Aus der Universitätsklinik Ulm
Zentrum für Chirurgie
Klinik für Allgemein-, Viszeral- und Transplantationschirurgie
Direktor: Prof. Dr. med. Doris Henne-Bruns

PHARMAKOKINETIK UND PHARMAKODYNAMIK VON NATRIUM-MYCOPHENOLAT (EC-MPS) UNTER KO-MEDIKATION MIT CYCLOSPORIN IN DER FRÜHPHASE NACH NIERENTRANSPLANTATION

Dissertation

zur Erlangung des Doktorgrades der Medizin

der

Medizinischen Fakultät

der

Universität Ulm

vorgelegt von

Amir Reza Zarghom
aus Bakhtaran im Iran
2012

Amtierender Dekan:

1. Berichterstatter: Herr PD Dr. med. Jens Mayer

2. Berichterstatter: Frau PD Dr. med. Sylvia Stracke

Tag der Promotion: 20.04.2012

Widmung

Meinen Eltern gewidmet

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis III
1. Einleitung 1
1.1 Die Geschichte der immunsuppressiven Therapie bis zum Einsatz von-Mycophenolatmofetil (MMF) und Natrium-Mycophenolat (EC-MPS) 1
1.2 Wirkmechanismus der Mycophenolsäure 3
1.3 Metabolisierung von Mycophenolsäure 4
1.4 Pharmakokinetik und Pharmakodynamik von MMF und EC-MPS 5
1.5 Weitere Wirkstoffe in der immunsuppressiven Therapie 6
1.5.1 Cyclosporin A 6
1.5.2 Glukokortikoide (Prednisolon) 7
1.6 Wechselwirkung von MPA mit anderen Wirkstoffen 7
1.7 Zielsetzung der Arbeit 8
2. Material und Methoden 9
2.1 Patientencharakteristika 9
2.2 Immunsuppressive Therapie 9
2.3 Ein- und Ausschlusskriterien 10
2.4 Pharmakokinetisches Protokoll 10
2.5 Pharmakokinetische Analysen 11
2.6 Klinisches Monitoring 12
2.7 Beobachtungszeitraum und Endpunkte 12
2.8 Laborchemische Untersuchungsmethoden 13
2.8.1 Abnahme und Aufbewahrung der Proben für die Pharmakokinetik und Pharmakodynamik 13
2.8.2 Lymphozyten-Isolierung aus EDTA -Vollblut 14
2.8.3 Bestimmung der IMPDH-Aktivität 15
2.8.4 Biochemische Analysen 16
2.8.5 HPLC (= High Performance Liquid Chromatography) 16
2.9 Auswertung 17
2.10 Verdünnungsgrenzen und Wiederholungsanalysen 18
3. Ergebnisse 20
3.1 Patienten 20
3.2 Pharmakokinetische Ergebnisse 21

3.2.1 MPA 21
3.2.2 Freies MPA (fMPA) 24
3.2.3 MPAG 26
3.2.4 AcMPAG 28
3.2.5 IMPDH-Aktivität 30
3.3 Nierenfunktion 32
3.4 Abstoßungsreaktionen 33
3.5 Nebenwirkungen 33
4. Diskussion 35
4.1 Interindividuelle Variabilität der Pharmakokinetik und Pharmakodynamik von EC-MPS 35
4.2 MPA-AUC_{12h} 37
4.3 IMPDH-Aktivität 38
4.4 Nierenfunktion 39
4.5 Abstoßungsreaktionen 40
4.6 Nebenwirkungen 41
5. Zusammenfassung 42
6. Literatur 43
Abbildungsverzeichnis 53
Tabellenverzeichnis 53
Danksagung 55
Lebenslauf ..... Fehler! Textmarke nicht definiert.

Abkürzungsverzeichnis

AUC = area under the curve (Fläche unter der Konzentrations-Zeit-Kurve in µg·h/ml)

C_x = Konzentration zum Zeitpunkt X (µg/ml)

C_{max} = maximale Konzentration (µg/ml)

CL = Clearance

d = day (Tag)

DNA = desoxyribonucleic acid (DNS = Desoxyribonukleinsäure)

EC-MPS = enteric coated mycophenolate sodium (Natrium-Mycophenolat

et al. = et alii (und andere)

GFR = Glomerulären Filtrationsrate

GMP = Guanosinmonophosphat

HPLC = high-Performance liquid chromatography (Hochleistungs-Flüssigkeitschromatographie = ein Trennverfahren in der analytischen Chemie)

IMP = Inosinmonophosphat

IMPDH = Inosinmonophosphatdehydrogenase

mL= Milliliter

MMF = Mycophenolatmofetil

MNZ = mononukleäre Zellen

MPA = Mycophenolic acid (engl. für Mycophenolsäure)

fMPA = freie Mycophenolsäure

MPAG = Mycophenolat Glucuronid

P = Wahrscheinlichkeit eines Ereignisses (hier benutzt beim statistischen Vergleich von Werten aus zwei Beobachtungen; P ist die Wahrscheinlichkeit, dass

eine beobachtete Differenz zwischen zwei Werten in zwei Gruppen zufälligerweise zustande gekommen ist, obwohl in Wirklichkeit kein Unterschied besteht).

PMZ = periphere mononukleäre Zellen

RNA = ribonucleic acid (RNS=Ribonukleinsäure)

T_{max} = Zeit bei der die maximale Konzentration beobachtet wurde.

XMP = Xanthinmonophosphat

1. Einleitung

1.1 Die Geschichte der immunsuppressiven Therapie bis zum Einsatz von-Mycophenolatmofetil (MMF) und Natrium-Mycophenolat (EC-MPS)

Nach jeder Transplantation besteht das Risiko und die Gefahr einer akuten bzw. chronischen Abstoßungsreaktion. Um dieses Risiko zu minimieren wird standartmäßig postoperativ und in der Nachsorgephase das Immunsystem medikamentös supprimiert und somit eine Schädigung des Transplantates durch die körpereigene Abwehr verhindert bzw. hinaus verzögert. Doch damit erhöht sich das Risiko akuter Abstoßungsreaktionen, der Entstehung von Infektionskrankheiten und des Auftretens von Malignitäten. Vor allem die Prognosen für Infektionen und Episoden akuter Abstoßungsreaktionen sind negativ.
Drei wichtige Vorgänge der körpereigenen Abwehr, die durch die medikamentöse Immunsuppressionstherapie unterdrückt werden sollen, sind:

1) Zusammenspiel der T-Lymphozyten mit Zellen, die die Antigene des fremden Organs dem Immunsystem des Empfängers präsentieren.
2) Das Erkennen dieser Antigene über spezielle Rezeptoren und hieraus
3) die resultierenden zellstimulierenden Signale.

Anfangs setzte man Azathioprin, ein Purinanalogon, das 1968 in den USA eingesetzt wurde und marktführend war, ein [21]. Allison und Eugui suchten Anfang der 80er Jahre ein Medikament mit hoher immunsuppresiver Potenz, jedoch geringeren Nebenwirkungen [4]. Sie bevorzugten Medikamente die spezifisch auf die lymphozytäre Zellreihe wirkten und eine starke, jedoch reversible antiproliferative Wirkung hatten. Hierbei kamen die Hemmstoffe der Nukleotid-Synthese, die für die Zellproliferation unverzichtbar sind in Betracht.
Untersuchungen an Kindern mit unterschiedlichen erblichen Störungen der Purinbasensynthese brachten die Erkenntnis, dass die „de novo Purinbasen-synthese“ und nicht der „salvage Pathway“, über den die meisten Körperzellen verfügen für die Lymphozytenproliferation existentiell wichtig ist [1].

Die „de novo Purinsynthese“ ist vergleichbar mit einem Art Recycling-Vorgang, in dem Purinbasen aus den Abbauprodukten derselben wiederhergestellt werden. Das Fermentationsprodukt einiger Penicillium-Spezies, Mycophenolsäure (MPA) [22] ist ein solcher Hemmstoff der „de novo Purinbasensynthese“ (Strukturformel siehe Abbildung 1).

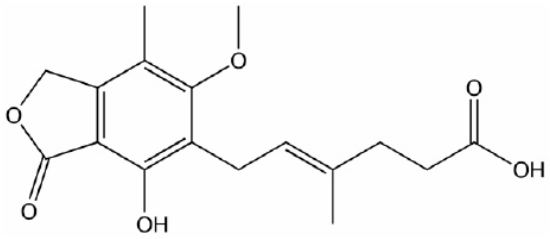

Abbildung 1: Strukturformel: Mycophenolsäure

Anfangs wurde MPA als Chemotherapeutikum eingesetzt, bis in den 60er und 70er Jahren die immunsuppressive Potenz des Wirkstoffes zufällig entdeckt wurde [42,49]. In der Dermatologie zum Beispiel wurde MPA in der Psoriasis-Therapie [29] eingesetzt. Auffällig war, dass Patienten, die länger als 13 Jahre eine MPA-Dosis von 2-7 g/d eingenommen hatten, keine gravierenden Nebenwirkungen zeigten [18]. Diese Tatsache war ausschlaggebend für erste Untersuchungen mit MPA. Schließlich wurde in *in vitro* und *in vivo* Versuchen an Tieren die selektive Wirkung auf Lymphozyten und die immunsuppressive Potenz bestätigt [19,20].

Der Morpholinoethylester von MPA wurde in der medikamentösen Therapie eingesetzt, um die orale Bioverfügbarkeit der MPA zu steigern, und war später unter dem Namen Mycophenolatmofetil (MMF) erhältlich [39]. MMF erhielt seine erste Zulassung als Immunsuppressivum bei nierentransplantierten Patienten im Jahre 1995 und ist inzwischen das am häufigsten verwendete antiproliferative Präparat zur Immunsuppressionstherapie sowohl bei nierentransplantierten als auch bei pankreas-, leber- und herztransplantierten Patienten.

MMF hat im Vergleich zu anderen häufig eingesetzten Immunsuppressiva ein besseres Nebenwirkungs- und Sicherheitsprofil. Die wichtigsten Nebenwirkungen, gastrointestinale Störungen, können jedoch dosislimitierend sein.

Um die unerwünschten gastrointestinalen Nebenwirkungen zu verringern bzw. zu verhindern hat man in jüngster Zeit ein neues magensaftresistentes Präparat (Natrium-Mycophenolat = EC-MPS) auf der Grundlage desselben Wirkstoffs

(MPA) entwickelt und auf dem Markt gebracht. Die ersten klinischen Studien haben gezeigt, dass das neue Präparat bei nierentransplantierten Patienten genauso effektiv und zuverlässig ist wie MMF [9,35]. Zurzeit wird der Einsatz von EC-MPS in der immunsuppressiven Therapie durch intensive wissenschaftliche Untersuchungen erforscht [9,35,40,44].

1.2 Wirkmechanismus der Mycophenolsäure

Die Purin-Nukleotide Adenin und Guanin spielen eine wichtige Rolle für die Zellproliferation, Genexpression, Proteinsynthese und den Zell-Stoffwechsel.
In menschliche Zellen werden die Purinnukleotide über zwei verschiedene Wege hergestellt:

1. durch De-novo-Synthese oder
2. über den Salvage Pathway [23-27].

Im De-novo-Syntheseweg werden Purinnukleotide aus einfachen Vorstufen hergestellt. Das Enzym 1-Inosinmonophosphatdehydrogenase (1-IMPDH) vermittelt den geschwindigkeitsbestimmenden Schritt in der Umwandlung von Inosin-Monophosphat (IMP) zu Guanosinmonophosphat (GMP), welches ein wichtiges Zwischenprodukt in der Synthese von Lymphozyten-DNA, RNA, Proteinen und Glykoproteinen ist.
Es gibt zwei verschiedene Isoformen der IMPDH, IMPDH-Typ I und IMPDH-Typ II. Im Allgemeinen findet man IMPDH-Typ I in sich nicht reproduzierenden Zellen, IMPDH-Typ II ist das vorherrschende Enzym in aktivierten Lymphozyten [45]. MPA hemmt IMPDH-Typ II etwa fünfmal stärker als IMPDH-Typ I.
Im Salvage Pathway werden die Purine durch Recycling zuvor generierter Purinbasen synthetisiert. Dieser Weg ist unabhängig von der IMPDH-Aktivität [3,5,45].
Die immunsuppressive Wirkung von Mycophenolsäure beruht auf der nicht kompetitiven Hemmung der IMPHD. Während die meisten menschlichen Zellen beide Biosynthesewege zur Purinsynthese einsetzen können, sind die proliferierenden Lymphozyten im Wesentlichen auf den De-novo-Biosyntheseweg

angewiesen. Deshalb sind sie äußerst anfällig für eine Erschöpfung der Purinbasen durch die MPA-Wirkung [3,5,45]. Die Hemmung der IMPDH-Typ II in vitro verhindert den Übergang von der G1- in die S-Phase des Zellzyklus mit konsekutiver Hemmung sowohl der T- als auch der B-Lymphozyten-Proliferation nach Kontakt mit Antigenen [2,3,5,19,38,45,46,69,71,72].
Durch Ausübung der beschriebenen zytostatischen Effekte auf T- und B-Lymphozyten wird die Antikörper-Produktion, und somit eine Abstoßungsreaktion verhindert.

Bemerkenswert ist es, dass MPA keine Auswirkungen auf die Produktion oder Freisetzung von Toxinen hat. Die chemische Eigenschaft des Natrium-Mycophenolats ist vergleichbar mit einem magensaftresistenteren MPA-Prodrug.

1.3 Metabolisierung von Mycophenolsäure

MPA unterliegt einem First-Pass-Effekt und wird in der Leber durch das Enzym Glucuronyltransferase zum inaktiven Metaboliten Mycophenolsäure-Glukuronid (MPAG) konjugiert [43]. Für die Pharmakokinetik ist wichtig, dass MPA im enterohepatischen Kreislauf (engl. EHC = enterohepatic (re-)circulation) zirkuliert. Dies bedeutet, dass MPAG durch die Galle ausgeschieden wird und im Darm wieder zu MPA hydrolysiert und anschließend resorbiert werden kann [37]. Diese Tatsache erklärt auch den zweiten MPA-Konzentrationshöhepunkt, welcher nach 6-8 h nach der Verabreichung beobachtet wird. Hierdurch wird das Cytochrom P-450-System weder induziert noch gehemmt. Ein weiteres Metabolit, das ebenfalls, allerdings nur in geringem Maße, in diesem Glucuronidierungs-Prozess entsteht, hat eine ähnliche pharmakologische Aktivität wie MPA. Mycophenolsäure und MPAG werden biliär sowie über Urin und Fäzes ausgeschieden. Die mittlere Eliminationshalbwertszeit von MPA ist 17,9 Stunden und die von MMF 13-17 Stunden [13,43]. Die mittlere Halbwertszeit von MPAG liegt bei ca. 15,7 h bei einer durchschnittlichen Clearance von 0,45 L/h [15,30,51].

Mycophenolsäure weist eine hohe Plasmaalbuminbindung von ca. 97-99 % auf. Die Konzentration an ungebundenem MPA kann bei Hypoalbuminämie (z. B. bei

Nieren- und/oder Leberinsuffizienz) oder in Anwesenheit von andere stark proteinbindende Medikamente (z. B. Aspirin, Warfarin) zunehmen [48,60].
Bei Transplantat-Empfängern mit stabiler Nierenfunktion ist die Gesamtmenge an dem Organismus zugeführter MPA negativ mit der Nierenfunktion assoziiert. Im Gegensatz hierzu ist bei schwerer Transplantat-Dysfunktion aufgrund der stark angestiegenen freien MPA-Fraktion die MPA-Clearance erhöht [44].

