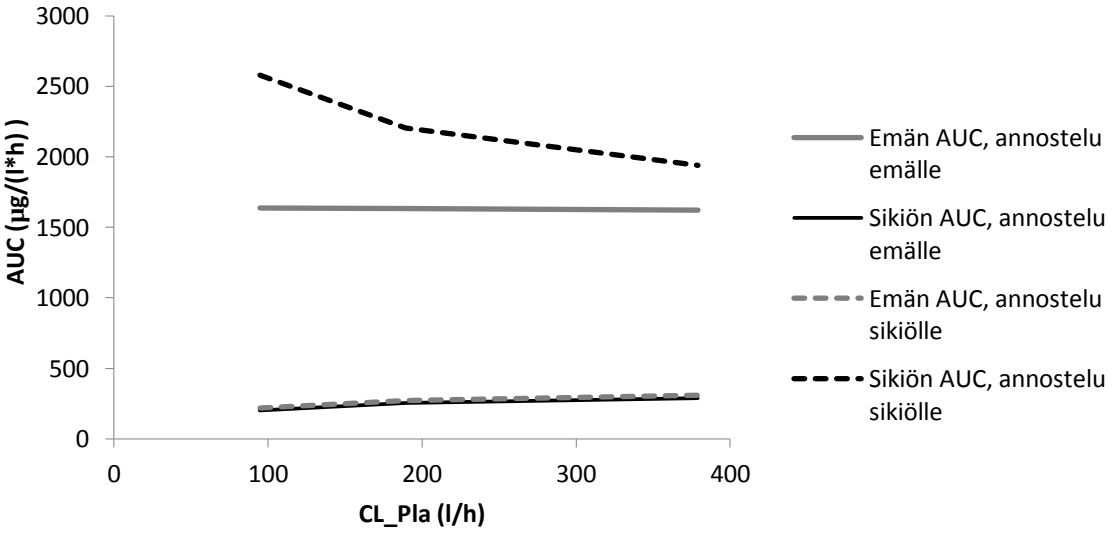
Kun lääkeainetta annosteltiin sikiölle, CL_Pla_MF vaikutti sekä emän että sikiön plasmapitoisuuksiin. Istukan puhdistuman puolittaminen nosti sikiön pitoisuuksia noin 60 µg/l ja laski emän plasmapitoisuuksia noin 8 µg/l. Puhdistuman kaksinkertaistaminen taas pienensi sikiön plasmapitoisuuksia noin 40 µg/l ja suurensi emän plasmapitoisuuksia noin 6 µg/l. Sama ilmiö havaittiin AUC-arvoja vertailtaessa: sikiölle annosteltaessa ja istukan puhdistuman kasvaessa emän AUC kasvaa ja sikiön AUC pienenee.



Kuva 16: Istukan puhdistuman vaikutus emän ja sikiön plasmapitoisuuksiin. Emän plasmapitoisuus on kuvattu harmaalla, sikiön mustalla. Yhtenäisellä viivalla on kuvattu puhdistuman arvo 189,5; pisteviivalla 95,74; katkoviivalla 379,0. A) Annosteltaessa lääkeainetta emän laskimoon istukan puhdistuma ei vaikuta emän plasmapitoisuuksiin, kun taas sikiön plasmapitoisuuksissa voidaan havaita vaihtelua. B) Annosteltaessa lääkeainetta sikiölle istukan puhdistuma vaikuttaa sekä emän että sikiön plasmapitoisuuksiin.

Herkkyysanalyysissa saadut tulokset istukan permeaatiopuhdistuman vaikutuksesta pitoisuuksiin ja AUC-arvoihin antavat tietoa mallin toiminnasta. Kun lääkeainetta annostellaan emälle, permeaatiopuhdistumalla ei ole kovin suurta vaikutusta pitoisuuksiin emässä. Yksi mahdollinen selitys havainnolle on se, että sikiöön siirtyvän lääkeaineen määrä on emän plasmassa olevaan lääkeainemäärään suhteutettuna niin pieni, ettei siirtymisnopeuden muutos vaikuta juurikaan pitoisuuksiin emän plasmassa. Kun permeaatiopuhdistuma on suuri, lääkeainetta siirtyy sikiöön nopeasti ja sikiössä havaittavat pitoisuudet ovat korkeammat. Kun permeaatiopuhdistuma on pieni, sikiöön siirtyvä lääkeainemäärä laskee ja pitoisuudet jäävät matalammiksi.

Annosteltaessa lääkeainetta sikiölle permeaatiopuhdistuma vaikuttaa pitoisuuksiin sekä emässä että sikiössä. Kun permeaatiopuhdistuma on suuri, lääkeainetta siirtyy nopeasti sikiön verenkierrosta emän verenkiertoon, jolloin pitoisuus sikiössä jää matalammaksi ja emässä pitoisuudet ovat korkeampia. Kun permeaatiopuhdistuma on pieni, lääkeainetta siirtyy sikiöstä emään hitaasti, jolloin pitoisuudet sikiön plasmassa ovat korkeat ja emän plasmassa matalat.

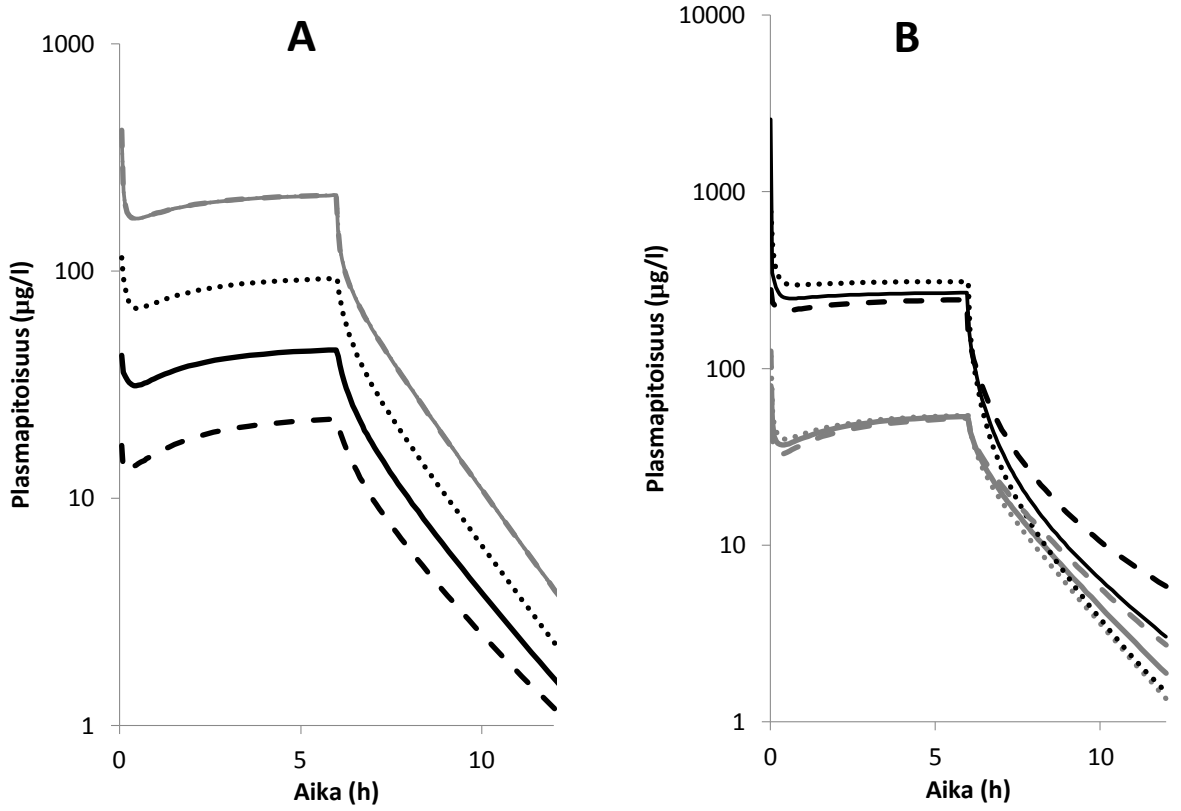


Kuva 17: Istukan permeaatiopuhdistuman vaikutus emän ja sikiön AUC -arvoihin.

5.4.2 Fk-vakion tarkastelu

Istukan permeaatiopuhdistuman lisäksi tutkittiin Fk-vakion vaikutusta lääkeainepitoisuuksiin emän ja sikiön plasmassa sekä AUC-arvoihin. Annosteltaessa lääkeainetta emän laskimoon Fk-arvo vaikuttaa vain sikiön plasmapitoisuuksiin, kun taas emän plasmapitoisuudet pysyvät samana Fk-arvon vaihtelusta huolimatta (Kuva 18). Fk-arvon laskiessa puoleen estimoidusta sikiön plasmapitoisuudet nousevat infuusion aikana noin 50 µg/l ja Fk-arvon noustessa kaksinkertaiseksi sikiön plasmapitoisuudet laskevat noin 20 µg/l. Sama ilmiö voidaan havaita AUC–arvojen

vertailussa: annosteltaessa lääkeainetta emälle Fk-arvon muutos ei vaikuta emän AUC–arvoihin, kun taas sikiön AUC laskee Fk-arvon kasvaessa.

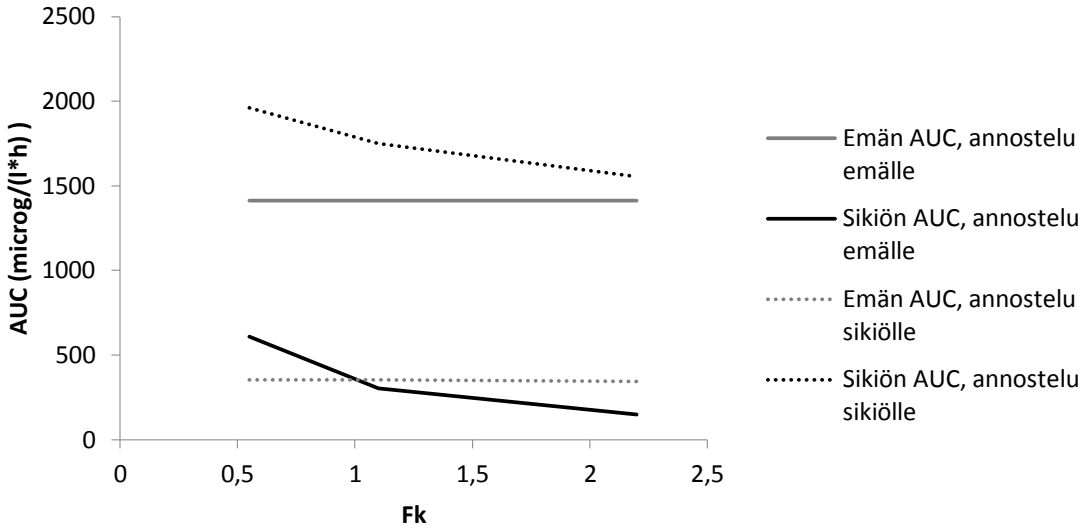


Kuva 18: Fk-vakion vaikutus emän ja sikiön plasmapitoisuuksiin. Emän plasmapitoisuus on kuvattu harmaalla, sikiön mustalla. Yhtenäisellä viivalla kuvattu Fk:n arvo 1,1; pisteviivalla 0,55; katkoviivalla 2,2. A) Annosteltaessa lääkeainetta emän laskimoon vakion arvo ei juuri vaikuta emän plasmapitoisuuksiin, joten eri Fk-arvoja kuvaavat aika-pitoisuus-käyrät ovat limittäin. Sikiön plasmapitoisuudet sen sijaan vaihtelevat vakion arvon muuttuessa. B) Annosteltaessa lääkeainetta sikiölle Fk-vakion arvo vaikuttaa hieman sekä emän että sikiön plasmapitoisuuksiin.

Annosteltaessa lääkeainetta sikiön laskimoon Fk-arvo vaikuttaa sekä sikiön että emän plasmapitoisuuksiin. Fk-arvon vaihtelu vaikuttaa pitoisuuksiin emän merkittävimmin juuri bolusannoksen jälkeen ja hieman infuusion lopettamisen jälkeen. Esimerkiksi ajan hetkellä 0,1 tuntia Fk-arvon suurentaminen pienentää pitoisuutta 8 µg/l ja Fk-arvon pienentäminen suurentaa pitoisuutta noin 8 µg/l. Infuusion lopettamisen jälkeen Fk-arvon muuttaminen vaikuttaa pitoisuuksiin emän

plasmassa edellä kuvatulla tavalla, tosin ero plasmapitoisuuksissa estimoituun verrattuna on vain noin 1 µg/l.