1.4 Pharmakokinetik und Pharmakodynamik von MMF und EC-MPS

MMF und EC-MPS unterscheiden sich in ihrer Kinetik im Hinblick auf die Freisetzungsgeschwindigkeit des Wirkstoffs aus dem Präparat.
Aufgrund der magensaftresistentere Eigenschaft des EC-MPS, das im sauren Milieu des Magens unlöslich und im neutralen pH-Wert des Dünndarms sehr gut löslich ist, tritt eine Verzögerung der T_{max} und eine Erniedrigung der C_{max} der MPA ein [7,9]. Die maximale MPA-Plasmakonzentration tritt innerhalb von 1 - 1,5 Stunden nach oraler Gabe von MMF, sowie zwischen 1,5 - 2,5 Stunden nach EC-MPS-Gabe auf [13,45].
Um vergleichbare systemische Konzentrationsspiegel zu erreichen, ist die orale Gabe von 1000 mg MMF bzw. von 720 mg EC-MPS pro Tag notwendig, die eine praktisch äquimolare Menge MPA enthalten [11].
Nur wenige Daten sind vorhanden zur Pharmakokinetik von EC-MPS bei nierentransplantierten Empfängern in der Frühphase (<3 Wochen nach der Transplantation). Im Hinblick auf Ergebnisse, Optimierung und Individualisierung der Therapie ist allerdings das Vorgehen in der Frühphase besonders wichtig [66].

EC-MPS

Die Ergebnisse der prospektiven Konzentrations-Kontroll-Studien der Nierentransplantatempfänger, die Cyclosporin und MMF als Kombinationstherapie erhielten, zeigten, dass das Risiko einer akuten Abstoßungsreaktion durch höhere MPA-Exposition von mindestens 30-40 mg x h/l (AUC 12 h) verringert werden kann [41,66]. Darüber hinaus berichten einige Forscher einen Zusammenhang zwischen Prä-Dosis MPA Konzentration und dem klinischen Outcome (Nierenfunktion, Nebenwirkungen….etc.). Von den Autoren wurde deshalb ein

therapeutischer Bereich von 1,0-3,5 mg/L empfohlen. Solche Untersuchungsdaten fehlen zurzeit für EC-MPS.

Aufgrund der zuvor beschriebenen vergleichbaren Bioäquivalenz und therapeutischen Äquivalenz mit MMF [6,40,44] kann davon ausgegangen werden, dass die therapeutische Wirksamkeit beider Präparate / Medikamente eine ähnliche MPA-Exposition aufweisen.
Im Gegensatz dazu ist jedoch zu erwarten, dass die verzögerte MPA- C_{max} einen Einfluss auf die jeweilige Prä-Dosis-Konzentration hat. Dies wurde kürzlich von Budde et. al. bei unauffälligen und stabil nierentransplantierten Empfänger nachgewiesen [9].
Deshalb kann man davon ausgehen, dass der Ziel-Prä-Dosis-Konzentrationsbereich für MMF und für EC-MPS unterschiedlich ist. Andererseits ist nicht klar, ob weitere Parameter wie C_{max} oder die C2-Konzentration, die für das Monitoring von MMF keine Rolle spielen, nicht eine relevante Rolle im Monitoring von EC-MPS spielen könnten.

1.5 Weitere Wirkstoffe in der immunsuppressiven Therapie

1.5.1 Cyclosporin A

Cyclosporin A (CsA), ein cyclisches Peptid aus dem Schlauchpilz *Tolypocladium inflantum* wird zur Prävention von Abstoßungsreaktionen nach Organtransplantationen eingesetzt [70]. Es unterdrückt nicht die gesamte körpereigene Abwehr, sondern greift gezielt in verschiedene Regulationsmechanismen ein. Es hemmt über eine Komplexbildung mit Cyclophyllin die Aktivierung der Calcium/ Calmodulin-aktivierten Posphatase Calcineurin und verhindert so die Translokation des Transskriptionsfaktors NF-AT (Nuclear factor of activated T-cells), wodurch die Expression von Zytokinen und Zelloberflächenrezeptoren (u. a. Interleukin-2 und γ-Interferon) unterdrückt wird [17]. Dies hemmt die Interleukin-2 vermittelte T-Lymphozytenaktivierung (Roit, et al., 1999). Zusätzlich unterdrückt Cyclosporin die Aktivierung des Transkriptionsfaktors NF-κB und induziert die Synthese des „Transforming growth

factor beta“ (TGFß) durch die T-Zellen [17]. Dieser wirkt antiproliferativ und supprimiert die Aktivierung der Abwehrzellen.

1.5.2 Glukokortikoide (Prednisolon)

Prednisolon (1,2-Dehydrocortisol) ist ein synthetisches Glukokorticoid mit einer ausgeprägten aber unspezifischen immunsuppressiven und entzündungshemmenden, antiallergischen Wirkung. Es wird in der immunsuppressiven Therapie eingesetzt.
Der immunsuppressive Effekt beruht auf der Blockierung der Transkription von Interleukin-1 und der daraus resultierenden Hemmung der T-Zell-Aktivierung. Außerdem wird die Migration von Monozyten und Makrophagen zum Entzündungsort gehemmt [33,63,65].

1.6 Wechselwirkung von MPA mit anderen Wirkstoffen

Für MMF sind Wechselwirkungen mit anderen Medikamenten bekannt. Aciclovir und Probenecid führen zu einem MPA- und MPAG-Spiegel-Anstieg. Im renalen Tubulus konkurrieren die oben genannten Stoffe mit MPAG um die jeweilige Sekretion. Der MMF-Spiegel sinkt bei gleichzeitiger Einnahme von Cyclosporinen, da Cyclosporin A, den Transport von MPAG von den Hepatozyten in die Galle hemmt und so den enterohepatischen Kreislauf behindert. Bei welcher Cyclosporin A-Konzentration dieser Effekt genau eintritt, ist jedoch nicht bekannt.
Im Gegensatz dazu führt eine Kombination von Tacrolimus und MMF zu einem Anstieg der MPA-Konzentration, höchstwahrscheinlich durch eine Hemmung der MPA- zu MPAG-Umwandlung [36].

Colestyramin und Antazida mit Magnesium oder Aluminium Hydroxide beeinflussen ebenfalls die Pharmakokinetik von MMF, indem sie die Resorption von MPA vermindern, was eine supprimierte MPA-Exposition zur Folge hat [36]. Metronidazol unterdrückt die Zirkulation im enterohepatischen Kreislauf, aufgrund der Hemmung der bakteriellen Glukuronidase und bewirkt damit ebenfalls eine Suppression der MPA- Exposition.

1.7 Zielsetzung der Arbeit

In dieser prospektiven, monozentrischen Studie wurde die Pharmakokinetik und das klinische Ergebnis von Natrium-Mycophenolat und seinen Metaboliten unter Comedikation mit Cyclosporin in der Frühphase (< 4 Wochen) nach Nierentransplantation mittels AUC_{12h} (area under curve)-Messungen bestimmt Darüber hinaus wurden die Korrelationen zwischen pharmakokinetischen Parametern und IMPDH-Aktivität untersucht.

2. Material und Methoden

2.1 Patientencharakteristika

Vierundzwanzig aufeinanderfolgende erwachsene Empfänger eines Nierentransplantats (10 weiblich und 14 männlich, Durchschnittsalter 59 Jahre; Bereich 21 bis 74) wurden in diese Studie eingeschlossen. Alle Patienten waren kaukasischer Abstammung und wurden am Uniklinikum Ulm (Abteilung Viszeral- und Transplantations-Chirurgie) behandelt. Sieben der eingeschlossenen Patienten (29 %) zeigten eine verzögerte Transplantatfunktion und benötigten eine Dialyse in der ersten Woche nach der Transplantation.

2.2 Immunsuppressive Therapie

Die initiale immunsuppressive Therapie bestand aus 120 mg/d Methylprednisolon, 4 mg/kg Cylosporin A zweimal täglich und 720 mg Natrium-Mycophenolat zweimal täglich. Methylprednisolon wurde nach einem Standard-Protokoll ausgeschlichen. Die Cyclosporin-Therapie wurde, gestützt durch therapeutisches Drug–Monitoring, auf Talspiegel von 200-250 µg/mL und C_2-Spiegel (2 Stunden nach Cyclosporin-Applikation) > 1000 µg/mL eingestellt. EC-MPS wurde als fixe Dosierung gegeben sofern keine Leukopenie von < 3,5 G/L auftrat.
Wir führten keine Prophylaxe gegen Zytomegalie-Virus durch, verwendeten jedoch (Val) Ganciclovir als Präemptiv-Therapie in fünf Fällen, bei denen CMV-pp 65-Antigen zehn positive Zellen überstieg.
Eine Induktionstherapie mit polyklonalen Antikörpern (Thymoglobuline) wurde bei sechs Patienten angewandt, weil hier Risikofaktoren für eine verzögerte Transplantatfunktion gefunden worden waren. Als Risikofaktoren galten hierbei:

- Erhöhtes Alter des Spenders (> 65 Jahre)
- Längere Ischämiekältezeit (> 18 h) oder
- Spender mit erweiterten Spenderkriterien (zwei oder mehr der folgenden Begleiterkrankungen: Diabetes mellitus, arterielle Hypertonie, Rauchen, kardiopulmonale Reanimation > 20 min, hämodynamische Instabilität).

Vier von 24 Patienten zeigten eine bioptisch nachgewiesene akute zelluläre Abstoßungsreaktion, die durch Steroide-Gabe behandelt wurde. In einem fünften Fall wurde eine humorale Abstoßungsreaktion gefunden und mit Steroid-Gabe, Plasmapherese und Rituximab behandelt.

2.3 Ein- und Ausschlusskriterien

Als Voraussetzung für die Teilnahme an der Studie wurden folgende Einschlusskriterien festgesetzt:
Alle Patienten sollten nach Nierentransplantation mit Cyclosporin A (Sandimmun optoral nach Schema) und Myfortic (Fixdosis 2x 720mg) und Steroiden nach Schema (AK nach Protokoll) behandelt werden.
Es wurden keine Patienten mit Transplantat-Verlust eingeschlossen.

2.4 Pharmakokinetisches Protokoll

Jegliche Untersuchungen an Patienten wurden erst nach Einholung des informierten Einverständnisses durchgeführt. Der Prüfplan der Studie wurde durch die lokale Ethikkommission genehmigt. Blutproben für pharmakokinetische Bewertungen wurden in der Initialphase gewonnen (1-4 Wochen, n=24), in der Regel am 8. Tag (Median) nach der Transplantation. Vor der Durchführung pharmakokinetischer Untersuchungen erhielten alle Patienten über mindestens drei Tage zweimal täglich die gleiche EC-MPS-Dosis. Die Studie wurde unter stationären Bedingungen durchgeführt, beginnend morgens um 8:00 Uhr.
Nach einer 10-stündigen Fastenperiode wurde am Morgen die erste Blutprobe entnommen, und die Patienten erhielten ihre immunsuppressive Morgendosis. Die Patienten durften während des Tages essen.
Blutproben wurden zu folgenden Zeitpunkten gesammelt:
Vor der Medikamenten-Gabe (= 0 h) sowie 30 min, 1 h, 1,5 h, 2 h, 3 h, 4 h, 6 h, 8h und 12 h nach der Verabreichung des Medikaments. Alle Blutproben wurden in Röhrchen, die EDTA als Antikoagulanz enthielten, gesammelt.
Zur Bestimmung von MPA-, freier-MPA- (= fMPA), Acyl-Mycophenolsäure-Glukuronid- (=AcMPAG) und Mycophenolsäure-Glukuronid (MPAG)-

Konzentrationen wurde sofort nach der Abnahme das Plasma durch Zentrifugation der Proben abgetrennt und bei -20°C gelagert. Die Konzentration von fMPA wurde in drei Proben (vor der Medikamenten-Einnahme, 2 h und 6 h nach der Verabreichung des Medikaments) für jedes pharmakokinetische Profil untersucht.
Zur Bestimmung der IMPDH-Aktivität wurden die peripheren mononukleären Zellen (PMZ) aus den Blutproben 0h und 2h nach einem bereits veröffentlichten Protokoll [22] isoliert und bis zur Analytik bei -80°C gelagert. Der Zeitpunkt 2h wurde aufgrund von Studien mit stabil nierentransplantierten Patienten (> 3 Monate nach der Transplantation) ausgewählt, in denen die MPA-C_{max} zu diesem Zeitpunkt erreicht wurde [7,9,52].

2.5 Pharmakokinetische Analysen

Die Plasma-Konzentrationen von MPA, MPAG und AcMPAG sowie fMPA wurden durch eine etablierte HPLC-Methode bestimmt, wie zuvor beschrieben [56,57]. Kalibrierung und Qualitätskontrolle wurden unter Verwendung von in der Abteilung vorrätigen Standardlösungen, die bei jedem Durchlauf analysiert wurden, durchgeführt. Darüber hinaus wurden Qualitätskontroll-Proben von Chromsystems (München, Deutschland) für die MPA-Messungen benützt.
Die folgenden pharmakokinetischen Daten für MPA, AcMPAG und MPAG wurden mittels HPLC ermittelt:

- Prä-Dosis-Konzentration (C_0 [mg/L]),
- die Zeit bis zur maximalen Konzentration (t_{max} [h]),
- die maximale Konzentration (C_{max} [mg/L])
- die Fläche unter der Kurve (AUC) von 0 bis 12 h (mg*h/L) unter Verwendung der linearen Trapezregel.

Wie bereits erwähnt wurde fMPA zu drei festgelegten Zeitpunkten für jedes pharmakokinetische Profil bestimmt, und die fMPA-Fraktion wurde anteilig der jeweiligen Gesamt-MPA-Konzentration errechnet. Der Mittelwert der berechneten fMPA-Fraktionen wurde weiter verwendet, um die fMPA-12h-AUC-Werte zu schätzen. Die apparente Clearance (Cl/F) der MPA wurde auch aus der Fläche unter der Kurve berechnet (AUC).

2.6 Klinisches Monitoring

Die primären klinischen Endpunkte waren die Normalisierung der Nierenfunktion, beurteilt nach Serumkreatinin, glomerulärer Filtrationsrate (berechnet nach der MDRD-2 Formel [22,23], ausreichender Diurese und einem stabilen Körpergewicht.

Unerwünschte Ereignisse, definiert als abnormale Veränderung in körperlicher Untersuchung, vom Patient geschilderter Symptomatik oder von Laborwerten, wurden unabhängig von einem möglichen Kausalzusammenhang mit der Studienmedikation über die Gesamtdauer der Studie hinweg notiert, wenn sie von einem Patienten berichtet oder von einem Prüfarzt bemerkt wurden. Berichtet wurden Leukopenie (Leukozyten < 4 x 10^9 / L), Diarrhö (> 3 Stuhlgänge pro Tag) und Infektionen (Harnwegsinfekt: > 100.000 Keime / ml Urin; CMV-Virämie: > 10 pp 65 Ag-positive Zellen; Bronchitis/Pneumonie, die durch Auskultation und Bildgebung in der diagnostischen Radiologie diagnostiziert worden waren; lokale Wundinfektion; Fieber > 37,5 °C). Anämie wurde berichtet aber nicht in die statistische Analyse eingeschlossen, da es innerhalb des ersten Monats nach der Transplantation schwierig ist, den Zusammenhang mit der Medikamentengabe zu beurteilen.

2.7 Beobachtungszeitraum und Endpunkte

Bei allen Patienten wurden ein Jahr nach Aufnahme in die Studie die klinische und laborchemische Nachsorge erfasst.

Primäre Endpunkte sind bioptisch gesicherte akute Abstoßung, Transplantatverlust, Tod und Loss to follow up.

Sekundäre Endpunkte sind die Inzidenz von Nebenwirkungen (gastrointestinale Nebenwirkungen, hämatologische Nebenwirkungen oder Infektionen) **und** Messwerte außerhalb der Referenzbereiche.