Fk-arvon kasvaessa pitoisuudet sikiön plasmassa laskevat infuusion aikana noin 30 µg/l ja infuusion jälkeen noin 2 µg/l. Fk-arvon pienentyessä pitoisuudet nousevat infuusion aikana noin 40 µg/l ja infuusion jälkeen noin 1,5 µg/l. AUC-arvojen perusteella voidaan havaita, että annosteltaessa lääkeainetta sikiölle Fk:n muutos ei juuri vaikuta emän AUC-arvoihin, kun taas sikiön AUC pienenee Fk-arvon kasvaessa (Kuva 19). AUC-arvojen muutos on samansuuntainen pitoisuuksien muutoksiin verrattuna.



Kuva 19: Fk-vakion vaikutus emän ja sikiön AUC-arvoihin.

Lääkeainepitoisuuksien muutokset Fk-arvon muuttumisen seurauksena (Kuva 18) ovat selitettävissä arvon vaikutuksella sikiön kudosjakautumiskertoimiin. Kun Fk-arvo kasvaa, kudosten kudosjakautumiskerroin ja niistä johdetut kudos-veri-jakautumiskertoimet kasvavat. Tämän seurauksena kudoksista lähtevän valtimoveren lääkeainepitoisuus laskee ja tätä kautta lääkeainepitoisuus sikiön laskimo- ja valtimoveressä pienenee. Fk-arvon pienentyessä seuraukset ovat päinvastaiset.

Istukasta sikiöön lähtevän laskimoveren lääkeainepitoisuus vaikuttaa pienessä määrin lääkeainepitoisuuteen istukassa: kun Fk suurenee, istukasta lähtevän valtimoveren lääkeainepitoisuus laskee ja istukan lääkeainepitoisuus laskee, minkä seurauksena istukasta emän verenkiertoon lähtevän laskimoveren pitoisuus nousee. Tällöin pitoisuus emän verenkierrossa hieman kasvaa. Kun lääkeainetta annostellaan emälle, Fk-arvon muutoksesta johtuva emän plasman lääkeainepitoisuuden muutos on kuitenkin todennäköisesti niin pieni annokseen verrattuna, että pitoisuuskuvaajissa ei voida havaita merkittäviä eroja (Kuva 18).

6 Pohdinta

6.1 Simulointi mallilla

Rakennettujen mallien avulla ei onnistuttu täysin toistamaan *in vivo*-datan havaintoja. Mallin rakenteesta ja estimoiduista parametreista riippuen pitoisuudet emän ja sikiön plasmassa jäivät hieman pieniksi tai suuriksi verrokkidataan nähden. Kaikkien neljän pitoisuuden sovittaminen verrokkidataan olikin haastavaa. Yksikään malli ei onnistunut toistamaan verrokkidatassa nähtyä ilmiötä, jossa pitoisuudet emän ja sikiön plasmassa ovat infuusion jälkeen hyvin lähellä toisiaan annosteltaessa lääkeainetta emälle. Sen sijaan samankaltainen ilmiö nähtiin annosteltaessa lääkeainetta sikiölle. Mallien tilojen lukumäärään ja monimutkaisuuteen suhteutettuna simulaatiot kuitenkin onnistuivat hyvin ja mallit ovat käyttökelpoisia jatkokehitystä ajatellen.

Pelkästään aika-pitoisuus-kuvaajien perusteella on vaikeaa arvioida, mikä simulaatioista olisi onnistunein ja mikä malleista käyttökelpoisin. Simulaatioiden suoriutumista tutkittiin AIC-arvojen avulla sekä vertailemalla simuloitujen emän vapaan lääkeaineen ominaispuhdistuman, sikiön plasmapuhdistuman, AUC- ja jakautumistilavuuksien arvoja kirjallisuuteen. Pienimmän AIC-arvon sai malli 4. AIC-arvolla haluttiin tutkia mallien suoriutumista, mutta arvojen tulkinta on haastavaa, sillä AIC-arvolle ei ole olemassa tilastollisen merkitsevyyden kriteeriä. Estimoitujen parametrien variaatiokertoimet antaisivat lisää tietoa mallien hyvyydestä, mutta valitettavasti käytetyllä ohjelmistolla ei ole mahdollista laskea niitä. Verrattuna kirjallisuusarvoihin tarkimmin emän vapaan lääkeaineen ominaispuhdistuman simuloi malli 6 ja sikiön plasmapuhdistuman mallit 3 ja 5. Malli 4 simuloi parhaiten emän ja sikiön AUC-arvot sekä näennäiset jakautumistilavuudet.

6.2 Herkkyysanalyysi

Herkkyysanalyysin perusteella tutkitut vakiot CL_Pla ja Fk ovat merkityksellisiä malleissa. Kun lääkeainetta annosteltiin emälle, erityisesti sikiön plasmapitoisuudet ja AUC-arvot muuttuivat vakioiden arvojen muuttuessa. Vakiot vaikuttavat myös emän plasmapitoisuuksiin silloin, kun lääkeainetta annostellaan sikiölle. Herkkyysanalyysin perusteella CL_Pla- ja Fk-arvot ovat merkityksellisiä malleissa ja niiden täsmällinen arviointi voi parantaa simulaatioiden lopputulosta.

6.3 Erikoistyön virhelähteet

Ennen mallin rakentamista tarvittavat fysiologiset parametrit kerättiin kirjallisuudesta. Minkäänlaista referenssiaineistoa tiineen lampaan kudosten tilavuuksille tai verenvirtauksille ei ole olemassa ja parametreja löytyi kirjallisuudesta hyvin rajallisesti. Lisäksi parametrien arvot oli mitattu toisistaan poikkeavilla menetelmillä, raskauden eri vaiheissa ja eri painoisista ja rotuisista lampaista. Sopivien parametriarvojen löytäminen ja puuttuvien parametrien arvojen likimääräinen arviointi oli haastavaa ja joidenkin parametrien kohdalla ainoa vaihtoehto oli hyödyntää joko tavallisen täysikasvuisen lampaan tai ihmisen fysiologisia parametreja.

Kudosjakautumiskertoimien määrityksessä käytettiin erikoistyössä rotan kudosten koostumuksia, sillä tietoa lampaan kudosten koostumuksesta ei ollut saatavissa. Kudoskoostumusten ja sitä kautta kudosjakautumiskertoimien on havaittu vaihtelevan eri eläinlajien välillä, joten oletus, että lampaan kudoskoostumukset olisivat samat kuin rotalla tuskin pitää paikkansa (Rodgers ym. 2012). Koko kehon PBPK-mallinnuksessa lajienväliset erot kudoskoostumuksissa vaikuttavat tuloksiin todennäköisesti melko vähän, mutta jos mallilla halutaan tutkia tietyn kudoksen lääkeainepitoisuutta, on erot otettava huomioon ja lajispesifisiä kudoskoostumuksia hyödynnettävä. Mallissa oli myös tiedon puutteellisuuden vuoksi oletettu, että istukan kudoskoostumus olisi sama kuin aivoissa ja mm. maitorauhasten sama kuin lihaksissa, mikä ei todennäköisesti pidä täysin paikkaansa.

Kokonaisuudessaan erikoistyössä rakennettu malli on yksityiskohtainen ja parametrien lukumäärä on suuri. Kumar ym. (1997) julkaisema verrokkidata on myös monimutkaista, sillä siinä on kuvattu emän ja sikiön plasmapitoisuudet sekä emälle että sikiölle annostelun jälkeen. Yksityiskohtaisen mallin ja sen parametrien sovittaminen monimutkaiseen verrokkidataan todennäköisesti heikentää sovituksen lopputulosta.

6.4 Mallien jatkokehitys

Erikoistyössä rakennettu malli ei täysin kyennyt toistamaan *in vivo*-datan havaintoja. Seuraavaksi mallin suoriutumista voisi kokeilla muilla lääkeaineilla ja simulaatioiden perusteella tutkia, löytyykö simulaatioista jokin systemaattinen virhe. Mikäli tällainen virhe havaittaisiin, olisi sen taustalla todennäköisesti mallin rakenne. Näin päästäisiin selvittämään simulaatioiden epätarkkuuden syytä. Istukkamallin toimivuutta voisi tutkia kokeellisen datan avulla esimerkiksi siten, että istukka ja sikiön kudokset kuvattaisiin yksinkertaisempana tilamallina. Näin saataisiin varmuutta siitä, onko istukkamalli järkevä ja voiko simulaatioiden tuloksia parantaa sitä kehittämällä.

Rakennetussa mallissa lääkeaineen metaboliaan osallistuu vain maksa ja malliaine sekä annostelureitti huomioon ottaen tämä valinta on perusteltu. Jotta mallilla kyettäisiin kuvaamaan myös muiden lääkeaineiden ja -valmisteiden kinetiikkaa, voisi siihen lisätä maksan lisäksi muita eliminaatioreittejä, kuten erittymisen munuaisten kautta, sekä uusia antoreittejä, kuten transdermaaliannon. Erikoistyössä rakennetussa mallissa kaksi yhtäaikaista lääkeaineannostelua on kuvattu siten, että toinen annosteluista on määritetty alkamaan vasta sitten, kun edellisen annostelun jälkeiset plasmapitoisuudet ovat lähellä nollaa. Kyseinen tapa vaatii verrokkidatan muuttamista sovituksia varten ja myös simuloidun datan jatkokäsittelyä graafista kuvaamista varten. Tulevaisuudessa malli voitaisiin kuvata matriisimuotoisena, jolloin mallilla voitaisiin kuvata yhtäaikaisesti usean lääkeaineen tai metaboliitin kinetiikkaa. Mallien jatkokehityksen kannalta myös ohjelmistovalintaa voisi harkita. Kuten aiemmin mainittu, tässä erikoistyössä käytetty ohjelmisto ei esimerkiksi laske

estimoiduille parametreille variaatiokertoimia, jotka olisivat tärkeitä mallin käyttökelpoisuuden ja sovituksen hyvyyden arvioinnissa.

7 Päätelmät

PBPK-mallien rakentaminen on jatkuva prosessi, jossa toisiaan seuraavat kehämäisesti mallin rakentaminen, simulointi, tulosten vertaaminen kokeellisen dataan ja mallin hienosäätö. Tässä erikoistyössä on luotu hyvä pohja lampaan sikiön ja emän lääkeainealtistuksen arvioimiselle PBPK-mallin avulla sekä mallin jatkokehitykselle. Sekä emälle että sikiölle on saatu koottua tarvittavat fysiologiset parametrit, joita voidaan mahdollisesti hyödyntää mallin jatkokehityksessä. Tämän erikoistyön ansio on myös sikiön puolen mallin rakentaminen, jonka avulla voidaan ennustaa lääkeainepitoisuuksia sikiön kudoksissa. Suuremmassa mittakaavassa rakennettu malli on pieni kehitysaskel kohti raskaudenaikaisen lääkeainealtistuksen ja turvallisuuden arviointia.

KIRJALLISUUS

Dailymed-tietokanta. Haettu Internetistä 29.1.2014. http://dailymed.nlm.nih.gov/dailymed/archives/fdaDrugInfo.cfm?archiveid=28594

Duodecim-lääketietokanta. Haettu Internetistä 29.1.2014. www.terveysportti.fi

Andrade SE, Gurwitz JH, Davis RL ym.: Prescription drug use in pregnancy. Am J Obstet Gynecol 191(2): 398-407, 2004

Attila M, Sandholm M: Lääkeaineet eläimissä - farmakokinetiikan perusteet. 2. painos, s.110-111. Gummerus Kirjapaino Oy, Jyväskylä 1998

Barry J, Anthony R: The pregnant sheep as a model for human pregnancy. Theriogenology 69(1): 55-67, 2008

Bazer FW, Spencer TE, Thatcher WW: Growth and development of the ovine conceptus. J Anim Sci 90(1): 159-170, 2012

Bissonnette JM, Wickham WK, Drummond WH: Placental diffusing capacities at varied carbon monoxide tensions. J Clin Invest 59(6): 1038-1044, 1977

Brace RA, Cheung CY: Amniotic fluid volume and composition after fetal membrane resection in late-gestation sheep. J Am Assoc Lab Anim Sci 50(6): 939-942, 2011

Carey Satterfield M, Dunlap KA, Keisler DH ym.: Arginine nutrition and fetal brown adipose tissue development in diet-induced obese sheep. Amino Acids 43(4): 1593-1603, 2012

Carter AM: Animal models of human placentation--a review. Placenta 28 Suppl A: S41-7, 2007

Carter AM, Gothlin J, Olin T: An angiographic study of the structure and function of the uterine and maternal placental vasculature in the rabbit. J Reprod Fertil 25(2): 201-210, 1971

Caton JS, Reed JJ, Aitken RP ym.: Effects of maternal nutrition and stage of gestation on body weight, visceral organ mass, and indices of jejunal cellularity, proliferation, and vascularity in pregnant ewe lambs. J Anim Sci 87(1): 222-235, 2009