2.8 Laborchemische Untersuchungsmethoden

Die laborchemischen Untersuchungen erfolgten in Zusammenarbeit mit der Zentralinstitut für klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin mit Laborpraxis unter der Leitung von Prof. Dr. Eberhard Wieland und Dr. Dr. b-g. Maria Shipkova. Die folgenden Arbeitsschritte von Probenentnahme, Probenaufarbeitung bis hin zur Bestimmungen/Analysen der Blutproben etc. wurde wie folgt durchgeführt:

1. Zeitpunkte

De- novo: 7 Tage und 14 Tage postoperativ, kurze AUC (siehe unten) bei jedem Ereignis (Rejektion etc.)

2.8.1 Abnahme und Aufbewahrung der Proben für die Pharmakokinetik und Pharmakodynamik

Zu den angegebenen Zeitpunkten wurde die benötigte Blutmenge in EDTA-Röhrchen abgenommen (siehe Tabelle 1 und 2) und vorsichtig gemischt. Von den 0’ und 2h-Proben wurde jeweils 2 mL EDTA- Vollblut abpipettiert und in ein neues EDTA-Röhrchen überführt. Der Rest (mL) wurde für die Isolierung von mononukleären Zellen (MNZ) verwendet. Dieser Schritt entfiel für alle übrigen Proben. Anschließend wurden alle Proben für 10 min bei 3000 rpm zur Gewinnung von Plasma zentrifugiert. Anschließend wurden mindestens 1mL Plasma in ein separates Röhrchen überführt und mit den vorgesehenen Etiketten beschriftet. Bis zum Transport nach Stuttgart wurden alle Plasmaproben bei -70°C gelagert. Die MNZ sollen aus den 8 mL Vollblut, die zu den Zeitpunkten 0’ und 2h gewonnen wurden, nach dem Protokoll so schnell wie möglich (innerhalb von 24h) isoliert werden. Dafür wurden die MNZ-Proben ebenfalls mit den vorgesehenen Etiketten versehen und bei -70°C bis zum Transport nach Stuttgart gelagert. Die gesammelten und eingefrorenen Proben werden je einmal pro Monat auf Trockeneis nach Stuttgart mit dem ausgefüllten Begleitformular geschickt.

Tabelle 1 : zeitlicher Ablauf der Blutentnahme mit Angabe der jeweiligen Blutmenge in Milliliter bei der Vollkinetik von n=24 nierentransplantierten Patienten (kaukasischer Abstammung) im Universitätsklinikum Ulm (Abteilung Viszeral- und Transplantationschirurgie) zwischen 2004 bis 2006.

Zeit	0’	30’	1h	2h	4h	6h	8h	12h
EDTA- Blut	10	2,7	2,7	2,7	2,7	2,7	2,7	2,7

Tabelle 2: zeitlicher Ablauf der Blutentnahme mit Angabe der jeweiligen Blutmenge in Milliliter bei der Kurzkinetik von n=24 nierentransplantierten Patienten (kaukasischer Abstammung) im Universitätsklinikum Ulm (Abteilung Viszeral- und Transplantationschirurgie) zwischen 2004 bis 2006.

Zeit	0’	2h
EDTA- Blut	10 mL	10 mL

2.8.2 Lymphozyten-Isolierung aus EDTA -Vollblut

Die Lymphozyten-Isolierung aus EDTA–Vollblut erfolgte mittels Dichtegradientenzentrifugation. Dafür wurden 8 mL heparinisiertes peripheres Blut mit 8 mL HANKS-Lösung in 50 mL Polypropylenröhrchen gemischt. Anschließend wurden 2 x 4 mL Lymphoprep™ (Progen) in 12 mL Plastikröhrchen aus Polysterol vorgelegt und mit jeweils 8 mL verdünntem Blut vorsichtig überschichtet. Nach 20 minütiger Zentrifugation bei 1200g (ohne Bremse) wurde die Lymphozytenringe vorsichtig mit einer Pasteurpipette abgezogen und in 1,5 mL Eppendorfgefäße überführt. Anschließend wurden die Zellen mit PBS auf 1-1,5 mL aufgefüllt, vorsichtig gemischt und die Zellzahl bestimmt. Die Zellzahl diente als Ausgangsprodukt für weitere Verdünnungen, die in Stuttgart vorgenommen wurden. Die Zellsuspension wurde erneut bei 1200g und 4°C, mit Bremse Stufe 5 für 5 min zentrifugiert. Anschließend wurde der Überstand verworfen und die

Zellen in sterilem Wasser (Ampuwa) aufgenommen, so dass sich eine Suspension von ca. $1x10^7$ Zellen/mL ergibt. Anschließend wurden die Zellen lysiert und das Zelllysat bei -80°C eingefroren und auf Trockeneis verschickt.

2.8.3 Bestimmung der IMPDH-Aktivität

Die IMPDH-Aktivität in isolierten peripheren mononukleären Zellen (PMZ) wurde mittels eines HPLC-Verfahrens bestimmt, basierend auf der Xanthosin-5-Monophosphat (XMP)-Produktions-Rate unter kontrollierten Bedingungen [26].
Die Isolierung der PMZ sowie der Inkubationsschritt wurde nach der Methode von Glander et al. durchgeführt [27]. Die enzymatische Reaktion wurde mittels Gabe von Perchlorsäure und anschließende pH-Verschiebung durch Kalium-Chlorid gestoppt. Nach der Zentrifugation wurden 20 µL Überstand für die Chromatographie verwendet. XMP wurde durch die Absorption bei 262 nm nach Auftrennung in einer C18- Aqua-Säule (5 µm, 4,0 x 250 mm) mittels 20 mM Phosphat-Puffer pH 2,5 (Flussrate 1,0 mL/ min) als mobile Phase quantifiziert.
Jeder chromatographische Durchlauf beinhaltete einen Waschvorgang mittels einer zweiten mobilen Phase (700 mL Acetonitril, 300 ml Phosphat-Puffer pH 2,5). Der XMP-Peak eluierte bei 7,5 min und der chromatographische Durchlauf war innerhalb von 14 min abgeschlossen. Der Assay war linear bis 180 µM XMP (circa 70 nmol/(mg Protein*h)).
Die Nachweisgrenze betrug 0,3 µM XMP (circa 0,14 nmol/(mg Protein*h)). Bei XMP-zugesetzten Proben (n=10) war der Präzisionsfehler < 5,3 % innerhalb des Tages, < 6,0 % zwischen den Tagen und die Messungenauigkeit war < 4,0 %. Der Präzisionsfehler mit gepooltem PMC war 4,04 % innerhalb eines Tages (n=10; IMPDH Aktivität 5,6 nmol/(mg Protein*h)) und 5,2 % zwischen den Tagen (n = 12; IMPDH-Aktivität 6,4 nmol/(mg Protein*h)).
Der Präzisionsfehler nach 5-fach separater Isolierung der PMC aus der gleichen Patientenprobe lag bei 6,7%.

2.8.4 Biochemische Analysen

Plasma-Albumin- sowie Kreatinin-Konzentrationen wurden durch kommerzielle Test-Kits auf dem Dimension-System (Siemens Health Care Diagnostics, Eschborn, Deutschland) bestimmt. Der Präzisionsfehler zwischen den Tagen war < 5,0 %. Die glomeruläre Filtrationsrate (GFR) wurde mittels MDRD-Formel bestimmt, stratifiziert nach Alter und Geschlecht der Patienten.

2.8.5 HPLC (= High Performance Liquid Chromatography)

Mittels HPLC wurde die Konzentration von Mycophenolsäure in externen Ringversuchen untersucht. Dafür wurde eine isokratische HPLC mit UV- Detektion und eine Trennsäule der Firma Chromsystems verwendet. Probengeber (ALS), isokratische Pumpe (Isopump), Säulenpumpe der Firma Agilent. Die Messung erfolgte bei 25°C.

Für die Konditionierung der Sample Clean Up Columns (Säule) wurde die Säule in 12 ml PS Röhrchen gestellt, 1 mL Equilibration Buffer 1 auf die Säule gegeben und anschließend 1 min. bei 1000 U/min (92g) zentrifugiert. Das Eluat wurde verworfen und 1 mL Equilibration Buffer 2 auf die Säule gegeben. Danach wurde erneut 1 min. bei 1000 U/min (92g) zentrifugiert und das Eluat verworfen.

Anschließend wurden 250 µl EDTA- Plasma und Kalibrator oder Kontrolle und 250 µl Interner Standard in ein Reagiergefäß (1,5 mL) pipettiert. Dieses wurde durch vortexen vermischt und auf die Säule gegeben. Diese wurde 2 min. bei 1200 U/min (133g) zentrifugiert und das Eluat verworfen.

Zum Waschen der Säule wurden 2 Mal 1 mL Waschpuffer auf die Säule gegeben und 1 min bei 1000 U/min (92g) zentrifugiert und anschließend 2 min bei 2500 U/min (578g) die Säule trockenzentrifugiert. Das Eluat wurde verworfen.

Für die Elution wurde die Säule auf ein Vial, screw cap gesetzt, 400 µl Elutionspuffer auf die Säule gegeben und 1 min. bei 1000 U/min (92g) zentrifugiert. Anschließend wurde 1 min. bei 2500 U/min (578g) die Säule trockenzentrifugiert und die Vials mit den Eluaten mit blue screw caps verschlossen.

Die Eluate von Standard, Kontrollen und Patientenproben wurden nacheinander automatisch injiziert und chromatographisch aufgetrennt.
Die HPLC- Anlage wird auf folgende methodenspezifische Angaben eingestellt (siehe Tabelle 3):

Tabelle 3: Stellgrößen der HPLC-Anlage. Injektionsvolumen in Mikroliter, Analysendauer in Minuten, Wellenlänge in Nanometer des UV-Detektor und Säulentemperatur in Grad Celsius.

Flussrate	1,0 mL/min
Injektionsvolumen	30 µl
Analysendauer	Ca. 6-9 min
UV-Detektor	215 nm
Säulentemperatur	25°C

2.9 Auswertung

Die Probenauswertung erfolgte je nach Probenaufkommen und Meßbeginn im Anschluss oder am nächsten Tag.
Dem Integrator (Auswerteprogramm Firma Agilent) wurde in jedem Chromatogramm ein Peak als Interner Standard zugeordnet. Der Interne Standard im Kalibrationschromatogramm wurde gleich 1 gesetzt. Der Interne Standard im Patientenchromatogramm wurde gemessen. Der Integrator korrigiert alle Analysenergebnisse um das Verhältnis $IS_{Standard}$ zu IS_{Probe} (Da allen Proben die gleiche Menge internem Standard zugesetzt wurde, können Verluste, die bei der Probenvorbereitung auftreten kompensiert werden.)
Die Berechnung fand mithilfe des Softwaresystems der Firma Agilent statt, nachdem eine gültige Kalibration erstellt wurde.

Die Konzentration der Probe (C_{Probe}) wurde wie folgt berechnet:

$$\mathbf{C_{Probe} = C_{Standard} \times A_{Probe} \times IS_{Standard} / A_{Standard} \times IS_{Probe}}$$

$C_{Standard}$ = Konzentration des Kalibrationsstandard
A_{Probe} = Peakhöhe der Probe

$A_{Standard}$ = Peakhöhe des Kalibrationsstandard
IS_{Probe} = Peakhöhe des Internal Standard der Probe
$IS_{Standard}$ = Peakhöhe des Internal Standard des Kalibration Standard

Eingabe im Labor Informations System LIS

Die Meßergebnisse wurden nach Überprüfung der Plausibilität (z.B. Kontrolle von Vorwerten) offline in das LIS eingegeben.

2.10 Verdünnungsgrenzen und Wiederholungsanalysen

Die analytische Methode ist linear bis zu 50 mg/L MPA, bis zu 250 mg/L MPAG, bis zu 10 mg/L AcMPAG und bis zu 1000 µg/L fMPA. LOQs sind 0,05; 1,0; 0,1 und 0,01 mg/L jeweils für MPA, MPAG, AcMPAG und fMPA. Die Ausbeute waren 99-103 % für MPA, 95-103 % für MPAG, 104-107 % für AcMPAG und 90-110 % für fMPA. Die Ungenauigkeit zwischen den Tagen war < 6,2 %, < 4,5 %, < 14 % und < 15 % jeweils für die vier Analyten. Die analytische Leistungsfähigkeit der Methode wurde gesichert durch die Teilnahme am Mycophenolic Acid Proficiency Testing Scheme, zur Verfügung gestellt durch Analytical Services Internation (London, UK).

Bei Messbereichsunterschreitung erfolgte die Messwertausgabe am Analysierer mit „-„. Der Messwert wurde mit 0,1 mg/l ausgegeben. Ansonsten erfolgt eine numerische Ausgabe der Messwerte in mg/l.
Die Linearität war ab 30 mg/l überschritten.
Bei Linearitätsüberschreitung wurde der Messwert mit > 30mg/l ausgegeben.
Eine Wiederholungsmessung musste durchgeführt werden:

- Bei Verdacht auf technische Fehler
- Bei Verdacht auf Einfluss von Störfaktoren
- Bei Abweichungen des Internen Standard um mehr als 30%.

Bestätigte sich der Messwert, wurde er im LIS eingegeben.
Er wurde mit „DB“ (Doppelbestimmung, Messwert kontrolliert) versehen.

Die Ergebnisse, die außerhalb des Messbereichs lagen, wurden wie folgt ausgeben (siehe Tabelle 4):

Tabelle 4: Darstellung der Ergebnisse außerhalb des Messbereichs

Automatisch Wandlung im LIS	Messwertausgabe
Untere Grenze: ja	<0,1mg/L
Obere Grenze: nein	>30 mg/L

2.11 Statistiken

Für statistische Analysen wurden der nicht parametrische zweiseitige Mann-Whitney-U-Test und die Spearman's Rangkorrelation unter Verwendung der MedCalc Computer-Software (MedCalc Software, Mariakerke, Belgien) verwendet. Ein p-Wert unter 0,05 wurde als statistisch signifikant betrachtet.

3. Ergebnisse

3.1 Patienten

In unsere Studie wurden 24 Patienten in der Frühphase nach Nierentransplantation der Abteilung der Viszeral- und Transplantations-Chirurgie des Universitätsklinikums Ulm, nach schriftlicher Aufklärung nach Maßgabe des positiven Ethikvotums (No. 214 / 2004), eingeschlossen.
Dabei handelte es sich um 10 weibliche Patientinnen und 14 männliche Patienten im Alter von 21-74 Jahren (Median: 59 Jahre, Stabw: +/- 13,56 Jahre). Die mediane Körpergröße betrug 168 cm (Stabw: +/- 8,93 cm), das mediane Körpergewicht betrug 73,85 kg (Stabw: 74,35 +/- 16,46 Kg).
Am ersten Studientag wurden um 8 Uhr ebenfalls die Kreatinin-Werte der Patienten bestimmt. Die Werte lagen zwischen 80 µmol/l bis 881 µmol/l mit einem Median von 206 µmol/l (Stabw: +/- 222,89) (siehe Tabelle 5).
Fünf Studienteilnehmer (20,8 %) erhielten eine antivirale und 15 Teilnehmer (62,5 %) eine antibakterielle Therapie. Die bestimmten Standartlaborparameter zu Beginn der Studie sind in Tabelle 6 wiedergegeben.

Tabelle 5: demographische Daten mit Angaben der Standardabweichungen der 25 bzw. 75te Perzentile der untersuchten klinischen Parameter (Alter, Gewicht, Größe, Kreatinin und d nach NTX). N=24 nierentransplantierte Patienten (kaukasischer Abstammung) im Universitätsklinikum Ulm (Abteilung Viszeral- und Transplantationschirurgie) zwischen 2004 bis 2006.

	Alter	Gewicht	Größe	Kreatinin	d nach NTX
N	24	24	24	24	24
Minimum	21	40	153	80	3
Maximum	74	104	188	881	33
25 te Perzentile	41,5	62,25	163,5	145	6
Median	59	73,85	168	206	8
75 te Perzentile	64,5	88,5	178	383,5	10
Standardabweichung	13,56	16,46	8,94	222,89	6,34

Tabelle 6: **Laborwerte zu Studienbeginn mit Darstellung der Mediane und Referenzbereiche (GFR: Glomeruläre Filtrationsrate, AST: Aspartat-Aminotransferase, ALT: Alanin-Aminotransferase, GGT: Gamma-Glutamyl-Transferase, Plasma-Kreatinin-, Plasma Albumin-, Hämoglobin- und Leukozyten-Konzentration). N=24 nierentransplantierte Patienten (kaukasischer Abstammung) im Universitätsklinikum Ulm (Abteilung Viszeral- und Transplantationschirurgie) zwischen 2004 bis 2006.**

Laborparameter	Median (Bereich)	Referenzbereich
GFR (MRDR-2, ml/min)	27,7 (6,1 - >60)	95 – 160
Plasma Kreatinin (µmol/L)	206 (80 – 881)	60 – 120
Plasma - Albumin (g/L)	30 (23 – 40)	35 – 53
Hämoglobin (g/dL)	9,95 (6,7 – 14,3)	♀ 12,3 – 15,3 ♂ 14,0 – 17,4
Leukozyten (G/L)	9,7 (4,2 – 20,2)	4,4 – 11,3
AST (U/L)	19,5 (4,0 – 113,0)	♀ <33 ♂ <44
ALT (U/L)	30,5 (5 – 255)	♀ <35 ♂ <45
GGT (U/L)	43,5 (13 – 166)	♀ <35 ♂ <55

3.2 Pharmakokinetische Ergebnisse

Die tägliche EC-MPS-Dosis betrug 1440 Milligramm und die tägliche Cyclosporin-Dosis betrug 8 mg/kg pro Tag. Die Cyclosporin-Therapie wurde auf einen Talspiegel von 200-250 µg/ml und C_2-Spiegel > 1000 µg/ml eingestellt.

3.2.1 MPA

Die Konzentrations-Zeit-Profile für MPA für alle Patienten sind in Abbildung 2 dargestellt. Die MPA-Kurve zeigte für alle Patienten einen typischen Verlauf, mit einer initialen maximalen Konzentration nach ein bis zwei Stunden und einem zweiten Maximum nach sechs bis acht Stunden.

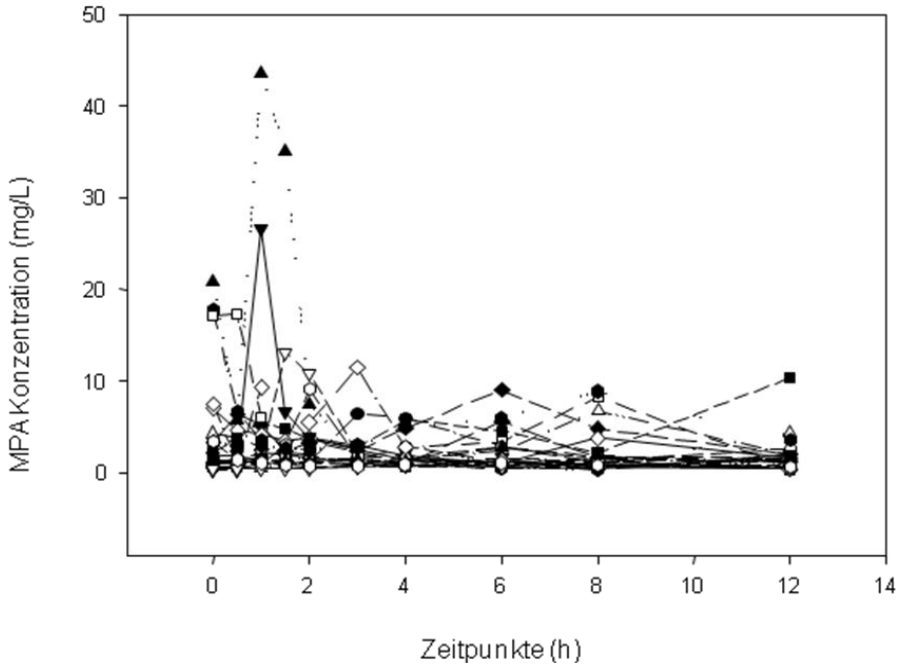

Abbildung 2: Interindividuelle Unterschiede der Konzentrations-Zeit-Profile für MPA. N=24 nierentransplantierte Patienten (kaukasischer Abstammung) im Universitätsklinikum Ulm (Abteilung Viszeral- und Transplantationschirurgie) zwischen 2004 bis 2006.

Die MPA-AUC_{12h} reichte von 8,4 bis 66,3 mg *h/L mit einem Medianwert von 24,9 mg*h/L. Die MPA-AUC_{12h} war nur bei sechs von 24 Patienten (25 %) innerhalb des vorgeschlagenen therapeutischen Bereichs von 40-60 mg*h/L, der durch Studien mit MMF etabliert wurde. Dabei betrug die mediane MPA-Konzentration zum Zeitpunkt C_{0h} 1,39 mg/L, zum Zeitpunkt C_{2h} 1,61 mg/L und zum Zeitpunkt C_{12h} 1,22 mg/L. Der Maximalwert betrug 6,6 mg/L nach 3,5 h (siehe Tabelle 7 und Abbildung 3).

Bei stabil/unauffällig nierentransplantierten Empfängern mit der gleichen Therapie lag die mediane T_{max} für MPA bei 3,5 h (Tabelle 7), welche erheblich später als die mediane T_{max} (2 h) war, die für stabile nierentransplantierte Patienten mit derselben Therapie bestimmt wurde.

Tabelle 7: Pharmakokinetische Parameter von MPA in der EC-MPS-Therapie. Hierbei werden Median, Minimum und Maximum von verschiedenen Zeitpunkten (0h, 2h, 12h, MPA_{max}, $MPA\text{-}AUC_{12h}$ und $MPA\text{-}t_{max}$) angegeben. N=24 nierentransplantierte Patienten (kaukasischer Abstammung) im Universitätsklinikum Ulm (Abteilung Viszeral- und Transplantationschirurgie) zwischen 2004 bis 2006.

	Median	Minimum	Maximum
MPA - 0h (mg/L)	1,39	0,3	20,9
MPA - 2h (mg/L)	1,61	0,45	10,8
MPA_{max} (mg/L)	6,6	1,03	35,1
MPA - 12h (mg/L)	1,22	0,36	10,4
$MPA\text{-}AUC_{12h}$ (mg*h/L)	24,9	8,4	66,3
MPA - t_{max} (h)	3,5	0	12

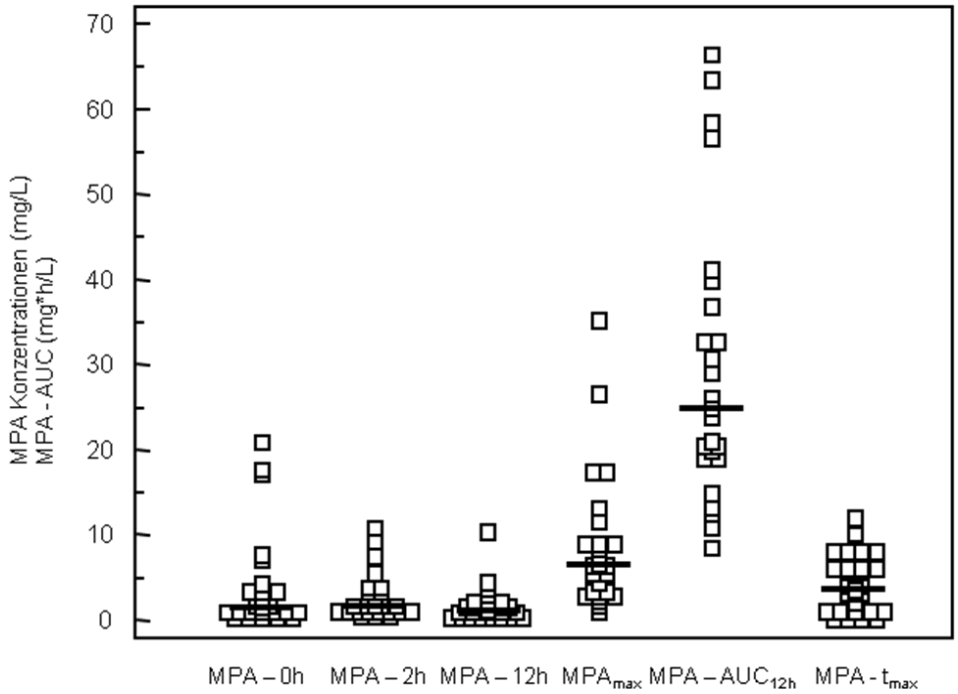

Abbildung 3: Pharmakokinetische Parameter von MPA in der EC-MPS-Therapie zu verschiedenen Zeitpunkten (0h, 2h, 12h, MPA_{max}, $MPA\text{-}AUC_{12h}$ und $MPA\text{-}t_{max}$). N=24 nierentransplantierte Patienten (kaukasischer Abstammung) im Universitätsklinikum Ulm (Abteilung Viszeral- und Transplantationschirurgie) zwischen 2004 bis 2006.

Die MPA-Clearance war hoch mit 29 L/h im Median.

Es zeigten sich signifikante aber schwache Korrelationen (r = 0,734) zwischen den folgenden einzelnen MPA-Konzentration-Zeitpunkten und MPA-$AUC_{12\ h}$: C_0; C_1; $C_{1,5}$; C_2; C_3; C_4; C_8; C_{12} und C_{max} .

Aus praktischen Gründen ist die Korrelation des Talspiegels mit der AUC_{12h} von besonderer Bedeutung. Sowohl die C_0 als auch die C_{12}–Konzentrationen zeigten eine signifikante Korrelation mit der MPA-AUC_{12h} (r C_0= 0,497 und r C_{12} = 0,476; siehe Tabelle 8).

C_{3h} zeigte die stärkste Korrelation mit der MPA-AUC_{12h} (r = 0,734; p = 0,001) (siehe Tabelle 8).

Tabelle 8: Spearman's Rangkorrelations-Analyse sowie Signifikanzniveau der MPA-Plasmakonzentrationen (0h, 2h, 3h, 12h und MPA_{max}) und der AUC_{12h}. N=24 nierentransplantierte Patienten (kaukasischer Abstammung) im Universitätsklinikum Ulm (Abteilung Viszeral- und Transplantationschirurgie) zwischen 2004 bis 2006.

/vs. MPA-AUC_{12h}	Spearman's Rangkorrelations - Koeffizient	Signifikanzniveau
MPA – 0h	r = 0,497	p = 0,02
MPA – 2h	r = 0,608	p = 0,004
MPA – 3h	r = 0,734	p = 0,001
MPA – 12h	r = 0,476	p = 0,02
MPA_{max}	r = 0,661	p = 0,002

3.2.2 Freies MPA (fMPA)

Die fMPA-AUC_{12h} reichte von 0,1 bis 2,46 mg *h/L mit einem Medianwert von 0,48 mg*h/L. Dabei betrug die mediane fMPA-Konzentration zum Zeitpunkt C_{0h} 38,8 mg/L und zum Zeitpunkt C_{2h} 32,8 mg/L. Die mediane fMPA-Fraktion betrug 1,65 % der entsprechenden MPA-Konzentration (Bereich: 1,08 bis 5,18 %) (siehe Tabelle 9 und Abbildung 4).

Tabelle 9: Pharmakokinetische Parameter von fMPA (0h, 2h, AUC12h und seiner Fraktion) in der EC-MPS-Therapie (* Schätzung auf der Basis der fMPA-Fraktion). N=24 nierentransplantierte Patienten (kaukasischer Abstammung) im Universitätsklinikum Ulm (Abteilung Viszeral- und Transplantationschirurgie) zwischen 2004 bis 2006.

	Median	Minimum	Maximum
fMPA - 0h (µg/L)	38,8	9,7	276
fMPA - 2h (µg/L)	32,8	10	316
fMPA-AUC_{12h} (mg*h/L)*	0,48	0,1	2,46
fMPA – Fraktion (%)	1,55	0,94	4,76

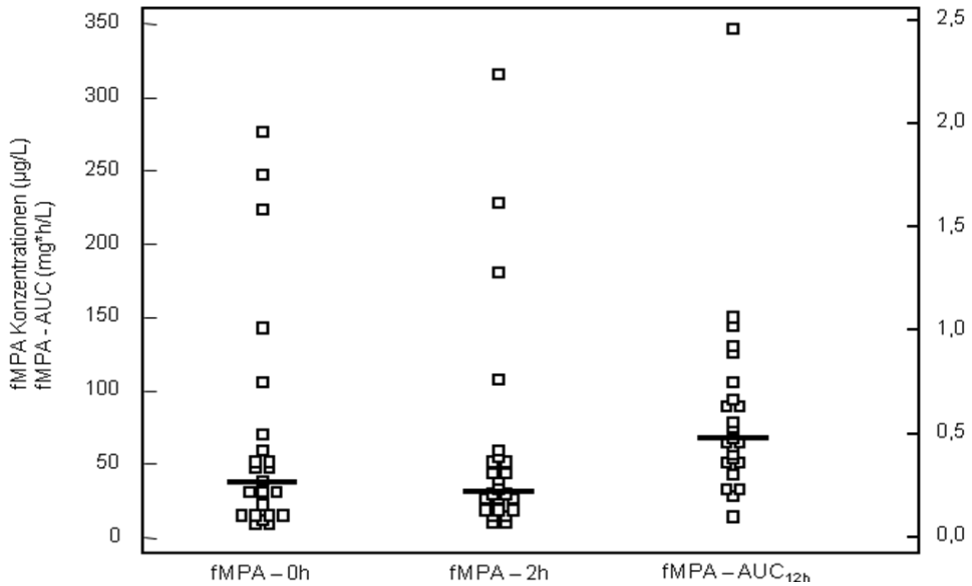

Abbildung 4: Pharmakokinetische Parameter von fMPA (0h, 2h und AUC_{12h}) in der EC-MPS-Therapie. N=24 nierentransplantierte Patienten (kaukasischer Abstammung) im Universitätsklinikum Ulm (Abteilung Viszeral- und Transplantationschirurgie) zwischen 2004 bis 2006.

Der fMPA-AUC_{12h} Konzentration korrelierte signifikant mit den jeweiligen MPA (r = 0,576), MPAG (r = 0,656) und AcMPAG (r = 0,810),

Fünfzehn der 24 fMPA-AUC_{12h} -Werte (63 %) waren höher als 0,4 mg*h/L.

3.2.3 MPAG

Abbildung 5 zeigt die interindividuellen Unterschiede der Konzentrations-Zeit-Profile für MPAG. Die MPAG-Kurven folgten den MPA-Kurven zeitverzögert mit einem ersten maximalen Konzentration nach ca. zwei Stunden und einem zweiten Maximum nach ca. acht Stunden.