Clewell RA, Clewell HJ,3rd: Development and specification of physiologically based pharmacokinetic models for use in risk assessment. Regul Toxicol Pharmacol 50(1): 129-143, 2008

Coonen JB, Marcus MA, Joosten EA ym.: Transplacental transfer of remifentanil in the pregnant ewe. Br J Pharmacol 161(7): 1472-1476, 2010

Corley RA: Pharmacokinetics and PBPK models. Kirjassa: Comprehensive toxicology (second edition). s. 27-58. Elsevier, Oxford 2010

Creasy RK, Drost M, Green MV ym.: Determination of fetal, placental and neonatal blood volumes in the sheep. Circ Res 27(4): 487-494, 1970

Edelstone DI, Rudolph AM, Heymann MA: Liver and ductus venosus blood flows in fetal lambs in utero. Circ Res 42(3): 426-433, 1978

Erkinaro T, Haapsamo M, Kavasmaa T ym.: Fetal cardiac function after labetalol or pindolol for maternal hypertension in a sheep model of increased placental vascular resistance. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol 166(1): 18-22, 2013

Espie P, Tytgat D, Sargentini-Maier ML ym.: Physiologically based pharmacokinetics (PBPK). Drug Metab Rev 41(3): 391-407, 2009

Gabrielsson J, Weiner D: Pharmacokinetic & pharmacodynamic data analysis: Concepts and applications. 4. painos. Kristianstads Boktryckeri AB, Sweden 2006

Gaohua L, Abduljalil K, Jamei M ym.: A pregnancy physiologically based pharmacokinetic (p-PBPK) model for disposition of drugs metabolized by CYP1A2, CYP2D6 and CYP3A4. Br J Clin Pharmacol 74(5): 873-885, 2012

Härkönen P, Väänänen K: Alkion varhaisvaiheet ja naisen sukupuolielinten kehitys. Kirjassa: Naistentaudit ja synnytykset. Kustannus Oy Duodecim 2011. Haettu Internetistä 3.4.2014. www.terveysportti.fi

Henderson GI, Hu ZQ, Yang Y ym.: Ganciclovir transfer by human placenta and its effects on rat fetal cells. Am J Med Sci 306(3): 151-156, 1993

ICRP: Basic anatomical and physiological data for use in radiological protection reference values. ICRP publication 89. Ann ICRP 32(3-4): 5-265, 2002

Kim J, Riggs KW, Rurak DW: Stereoselective pharmacokinetics of fluoxetine and norfluoxetine enantiomers in pregnant sheep. Drug Metab Dispos 32(2): 212-221, 2004

Kiserud T: Physiology of the fetal circulation. Semin Fetal Neonatal Med 10(6): 493-503, 2005

Kumar S, Riggs KW, Rurak DW: Comparative formation, distribution, and elimination kinetics of diphenylmethoxyacetic acid (a diphenhydramine metabolite) in maternal and fetal sheep. Drug Metab Dispos 27(4): 463-470, 1999a

Kumar S, Tonn GR, Kwan E ym.: Estimation of transplacental and nonplacental diphenhydramine clearances in the fetal lamb: The impact of fetal first-pass hepatic drug uptake. J Pharmacol Exp Ther 282(2): 617-632, 1997

Kumar S, Tonn GR, Riggs KW ym.: Diphenhydramine disposition in the sheep maternal-placental-fetal unit: Gestational age, plasma drug protein binding, and umbilical blood flow effects on clearance. Drug Metab Dispos 28(3): 279-285, 2000

Kumar S, Tonn GR, Riggs KW ym.: Diphenhydramine disposition in the sheep maternal-placental-fetal unit: Determinants of plasma drug concentrations in the mother and the fetus. J Pharm Sci 88(12): 1259-1265, 1999b

Lahesmaa-Korpinen A: Raskaudenaikainen lääkkeiden käyttö suomessa. sic! Lääketietoa Fimeasta 1: 2013

Lee SK: Perinatal pharmacokinetics. Kirjassa: Physiologically based phrmacokinetic modeling: Science and applications. 1. painos, s. 321-347. Toim. Reddy MB, Yang RS, Clewell III HJ, Andersen ME, John Wiley & Sons Inc., USA 2005

Lombardo F, Obach RS, Shalaeva MY ym.: Prediction of volume of distribution values in humans for neutral and basic drugs using physicochemical measurements and plasma protein binding data. J Med Chem 45(13): 2867-2876, 2002

Lu G, Abduljalil K, Jamei M ym.: Physiologically-based pharmacokinetic (PBPK) models for assessing the kinetics of xenobiotics during pregnancy: Achievements and shortcomings. Curr Drug Metab 13(6): 695-720, 2012

Marsh AC, Lumbers ER, Gibson KJ: Renal, cardiovascular and endocrine responses of fetal sheep at 0.8 of gestation to an infusion of amino acids. J Physiol 540(Pt 2): 717-728, 2002

Mihaly GW, Morgan DJ: Placental drug transfer: Effects of gestational age and species. Pharmacol Ther 23(2): 253-266, 1983

Myllynen P, Vahakangas K: Placental transfer and metabolism: An overview of the experimental models utilizing human placental tissue. Toxicol In Vitro 27(1): 507-512, 2013

Myren M, Mose T, Mathiesen L ym.: The human placenta--an alternative for studying foetal exposure. Toxicol In Vitro 21(7): 1332-1340, 2007

Poulin P, Theil FP: Development of a novel method for predicting human volume of distribution at steady-state of basic drugs and comparative assessment with existing methods. J Pharm Sci 98(12): 4941-4961, 2009

Pousi J :Fysiologiaan pohjautuvan farmakokineettisen mallinnuksen käyttö äidin ja sikiön lääkeainealtistuksen arvioinnissa., Pro gradu-tutkielma edn, Farmasian laitos, Itä-Suomen yliopisto, Kuopio 2013

Pruitt AW, McNay JL, Dayton PG: Transfer characteristics of triamterene and its analogs. central nervous system, placenta, and kidney. Drug Metab Dispos 3(1): 30-41, 1975

Redmer DA, Luther JS, Milne JS ym.: Fetoplacental growth and vascular development in overnourished adolescent sheep at day 50, 90 and 130 of gestation. Reproduction 137(4): 749-757, 2009

Rodgers T, Jones HM, Rowland M: Tissue lipids and drug distribution: Dog versus rat. J Pharm Sci 101(12): 4615-4626, 2012

Rodgers T, Leahy D, Rowland M: Physiologically based pharmacokinetic modeling 1: Predicting the tissue distribution of moderate-to-strong bases. J Pharm Sci 94(6): 1259-1276, 2005

Rosenberg AA, Koehler RC, Jones MD,Jr: Distribution of cardiac output in fetal and neonatal lambs with acute respiratory acidosis. Pediatr Res 18(8): 731-735, 1984

Rosenfeld CR: Distribution of cardiac output in ovine pregnancy. Am J Physiol 232(3): H231-5, 1977

Rosenfeld CR, Morriss FH,Jr, Makowski EL ym.: Circulatory changes in the reproductive tissues of ewes during pregnancy. Gynecol Invest 5(5-6): 252-268, 1974

Rudolph CD: effects of ductus venosus obstruction on liver and regional blood flows in the fetal lamb. . Pediatric research 29(4): 347 -352, 1991

Rudolph AM: Pharmacodynamics in the maternal-fetal-placental unit. NIDA Res Monogr 154: 163-174, 1995

Rudolph AM, Heymann MA: Circulatory changes during growth in the fetal lamb. Circ Res 26(3): 289-299, 1970

Rumball CWH, Bloomfield FH, Harding JE: Cardiovascular adaptations to pregnancy in sheep and effects of periconceptional undernutrition. Placenta 29(1): 89-94, 2008

Santos AC, Karpel B, Noble G: The placental transfer and fetal effects of levobupivacaine, racemic bupivacaine, and ropivacaine. Anesthesiology 90(6): 1698-1703, 1999

Schneider H: Placental transport function. Reprod Fertil Dev 3(4): 345-353, 1991

Schröder HJ: Comparative aspects of placental exchange functions. European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology 63(1): 81-90, 1995

Stevenson KM, Gibson KJ, Lumbers ER: Comparison of the transplacental transfer of enalapril, captopril and losartan in sheep. Br J Pharmacol 114(7): 1495-1501, 1995

Sweeney LM, Kirman CR, Gannon SA ym.: Development of a physiologically based pharmacokinetic (PBPK) model for methyl iodide in rats, rabbits, and humans. Inhal Toxicol 21(6): 552-582, 2009

Syrne MR, Paxton JW, Keelan JA: Drug transfer and metabolism by the human placenta. Clin Pharmacokinet 43(8): 487-514, 2004

Szeto HH: Maternal-fetal pharmacokinetics: Summary and future directions. NIDA Res Monogr 154: 203-217, 1995

Upton RN: Organ weights and blood flows of sheep and pig for physiological pharmacokinetic modelling. J Pharmacol Toxicol Methods 58(3): 198-205, 2008

Vahakangas K, Myllynen P: Drug transporters in the human blood-placental barrier. Br J Pharmacol 158(3): 665-678, 2009

Xia B, Heimbach T, Gollen R ym.: A simplified PBPK modeling approach for prediction of pharmacokinetics of four primarily renally excreted and CYP3A metabolized compounds during pregnancy. AAPS J 15(4): 1012-1024, 2013

Yeleswaram K, Rurak DW, Hall C ym.: Pharmacokinetics and pharmacodynamics of labetalol in the pregnant sheep. J Pharmacol Exp Ther 262(2): 683-691, 1992

Yoo SD, Axelson JE, Taylor SM ym.: Placental transfer of diphenhydramine in chronically instrumented pregnant sheep. J Pharm Sci 75(7): 685-687, 1986

LIITTEET

Liite 1: PBPK-malli tiineen lampaan difenhydramiinialtistukselle

{Parameter names are explained in detail after each parameter. In general parameters are named by the following logic:

The capital letters M and F define maternal and fetal parameters. The next abbreviation defines the parameter name:

W Weight

QF Fractional blood flow

BW Body weight

CO Cardiac output

fIW Fractional tissue volume of intracellular water

fEW Fractional tissue volume of extracellular water

fNL Fractional tissue volume of neutral lipids

fNP Fractional tissue volume of neutral phospholipids

AP Tissue content of acidic phospholipids (mg/g)}

Hct Hematocrit

Den Density

KpuBC Blood cell to unbound concentration in plasma -ratio

fu Fraction unbound in plasma

fu_b Fraction unbound in blood

BPRatio blood to plasma concentration ratio

Ka Affinity coefficient to blood cells

Kpu Tissue to unbound concentration in plasma –ratio

k Coefficient for calculating tissue to plasma partition coefficients

P_Tp Tissue to plasma partition coefficient for tissue T

P_Tb Tissue to blood partition coefficient for tissue T

CLu_intH Intrinsic unbound clearance

Dose_bolus Loading dose of the drug

BolusDur Duration of bolus

BolusRate The administration rate od the loading dose

A amount of drug

Dose_infusion Dose of the infused drug

InfDur Duration of infusion

InfRate Infusion rate

V volume

C concentration

C_vT Concentration in venous blood leaving tissue T

Q blood flow

Sum Sum of blood flows or the amount of drug

Vd Apparent volume of distribution

Vss Apparent volume of distribution in steady state

AUC Area under the curve

The tissues are named as following:

a Arterial blood

v Venous blood

b Total blood

Lu Lungs

Br Brain

Hrt Heart

Kid Kidneys

Liv Liver

Spl Spleen

Gut small intestine, large intestine and stomach

Pa Pancreas

Adr Adrenal glands

Sk Skin

Bo Bone

Msc Muscle

Adi Adipose tissue

Car Carcass-compartment including minor organs and tissues

Ute Uterus

Mam Mammary glands

Pla Placenta

Amn Amniotic fluid}

{Default units used in this model:
weights of compartments in kg
volumes of compartments in L (volumes are calculated from weights using density of the compartments)
density of compartments in kg/L
amount of drug in µg
concentrations in µg/L = ng/ml (based on units above)}

{Bolded sections contain placental parameters and equations in duplicate; depending on the placental model used, some parameters must be excluded from the simulation with braces (see placenta and sums of drugs)}

```
RENAME TIME = T
RENAME STARTTIME = T0
RENAME STOPTIME = Tf

METHOD Stiff

T0 = 0 {Start time in hours}
Tf = 60 {Stop time in hours}
TOLERANCE = 0.00001
DTOUT = 0.05

{1. MATERNAL PHYSIOLOGICAL PARAMETERS}

;1.1. MATERNAL TISSUE AND ORGAN WEIGHTS (kg)
MW_a =1/3*MW_b;Weight of arterial blood
MW_v = 2/3*MW_b ;Weight of venous blood
MW_b = 4.294;Weight of total amount of blood
MW_Lu = 1.370 ;Weight of lungs
MW_Br = 0.457 ;Weight of brain
MW_Hrt = 0.306 ;Weight of heart
MW_Kid = 0.276;Weight of kidneys
MW_Liv = 1.345 ;Weight of liver
```

MW_Spl = 0.260 ;Weight of spleen
MW_Gut = 4.754;Weight of gut (small intestine. large intestine and stomach)
MW_Pa= 0.141; Weight of pancreas
MW_Adr= 0.013; Weight of adrenal glands
MW_Sk = 4.640 ;Weight of skin
MW_Bo= 3.900; Weight of bones
MW_Msc= 12.470; Weight of muscles
MW_Adi=25.840; Weight of adipose tissue
MW_Car=5.959 ; Carcass-compartment including minor organs and tissues

MW_Ute= 5.733 ;Weight of uterus
MW_Mam= 1.200; Weight of mammary glands
MW_Pla= 0.342; Weight of placenta
MW_Amn=0.992; Weight of amniotic fluid

;1.2. BLOOD FLOWS TO MATERNAL TISSUES/ORGANS (AS A FRACTION FROM TOTAL CARDIAC OUTPUT)

MQF_Br = 0.016;Brain blood flow rate as fraction of the total cardiac output
MQF_Hrt = 0.016 ;Heart blood flow rate as fraction of the total cardiac output
MQF_Kid = 0.097 ;Kidney blood flow rate as fraction of the total cardiac output
MQF_Liv = 0.372 ;Liver blood flow rate as fraction of the total cardiac output
MQF_Spl = 0.020 ;Spleen blood flow rate as fraction of the total cardiac output
MQF_Gut =0.351;Gut blood flow rate as fraction of the total cardiac output
MQF_Pa= 0.023 ;Pancreas blood flow rate as fraction of the total cardiac output
MQF_Adr= 0.001; Adrenal blood flow rate as fraction of the total cardiac output
MQF_Sk = 0.017 ;Skin blood flow rate as fraction of the total cardiac output
MQF_Bo=0.050; Bone blood flow rate as fraction of the total cardiac output
MQF_Msc = 0.052 ;Muscle blood flow rate as fraction of the total cardiac output
MQF_Adi= 0.092;Adipose tissue blood flow rate as fraction of the total cardiac output
MQF_Car = 0.0860;Carcass blood flow rate as fraction of the total cardiac output
MQF_Ute= 0.028 ;Uterus blood flow rate as fraction of the total cardiac output
MQF_Mam=0.021;Mammary blood flow rate as fraction of the total cardiac output
MQF_Pla= 0.129 ; Placental blood flow rate as fraction of the total cardiac output

;1.3. BODY WEIGHT AND CARDIAC OUTPUT

MBW= 76.9 ;Total body weight in kg (including fetoplacental unit)
MCO= 657.91 ;Total cardiac output in L/h

{2. FETAL PHYSIOLOGICAL PARAMETERS}

{2.1. FETAL TISSUE AND ORGAN WEIGHTS (kg)}

FW_a = 1/3*FW_b ;Weight of arterial blood
FW_v = 2/3*FW_b ;Weight of venous blood

FW_b = 0.188 ;Weight of total amount of blood
FW_Lu = 0.084 ;Weight of lungs
FW_Br = 0.053 ;Weight of brain
FW_Hrt = 0.020 ;Weight of heart
FW_Kid = 0.030 ;Weight of kidneys
FW_Liv = 0.073 ;Weight of liver
FW_Spl = 0.004 ;Weight of spleen
FW_Gut = 0.135;Weight of gut (small intestine. large intestine and stomach)
FW_Pa= 0.002; Weight of pancreas
FW_Adr= 0.001; Weight of adrenal glands
FW_Sk = 0.131 ;Weight of skin
FW_Bo= 0.276; Weight of bones
FW_Msc= 0.597; Weight of muscles
FW_Adi=0.694; Weight of adipose tissue
FW_Car=0.322 {Carcass-compartment including minor organs and tissues}

{2.2. BLOOD FLOWS TO FETAL TISSUES/ORGANS (AS A FRACTION FROM TOTAL CARDIAC OUTPUT)}

FQF_Lu=0.068; Lugn blood flow rate as fraction of the total cardiac output
FQF_Br = 0.026;Brain blood flow rate as fraction of the total cardiac output
FQF_Hrt = 0.002 ;Heart blood flow rate as fraction of the total cardiac output
FQF_Kid = 0.004 ;Kidney blood flow rate as fraction of the total cardiac output
FQF_Liv = 0.023+(1-QF_dvPla)*FQF_Pla + (1-QF_dvPv)*FQF_Spl+(1-QF_dvPv)*FQF_Gut
FQF_Spl = 0.001 ;Spleen blood flow rate as fraction of the total cardiac output
FQF_Gut =0.021 ;Gut blood flow rate as fraction of the total cardiac output
FQF_Pa= 0.014; Pancreas blood flow rate as fraction of the total cardiac output
FQF_Adr=0.002; Adrenal gland blood flow rate as fraction of the total cardiac output
FQF_Sk = 0.021 ;Skin blood flow rate as fraction of the total cardiac output
FQF_Bo=0.050; Bone blood flow rate as fraction of the total cardiac output
FQF_Msc = 0.020 ;Muscle blood flow rate as fraction of the total cardiac output
FQF_Adi= 0.002;Adipose tissue blood flow rate as fraction of the total cardiac output
FQF_Pla= 0.417; Placental blood flow rate as fraction of the total cardiac output
FQF_Car = 0.397 ; Carcass blood flow rate as fraction of the total cardiac output}

QF_dvPla=0.53 {Fraction of placental blood flow bypassing the liver via ductus venosus}
QF_dvPv = 0.09 {Fraction of portal vein blood flow bypassing the liver via ductus venosus}

{2.3. FETAL BODY WEIGHT AND CARDIAC OUTPUT}

FBW= 2.61; Fetal body weight in kg
FCO= 82.53 ; Fetal cardiac output in L/h

{3. SYSTEM PARAMETERS}

{3.1. TISSUE AND BLOOD CELL COMPOSITION (Rodgers et al. 2004, rat tissues)}

{3.1.1. LUNGS}
fIW_Lu=0.446 {Fractional tissue volume of intracellular water}
fEW_Lu=0.336 {Fractional tissue volume of extracellular water}
fNL_Lu=0.022 {Fractional tissue volume of neutral lipids}
fNP_Lu=0.0128 {Fractional tissue volume of neutral phospholipids}
AP_Lu=3.91 {Tissue content of acidic phospholipids (mg/g)}

{3.1.2. BRAIN}
fIW_Br=0.039 {Fractional tissue volume of intracellular water}
fEW_Br=0.162 {Fractional tissue volume of extracellular water}
fNL_Br=0.039 {Fractional tissue volume of neutral lipids}
fNP_Br=0.0015 {Fractional tissue volume of neutral phospholipids}
AP_Br=0.4 {Tissue content of acidic phospholipids (mg/g)}

{3.1.3. HEART}
fIW_Hrt=0.456 {Fractional tissue volume of intracellular water}
fEW_Hrt=0.32 {Fractional tissue volume of extracellular water}
fNL_Hrt=0.014 {Fractional tissue volume of neutral lipids}
fNP_Hrt=0.0111 {Fractional tissue volume of neutral phospholipids}
AP_Hrt=2.25 {Tissue content of acidic phospholipids (mg/g)}

{3.1.4. KIDNEY}
fIW_Kid=0.483 {Fractional tissue volume of intracellular water}
fEW_Kid=0.273 {Fractional tissue volume of extracellular water}
fNL_Kid=0.012 {Fractional tissue volume of neutral lipids}
fNP_Kid=0.0242 {Fractional tissue volume of neutral phospholipids}
AP_Kid=5.03 {Tissue content of acidic phospholipids (mg/g)}

{3.1.5. LIVER}
fIW_Liv=0.573 {Fractional tissue volume of intracellular water}
fEW_Liv=0.161 {Fractional tissue volume of extracellular water}
fNL_Liv=0.014 {Fractional tissue volume of neutral lipids}
fNP_Liv=0.024 {Fractional tissue volume of neutral phospholipids}
AP_Liv=4.56 {Tissue content of acidic phospholipids (mg/g)}

{3.1.6. GUT}
fIW_Gut=0.475 {Fractional tissue volume of intracellular water}
fEW_Gut=0.282 {Fractional tissue volume of extracellular water}
fNL_Gut=0.038 {Fractional tissue volume of neutral lipids}
fNP_Gut=0.0125 {Fractional tissue volume of neutral phospholipids}
AP_Gut=2.41 {Tissue content of acidic phospholipids (mg/g)}

{3.1.7. SPLEEN}
fIW_Spl=0.579 {Fractional tissue volume of intracellular water}
fEW_Spl=0.207 {Fractional tissue volume of extracellular water}

fNL_Spl=0.0077 {Fractional tissue volume of neutral lipids}
fNP_Spl=0.0113 {Fractional tissue volume of neutral phospholipids}
AP_Spl=3.18 {Tissue content of acidic phospholipids (mg/g)}
{3.1.8. PANCREAS}
fIW_Pa=0.664 {Fractional tissue volume of intracellular water}
fEW_Pa=0.12 {Fractional tissue volume of extracellular water}
fNL_Pa=0.041 {Fractional tissue volume of neutral lipids}
fNP_Pa=0.0093 {Fractional tissue volume of neutral phospholipids}
AP_Pa=1.67 {Tissue content of acidic phospholipids (mg/g)}

{3.1.8. ADRENALS}
{tissue composition is assumed to be same as that of muscle}
fIW_Adr=fIW_Msc {Fractional tissue volume of intracellular water}
fEW_Adr=fEW_Msc {Fractional tissue volume of extracellular water}
fNL_Adr=fNL_Msc {Fractional tissue volume of neutral lipids}
fNP_Adr=fNP_Msc {Fractional tissue volume of neutral phospholipids}
AP_Adr=AP_Msc {Tissue content of acidic phospholipids (mg/g)}

{3.1.9. SKIN}
fIW_Sk=0.291 {Fractional tissue volume of intracellular water}
fEW_Sk=0.382 {Fractional tissue volume of extracellular water}
fNL_Sk=0.06 {Fractional tissue volume of neutral lipids}
fNP_Sk=0.0044 {Fractional tissue volume of neutral phospholipids}
AP_Sk=1.32 {Tissue content of acidic phospholipids (mg/g)}

{3.1.10. BONE}
fIW_Bo=0.346 {Fractional tissue volume of intracellular water}
fEW_Bo=0.100 {Fractional tissue volume of extracellular water}
fNL_Bo=0.017{Fractional tissue volume of neutral lipids}
fNP_Bo=0.0017 {Fractional tissue volume of neutral phospholipids}
AP_Bo=0.67 {Tissue content of acidic phospholipids (mg/g)}

{3.1.11. MUSCLE}
fIW_Msc=0.630 {Fractional tissue volume of intracellular water}
fEW_Msc=0.118 {Fractional tissue volume of extracellular water}
fNL_Msc=0.010 {Fractional tissue volume of neutral lipids}
fNP_Msc=0.0072 {Fractional tissue volume of neutral phospholipids}
AP_Msc=1.53 {Tissue content of acidic phospholipids (mg/g)}

{3.1.12. ADIPOSE TISSUE}
fIW_Adi=0.017 {Fractional tissue volume of intracellular water}
fEW_Adi=0.135 {Fractional tissue volume of extracellular water}
fNL_Adi=0.853 {Fractional tissue volume of neutral lipids}
fNP_Adi=0.0016 {Fractional tissue volume of neutral phospholipids}
AP_Adi=0.4 {Tissue content of acidic phospholipids (mg/g)}

{3.1.13. CARCASS}
{tissue composition is assumed to be same as that of muscle}
fIW_Car=fIW_Msc {Fractional tissue volume of intracellular water}
fEW_Car=fEW_Msc {Fractional tissue volume of extracellular water}

fNL_Car=fNL_Msc {Fractional tissue volume of neutral lipids}
fNP_Car=fNP_Msc {Fractional tissue volume of neutral phospholipids}
AP_Car=AP_Msc {Tissue content of acidic phospholipids (mg/g)}

{3.1.14. UTERUS}
{tissue composition is assumed to be same as that of muscle}
fIW_Ute=fIW_Msc {Fractional tissue volume of intracellular water}
fEW_Ute=fEW_Msc {Fractional tissue volume of extracellular water}
fNL_Ute=fNL_Msc {Fractional tissue volume of neutral lipids}
fNP_Ute=fNP_Msc {Fractional tissue volume of neutral phospholipids}
AP_Ute=AP_Msc {Tissue content of acidic phospholipids (mg/g)}