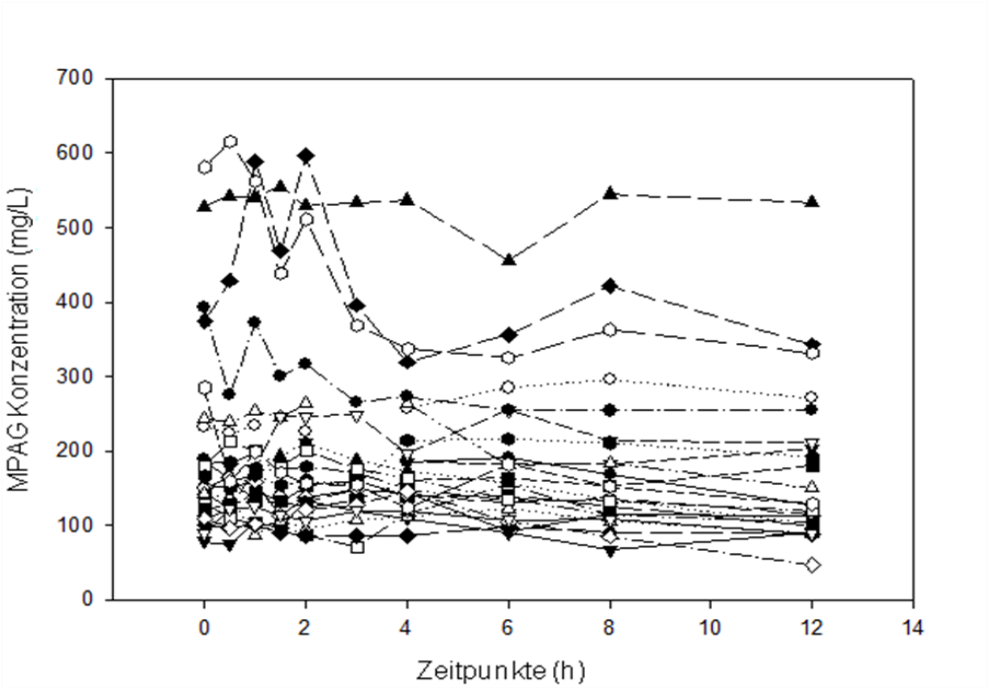

Abbildung 5: Interindividuelle Unterschiede der Konzentrations-Zeit-Profile für MPAG zu verschiedenen Zeitpunkten (0h, 2h, 4h, 6h, 8h und 12h). N=24 nierentransplantierte Patienten (kaukasischer Abstammung) im Universitätsklinikum Ulm (Abteilung Viszeral- und Transplantationschirurgie) zwischen 2004 bis 2006.

Die MPAG-AUC_{12h} reichte von 1097 bis 6289 mg *h/L mit einem Medianwert von 1832 mg*h/L. Dabei betrug die mediane MPAG-Konzentration zum Zeitpunkt C_{0h} 151 mg/L, zum Zeitpunkt C_{2h} 159 mg/L und zum Zeitpunkt C_{12h} 124 mg/L. Der Maximalwert betrug 202 mg/L nach 2 h (siehe Tabelle 10).

Tabelle 10: Pharmakokinetische Parameter von MPAG in der EC-MPS-Therapie. Hierbei werden Median, Minimum und Maximum von verschiedenen Zeitpunkten (0h, 2h, 12h, $MPAG_{max}$, $MPAG\text{-}AUC_{12h}$ und $MPAG\text{-}t_{max}$) angegeben. N=24 nierentransplantierte Patienten (kaukasischer Abstammung) im Universitätsklinikum Ulm (Abteilung Viszeral- und Transplantationschirurgie) zwischen 2004 bis 2006.

	Median	Minimum	Maximum
MPAG - 0h (mg/L)	151	79	581
MPAG - 2h (mg/L)	159	86	597
$MPAG_{max}$ (mg/L)	202	100	615
MPAG - 12h (mg/L)	124	47	533
$MPAG\text{-}AUC_{12h}$ (mg*h/L)	1832	1097	6289
MPAG - t_{max} (h)	2	0	12

C_0; C_2; C_{12} und C_{max} korrelierten für MPAG gut mit der $AUC_{12h,}$ wobei die beste Korrelation bei C_{max} vorlag (Tabelle 11).

Tabelle 11: Spearman's Rangkorrelations-Analyse sowie Signifikanzniveau der MPAG-Plasmakonzentrationen (0h, 2h, 12h und $MPAG_{max}$) und der AUC_{12h}. N=24 nierentransplantierte Patienten (kaukasischer Abstammung) im Universitätsklinikum Ulm (Abteilung Viszeral- und Transplantationschirurgie) zwischen 2004 bis 2006.

/vs. $MPAG\text{-}AUC_{12h}$	Spearman's Rangkorrelations – koeffizient	Signifikanzniveau
MPAG – 0h	r = 0,758	p = 0,0003
MPAG – 2h	r = 0,900	p < 0,0001
MPAG – 12h	r = 0,958	p < 0,0001
$MPAG_{max}$	r = 0,964	p < 0,0001

3.2.4 AcMPAG

Abbildung 6 stellt die interindividuellen Unterschiede der Konzentrations-Zeit-Profile für AcMPAG dar. Auch die AcMPAG-Kurven folgten den MPA-Kurven zeitverzögert mit einem ersten maximalen Konzentration nach ca. zwei Stunden und einem zweiten Maximum nach ca. acht Stunden.

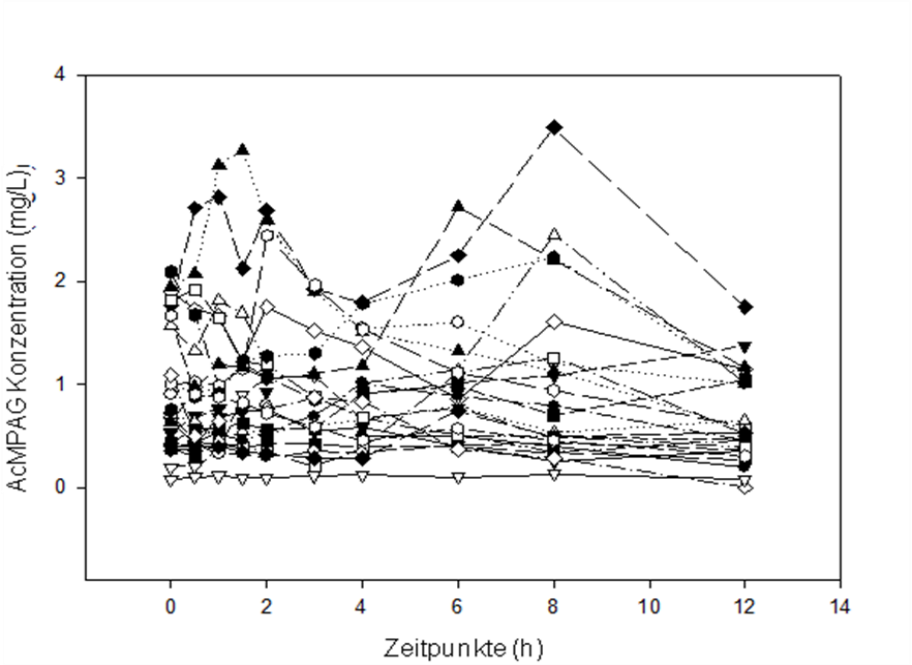

Abbildung 6: Interindividuelle Unterschiede der Konzentrations-Zeit-Profile für AcMPAG zu verschiedenen Zeitpunkten (0h, 2h, 4h, 6h, 8h und 12h). N=24 nierentransplantierte Patienten (kaukasischer Abstammung) im Universitätsklinikum Ulm (Abteilung Viszeral- und Transplantationschirurgie) zwischen 2004 bis 2006.

Die AcMPAG-AUC_{12h} reichte von 1,3 bis 29,4 mg *h/L mit einem Medianwert von 8,7 mg*h/L. Die mediane MPAG-Konzentration betrug zum Zeitpunkt C_{0h} 0,71 mg/L, zum Zeitpunkt C_{2h} 0,78 mg/L und zum Zeitpunkt C_{12h} 0,53 mg/L. Der Maximalwert betrug 1,43 mg/L nach 5 h (siehe Tabelle 12).

Tabelle 12: Pharmakokinetische Parameter von AcMPAG in der EC-MPS-Therapie. Hierbei werden Median, Minimum und Maximum von verschiedenen Zeitpunkten (0h, 2h, 12h, $AcMPAG_{max}$, $AcMPAG\text{-}AUC_{12h}$ und $AcMPAG\text{-}t_{max}$) angegeben. N=24 nierentransplantierte Patienten (kaukasischer Abstammung) im Universitätsklinikum Ulm (Abteilung Viszeral- und Transplantationschirurgie) zwischen 2004 bis 2006.

	Median	Minimum	Maximum
AcMPAG - 0h (mg/L)	0,71	0,08	2,09
AcMPAG - 2h (mg/L)	0,78	0,09	2,69
$AcMPAG_{max}$ (mg/L)	1,43	0,13	3,49
AcMPAG - 12h (mg/L)	0,53	0	1,75
$AcMPAG\text{-}AUC_{12h}$ (mg*h/L)	8,7	1,3	29,4
AcMPAG - t_{max} (h)	5	0	12

C_0; C_2; C_{12} und C_{max} korrelierten für AcMPAG gut mit $AUC_{12h,}$ wobei die beste Korrelation bei C_{max} vorlag (Tabelle 13).

Tabelle 13: Spearman's Rangkorrelations-Analyse sowie Signifikanzniveau der AcMPAG-Plasmakonzentrationen (0h, 2h, 12h und $AcMPAG_{max}$) und der AUC_{12h}. N=24 nierentransplantierte Patienten (kaukasischer Abstammung) im Universitätsklinikum Ulm (Abteilung Viszeral- und Transplantationschirurgie) zwischen 2004 bis 2006.

/vs. $AcMPAG\text{-}AUC_{12h}$	Spearman's Rangkorrelations - koeffizient	Signifikanzniveau
AcMPAG – 0h	r = 0,585	p = 0,005
AcMPAG – 2h	r = 0,762	p = 0,0001
AcMPAG – 12h	r = 0,860	p < 0,0001
$AcMPAG_{max}$	r = 0,895	p < 0,0001

Die AUC_{12h} des Hauptmetabolit MPAG war etwa 73,6 fach (median, Bereich: 18 bis 199 fach) höher als die entsprechenden Werte für MPA während die AUC_{12h} des Nebenmetaboliten AcMPAG auf molarer Basis etwa 34,9 % (median, Bereich: 9,6 bis 62,8 %) der jeweiligen MPA- AUC_{12h} erreichte (siehe Abbildung 7).

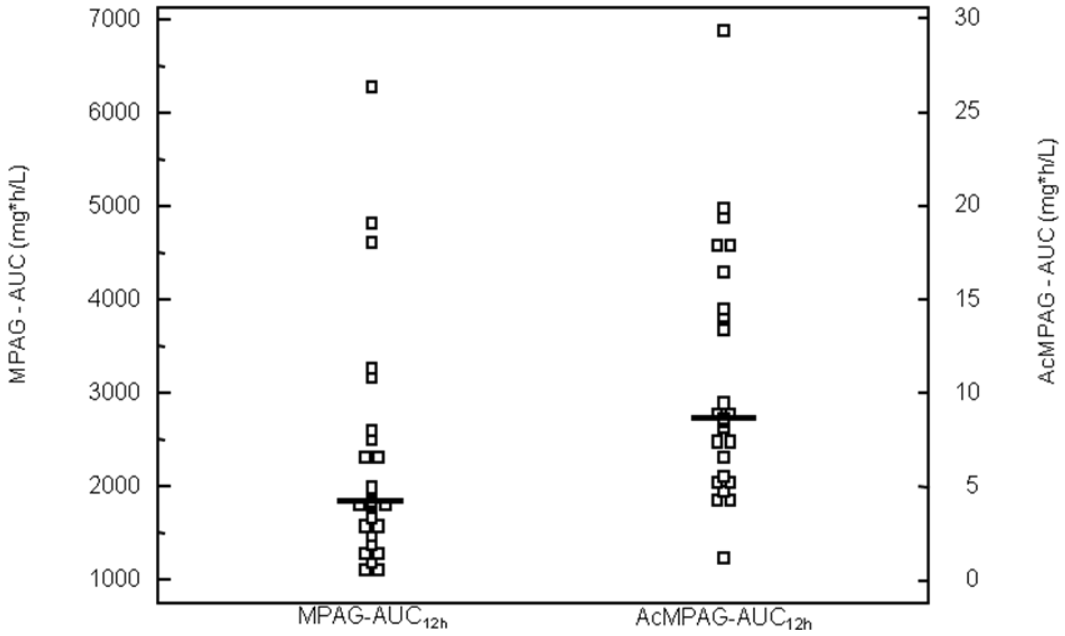

Abbildung 7: MPAG-AUC$_{12h}$ und AcMPAG-AUC$_{12h}$ in der EC-MPS-Therapie. N=24 nierentransplantierte Patienten (kaukasischer Abstammung) im Universitätsklinikum Ulm (Abteilung Viszeral- und Transplantationschirurgie) zwischen 2004 bis 2006.

3.2.5 IMPDH-Aktivität

Aus Abbildung 8 geht hervor, dass die IMPDH-Aktivität im Median wie erwartet nach EC-MPS-Gabe sank. Jedoch waren die Aktivitätsunterschiede nicht signifikant. Die interindividuelle Variabilität für IMPDH bei 0 h und 2 h war ähnlich und erreichte jeweils 49 % und 51 % (siehe Abbildung 8).

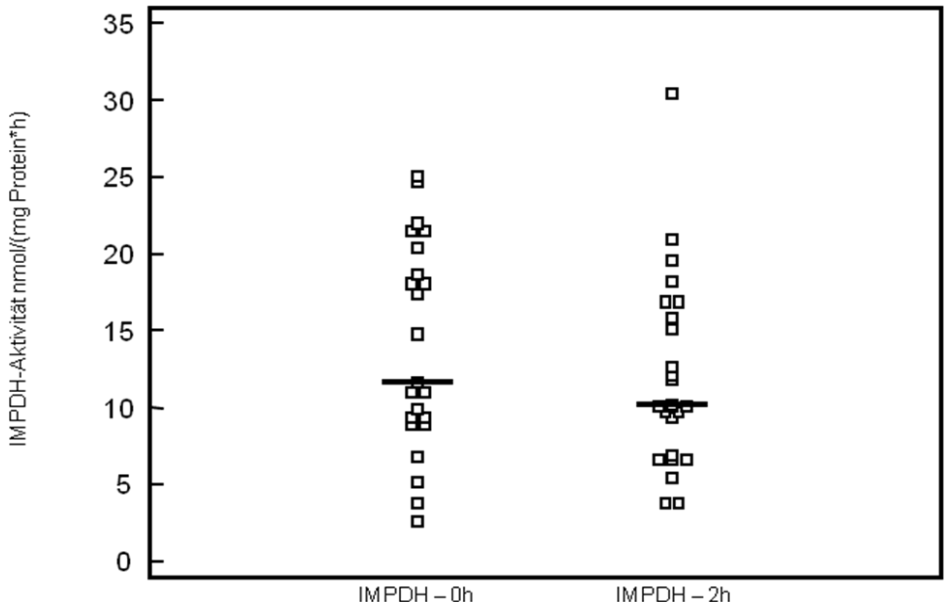

Abbildung 7: IMPDH Aktivität (0h und 2h) in der EC-MPS-Therapie. N=24 nierentransplantierte Patienten (kaukasischer Abstammung) im Universitätsklinikum Ulm (Abteilung Viszeral- und Transplantationschirurgie) zwischen 2004 bis 2006.

Wie in Tabelle 14 gezeigt, bestand eine signifikant negative Korrelation ($p < 0,05$) zwischen IMPDH-Aktivität und der jeweiligen MPA, fMPA und AcMPAG-Konzentrationen, jedoch nicht der MPAG Konzentrationen.

Tabelle 14: Assoziation zwischen Spearman's Rangkorrelations-Analyse und der IMPDH-Aktivität und MPA-, fMPA-, AcMPAG- oder MPAG-Konzentrationen (0 h und 2 h) in Plasma. N=24 nierentransplantierte Patienten (kaukasischer Abstammung) im Universitätsklinikum Ulm (Abteilung Viszeral- und Transplantationschirurgie) zwischen 2004 bis 2006.