{3.1.15. MAMMARY}
{tissue composition is assumed to be same as that of muscle}
fIW_Mam=fIW_Msc {Fractional tissue volume of intracellular water}
fEW_Mam=fEW_Msc {Fractional tissue volume of extracellular water}
fNL_Mam=fNL_Msc {Fractional tissue volume of neutral lipids}
fNP_Mam=fNP_Msc {Fractional tissue volume of neutral phospholipids}
AP_Mam=AP_Msc {Tissue content of acidic phospholipids (mg/g)}

{3.1.16. PLACENTA}
{tissue composition is assumed to be same as that of brain}
fIW_Pla= fIW_Br{Fractional tissue volume of intracellular water}
fEW_Pla= fEW_Br{Fractional tissue volume of extracellular water}
fNL_Pla= fNL_Br{Fractional tissue volume of neutral lipids}
fNP_Pla= fNP_Br{Fractional tissue volume of neutral phospholipids}
AP_Pla= AP_Br{Tissue content of acidic phospholipids (mg/g)}

{3.1.17 BLOOD CELLS}
fIW_Bc=0.603 {Fractional tissue volume of intracellular water}
fNL_Bc=0.0017 {Fractional tissue volume of neutral lipids}
fNP_Bc=0.0029 {Fractional tissue volume of neutral phospholipids}
AP_Bc=0.5 {Tissue content of acidic phospholipids (mg/g)}

{3.2. pH IN CELLS AND PLASMA}
pHIW=7 {pH of intracellular water}
pHBC=7.22 {pH of blood cells}
pHp=7.4 {plasma pH}

{3.3. MATERNAL BLOOD AND PLASMA COMPOSITION}

MHct= 0.28 {Hematocrit in as fraction. hematocrit means the fraction of blood cells from the total blood volume}

{3.4. FETAL BLOOD AND PLASMA COMPOSITION}

FHct=0.31 {Hematocrit in as fraction. hematocrit means the fraction of blood cells from the total blood volume}

{3.5. TISSUE DENSITIES}

Den_a= 1
Den_v= 1
Den_Lu =1
Den_Br = 1
Den_Hrt =1
Den_Kid = 1
Den_Liv = 1
Den_Spl = 1
Den_Gut = 1
Den_Pa= 1
Den_Adr=1
Den_Sk = 1
Den_Bo=1
Den_Msc= 1
Den_Adi=1
Den_Car=1
Den_Ute= 1
Den_Mam=1
Den_Pla= 1

{4. COMPOUND PARAMETERS}

{4.1. PHYSICOCHEMICAL PROPERTIES}

pKa=9.1
logP=3.31
P=10^logP
KpuBC=6.24 {Blood cell to unbound concentration in plasma ratio}

{4.2. BINDING OF DRUG TO PLASMA/BLOOD PROTEINS AND CELLS}

Mfu= 0.120 {Fraction of drug unbound in maternal plasma}
Ffu=0.301 {Fraction of drug unbound in fetal plasma}
Mfu_b = Mfu/MBPRatio {Fraction of drug unbound in maternal blood}
Ffu_b=Ffu/FBPRatio {Fraction of drug unbound in fetal blood}

MBPratio = 1 + MHct*(Mfu*KpuBC - 1) {Maternal Blood/plasma concentration ratio. Rowland & Tozer 2011}

FBPratio = 1 + FHct*(Ffu*KpuBC - 1) {Fetal Blood/plasma concentration ratio. Rowland & Tozer 2011}

{4.3. Ka- VALUES}
Ka=(KpuBC-(((1+10^(pKa-pHBC))/(1+10^(pKa-pHp)))*fIW_Bc)-((P*fNL_Bc+(0.3*P+0.7)*fNP_Bc)/(1+10^(pKa-pHp))))*((1+10^(pKa-pHp))/(AP_Bc*10^(pKa-pHBC)))

{4.4. Kpu-VALUES FOR TISSUES}

Kpu_Lu= fEW_Lu+(((1+10^(pKa-pHIW))/(1+10^(pKa-pHp)))*fIW_Lu) + ((Ka*AP_Lu*10^(pKa-pHIW))/(1+10^(pKa-pHp)))+((P*fNL_Lu+((0.3*P+0.7)*fNP_Lu))/(1+10^(pKa-pHp))) {Kpu-value for lungs}

Kpu_Br= fEW_Br+(((1+10^(pKa-pHIW))/(1+10^(pKa-pHp)))*fIW_Br) + ((Ka*AP_Br*10^(pKa-pHIW))/(1+10^(pKa-pHp)))+((P*fNL_Br+((0.3*P+0.7)*fNP_Br))/(1+10^(pKa-pHp))) {Kpu-value for brain}

Kpu_Hrt= fEW_Hrt+(((1+10^(pKa-pHIW))/(1+10^(pKa-pHp)))*fIW_Hrt) + ((Ka*AP_Hrt*10^(pKa-pHIW))/(1+10^(pKa-pHp)))+((P*fNL_Hrt+((0.3*P+0.7)*fNP_Hrt))/(1+10^(pKa-pHp))) {Kpu-value for heart}

Kpu_Kid= fEW_Kid+(((1+10^(pKa-pHIW))/(1+10^(pKa-pHp)))*fIW_Kid) + ((Ka*AP_Kid*10^(pKa-pHIW))/(1+10^(pKa-pHp)))+((P*fNL_Kid+((0.3*P+0.7)*fNP_Kid))/(1+10^(pKa-pHp))) {Kpu-value for kidneys}

Kpu_Liv= fEW_Liv+(((1+10^(pKa-pHIW))/(1+10^(pKa-pHp)))*fIW_Liv) + ((Ka*AP_Liv*10^(pKa-pHIW))/(1+10^(pKa-pHp)))+((P*fNL_Liv+((0.3*P+0.7)*fNP_Liv))/(1+10^(pKa-pHp))) {Kpu-value for liver}

Kpu_Gut= fEW_Gut+(((1+10^(pKa-pHIW))/(1+10^(pKa-pHp)))*fIW_Gut) + ((Ka*AP_Gut*10^(pKa-pHIW))/(1+10^(pKa-pHp)))+((P*fNL_Gut+((0.3*P+0.7)*fNP_Gut))/(1+10^(pKa-pHp))){Kpu-value for gut}

Kpu_Spl= fEW_Spl+(((1+10^(pKa-pHIW))/(1+10^(pKa-pHp)))*fIW_Spl) + ((Ka*AP_Spl*10^(pKa-pHIW))/(1+10^(pKa-pHp)))+((P*fNL_Spl+((0.3*P+0.7)*fNP_Spl))/(1+10^(pKa-pHp))) {Kpu-value for spleen}

Kpu_Pa= fEW_Pa+(((1+10^(pKa-pHIW))/(1+10^(pKa-pHp)))*fIW_Pa) + ((Ka*AP_Pa*10^(pKa-pHIW))/(1+10^(pKa-pHp)))+((P*fNL_Pa+((0.3*P+0.7)*fNP_Pa))/(1+10^(pKa-pHp))){Kpu-value for pancreas}

Kpu_Adr= fEW_Adr+(((1+10^(pKa-pHIW))/(1+10^(pKa-pHp)))*fIW_Adr) + ((Ka*AP_Adr*10^(pKa-pHIW))/(1+10^(pKa-

pHp)))+((P*fNL_Adr+((0.3*P+0.7)*fNP_Adr))/(1+10^(pKa-pHp))) {Kpu-value for adrenals}

Kpu_Sk= fEW_Sk+(((1+10^(pKa-pHIW))/(1+10^(pKa-pHp)))*fIW_Sk) + ((Ka*AP_Sk*10^(pKa-pHIW))/(1+10^(pKa-pHp)))+((P*fNL_Sk+((0.3*P+0.7)*fNP_Sk))/(1+10^(pKa-pHp))) {Kpu-value for skin}

Kpu_Bo= fEW_Bo+(((1+10^(pKa-pHIW))/(1+10^(pKa-pHp)))*fIW_Bo) + ((Ka*AP_Bo*10^(pKa-pHIW))/(1+10^(pKa-pHp)))+((P*fNL_Bo+((0.3*P+0.7)*fNP_Bo))/(1+10^(pKa-pHp))) {Kpu-value for bones}

Kpu_Msc= fEW_Msc+(((1+10^(pKa-pHIW))/(1+10^(pKa-pHp)))*fIW_Msc) + ((Ka*AP_Msc*10^(pKa-pHIW))/(1+10^(pKa-pHp)))+((P*fNL_Msc+((0.3*P+0.7)*fNP_Msc))/(1+10^(pKa-pHp))) {Kpu-value for muscle}

Kpu_Adi= fEW_Adi+(((1+10^(pKa-pHIW))/(1+10^(pKa-pHp)))*fIW_Adi) + ((Ka*AP_Adi*10^(pKa-pHIW))/(1+10^(pKa-pHp)))+((P*fNL_Adi+((0.3*P+0.7)*fNP_Adi))/(1+10^(pKa-pHp))) {Kpu-value for adipose tissue}

Kpu_Car= fEW_Car+(((1+10^(pKa-pHIW))/(1+10^(pKa-pHp)))*fIW_Car) + ((Ka*AP_Car*10^(pKa-pHIW))/(1+10^(pKa-pHp)))+((P*fNL_Car+((0.3*P+0.7)*fNP_Car))/(1+10^(pKa-pHp))) {Kpu-value for carcass}

Kpu_Ute= fEW_Ute+(((1+10^(pKa-pHIW))/(1+10^(pKa-pHp)))*fIW_Ute) + ((Ka*AP_Ute*10^(pKa-pHIW))/(1+10^(pKa-pHp)))+((P*fNL_Ute+((0.3*P+0.7)*fNP_Ute))/(1+10^(pKa-pHp))) {Kpu-value for uterus}

Kpu_Mam= fEW_Mam+(((1+10^(pKa-pHIW))/(1+10^(pKa-pHp)))*fIW_Mam) + ((Ka*AP_Mam*10^(pKa-pHIW))/(1+10^(pKa-pHp)))+((P*fNL_Mam+((0.3*P+0.7)*fNP_Mam))/(1+10^(pKa-pHp))) {Kpu-value for mammary}

Kpu_Pla= fEW_Pla+(((1+10^(pKa-pHIW))/(1+10^(pKa-pHp)))*fIW_Pla) + ((Ka*AP_Pla*10^(pKa-pHIW))/(1+10^(pKa-pHp)))+((P*fNL_Pla+((0.3*P+0.7)*fNP_Pla))/(1+10^(pKa-pHp))) {Kpu-value for placenta}

{4.5. TISSUE TO PLASMA PARTITION COEFFICIENTS}

Mk= 1 {coefficient for calculating maternal tissue to plasma partition coefficients}
Fk= 1 {coefficient for calculating fetal tissue to plasma partition coefficients}

{4.5.1. MATERNAL TISSUE TO PLASMA PARTITION COEFFICIENTS: Kpu-value divided by fraction unbound in plasma}

MP_Lup= Kpu_Lu*Mfu*Mk {Lung/plasma partition coefficient}
MP_Brp= Kpu_Br*Mfu*Mk {Brain/plasma partition coefficient}
MP_Hrtp= Kpu_Hrt*Mfu*Mk {Heart/plasma partition coefficient}
MP_Kidp= Kpu_Kid*Mfu*Mk {Kidney/plasma partition coefficient}
MP_Livp= Kpu_Liv*Mfu*Mk{Liver/plasma partition coefficient}
MP_Splp= Kpu_Spl*Mfu*Mk {Spleen/plasma partition coefficient}
MP_Gutp= Kpu_Gut*Mfu*Mk {Gut/plasma partition coefficient}
MP_Pap= Kpu_Pa*Mfu*Mk {Pancreas/plasma partition coefficient}
MP_Adrp= Kpu_Adr*Mfu*Mk {Adrenals/plasma partition coefficient}
MP_Skp= Kpu_Sk*Mfu*Mk {Skin/plasma partition coefficient}
MP_Bop= Kpu_Bo*Mfu*Mk {Bone/plasma partition coefficient}
MP_Mscp= Kpu_Msc*Mfu*Mk {Muscle/plasma partition coefficient}
MP_Adip= Kpu_Adi*Mfu*Mk {Adipose tissue/plasma partition coefficient}
MP_Carp= Kpu_Car*Mfu*Mk {Carcass/plasma partition coefficient}
MP_Utep= Kpu_Ute*Mfu*Mk {Uterus/plasma partition coefficient}
MP_Mamp= Kpu_Mam*Mfu*Mk {Mammary/plasma partition coefficient}
MP_Plap= Kpu_Pla*Mfu*Mk {Placenta/plasma partition coefficient}

{4.5.2. FETAL TISSUE TO PLASMA PARTITION COEFFICIENTS}

FP_Lup= Kpu_Lu*Ffu*Fk {Lung/plasma partition coefficient}
FP_Brp= Kpu_Br*Ffu*Fk {Brain/plasma partition coefficient}
FP_Hrtp= Kpu_Hrt*Ffu*Fk {Heart/plasma partition coefficient}
FP_Kidp= Kpu_Kid*Ffu*Fk {Kidney/plasma partition coefficient}
FP_Livp= Kpu_Liv*Ffu*Fk{Liver/plasma partition coefficient}
FP_Splp= Kpu_Spl*Ffu*Fk {Spleen/plasma partition coefficient}
FP_Gutp= Kpu_Gut*Ffu*Fk {Gut/plasma partition coefficient}
FP_Pap= Kpu_Pa*Ffu*Fk {Pancreas/plasma partition coefficient}
FP_Adrp= Kpu_Adr*Ffu*Fk {Adrenals/plasma partition coefficient}
FP_Skp= Kpu_Sk*Ffu*Fk {Skin/plasma partition coefficient}
FP_Bop= Kpu_Bo*Ffu*Fk {Bone/plasma partition coefficient}
FP_Mscp= Kpu_Msc*Ffu*Fk {Muscle/plasma partition coefficient}
FP_Adip= Kpu_Adi*Ffu*Fk {Adipose tissue/plasma partition coefficient}
FP_Carp= Kpu_Car*Ffu*Fk {Carcass/plasma partition coefficient}
FP_Plap= Kpu_Pla*Ffu*Fk {Placenta/plasma partition coefficient}

{4.6. TISSUE TO BLOOD PARTITION COEFFICIENTS}

{4.6.1. MATERNAL TISSUE TO BLOOD PARTITION COEFFICIENTS}

MP_Lub= MP_Lup/MBPRatio {Tissue/blood partition coefficient is tissue/plasma partition coefficient divided by blood/plasma ratio}

MP_Brb=MP_Brp/MBPRatio
MP_Hrtb=MP_Hrtp/MBPRatio
MP_Kidb=MP_Kidp/MBPRatio
MP_Livb=MP_Livp/MBPRatio
MP_Splb=MP_Splp/MBPRatio
MP_Gutb=MP_Gutp/MBPRatio
MP_Pab=MP_Pap/MBPRatio
MP_Adrb=MP_Adrp/MBPRatio
MP_Skb=MP_Skp/MBPRatio
MP_Bob=MP_Bop/MBPRatio
MP_Mscb=MP_Mscp/MBPRatio
MP_Adib=MP_Adip/MBPRatio
MP_Carb=MP_Carp/MBPRatio
MP_Uteb=MP_Utep/MBPRatio
MP_Mamb=MP_Mamp/MBPRatio
MP_Plab=MP_Plap/MBPRatio

{4.6.2. FETAL TISSUE TO BLOOD PARTITION COEFFICIENTS}
FP_Lub= FP_Lup/FBPratio {Tissue/blood partition coefficient is tissue/plasma partition coefficient divided by blood/plasma ratio}
FP_Brb=FP_Brp/FBPRatio
FP_Hrtb=FP_Hrtp/FBPRatio
FP_Kidb=FP_Kidp/FBPRatio
FP_Livb=FP_Livp/FBPRatio
FP_Splb=FP_Splp/FBPRatio
FP_Gutb=FP_Gutp/FBPRatio
FP_Pab=FP_Pap/FBPRatio
FP_Adrb=FP_Adrp/FBPRatio
FP_Skb=FP_Skp/FBPRatio
FP_Bob=FP_Bop/FBPRatio
FP_Mscb=FP_Mscp/FBPRatio
FP_Adib=FP_Adip/FBPRatio
FP_Carb=FP_Carp/FBPRatio
FP_Plab=FP_Plap/FBPRatio

{5. MIXED PARAMETERS}

{5.1. METABOLISM}

MCLu_intH= 0 {maternal intrinsic unbound clearance (L/h)}
FCLu_intH= 0 {fetal intrinsic unbound clearance (L/h)}

{6. DOSING}

{6.1. MATERNAL DOSING}

{6.1.1. Maternal loading dose}

MDose_bolus = 20000 { Loading dose of the drug in micrograms}
MBolusDur = 1/60 {Duration of bolus in hours. Xmin/60min}
MBolusRate = IF T <= MBolusDur THEN MDose_bolus/MBolusDur ELSE 0 {Infusion rate of the loading dose in micrograms/hour}
d/dt(MA_Bolus) =MBolusRate {Amount of drug that has been infused in loading dose (microg)}
INIT MA_Bolus = 0
MA_toBol = MDose_Bolus - MA_Bolus {Amount of drug to be infused in loading dose (microg). the amount of drug that has been infused in loading dose is reduced from the loading dose}

{6.1.2. Maternal infusion}

MDose_infusion = 241200 { Dose of the drug in micrograms = 670 microg/min*360 min}
MInfDur = 360/60 {Duration of infusion in hours. Xmin/60min}
MInfRate = IF T <= MInfDur THEN MDose_infusion/MInfDur ELSE 0 {Infusion rate in micrograms/hour}
d/dt(MA_Inf) =MInfRate {Amount of drug that has been infused (microg)}
INIT MA_Inf = 0
MA_toInf =MDose_infusion - MA_Inf {Amount of drug to be infused (microg). the amount of drug that has been infused is reduced from the dose}

{6.2. FETAL DOSING}

{6.2.1. Fetal loading dose}

FDose_bolus = 5000 { Loading dose of the drug in micrograms}
FBolusDur = 1/60 {Duration of bolus in hours. Xmin/60min}
FBolusRate = IF 48<=T AND T<=(48+ FBolusDur) THEN FDose_bolus/FBolusDur ELSE 0 {Infusion rate of the loading dose in micrograms/hour}
d/dt(FA_Bolus) = FBolusRate {Amount of drug that has been infused in loading dose (microg)}
INIT FA_Bolus = 0
FA_toBol = FDose_Bolus - FA_Bolus {Amount of drug to be infused in loading dose (microg). the amount of drug that has been infused in loading dose is reduced from the loading dose}

{6.2.2. Fetal infusion}

FDose_infusion = 61200 { Dose of the drug in micrograms = 170 microg/min * 360 min}
FInfDur = 360/60 {Duration of infusion in hours. Xmin/60min}
FInfRate = IF 48<=T AND T<=(48+ FInfDur) THEN FDose_infusion/FInfDur ELSE 0 {Infusion rate in micrograms/hour}
d/dt(FA_Inf) =FInfRate {Amount of drug that has been infused (microg)}
INIT FA_Inf = 0
FA_toInf =FDose_infusion - FA_Inf {Amount of drug to be infused (microg). the amount of drug that has been infused is reduced from the dose}

{7. MASS BALANCE EQUATIONS}

{7.1. MATERNAL COMPARTMENTS}

{7.1.1. Blood and plasma}

{7.1.1.2. Arterial blood}

d/dt(MA_a) = MCO*(MC_vLu - MC_a) {Differential equation for the amount of drug (change in the
amount of drug) in arterial blood. flux coming from lungs minus flux leaving arterial compartment}

MV_a = MW_a/Den_a {Volume of arterial blood (L). defined with the density of arterial blood}

MC_a = MA_a/MV_a {Concentration in arterial blood}

INIT MA_a = 0 {Initial amount of drug in the arterial blood}

MC_ap = MC_a/MBPratio {Concentration in arterial plasma is obtained by dividing venous blood
concentration with blood/plasma concentration ratio}

Log_MC_ap = IF (MC_ap=0) THEN 0 ELSE Log10(MC_ap)

{7.1.1.2. Venous blood and venous plasma}

d/dt(MA_v) = MBolusRate + MInfRate + MQ_Br*MC_vBr + MQ_Hrt*MC_vHrt+ MQ_Kid*MC_vKid + MQ_Liv*MC_vLiv +MQ_Pa*MC_vPa +MQ_Adr*MC_vAdr + MQ_Sk*MC_vSk + MQ_Bo*MC_vBo + MQ_Msc*MC_vMsc + MQ_Adi*MC_vAdi + MQ_Car*MC_vCar + MQ_Ute*MC_vUte + MQ_Mam*MC_vMam+ MQ_Pla*MC_vPla

- MCO*MC_v {Amount of drug in venous blood. fluxes from other compartments and placenta - flux leaving venous blood to lungs }

INIT MA_v = 0
MV_v = MW_v/Den_v {Volume of venous blood (L). defined with the density
of venous blood}
MC_v = MA_v/MV_v {Concentration in venous blood}
MC_vp = MC_v/MBPratio {Concentration in venous plasma is obtained by dividing venous blood
concentration with blood/plasma concentration ratio}

{7.1.2 LUNGS}

d/dt(MA_lu)= MCO*(MC_v-MC_vLu) {Amount of drug in lungs}
MV_Lu= MW_Lu/Den_Lu {Volume of lungs (L)}
INIT MA_Lu=0
MC_Lu= MA_Lu/MV_Lu {Concentration in lung tissue}
MC_vLu=MC_Lu/MP_Lub {Concentration in venous blood leaving lungs}

{7.1.3 BRAIN}

d/dt(MA_Br)= MQ_Br*(MC_a - MC_vBr) {Amount of drug in brain tissue}
MV_Br = MW_Br*Den_Br {Volume of brain}
INIT MA_Br = 0
MC_Br = MA_Br/MV_Br {Concentration in brain (tissue)}
MC_vBr = MC_Br/MP_Brb {Concentration in venous blood leaving brain tissue}
MQ_Br = MCO*MQF_Br {Brain blood flow}

{7.1.4 HEART}

d/dt(MA_Hrt) = MQ_Hrt*(MC_a - MC_vHrt) {Amount of drug in heart}
MV_Hrt = MW_Hrt/Den_Hrt {Volume of heart}
INIT MA_Hrt = 0
MC_Hrt = MA_Hrt/MV_Hrt {Concentration in heart (tissue)}
MC_vHrt = MC_Hrt/MP_Hrtb {Concentration in venous blood leaving heart tissue}
MQ_Hrt = MCO*MQF_Hrt {Heart blood flow rate}

{7.1.5. KIDNEYS}

d/dt(MA_Kid) = MQ_Kid*(MC_a - MC_vKid)
MV_Kid = MW_Kid/Den_Kid {Volume of kidneys}
INIT MA_Kid = 0
MC_Kid = MA_Kid/MV_Kid {Concentration in kidney (tissue)}
MC_vKid = MC_Kid/MP_Kidb {Concentration in venous blood leaving kidney tissue}
MQ_Kid = MCO*MQF_Kid {Kidney blood flow rate}

{7.1.6. SPLEEN}

d/dt(MA_Spl) = MQ_Spl*(MC_a - MC_vSpl)
MV_Spl = MW_Spl/Den_Spl {Volume of spleen}
INIT MA_Spl = 0
MC_Spl = MA_Spl/MV_Spl {Concentration in spleen (tissue)}
MC_vSpl = MC_Spl/MP_Splb {Concentration in venous blood leaving spleen}
MQ_Spl = MCO*MQF_Spl {Spleen blood flow rate}

{7.1.7. GUT}

d/dt(MA_Gut) = MQ_Gut*(MC_a - MC_vGut)
MV_Gut = MW_Gut/Den_Gut {Volume of gut}
INIT MA_Gut = 0
MC_Gut = MA_Gut/MV_Gut {Concentration in gut (tissue)}
MC_vGut = MC_Gut/MP_Gutb {Concentration in venous blood leaving gut}
MQ_Gut = MCO*MQF_Gut {Gut blood flow rate}

{7.1.8. LIVER}

d/dt(MA_Liv) = (MQ_Liv - MQ_Spl - MQ_Gut)*MC_a + MQ_Spl*MC_vSpl + MQ_Gut*MC_vGut -MQ_Liv*MC_vLiv - MCLu_intH*Mfu_b*MC_vLiv {Amount (changes of amount) of drug in liver; flux coming from hepatic artery + flux from spleen + flux from gut - flux leaving liver - amount of drug metabolized in liver}
MV_Liv = MW_Liv/Den_Liv {Volume of liver}
INIT MA_Liv = 0
MC_Liv = MA_Liv/MV_Liv {Concentration in liver (tissue)}
MC_vLiv = MC_Liv/MP_Livb {Concentration in venous blood leaving liver}
MQ_Liv = MCO*MQF_Liv {Total hepatic blood flow rate. including blood flow from hepatic artery. spleen (Q_Spl) and gut (Q_Gut)}

d/dt(MA_metab) = MCLu_intH*Mfu_b*MC_vLiv {Amount of metabolized drug during time, in well
stirred model the unbound concentration in blood leaving liver is assumed to be equal to the
unbound concentration}
INIT MA_metab = 0