/vs. IMPDH-Aktivität	Spearman's Rangkorrelatios-Koeffizient	Signifikanzniveau
MPA	r = -0,665	p < 0,0001
fMPA	r = -0,446	p = 0,003
AcMPAG	r = -0,459	p = 0,002
MPAG	r = 0,084	p = 0,571

3.3 Nierenfunktion

Zur Überprüfung der Nierenfunktion wurde die Korrelation der AUC_{12h} von MPA und fMPA und der Metaboliten AcMPAG und MPAG mit der glomerulären Filtrationsrate und den Kreatinwerten untersucht. fMPA-AUC_{12h}, AcMPAG-AUC_{12h} und MPAG-AUC_{12h} , jedoch nicht MPA-AUC_{12h} korrelierten signifikant mit der glomerulären Filtrationsrate (siehe Tabelle 15). Zusätzlich korrelierten sowohl fMPA-AUC_{12h} als auch MPAG-AUC_{12h} signifikant mit dem Serum-Kreatinin (siehe Tabelle 16),

Tabelle 15: Assoziation zwischen Spearman's Rangkorrelations-Analyse und GFR, geschätzt mit Hilfe der MDRD – Formel und MPA-, fMPA-, AcMPAG oder MPAG-AUC_{12h} (GFR = glomeruläre Filtrationsrate). N=24 nierentransplantierte Patienten (kaukasischer Abstammung) im Universitätsklinikum Ulm (Abteilung Viszeral- und Transplantationschirurgie) zwischen 2004 bis 2006.

/vs. MDRD-GFR	Spearman's Rangkorrelations-koeffizient	Signifikanzniveau
MPA – AUC_{12h}	r = 0,036	p = 0,864
fMPA – AUC_{12h}	r = -0,429	p = 0,04
AcMPAG – AUC_{12h}	r = -0,362	p = 0,08
MPAG – AUC_{12h}	r = -0,626	p = 0,003

Tabelle 16: Assoziation zwischen Spearman's Rangkorrelations-Analyse und Kreatinin, geschätzt mit Hilfe der MDRD – Formel und MPA-, fMPA-, AcMPAG oder MPAG-AUC_{12h}. N=24 nierentransplantierte Patienten (kaukasischer Abstammung) im Universitätsklinikum Ulm (Abteilung Viszeral- und Transplantationschirurgie) zwischen 2004 bis 2006.

/vs. MDRD-Krea	Spearman's Rangkor relations-koeffizient	Signifikanzniveau
MPA – AUC_{12h}	r = -0,0017	p = 0,9936
fMPA – AUC_{12h}	r = 0,412	p = 0,0452
AcMPAG – AUC_{12h}	r = 0,3416	p = 0,1023
MPAG – AUC_{12h}	r = 0,593	p = 0,0022

3.4 Abstoßungsreaktionen

Fünf Patienten (1 Frau, 4 Männer) (20,8 %) erlitten eine bioptisch nachgewiesene akute Abstoßungsreaktion. In vier Fällen war es eine zelluläre Abstoßungsreaktion, während es sich in einem fünften Fall eine humorale Abstoßungsreaktion handelte.

Die MPA-AUC war 39,9 mg*h/L (Median, Bereich: 19,0 bis 63,5 mg*h/L) bei Patienten, die eine akute Abstoßungsreaktion entwickelten, im Vergleich hierzu war die MPA-AUC 23,0 mg*h/L (8,4 bis 66,3 mg*h/L) bei Patienten ohne Abstoßungsreaktion ($p > 0,05$). Nur ein Patient mit MPA-AUC_{12h} < 30 mg*h/L zeigte eine Abstoßungsreaktion.

3.5 Nebenwirkungen

Folgende unerwartete klinische Ereignisse traten während der Dauer der pharmakokinetischen Studie auf: Während der EC-MPS – Einnahme wurde bei 15 Patienten (acht Frauen, 7 Männer) Harnwegsinfektionen beschrieben, 4 Patienten (1 Frau, 3 Männer) litten unter Infektionen der Atemwege, zwei Patienten (2 Männer) unter gastrointestinalen Beschwerden (Durchfall, Übelkeit, Appetitlosigkeit und Gewichtsabnahme); (siehe Tabelle 17) . Diarrhö wurde als > 3 Mal Stuhlgang pro Tag definiert und wurde in nur 2 Fällen (8,3 %) gefunden. Es gab keine Fälle mit Leukopenie.

Tabelle 17: Nebenwirkungen. N=24 nierentransplantierte Patienten (kaukasischer Abstammung) im Universitätsklinikum Ulm (Abteilung Viszeral- und Transplantationschirurgie) zwischen 2004 bis 2006.

Art der Infektion	Patienten, n (%)
Harnwegsinfekte	15 (62,5 %)
Lungeninfektionen	4 (16,6 %)
GIT-Störungen (Durchfall / Übelkeit / Appetitlosigkeit / Gewichtsabnahme)	2 (8,4 %)

Allerdings wurde keine Assoziationen zwischen MPA- AUC_{12h}, fMPA- AUC_{12h}, MPAG-AUC_{12h}, AcMPAG-AUC_{12h} oder den Konzentrationen der pharmakokinetischen Parameter zu bestimmten Zeitpunkten und irgendeinem der dokumentierten klinischen Ereignisse gefunden.

Der Median der fMPA-AUC_{12h} war mit 560 µg*h/L (Bereich 100-2460 µg*h/L) nicht signifikant unterschiedlich bei Patienten mit Infektionen im Vergleich zu Patienten ohne Infektionen (Median 420 µg*h/L, Bereich: 200-640 µg*h/L).

Bis auf einer Ausnahme wurde kein Zusammenhang zwischen IMPDH-Aktivität und klinischen Ereignissen gefunden. Bei zwei Patienten mit Diarrhö wurde eine höhere IMPDH-Aktivität sowohl bei 0 h (Median: 22,0 und 25,1 nmol/(mg Protein*h) und 2 h (Median: 18,2 und 30,5 nmol/(mg Protein*h) im Vergleich zur Patienten ohne Diarrhö (Median: 11,0 und 10,1 nmol/(mg Protein*h) gefunden. Es wurde jedoch keine Korrelation zwischen der IMPDH-Aktivität und dem Auftreten von Diarrhö gefunden.

4. Diskussion

Mycophenolsäure (MPA) ist der aktive Metabolit des Immunsuppressivums Mycophenolatmofetil (MMF). Dieses Medikament wird eingesetzt, um aktive Gewebeabstoßungsreaktionen nach Organtransplantation zu verhindern. Der Wirkungsmechanismus der Mycophenolsäure beruht auf der reversiblen Hemmung des Enzyms Inosinmonophosphatdehydrogenase (IMPDH). Dadurch wird die Guanosinnukleotidbiosynthese in den B- und T-Lymphozyten blockiert und ihre Zellteilungs- und Proliferationsrate stark verlangsamt, was schließlich zur Herabregulierung der Immunantwort des Körpers führt.

Mycophenolsäure liegt im Blut in hohem Maße unspezifisch an Plasmaalbumin gebunden vor. Die Metabolisierung von Mycophenolsäure erfolgt in der Leber. Als Hauptmetabolit entsteht dabei das phenolische 7-O-Glucoronid (MPAG), das selbst jedoch keine immunsuppressive Wirkung besitzt.

Bei Patienten mit eingeschränkter Nierenfunktion kann es zu erheblichen Veränderungen der Konzentration von Mycophenolsäure im Plasma kommen.

Es ist eine große interindividuelle Variabilität beim Einsatz von MMF zu beobachten. Der individuelle Dosierungsbedarf hängt vor allem von der Nierenfunktion und der Comedikation (besonders mit andern Immunsuppressiva) ab. Aus diesen Gründen ist eine individuelle Patienteneinstellung, d.h. ein Mycophenolsäure- Monitoring empfehlenswert.

Trotz guter Verträglichkeit können bei Überdosierung von Mycophenolsäure unangenehme Nebenwirkungen wie Übelkeit, Verdauungsstörungen und Blutbildveränderungen auftreten. Durch die Kontrolle und die optimale Einstellung der Mycophenolsäurekonzentration im Plasma kann die Compliance der Patienten geprüft, verbessert und ein maximaler Therapieerfolg gewährleistet werden.

4.1 Interindividuelle Variabilität der Pharmakokinetik und Pharmakodynamik von EC-MPS

Zur Bestimmung der Exposition für die MPA-Therapie ist eine einmalige Messung der MPA-Konzentration nicht ausreichend. Zur Beurteilung der EC-MPS-Pharmakokinetik und Pharmakodynamik wurden deshalb innerhalb von 0-12

Stunden nach Medikation mehrere Blutproben gewonnen und aus ihnen die MPA, fMPA, MPAG und AcMPAG-Blutkonzentration bestimmt.

Die MPA-Kurve zeigt für alle Patienten einen typischen Verlauf, mit einer initialen maximalen Konzentration nach ein bis zwei Stunden und einem zweiten Maximum nach sechs bis acht Stunden. Die Zeitverläufe von MPAG und AcMPAG ähnelten denen von MPA, wobei sie zeitverzögert zu MPA verliefen.

Diese Kurvenverläufe liegen auf Grund des enterohepatischen Kreislaufs vor. Während das erste Konzentrationsmaximum von MPA die Reabsorption von EC-MPS im Dünndarm widerspiegelt, stellt das zweite Konzentrationsmaximum das im Dünndarm deglucuronidierte MPAG dar, also dass erneut entstehende MPA, das sofort reabsorbiert und dem Kreislauf wieder zugeführt wird [37]. Aufgrund der zeitlichen und mengenmäßigen Variabilität des zweiten Peaks kann die MPA-Gesamtexposition nicht aufgrund von Talspiegeln beurteilt werden.

Dies wird in der vorliegenden Studie bestätigt. Obwohl die C_0 als auch die C_{12}–Konzentrationen eine signifikante Korrelation mit der MPA-AUC_{12h} zeigten und im empfohlenen Bereich von 1,0 – 3,5 mg/L lagen [54], war lediglich bei 25 % unserer Patienten die MPA-Gesamtexposition im empfohlenen therapeutischen Bereich.

Desweiteren fanden wir eine hohe interindividuelle Variabilität der gemessenen pharmakokinetischen Profile von MPA, freier MPA, des Mycophenolsäureglucuronids (MPAG) und des acetylierten Mycophenolsäureglucuronids (AcMPAG). Diese Variabilität ist höher als bei Therapien mit Mycophenolsäureester (MMF) stabil nierentransplantierter [9,12,48], als auch bei neu herztransplantierten Patienten [34].

Besonders die MPA-Prä-Dosis-Konzentrationen (morgens und abends) zeigten eine schwache (aber signifikante) Korrelation mit der AUC_{12h}, was so auch für EC-MPS von den Arbeitsgruppen de Winter et al. [16] und Neumann et al. [48] beschrieben wurde.

Nach unseren Ergebnissen, lag die beste Korrelation zwischen MPA-AUC_{12h} und der 3 h MPA-Konzentration (r = 0,734) vor.

Bezogen auf die Metabolitkonzentrationen gab es eine bessere Korrelation zwischen den jeweiligen AUCs und C_{max} sowie C_{12h} . Die Verwendung der C_{max} – Konzentration zur Therapie-Kontrolle mit EC-MPS scheint im Allgemeinen jedoch

sehr schwierig (vor allem in der früheren Phase nach Nierentransplantation) aufgrund der sehr breiten Variation von T_{max}.

Die hohe zeitliche Variabilität wird auch durch unsere, im Vergleich zu anderen Studien, erheblich spätere mediane T_{max} für MPA bestätigt. Während sie in der vorliegenden Studie bei 3,5 h für stabil nierentransplantierte Patienten lag, betrug sie in anderen Studien mit gleicher Medikation 2h [64].

Eine Post-hoc-Analyse bei stabil nierentransplantierten Patienten (> 4 Monaten nach Transplantation), die vor kurzem von de Winter et al. präsentiert wurde [16] hat gezeigt, dass T (lag) zum Erreichen des 2,0 h (0,9 – 5,5 h) Median nach der morgendlichen Dosis und des 8,9 h (5,4 - 12,3 h) Median nach der abendlichen Dosis bei der Therapie mit EC-MPS stärker variierte, als bei der Therapie mit MMF.

4.2 MPA-AUC_{12h}

Die vorliegende Arbeit konnte zeigen, dass nur 25 % der Patienten, die „enteric coated“-Mycophenolsäure (EC-MPS) und Cyclosporin A erhielten, in der Frühphase nach Nierentransplantation die angestrebte MPA-AUC_{12h} von 40-60 mg/L*h erreichten. Dieser AUC-Bereich wurden von MMF-Studien [41] und nach EC-MPS-Therapie [28,30] mit derselben Comedikation vorgeschlagen. Sumethkul et. al. [62] dagegen fanden eine höhere MPA-Exposition und eine bessere Absorption für EC-MPS. Es ist bekannt, dass eine Cyclosporin-Comedikation aufgrund der enterohepatischen Zirkulations-Hemmung zu circa 30 % weniger [61] MPA-Exposition führt. Dies erklärt auch die in unserer Studie gemessenen niedrigen MPA-AUC_{12h} Werte.

Darüber hinaus erhielten eine beträchtliche Anzahl unserer Patienten Antibiotika zur Infektionsbehandlung, die aufgrund der verringerten Deglucuronidation durch die Magen-Darm-Bakterien ebenfalls zur Hemmung des enterohepatischen Kreislaufs beitragen [55,59].

Die Albumin-Konzentration im Serum war mit 30 ± 3,6 g/l an der unteren Grenze des Referenzbereiches. Das steht im Einklang mit der relativ hohen MPA-Clearance von 29 L/h. Zum Vergleich lag die MPA-Clearance bei Patienten mit Ig A-Nephritis ohne Cyclosporin A - Begleitmedikation bei 8 L/h [14], während bei

solid organtransplantierten Empfänger mit Cyclosporin-Co-Therapie eine MPA-Clearance von 14,1 - 34,9 L/h vorlag [61].

4.3 IMPDH-Aktivität

Die gemessene IMPDH-Aktivität war in dieser Studie 2h nach Medikamenteneinnahme nicht signifikant niedriger, als vor Medikamenteneinnahme. Dies entsprach dem Fehlen eines signifikanten Unterschiedes der C_0 und C_2 Konzentrationen, die für MPA, fMPA, AcMPAG und MPAG bestimmt wurden.
Allerdings wurde eine signifikant negative Korrelation zwischen IMPDH-Aktivität und den MPA, fMPA und AcMPAG-Konzentrationen, jedoch nicht den MPAG Konzentrationen gefunden. Dies deutet darauf hin, dass MPAG im Gegensatz zu AcMPAG nicht immunsuppressiv wirkt.

Auch in Vitro – Experimente zeigten, das MPA und AcMPAG, aber nicht MPAG die IMPDH-Aktivität hemmen [53].
Eine aktuelle Studie von Sombogaard et al. [39] bot einen ersten Anhalt dafür, dass eine höhere MPA-Exposition mit einer stärkeren Hemmung der IMPDH-Aktivität und einer besseren klinischen Wirksamkeit einhergeht. Es wurde über einen Zusammenhang zwischen $IMPDH_{act}$ und AUC_{12h}, sowie über eine maximale IMPDH-Hemmung (aber nicht IMPDH-Aktivität an einzelnen Zeitpunkten) am Tag 6 nach der Transplantation und über das Risiko einer akuten Abstoßungsreaktion berichtet.

Unsere Daten zeigten keine signifikante Beziehung zwischen der IMPDH-Aktivität und der therapeutischen Wirksamkeit. Allerdings wurde eine Bestimmung des $IMPDH_{act}$ –AUC_{12h} in unserer Studie nicht durchgeführt und die 2 h-IMPDH-Aktivität, die von uns gemessen wurde, entsprache nicht der maximalen Hemmung.

Es wurde der 2 h Untersuchungszeitpunkt nach Dosiseinnahme gewählt, da gemäß den Ergebnissen früherer pharmakokinetischer Studien mit EC-MPS dieser Zeitpunkt sich mit T_{max} zu decken schien.
Allerdings sind diese frühere Studien in Populationen mit stabil transplantierten Patienten durchgeführt worden, wohingegen in unserer Studie mit de novo - Patienten während des ersten Monats nach der Transplantation T_{max} für MPA erheblich verzögert und sehr variabel war (siehe oben).
Daher sind unsere Ergebnisse bezüglich der IMPDH-Aktivität nicht im Widerspruch mit der oben zitierten Studie. Die deutlich höhere IMPDH-Aktivität bei Patienten mit Diarrhö ist im Einklang mit neueren Daten unserer Gruppe für nierentransplantierten Empfänger bei EC-MPS - Therapie mit gleichzeitiger Tacrolimus – Therapie, in der Diarrhö sowohl in Zusammenhang mit deutlich höherer IMPDH-Aktivität, als auch mit signifikant geringerer MPA-Exposition stand [32].

4.4 Nierenfunktion

Zur Überprüfung der Nierenfunktion wurde die Korrelation der AUC_{12h} von MPA und fMPA und der Metaboliten AcMPAG und MPAG mit der glomerulären Filtrationsrate und den Kreatinwerten untersucht. fMPA-AUC_{12h}, AcMPAG-AUC_{12h} und MPAG-$AUC_{12h,}$ jedoch nicht MPA-AUC_{12h} korrelierten signifikant mit der glomerulären Filtrationsrate. Dies ist durch die vorherrschende renale Elimination von MPAG erklärbar.
Zusätzlich korrelierten sowohl fMPA-AUC_{12h} als auch MPAG-AUC_{12h} signifikant mit dem Serum-Kreatinin. Dies deutet auf eine Gefahr der Kumulation bei verzögerter Transplantatfunktion hin.
Die Korrelation von fMPA und MPAG mit der Nierenfunktion ist wichtig für mögliche, unerwartete Nebenwirkungen. Bei Patienten mit Niereninsuffizienz oder verzögerter Transplantatfunktion könnte eine Anhäufung von Stoffwechselprodukten auftreten, die zu Nebenwirkungen wie Knochenmarktoxizität mit Leukopenie und gleichzeitiger Infektion führen [59,68].

AUC_{12h} von AcMPAG, einem Metabolit, das sowohl mit pharmakologischen als auch mit toxische Wirkungen in Zusammenhang stand [58,59] war für stabil nierentransplantierte Patienten 20 % höher als bei Tedesco Silvia et al (14 %).
Eine mögliche Erklärung ist die gestörte Organfunktion und Elimination in der Frühphase nach der Transplantation.

4.5 Abstoßungsreaktionen

Akute Abstoßungsreaktionen stellen in der Frühphase nach Transplantation ein Hauptproblem dar und bei 15-30 % der nierentransplantierten Patienten kommt es zu einer akuten Transplantatabstoßung [47]. In der vorliegenden Studie erlitten fünf Patienten (20,8 %) eine bioptisch nachgewiesene akute Abstoßungsreaktion.
Zur Minimierung des Risikos einer Abstoßungsreaktion in der Frühphase nach Transplantation, sollte die EC-MPS Dosis so gewählt werden, dass die MPA-AUC in einem therapeutischen Bereich von 40-60 mg * h/L liegt. In unserer Studie lag die MPA-AUC_{12h} bei Patienten mit bioptisch nachgewiesener akuter Abstoßungsreaktion im Median bei 39,9 mg*h/L und war damit auf die untere therapeutische Grenze von 40 mg*h/L beschränkt. Allerdings zeigten die Ergebnisse der APOMYGRE Studie [41], bei nierentransplantierten Patienten mit MMF/Cyclosporin A/Kortikosteroid-Immunsuppressions – Therapie, dass eine AUC > 45 mg*h/L ein besseres Therapieziel sein kann, um die akute Abstoßungsreaktion zu minimieren. In dieser Studie benötigte die Mehrzahl der Patienten höhere MMF-Dosen (viele benötigten das Zweifache der Standarddosis), um die therapeutischen Level in den frühen Monaten nach Transplantation zu erreichen.
Wir waren nicht in der Lage einen Zusammenhang zwischen MPA-$AUC_{12\ h}$ und dem Abstoßungsrisiko in der Frühphase nach Transplantation in unserer Studie zu finden. Einerseits stimmt dies mit einigen kleinen Studien überein, an denen erwachsene nierentransplantierte Patienten beteiligt waren, die mit MMF und Cyclosporin A und Kortikosteroiden therapiert wurden [8,11]. Einige Studien mit größeren Patientenzahlen dagegen, wiesen andere Ergebnisse auf [31,41,67,68].

4.6 Nebenwirkungen

Die häufigsten Nebenwirkungen bei Nierentransplantatempfängern unter EC-MPS Therapie sind Leukopenie, Infektionen und gastrointestinale Symptome wie Übelkeit und Diarrhöe [10]. In der vorliegenden Studie traten bei 62,5 % der Patienten Harnwegsinfektionen, bei 16,6 % Infektionen der Atemwege und bei 8,4 % gastrointestinale Beschwerden (Durchfall, Übelkeit, Appetitlosigkeit und Gewichtsabnahme) auf. Es gab keine Fälle mit Leukopenie.

In Übereinstimmung mit vorrangegangenen Studien fanden wir keinen Zusammenhang zwischen gastrointestinalen Nebenwirkungen und pharmakokinetischen Parametern von Gesamt-MPA oder freier MPA [66]. Jedoch wiesen 63 % der Patienten fMPA-AUC_{12h} -Werte auf, die höher als 0,4 mg*h/L waren. Dieser Wert wird mit mehr Infektionen und Leukopenien bei Kindern, die mit MMF therapiert werden assoziiert [68]. Einen Zusammenhang konnten wir jedoch nicht feststellen. Auch wurde keine Assoziationen der MPAG-AUC_{12h} und der AcMPAG-AUC_{12h} zu irgendeinem der dokumentierten klinischen Ereignisse gefunden.

5. Zusammenfassung

Die Hemmung der IMPDH-Synthese ist eine wichtige Säule der Immunsuppression nach Nierentransplantation. Standard ist derzeit die Kombination von Mycophenolsäure, Calcineurin- Inhibitoren und Steroiden in der Immunsuppression nach Nierentransplantation. Ein subtherapeutischer Mycophenolat-Spiegel geht mit einer unzureichenden Immunsuppression auch in Kombination mit anderen Immunsuppressiva einher. Es ist bislang nicht untersucht worden, ob die empfohlene Standartdosierung von Natrium-Mycophenolat (= EC-MPS) eine ausreichende Hemmung der IMPDH- Synthese bewirkt.

Diese Dissertation untersuchte daher die Pharmakokinetik und Pharmakodynamik von 720 mg EC-MPS und die IMPDH-Aktivität bei Comedikation mit Cyclosporin A und Steroiden innerhalb der ersten 30 Tage bei Patienten nach Nierentransplantation (n=24). Die Blutproben wurden 0; 0,5; 1; 1,5; 2; 3; 4; 6; 8 und 12 Stunden nach der morgendlichen Dosis entnommen. Die Plasmakonzentrationen von Mycophenolsäure, seiner glukuronierten Metabolite (MPAG=Mycophenolsäureglucuronid; AcMPAG = Mycophenolsäureacyl-glucuronid) und freier MPA wurden anhand validierter HPLC (=high pressure liquid chromatography)-DAD chromatografisch ermittelt. Die IMPDH-Aktivität in Leukozyten wurde chromatographisch analysiert.

Hauptergebnis der Untersuchung war, dass mit 2 x 720 mg EC-MPS pro Tag nur 25 % der eingeschlossenen Patienten eine angestrebte MPA-$AUC_{12\,h}$ über 40 mg*h/L erreichten. Desweiteren fanden wir eine hohe interindividuelle Variabilität der gemessenen pharmakokinetischen Profile von MPA, freier MPA, des Mycophenolsäureglucuronids (MPAG) und des acetylierten Mycophenolsäure-glucuronids (AcMPAG).

Die hier gemachte Beobachtung, dass die Standartdosierung von EC-MPS in nur einem Viertel der Patienten zu einem ausreichenden Wirkspiegel führt, lässt die Empfehlung zu, dass EC-MPS in höheren Dosen wie zum Beispiel 3 x 720 mg pro Tag in der Frühphase nach Nierentransplantation zusammen mit einer Cyclosporin A - Co-Therapie verabreicht werden sollte.

6. Literatur

1. Allison AC, Hovi T, Watts RWE, Webster ADB. Immunological observations on patients with the Lesh Nyhan syndrome, and the role of de novo purine synthesis in lymphocyte transformation. Lancet, ii 1179-1183. (1975)

2. Allison AC, Ahlmquist SJ, Muller CD, Eugui EM. In vitro immunosuppressive effects of mycophenolate acid and an ester prodrug, RS-61443. Transplant Proc. 23: 10 -14. (1991)

3. Allison AC, Eugui EM. Immunosuppressive and other effects of mycophenolic acid and ester prodrug, mycophenolate mofetil. Immunol Rev. 136: 5-28. (1993)

4. Allison AC, Eugui EM. Mycophenolate mofetil, a rationally designed immunosuppressive drug. Clin. Transplantation 7: 96-112. (1993)

5. Allison AC, Kowalski WJ, Muller CD, Eugui EM. Mechanisms of action of mycophenolic acid. Ann NY Acad Sci. 696: 63-87. (1993)

6. Arns W, Breuer S, Choudhury S, Taccard G, Lee J, Binder V, Roettele J, Schmouder R. Enteric-coated mycophenolate sodium delivers bioequivalent MPA exposure compared with mycophenolate mofetil. Clin Transplant. 19: 199–206. (2005)

7. Arns W, Gies M, Choi L, Zhu W, Cooper P, Yeh CM, Prasad P, Graf P, Schmouder R. Absorption characteristics of EC-MPS--an enteric-coated formulation of mycophenolic sodium. Int J Clin Pharmacol Ther. 44: 375-385. (2006)

8. Atcheson BA, Taylor PJ, Mudge DW, Johnson DW, Hawley CM, Campbell SB, Isbel NM, Pillans PI, Tett SE. Mycophenolic acid pharmacokinetics and related outcomes early after renal transplant. Br J Clin Pharmacol. 59: 271-280. (2005)

9. Budde K, Bauer S, Hambach P, Hahn U, Roblitz H, Mai I, Diekmann F, Neumayer HH, Glander P.Pharmacokinetic and pharmacodynamic comparison of enteric-coated mycophenolate sodium and mycophenolate mofetil in maintenance renal transplant patients. Am J Transplant. 7:888-898. (2007)

10. Bunchman T, Navarro M, Broyer M, Sherbotie J, Chavers B, Tönshoff B, Birk P, Lerner G, Lirenman D, Greenbaum L, Walker R, Zimmerhackl LB, Blowey D, Clark G, Ettenger R, Arterburn S, Klamerus K, Fong A, Tang H, Thomas S, Ramos E. The use of mycophenolate mofetil suspension in pediatric renal allograft recipients. Pediatr Nephrol. 16: 978-984. (2001)

11. Cattaneo D, Gaspari F, Ferrari S, Stucchi N, Del Priore L, Perico N, Gotti E, Remuzzi G. Pharmacokinetics help optimizing mycophenolate mofetil dosing in kidney transplant patients. Clin transplant. 15: 402-409. (2001)

12. Cattaneo D, Cortinovis M, Baldelli S, Bitto A, Gotti E, Remuzzi G, Perico N. Pharmacokinetics of mycophenolate sodium and comparison with the mofetil formulation in stable kidney transplant recipients. Clin J Am Soc Nephrol. 2: 1147-1155. (2007)

13. Chiarelli LR, Molinaro M, Libetta C, Tinelli C, Cosmai L, Valentini G, Dal Canton A, Regazzi M. Inosine monophosphate dehydrogenase variability in renal transplant patients on long-term mycophenolate mofetil therapy. Br J Clin Pharmacol. 69: 38-50. (2010)

14. Czock D, Rasche FM, Carius A, Glander P, Budde K, Bauer S, Keller F, von Müller L. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of mycophenolc acid after enteric-coated mycophenolate versus mycophenolate mofetil in patients with progressive IgA nephritis. J Clin Pharmacol. 47: 850-859. (2007)

15. De Mattos A, Salvadori M, Holzer H, Sollinger H, Arns W, Oppenheimer F, Maca J, Hall M. Enteric coated mycophenolate sodium is therapeutically equivalent to mycophenolate mofetil in de novo renal transplant patients. Am J Transplant. 4: 231-236. (2004)

16. De Winter BC, van Gelder T, Glander P, Cattaneo D, Tedesco-Silva H, Neumann I, Hilbrands L, van Hest RM, Pescovitz MD, Budde K, Mathot RA. Population Pharmacokinetics of Mycophenolic Acid : A Comparison between Enteric-Coated Mycophenolate Sodium and Mycophenolate Mofetil in Renal Transplant Recipients. Clin Pharmacokinet. 47: 827-838. (2008)

17. Dunn J, Wagstaff J, Perry M Plosker L. Cyclosporin: an update review of the pharmacokinetik properties, clinical efficacy and tolerability of a micromeulsion-based formulation (Neoral) in organ transplantation. Drugs. 61 (13): 1957-2016. (2001)

18. Epinetti WW, Parker CM, Jones FL, Grilst MC: Mycophenolic acid for psoriasis. A review of Pharmacology, long term efficacy and safety. J Am Acad Dermatol. 17: 962-971. (1987)

19. Eugui EM, Mirkovich A, Allison AC. Lymphocyte-selective antiproliferative and immunosuppressive effects of mycophenolic acid in mice. Scand J Immunol. 33: 175-183. (1991)

20. Eugui EM, Almquist S, Muller CD, Allison AC. Lymphocyte-selektive cytostatic and immunosuppressive effects of mycophenolic acid in vitro: role of deoxyguanosine nucleotide depletion. Scand J Immunol. 33: 161-173. (1991)

21. Fireman M, DiMartini AF, Armstrong SC, Cozza KL. Immunosuppressants. Psychosomatics. 45: 354-360. (2004)

22. Franklin TJ, Cook JM. The inhibition of nucleic acid synthesis by mycophenolic acid. Biochem J. 113: 515-524 (1969)

23. Froissart M, Rossert J, Jacquot C, Paillard M, Houillier P. Predictive performance of the modification of diet in renal disease and Cockcroft-Gault equations for estimating renal function. J Am Soc Nephrol. 16: 763-773. (2005)

24. Fukuda T, Goebel J, Thøgersen H, Maseck D, Cox S, Logan B, Sherbotie J, Seikaly M, Vinks AA. Inosine Monophosphate Dehydrogenase (IMPDH) Activity as a Pharmacodynamic Biomarker of Mycophenolic Acid Effects in Pediatric Kidney Transplant Recipients. J Clin Pharmacol. 51: 309-320. (2010)

25. Galiwango PJ, Delgado DH, Yan R, et al. Mycophenolate mofetil dose reduction for gastrointestinal intolerance is associated with increased rates of rejection in heart transplant patients. J Heart Lung Transplant. 27: 72-77. (2008)

26. Gaston RS, Kaplan B, Shah T, Cibrik D, Shaw LM, Angelis M, Mulgaonkar S, Meier-Kriesche HU, Patel D, Bloom RD. Fixed- or controlled-dose mycophenolate mofetil with standard- or reduced-dose calcineurin inhibitors: the Opticept trial. Am J Transplant. 9: 1607-1619. (2009)

27. Glander P, Braun KP, Hambach P, Bauer S, Mai I, Roots I, Waiser J, Fritsche L, Neumayer HH, Budde K. Non-radioactive determination of inosine 5'-monophosphate dehydro-genase (IMPDH) in peripheral mononuclear cells. Clin Biochem. 34: 543-549. (2001)

28. Glander P, Sommerer C, Arns W, Ariatabar T, Kramer S, Vogel EM, Shipkova M, Fischer W, Zeier M, Budde K. Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of Intensified versus Standard Dosing of Mycophenolate Sodium in Renal Transplant Patients. Clin J Am Soc Nephrol. 5: 503-511. (2010)