{7.1.9. PANCREAS}
d/dt(MA_Pa) = MQ_Pa*(MC_a - MC_vPa)
MV_Pa = MW_Pa/Den_Pa {Volume of pancreas}
INIT MA_Pa = 0
MC_Pa = MA_Pa/MV_Pa {Concentration in pancreas}
MC_vPa = MC_Pa/MP_Pab {Concentration in venous blood leaving pancreas}
MQ_Pa = MCO*MQF_Pa {Pancreas blood flow rate}

```
{7.1.10. ADRENAL GLANDS}
d/dt(MA_Adr) = MQ_Adr *(MC_a - MC_vAdr)
MV_Adr = MW_Adr /Den_Adr {Volume of adrenal glands}
INIT MA_Adr = 0
MC_Adr = MA_Adr /MV_Adr {Concentration in adrenal glands}
MC_vAdr = MC_Adr /MP_Adrb {Concentration in venous blood leaving adrenal glands}
MQ_Adr = MCO*MQF_Adr { adrenal gland blood flow rate}


{7.1.11. SKIN}
d/dt(MA_Sk) = MQ_Sk*(MC_a - MC_vSk)
MV_Sk = MW_Sk/Den_Sk {Volume of skin}
INIT MA_Sk = 0
MC_Sk = MA_Sk/MV_Sk {Concentration in skin (tissue)}
MC_vSk =MC_Sk/MP_Skb {Concentration in venous blood leaving skin tissue}
MQ_Sk = MCO*MQF_Sk {Skin blood flow rate}


{7.1.12. BONES}
d/dt(MA_Bo) = MQ_Bo*(MC_a - MC_vBo) {Amount of drug in the bone tissue}
MV_Bo = MW_Bo*Den_Bo {Volume of bone}
INIT MA_Bo = 0
MC_Bo = MA_Bo/MV_Bo {Concentration in bone (tissue)}
MC_vBo = MC_Bo/MP_Bob {Concentration in venous blood leaving bone tissue}
MQ_Bo = MCO*MQF_Bo {Bone blood flow}


{7.1.13. MUSCLE}

d/dt(MA_Msc) = MQ_Msc*(MC_a - MC_vMsc)
MV_Msc = MW_Msc/Den_Msc {Volume of muscle (tissue)}
INIT MA_Msc = 0
MC_Msc = MA_Msc/MV_Msc {Concentration in muscle (tissue)}
MC_vMsc = MC_Msc/MP_Mscb {Concentration in venous blood leaving muscle tissue}
MQ_Msc = MCO*MQF_Msc {Muscle blood flow rate}


{7.1.14. ADIPOSE TISSUE}

d/dt(MA_Adi) = MQ_Adi*(MC_a - MC_vAdi) {Amount of drug in adipose tissue}
MV_Adi = MW_Adi/Den_Adi{Volume of adipose tissue (L)}
INIT MA_Adi = 0
MC_Adi = MA_Adi/MV_Adi {Concentration in adipose tissue}
MC_vAdi = MC_Adi/MP_Adib {Concentration in venous blood leaving adipose tissue}
MQ_Adi = MCO*MQF_Adi {Adipose tissue blood flow}


{7.1.15. CARCASS}
```

d/dt(MA_Car) = MQ_Car*(MC_a - MC_vCar) {Amount of drug in carcass}
MV_Car = MW_Car/Den_Car {Volume of carcass}
INIT MA_Car = 0
MC_Car = MA_Car/MV_Car {Concentration in carcass}
MC_vCar = MC_Car/MP_Carb {Concentration in venous blood leaving carcass}
MQ_Car = MCO*MQF_Car {Carcass blood flow rate}

{7.1.16. UTERUS}

d/dt(MA_Ute) = MQ_Ute*(MC_a - MC_vUte) {Amount of drug in uterus}
MV_Ute=MW_Ute/Den_Ute {Volume of uterus}
INIT MA_Ute = 0
MC_Ute = MA_Ute /MV_Ute {Concentration in uterus }
MC_vUte = MC_Ute /MP_Uteb {Concentration in venous blood leaving uterus}
MQ_Ute= MCO*MQF_Ute {Uterus blood flow rate}

{7.1.17. MAMMARY}

d/dt(MA_Mam) = MQ_Mam*(MC_a - MC_vMam) {Amount of drug in mammary}
MV_Mam = MW_Mam /Den_Mam {Volume of mammary}
INIT MA_Mam = 0
MC_Mam = MA_Mam /MV_Mam {Concentration in mammary}
MC_vMam = MC_Mam/MP_Mamb {Concentration in venous blood leaving mammary}
MQ_Mam = MCO*MQF_Mam {Mammary blood flow rate}

{7.2. PLACENTA}

{7.2.1. PLACENTA NO 1: the flux of the drug is diffusion mediated; no permeation clearance exists in the placenta}

d/dt(A_Pla) = MQ_Pla*(MC_a-MC_vPla) + FQ_Pla*(FC_a-FC_vPla) {Amount of drug in placenta = maternal arterial concentration - concentration in maternal venous blood leaving placenta + fetal arterial concentration - concentration in fetal venous blood leaving placenta}
V_Pla=MW_Pla/Den_Pla {Volume of placenta}
INIT A_Pla = 0
C_Pla = A_Pla/V_Pla {Concentration in placenta}
MC_vPla = C_Pla /MP_Plab {Concentration in venous blood leaving placenta}
MQ_Pla = MCO*MQF_Pla {Placental blood flow rate}

FC_vPla=C_Pla/FP_Plab {concentration in fetal venous blood leaving placenta}
FQ_Pla=FCO*FQF_Pla {placental blood flow rate}

{7.2.2. PLACENTA NO 2: placenta is divided into two compartments; the flux of the drug between these compartments is mediated by permeation clearance in the placenta and the clearance from maternal to fetal side can be equal to or different from clearance from fetal to maternal side}

CL_Pla_MF = 10 {L/h}
CL_PlaFM = 10 {L/h}

J_Pla = CL_Pla_MF * MC_Pla/Kpu_Pla – CL_Pla_FM*FC_Pla/Kpu_Pla {flux from maternal to fetal compartment of placenta}

{7.2.2.1 Maternal compartment of the placenta}

d/dt(MA_Pla) = MQ_Pla*(MC_a - MC_vPla) - J_Pla {amount of drug in maternal compartment of placenta}
MV_Pla = MW_Pla/Den_Pla*0.5 {volume of maternal compartment of placenta}
INIT MA_Pla = 0
MC_Pla = MA_Pla /MV_Pla {concentration in maternal compartment of placenta}
MC_vPla = MC_Pla/MP_Plab {concentration in venous blood leaving maternal compartment of placenta}
MQ_Pla = MCO*MQF_Pla {placental blood flow rate}

{7.2.2.2 Fetal compartment of the placenta}

d/dt(FA_Pla) = FQ_Pla*(FC_a - FC_vPla) + J_Pla {amount of drug in maternal compartment of placenta}
FV_Pla = MW_Pla/Den_Pla*0.5 {volume of fetal compartment of placenta}
INIT FA_Pla = 0
FC_Pla = FA_Pla /FV_Pla {concentration in fetal compartment of placenta}
FC_vPla = FC_Pla/FP_Plab {concentration in venous blood leaving fetal compartment of placenta}
FQ_Pla = FCO*FQF_Pla {placental blood flow rate}

{7.3. FETAL COMPARTMENTS}

{7.3.1. Blood and plasma}

{7.3.1.1. Arterial blood}

d/dt(FA_a) = FQ_Lu*(FC_vLu) + FCO*(1 - FQF_Lu)*FC_v - FCO* FC_a{Differential equation for the amount of drug (change in the

```
amount of drug) in arterial blood: flux coming from lungs and flux coming from venous blood minus flux leaving arterial compartment}
FV_a = FW_a/Den_a {Volume of arterial blood (L). defined with the density of arterial blood}
FC_a = FA_a/FV_a {Concentration in arterial blood}
INIT FA_a = 0 {Initial amount of drug in the arterial blood}
FC_ap = FC_a/FBPratio {Concentration in arterial plasma is obtained by dividing venous blood
concentration with blood/plasma concentration ratio}
Log_FC_ap = IF (FC_ap=0) THEN 0 ELSE Log10(FC_ap)


{7.3.1.2. Venous blood and venous plasma}

d/dt(FA_v) = FBolusRate + FInfRate + QF_dvPla*FQ_Pla*FC_vPla+FQ_Br*FC_vBr + FQ_Hrt*FC_vHrt+ FQ_Kid*FC_vKid + FQ_Liv*FC_vLiv + QF_dvPv*FQ_Spl*FC_vSpl + QF_dvPv*FQ_Gut*FC_vGut + FQ_Pa*FC_vPa + FQ_Adr*FC_vAdr + FQ_Sk*FC_vSk + FQ_Bo*FC_vBo + FQ_Msc*FC_vMsc + FQ_Adi*FC_vAdi + FQ_Car*FC_vCar - FCO*FC_v

{Amount of drug in venous blood. fluxes from placenta and other compartments - flux leaving venous blood to lungs}

INIT FA_v = 0
FV_v = FW_v/Den_v {Volume of venous blood (L). defined with the density
of venous blood}
FC_v = FA_v/FV_v {Concentration in venous blood}
FC_vp = FC_v/FBPratio {Concentration in venous plasma is obtained by dividing venous blood
concentration with blood/plasma concentration ratio}


{7.3.2 LUNGS}

d/dt(FA_lu)= FQ_Lu*(FC_v-FC_vLu) {Amount of drug in lungs}
FV_Lu= FW_Lu/Den_Lu {Volume of lungs (L)}
INIT FA_Lu=0
FC_Lu= FA_Lu/FV_Lu {Concentration in lung tissue}
FC_vLu=FC_Lu/FP_Lub {Concentration in venous blood leaving lungs}
FQ_Lu= FCO*FQF_Lu {Lung blood flow}


{7.3.3. BRAIN}

d/dt(FA_Br)= FQ_Br*(FC_a - FC_vBr) {Amount of drug in brain tissue}
FV_Br = FW_Br*Den_Br {Volume of brain}
INIT FA_Br = 0
FC_Br = FA_Br/FV_Br {Concentration in brain (tissue)}
FC_vBr = FC_Br/FP_Brb {Concentration in venous blood leaving brain tissue}
FQ_Br = FCO*FQF_Br {Brain blood flow}
```

{7.3.4. HEART}

d/dt(FA_Hrt) = FQ_Hrt*(FC_a - FC_vHrt) {Amount of drug in heart}
FV_Hrt = FW_Hrt/Den_Hrt {Volume of heart}
INIT FA_Hrt = 0
FC_Hrt = FA_Hrt/FV_Hrt {Concentration in heart (tissue)}
FC_vHrt = FC_Hrt/FP_Hrtb {Concentration in venous blood leaving heart tissue}
FQ_Hrt = FCO*FQF_Hrt {Heart blood flow rate}

{7.3.5. KIDNEYS}

d/dt(FA_Kid) = FQ_Kid*(FC_a - FC_vKid)
FV_Kid = FW_Kid/Den_Kid {Volume of kidneys}
INIT FA_Kid = 0
FC_Kid = FA_Kid/FV_Kid {Concentration in kidney (tissue)}
FC_vKid = FC_Kid/FP_Kidb {Concentration in venous blood leaving kidney tissue}
FQ_Kid = FCO*FQF_Kid {Kidney blood flow rate}

{7.3.6. SPLEEN}

d/dt(FA_Spl) = FQ_Spl*(FC_a - FC_vSpl)
FV_Spl = FW_Spl/Den_Spl {Volume of spleen}
INIT FA_Spl = 0
FC_Spl = FA_Spl/FV_Spl {Concentration in spleen (tissue)}
FC_vSpl = FC_Spl/FP_Splb {Concentration in venous blood leaving spleen}
FQ_Spl = FCO*FQF_Spl {Spleen blood flow rate}

{7.3.7. GUT}

d/dt(FA_Gut) = FQ_Gut*(FC_a - FC_vGut)
FV_Gut = FW_Gut/Den_Gut {Volume of gut}
INIT FA_Gut = 0
FC_Gut = FA_Gut/FV_Gut {Concentration in gut (tissue)}
FC_vGut = FC_Gut/FP_Gutb {Concentration in venous blood leaving gut}
FQ_Gut = FCO*FQF_Gut {Gut blood flow rate}

{7.3.8. LIVER}

d/dt(FA_Liv) = ((1-QF_dvPla)*FQ_Pla)*FC_vPla + (FQ_Liv - (1-QF_dvPv)*FQ_Spl - (1-QF_dvPv)*FQ_Gut - (1-QF_dvPla)*FQ_Pla)*FC_a + (1-QF_dvPv)*FQ_Spl*FC_vSpl + (1-QF_dvPv)* FQ_Gut*FC_vGut -FQ_Liv*FC_vLiv - FCLu_intH*Ffu_b*FC_vLiv {Amount (changes of amount) of drug in liver; flux coming from placenta + hepatic artery + flux from spleen + flux from gut - flux leaving liver - amount of drug metabolized in liver}
FV_Liv = FW_Liv/Den_Liv {Volume of liver}
INIT FA_Liv = 0
FC_Liv = FA_Liv/FV_Liv {Concentration in liver (tissue)}

```
FC_vLiv = FC_Liv/FP_Livb {Concentration in venous blood leaving liver}
FQ_Liv = FCO*FQF_Liv {Total hepatic blood flow rate. including blood flow from hepatic artery. spleen (Q_Spl) and gut (Q_Gut)}

d/dt(FA_metab) = FCLu_intH*Ffu_b*FC_vLiv {Amount of metabolized drug during time, in well
stirred model the unbound concentration in blood leaving liver is assumed to be equal to the
unbound concentration}
INIT FA_metab = 0


{7.3.9. PANCREAS}

d/dt(FA_Pa) = FQ_Pa*(FC_a - FC_vPa)
FV_Pa = FW_Pa/Den_Pa {Volume of pancreas}
INIT FA_Pa = 0
FC_Pa = FA_Pa/FV_Pa {Concentration in pancreas}
FC_vPa = FC_Pa/FP_Pab {Concentration in venous blood leaving pancreas}
FQ_Pa = FCO*FQF_Pa {Pancreas blood flow rate}


{7.3.10. ADRENAL GLANDS}

d/dt(FA_Adr) = FQ_Adr *(FC_a - FC_vAdr)
FV_Adr = FW_Adr /Den_Adr {Volume of adrenal glands}
INIT FA_Adr = 0
FC_Adr = FA_Adr /FV_Adr {Concentration in adrenal glands}
FC_vAdr = FC_Adr /FP_Adrb {Concentration in venous blood leaving adrenal glands}
FQ_Adr = FCO*FQF_Adr { adrenal gland blood flow rate}


{7.3.11. SKIN}

d/dt(FA_Sk) = FQ_Sk*(FC_a - FC_vSk)
FV_Sk = FW_Sk/Den_Sk {Volume of skin}
INIT FA_Sk = 0
FC_Sk = FA_Sk/FV_Sk {Concentration in skin (tissue)}
FC_vSk =FC_Sk/FP_Skb {Concentration in venous blood leaving skin tissue}
FQ_Sk = FCO*FQF_Sk {Skin blood flow rate}

{7.3.12. BONES}

d/dt(FA_Bo) = FQ_Bo*(FC_a - FC_vBo) {Amount of drug in the bone tissue}
FV_Bo = FW_Bo*Den_Bo {Volume of bone}
INIT FA_Bo = 0
FC_Bo = FA_Bo/FV_Bo {Concentration in bone (tissue)}
FC_vBo = FC_Bo/FP_Bob {Concentration in venous blood leaving bone tissue}
FQ_Bo = FCO*FQF_Bo {Bone blood flow}
```

{7.3.13. MUSCLE}

d/dt(FA_Msc) = FQ_Msc*(FC_a - FC_vMsc)
FV_Msc = FW_Msc/Den_Msc {Volume of muscle (tissue)}
INIT FA_Msc = 0
FC_Msc = FA_Msc/FV_Msc {Concentration in muscle (tissue)}
FC_vMsc = FC_Msc/FP_Mscb {Concentration in venous blood leaving muscle tissue}
FQ_Msc = FCO*FQF_Msc {Muscle blood flow rate}

{7.3.14. ADIPOSE TISSUE}

D/dt(FA_Adi) = FQ_Adi*(FC_a - FC_vAdi) {Amount of drug in adipose tissue}
FV_Adi = FW_Adi/Den_Adi{Volume of adipose tissue (L)}
INIT FA_Adi = 0
FC_Adi = FA_Adi/FV_Adi {Concentration in adipose tissue}
FC_vAdi = FC_Adi/FP_Adib {Concentration in venous blood leaving adipose tissue}
FQ_Adi = FCO*FQF_Adi {Adipose tissue blood flow}

{7.3.15. CARCASS}

d/dt(FA_Car) = FQ_Car*(FC_a - FC_vCar) {Amount of drug in carcass}
FV_Car = FW_Car/Den_Car {Volume of carcass}
INIT FA_Car = 0
FC_Car = FA_Car/FV_Car {Concentration in carcass}
FC_vCar = FC_Car/FP_Carb {Concentration in venous blood leaving carcass}
FQ_Car = FCO*FQF_Car {Carcass blood flow rate}

{8. SUMMING UP PARAMETERS}

{8.1. AMOUNT OF DRUG}

Sum_Drug = MA_a+MA_v+MA_Lu+MA_Br+MA_Hrt+MA_Kid+MA_Liv+MA_Spl+MA_Gut+MA_Pa +MA_Adr+MA_Sk+MA_Bo+MA_Msc+MA_Adi+MA_Car+MA_Ute+MA_Mam +FA_a+FA_v+FA_Lu+FA_Br+FA_Hrt+FA_Kid+FA_Liv+FA_Spl+FA_Gut+FA_Pa+FA_Adr+FA_Sk+FA_Bo+FA_Msc+FA_Adi+FA_Car+MA_toBol +FA_toBol+MA_toInf+FA_toInf + MA_metab+FA_metab +**A_Pla + MA_Pla + FA_Pla**

{Sums up the amounts of drug circulating in system, amount of drug to be infused/injected and the amount of drug that has been metabolized. This should be the same as the initial amount of drug in the system (Dose or INIT A_Drug), which ensures that no drug is disappearing.}

MSum_Drug= MA_a+MA_v+MA_Lu+MA_Br+MA_Hrt+MA_Kid+MA_Liv+MA_Spl+MA_Gut+MA_Pa +MA_Adr+MA_Sk+MA_Bo+MA_Msc+MA_Adi+MA_Car+MA_Ute+MA_Mam+MA_toBol + MA_toInf+MA_metab + **A_Pla + MA_Pla**

FSum_drug=
FA_a+FA_v+FA_Lu+FA_Br+FA_Hrt+FA_Kid+FA_Liv+FA_Spl+FA_Gut+FA_Pa+FA_Adr+FA_Sk+FA_Bo+FA_Msc+FA_Adi+FA_Car+FA_toBol + FA_toInf +FA_metab **+ FA_Pla**

{8.2. BLOOD FLOWS}

{8.2.1. Maternal blood flows}
MSum_bflow=MQ_Br+MQ_Hrt+MQ_Kid+MQ_Liv+MQ_Pa+MQ_Adr+MQ_Sk+MQ_Bo+MQ_Msc+MQ_Adi+MQ_Car+MQ_Ute+MQ_Mam+MQ_Pla {Sums up the blood flows to tissues/organs. The sum should match with the total cardiac output, which ensures that no blood flow is disappearing anywhere.}

{8.2.2. Fetal blood flows}
FSum_bflow=FQ_Br+FQ_Hrt+FQ_Kid+FQ_Liv+QF_dvPv*FQ_Spl+QF_dvPv*FQ_Gut+FQ_Pa+FQ_Adr+FQ_Sk+FQ_Bo+FQ_Msc+FQ_Adi+FQ_Car+FQ_Pla - (1-QF_dvPla)*FQ_pla {- (1-QF_dvPv)*FQ_Spl - (1-QF_dvPv)*FQ_Gut} {Sums up the blood flows to tissues/organs. The sum should match with the total cardiac output, which ensures that no blood flow is disappearing anywhere.}

{8.3. APPARENT VOLUME OF DISTRIBUTION}

{8.3.1. Maternal apparent volume of distribution}

MVd_p= (1-mHct)*(MV_a+MV_v) {Apparent volume of distribution of plasma, 1-Hct describes the fraction of plasma from the whole blood volume}
MVd_Lu=MV_Lu*MP_Lup {Apparent volume of distribution of lungs, volume of lungs multiplied with lung/plasma partition coefficient}
MVd_Br=MV_Br*MP_Brp {Apparent volume of distribution of brain}
Mvd_Hrt=MV_Hrt*MP_Hrtp {Apparent volume of distribution of heart}
MVd_Kid=MV_Kid*MP_Kidp {Apparent volume of distribution of kidneys}
MVd_Liv=MV_Liv*MP_Livp {Apparent volume of distribution of liver}
MVd_Spl=MV_Spl*MP_Splp {Apparent volume of distribution of spleen}
MVd_Gut=MV_Gut*MP_Gutp {Apparent volume of distribution of gut}
MVd_Pa=MV_Pa*MP_Pap{Apparent volume of distribution of pancreas}
MVd_Adr=MV_Adr*MP_Adrp {Apparent volume of distribution of adrenals}
MVd_Sk=MV_Sk*MP_Skp {Apparent volume of distribution of skin}
MVd_Bo=MV_Bo*MP_Bop{Apparent volume of distribution of bone}
MVd_Msc=MV_Msc*MP_Mscp{Apparent volume of distribution of muscle}
MVd_Adi=MV_Adi*MP_Adip{Apparent volume of distribution of adipose tissue}
MVd_Car=MV_Car*MP_Carp{Apparent volume of distribution of carcass}
MVd_Ute=MV_Ute*MP_Utep{Apparent volume of distribution of uterus}
MVd_Mam=MV_Mam*MP_Mamp {Apparent volume of distribution of mammary}
MVd_Pla=V_Pla*MP_Plap{Apparent volume of distribution of placenta}

MVss= MVd_p + MVd_Lu+MVd_Br+MVd_Hrt + MVd_Kid+ MVd_Liv+MVd_Spl+MVd_Gut+MVd_Pa+MVd_Adr+MVd_Sk+MVd_Bo+MVd_Msc+MVd_Adi+MVD_Car+MVd_Ute+MVd_Mam+MVd_Pla

{Apparent volume of distribution at steady state (in liters), this is based on assumption that at
equilibrium amount of drug in tissues is in relation to plasma concentration.}

MVss_kg = MVss/MBW {Apparent volume of distribution at steady state per body weight (L/kg)}

{8.3.2. Fetal apparent volume of distribution}

FVd_p= (1-FHct)*(FV_a+FV_v) {Apparent volume of distribution of plasma, 1-Hct describes
the fraction of plasma from the whole blood volume}

FVd_Lu=FV_Lu*FP_Lup {Apparent volume of distribution of lungs, volume of lungs multiplied with lung/plasma partition coefficient}
FVd_Br=FV_Br*FP_Brp {Apparent volume of distribution of brain}
Fvd_Hrt=FV_Hrt*FP_Hrtp {Apparent volume of distribution of heart}
FVd_Kid=FV_Kid*FP_Kidp {Apparent volume of distribution of kidneys}
FVd_Liv=FV_Liv*FP_Livp {Apparent volume of distribution of liver}
FVd_Spl=FV_Spl*FP_Splp {Apparent volume of distribution of spleen}
FVd_Gut=FV_Gut*FP_Gutp {Apparent volume of distribution of gut}
FVd_Pa=FV_Pa*FP_Pap{Apparent volume of distribution of pancreas}
FVd_Adr=FV_Adr*FP_Adrp {Apparent volume of distribution of adrenals}
FVd_Sk=FV_Sk*FP_Skp {Apparent volume of distribution of skin}
FVd_Bo=FV_Bo*FP_Bop{Apparent volume of distribution of bone}
FVd_Msc=FV_Msc*FP_Mscp{Apparent volume of distribution of muscle}
FVd_Adi=FV_Adi*FP_Adip{Apparent volume of distribution of adipose tissue}
FVd_Car=FV_Car*FP_Carp{Apparent volume of distribution of carcass}

{FVd_Pla=FV_Pla*FP_Plap{Apparent volume of distribution of placenta} }

FVss= FVd_p + FVd_Lu+FVd_Br+FVd_Hrt + FVd_Kid+ FVd_Liv+FVd_Spl+FVd_Gut+FVd_Pa+FVd_Adr+FVd_Sk+FVd_Bo+FVd_Msc+FVd_Adi+FVD_Car{+FVd_Pla}

{Apparent volume of distribution at steady state (in liters), this is based on assumption that at equilibrium amount of drug in tissues is in relation to plasma concentration.}

FVss_kg= FVss/FBW {Apparent volume of distribution at steady state per body weight (L/kg) }

{8.4. AREA UNDER THE CONCENTRATION-TIME CURVE = AUC}

{8.4.1. Maternal AUC}

d/dt(AUC_M) = MC_vp {Area under the plasma concentration - time curve for accounting total systemic
exposure for the simulation time (ìg/(L*h)). When iterating plasma concentration - time
curve, we get the area under the curve at different time points.}
INIT AUC_M = 0

{8.4.2. Fetal AUC}

d/dt(AUC_F)= FC_vp {Area under the plasma concentration - time curve for accounting total systemic
exposure for the simulation time (ìg/(L*h)). When iterating plasma concentration - time
curve, we get the area under the curve at different time points.}

INIT AUC_F=0