29. Gomez EC, Menendez L, Frost P. Efficacy of mycophenolic acid for the treatment of psoriasis. J Am Acad Dermatol. 1: 531-537. (1979)

30. Granger DK; ERL B 301 Renal Transplant Study Group; ERL B 302 Renal Transplant Study Group. Enteric-coated mycophenolate sodium: results of two pivotal global multicenter trials. Transplant Proc. 33: 3241-3244. (2001)

31. Hale MD, Nicholls AJ, Bullingham RE, Hené R, Hoitsma A, Squifflet JP, Weimar W, Vanrenterghem Y, Van de Woude FJ, Verpooten GA. The pharmacokinetic pharmacodynamic relationship for mycophenolate mofetil in renal transplantation. Clin Pharmacol Ther. 64: 672-683. (1998)

32. Hasche G, Wieland E, Shipkova M, Martius Y, Klett C, Bolley R, Olbricht C. Association between Pharmacokinetics (PK), Pharmacodynamics (PD), and Clinical Events under Therapy with Mycophenolic Acid (EC-MPS) in the early Phase after Kidney Transplantation (KTx). J Am Soc Nephrol. 19: 677A. (2008)

33. Helderman JH. Principles and practices of renal transplantant rejection. In: Jacobson H, Striker K, Klahr S, eds. The principles and practice of nephrology. St. Louis: Mosby Year-Book. 811. (1995)

34. Hummel M, Yonan N, Ross H, Miller LW, Sechaud R, Balez S, Koelle EU, Gerosa G; ERL 2401 Study Group. Pharmacokinetics and variability of mycophenolic acid from enteric-coated mycophenolate sodium compared with mycophenolate mofetil in de novo heart transplant recipients. Clin Transplant. 21: 18-23. (2007)

35. Johnston A, He X, Holt DW. Bioequivalence of enteric-coated mycophenolate sodium and mycophenolate mofetil: a meta-analysis of three studies in stable renal transplant recipients. Transplantation. 82: 1413–1418. (2006)

36. Kulkarni AA, Bharat V Shah. Mycophenolate Mofetil: A Promising Immunosuppressive Agent. Japi. 52: 33-38. (2004)

37. Land WG. Immunsuppressive Therapie: IMPDH-hemmende immunsuppressive Medikamente (Band 3). Georg Thieme Verlag. 65-122. (2004)

38. Lauren AF, Dumont S, Poindron P, Muller CD. Mycophenolic acid suppresses protein N-linked glycosylation in human monocytes and their adhesion to endothelial cells and to some substrates. Exp Hematol. 24: 59-67. (1996)

39. Lee WA, Gu L, Mikszatai AR, Chi N: Bioavailability improvement of mycophenolic acid through amino ester derivilisation. Pharmaceutical Research. 7: 161-166. (1990)

40. Legendre C, Cohen D, Zeier M, Rostaing L, Budde K. Effi cacy and safety of enteric-coated mycophenolate sodium in de novo renal transplant recipients: pooled data from three 12-month multicenter, openlabel, and prospective studies. Transplant Proc. 39: 1386–1391. (2007)

41. Le Meur Y, Büchler M, Thierry A, Caillard S, Villemain F, Lavaud S, Etienne I, Westeel PF, de Ligny BH, Rostaing L, Thervet E, Szelag JC, Rérolle JP, Rousseau A, Touchard G, Marquet P. Individualized mycophenolate mofetil dosing based on drug exposure significantly improves patient outcomes after renal transplantation. Am J Transplant. 7: 2496-2503. (2007)

42. Mitsui A, Suzuki S. Immunosuppressive effect of mycophenolic acid. J Antibiot. 22: 358-363. (1969)

43. Myfortic® [package insert]. East Hanover, NJ: Novartis Pharmaceuticals Corporation; (2008).

44. Naesens M, de Loor H, Vanrenterghem Y, Kuypers DR. The impact of renal allograft function on exposure and elimination of mycophenolic acid (MPA) and its metabolite MPA 7-O-glucuronide. Transplantation. 84: 362–373. (2007)

45. Natsumeda Y, Carr SF. Human type I and II IMP dehydrogenase as targets. Ann NY Acad Sci. 696: 88-93. (1993)

46. Nelson P, Eugui E, Allison AC. Synthesis and immunosuppressive activity of some side-chain variants of mycophenolic acid. J Medicinal Chem. 33: 833-838. (1990)

47. Neumayer H-H. Neue Medikamente in der Transplantationsmedizin. Bremen Uni-Med Scinence 2001.

48. Neumann I, Fuhrmann H, Kanzler M, Fang IF, Jaeger A, Graf H, Bayer P, Kovarik J. Pharmacokinetics of enteric-coated mycophenolate sodium: comparative study in patients with autoimmune disease and renal allograft. Expert Opin Pharmacother. 9: 879-886. (2008)

49. Oshugi Y, Suzuki S, Takagaki Y. Antitumor and Immunosuppressive effects of mycophenolic acid derivates. Cancer res. 2923-2927. (1976)

50. Roitt IM, Brostoff J, Male DK. Kurzes Lehrbuch der Immunologie, Thieme Verlag, 326. (1991)

51. Salvadori M. Therapeutic equivalence of mycophenolate sodium versus mycophenolate mofetil in de novo renal transplant recipients. Transplant Proc. 33: 3245-3247. (2001)

52. Salvadori M, Holzer H, Civati G, Sollinger H, Lien B, Tomlanovich S, Bertoni E, Seifu Y, Marrast AC; ERL B301 Study Group. Long-term administration of enteric-coated mycophenolate sodium (EC-MPS; myfortic) is safe in kidney transplant patients. Clin Nephrol. 66: 112-119. (2006)

53. Schütz E, Shipkova M, Armstrong VW, Wieland E, Oellerich M. Identification of a pharmacologically active metabolite of mycophenolic acid in plasma of

transplant recipients treated with mycophenolate mofetil. Clin Chem. 45: 419-422. (1999)

54. Shaw LM, Holt DW, Oellerich M, Meiser B, van Gelder T. Current issues in therapeutic drug monitoring of mycophenolic acid: report of a roundtable discussion. Ther Drug Monit 23: 305-315. (2001)

55. Shaw LM, Figurski M, Milone MC, Trofe J, Bloom RD. Therapeutic drug monitoring of mycophenolic acid. Clin J Am Soc Nephrol. 2: 1062-1072. (2007)

56. Shipkova M, Niedmann PD, Armstrong VW, Schutz E, Wieland E, Shaw LM, Oellerich M.Simultaneous determination of mycophenolic acid and its glucuronide in human plasma using a simple high-performance liquid chromatography procedure. Clin Chem. 44: 1481-1488. (1998)

57. Shipkova M, Schutz E, Armstrong VW, Niedmann PD, Oellerich M, Wieland E. Determination of the acyl glucuronide metabolite of mycophenolic acid in human plasma by HPLC and Emit. Clin Chem. 46: 365-372. (2000)

58. Shipkova M, Armstrong VW, Oellerich M, Wieland E. Acyl glucuronide drug metabolites: toxicological and analytical implications. Ther Drug Monit. 25: 1-16. (2003)

59. Shipkova M, Armstrong VW, Oellerich M, Wieland E. Mycophenolate mofetil in organ transplantation: focus on metabolism, safety and tolerability. Expert Opin Drug Metab Toxicol. 1: 505-526. (2005)

60. Sombogaard F, Peeters AM, Baan CC, Mathot RA, Quaedackers ME, Vulto AG, Weimar W, van Gelder T. Inosine monophosphate dehydrogenase messenger RNA expression is correlated to clinical outcomes in mycophenolate mofetiltreated kidney transplant patients, whereas inosine monophosphate dehydrogenase activity is not. Ther Drug Monit. 31: 549-556. (2009)

61. Staatz CE, Tett SE. Clinical pharmacokinetics and pharmacodynamics of mycophenolate in solid organ transplant recipients. Clin Pharmacokinet. 46: 13-58. (2007)

62. Sumethkul V, Na-Bangchang K, Kantachuvesiri S, Jirasiritham S. Standard dose enteric-coated mycophenolate sodium (myfortic) delivers rapid therapeutic mycophenolic acid exposure in kidney transplant recipients. Transplant Proc. 37: 861-863. (2005)

63. Suthanthiran M, Strom TB. Renal Transplantation. N Engl J Med. 331: 365-376. (1994)

64. Tedesco-Silva H, Bastien MC, Choi L, Felipe C, Campestrini J, Picard F, Schmouder R. Mycophenolic acid metabolite profile in renal transplant patients receiving enteric-coated mycophenolate sodium or mycophenolate mofetil. Transplant Proc. 37: 852-855. (2005)

65. Tolkoff-Rubin NE. Dialysis and transplantation. In: Dale DC, Federman DD, eds. Scientific American Medicine. New York. (1997)

66. Van Gelder T, Hilbrands LB, Vanrenterghem Y, Weimar W, de Fijter JW, Squifflet JP, Hené RJ, Verpooten GA, Navarro MT, Hale MD, Nicholls AJ. A randomized double-blind, multicenter plasma concentration controlled study of the safety and efficacy of oral mycophenolate mofetil for the prevention of acute rejection after kidney transplantation. Transplantation. 68: 261-266. (1999)

67. Van Gelder T, Silva HT, de Fijter JW, Budde K, Kuypers D, Tyden G, Lohmus A, Sommerer C, Hartmann A, Le Meur Y, Oellerich M, Holt DW, Tönshoff B, Keown P, Campbell S, Mamelok RD. Comparing mycophenolate mofetil regimens for de novo renal transplant recipients: the fixed-dose concentration-controlled trial. Transplantation. 86: 1043-1051. (2008)

68. Weber LT, Shipkova M, Armstrong VW, Wagner N, Schütz E, Mehls O, Zimmerhackl LB, Oellerich M, Tönshoff B. The pharmacokinetic-pharmacodynamic relationship for total and free mycophenolic Acid in pediatric renal transplant recipients: a report of the german study group on mycophenolate mofetil therapy. J Am Soc Nephrol. 13: 759-768. (2002)

69. Woo J, Zeevi A, Yao GZ, Strednak J, Todo S, Thomson AW. Effects of FK-506, mycophenolic acid and bredinin on OKT3-, PMA-, and alloantigen-induced activation molecule expression on cultured CD4+ and CD8+ human lymphocytes. Transplant Proc. 23: 2939-2940. (1991)

70. Xavier M, Mueller MD. Drug immunosuppression Therapie für adult heart transplantation. Part 1: immune response to allograft and mechanism of action of immunsuppressants. Ann Thorac Surg. 77:354-362. (2004)

71. Zeevi A, Woan M, Yao GZ, Venkataramanan R, Todo S, Starzl TE, Duquesnoy RJ. Comparative in vitro studies on the immunosuppressive activities of mycophenolic acid, bredinin, FK 506, cyclosporine, and rapamycin. Transplant Proc. 23: 2928-2930. (1991)

72. Zeevi A, Yao GZ, Venkataramanan R, Duquesnoy RJ, Todo S, Fung JJ, Starzl TE. Comparative in vitro studies on the immunosuppressive effects of purine and pyrimidine synthesis inhibitors. Transplant Proc. 25: 781-783. (1993)

Abbildungs- und Tabellenverzeichnis

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Strukturformel: Mycophenolsäure 2
Abbildung 2: Interindividuelle Unterschiede der Konzentrations-Zeit-Profile für MPA 22
Abbildung 3: Pharmakokinetische Parameter von MPA in der EC-MPS-Therapie 23
Abbildung 4: Pharmakokinetische Parameter von fMPA in der EC-MPS-Therapie 25
Abbildung 5: Interindividuelle Unterschiede der Konzentrations-Zeit-Profile für MPAG 26
Abbildung 6: Interindividuelle Unterschiede der Konzentrations-Zeit-Profile für AcMPAG 28
Abbildung 7: MPAG-AUC_{12h} und AcMPAG-AUC_{12h} in der EC-MPS-Therapie 30
Abbildung 8: IMPDH Aktivität in der EC-MPS-Therapie 31

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1 : zeitlicher Ablauf der Blutentnahme mit Angabe der jeweiligen Blutmenge in Milliliter bei der Vollkinetik. 14
Tabelle 2: zeitlicher Ablauf der Blutentnahme mit Angabe der jeweiligen Blutmenge in Milliliter bei der Kurzkinetik. 14
Tabelle 3: Stellgrößen der HPLC-Anlage. Injektionsvolumen in Mikroliter, Analysendauer in Minuten, Wellenlänge in Nanometer des UV-Detektor und Säulentemperatur in Grad Celsius. 17
Tabelle 4: Darstellung der Ergebnisse außerhalb des Messbereichs 19
Tabelle 5: demographische Daten. 20
Tabelle 6: Laborwerte zu Studienbeginn mit Darstellung der Mediane und Referenzbereiche (GFR: Glomeruläre Filtrationsrate, AST: Aspartat-Aminotransferase, ALT: Alanin-Aminotransferase, GGT: Gamma-Glutamyl-Transferase). 21
Tabelle 7: Pharmakokinetische Parameter von MPA in der EC-MPS-Therapie.. 23

Abbildungs- und Tabellenverzeichnis

Tabelle 8: Spearman's Rangkorrelations-Analyse sowie Signifikanzniveau der MPA-Plasmakonzentrationen. 24
Tabelle 9: Pharmakokinetische Parameter von fMPA (0h, 2h, AUC12h und seiner Fraktion) in der EC-MPS-Therapie..... 25
Tabelle 10: Pharmakokinetische Parameter von MPAG in der EC-MPS-Therapie. 27
Tabelle 11: Spearman's Rangkorrelations-Analyse sowie Signifikanzniveau der MPAG-Plasmakonzentrationen und der AUC_{12h}. 27
Tabelle 12: Pharmakokinetische Parameter von AcMPAG in der EC-MPS-Therapie. 29
Tabelle 13: Spearman's Rangkorrelations-Analyse sowie Signifikanzniveau der AcMPAG-Plasmakonzentrationen und der AUC_{12h}. 29
Tabelle 14: Assoziation zwischen Spearman's Rangkorrelations-Analyse und der IMPDH-Aktivität und MPA-, fMPA-, AcMPAG- oder MPAG-Konzentrationen (0 h und 2 h) in Plasma. 31
Tabelle 15: Assoziation zwischen Spearman's Rangkorrelations-Analyse und GFR, geschätzt mit Hilfe der MDRD – Formel und MPA-, fMPA-, AcMPAG oder MPAG-AUC_{12h}..... 32
Tabelle 16: Assoziation zwischen Spearman's Rangkorrelations-Analyse und Kreatinin, geschätzt mit Hilfe der MDRD – Formel und MPA-, fMPA-, AcMPAG oder MPAG-AUC_{12h}..... 32
Tabelle 17: Nebenwirkungen. 33

Danksagung

Die vorliegende Arbeit würde als solche nicht ohne die Hilfe meiner Betreuer bestehen.

Ich danke Herrn Prof. Dr. Eberhard Wieland, Frau Dr. Maria Shipkova und Frau Martina Ruocco, ohne deren tatkräftige Hilfe die labortechnische Aufarbeitung und Ergebnisse der Proben nicht zu Stande gekommen wären. Herrn PD Dr. Jens Mayer und Frau Dr. Sylvia Stracke, die mir fortwährend motivierend bei der Gestaltung dieser Arbeit eine große Stütze gewesen sind.

Letztendlich möchte ich mich besonders bei meinem Doktorvater PD Dr. Jens Mayer und Frau Dr. Sylvia Stracke bedanken, dass sie mir stets sowohl während meines Studiums als auch nach meiner Approbation zu jeder Zeit ein zuverlässiger Ansprechpartner und Betreuer gewesen sind.

Lebenslauf

Der Lebenslauf wurde aus Gründen des Datenschutzes in der Elektronischen Version entfernt.