

Aus der Medizinischen Klinik mit Schwerpunkt Nephrologie
der Medizinischen Fakultät der Charité – Universitätsmedizin Berlin

Dissertation

Untersuchungen zur Pharmakokinetik und Pharmakodynamik
von Mycophenolatmofetil
im ersten Jahr nach Nierentransplantation

zur Erlangung des akademischen Grades
Doctor medicinae (Dr. med.)

vorgelegt der Medizinischen Fakultät
Charité- Universitätsmedizin Berlin

von
Denise Markmann
aus Berlin

Datum der Promotion: 04.09.2015

Meiner Omi

Inhaltsverzeichnis

Abstrakt (deutsch)	1
Abstract (englisch)	3
1. Einleitung	5
1.1 Immunsuppressive Therapie nach Nierentransplantation	5
1.2 Pharmakokinetik	5
1.2.1 Definition der Pharmakokinetik	5
1.2.2 Pharmakokinetik von Mycophenolatmofetil	6
1.3 Therapeutisches Drug Monitoring (TDM)	7
1.3.1 Bedeutung des TDM	7
1.3.2 Therapeutisches Drug Monitoring der Mycophenolsäure	8
1.4 Pharmakodynamik	11
1.4.1 Definition der Pharmakodynamik	11
1.4.2 Pharmakodynamik der Mycophenolsäure und ihr Einfluss auf die IMPDH-Aktivität	12
1.5 Zielsetzung der Arbeit	14
2. Material und Methoden	15
2.1 Studiendesign und Studienablauf	15
2.1.1 Patientenrekrutierung	15
2.1.2 MMF-Dosierung	16
2.1.3 MPA-AUC-Bestimmung	16
2.1.4 Weitere immunsuppressive Therapie	17
2.1.5 Primäre Endpunkte der Hauptstudie	17
2.1.6 Sekundäre Endpunkte der Hauptstudie	18
2.1.7 Calcineurininhibitor-Spiegelmessungen	18

2.2	IMPDH-Aktivitätsbestimmung (IMPDH-Assay)	19
2.2.1	Geräte	19
2.2.2	Verbrauchsmaterialien	19
2.2.3	Reagenzien	19
2.2.4	Software	20
2.2.5	Isolation von mononukleären Zellen und Herstellung von Zelllysaten	20
2.2.6	Herstellung eines Erythrozytenlysats	21
2.2.7	Enzymatische Reaktion	21
2.2.8	HPLC	21
2.3	Statistische Auswertung	22
3.	Ergebnisse	23
3.1	Patientenkollektiv	23
3.2	Klinische Endpunkte	25
3.2.1	Therapieversagen im Überblick	25
3.2.2	Inzidenz von Rejektionen	25
3.3	Unerwünschte Ereignisse	26
3.3.1	Diarrhoe	27
3.3.2	Anämie	27
3.3.3	Leukopenie	29
3.3.4	Infektionen	29
3.3.5	Maligne Erkrankungen	30
3.4	Pharmakokinetische Analysen	31
3.4.1	MPA-AUC	31
3.4.2	MPA-AUC der Patienten ohne Dosisveränderung	32
3.4.3	MPA-AUC und MMF-Dosis	32
3.4.4	MPA-AUC-Variabilität bei gleicher Dosis	34
3.5	MMF-Therapie im klinischen Alltag	34
3.5.1	Dosisanpassungen von MMF	34
3.5.2	Vorhersagbarkeit der MPA-AUC	35
3.5.3	Verträglichkeit von Mycophenolsäure	37
3.6	Tacrolimusspiegel	37

3.7	MPA-Dosis, AUC und Rejektion	39
3.8	Glomeruläre Filtrationsrate (GFR)	40
3.9	Mononukleäre (MNC) IMPDH-Aktivität	41
3.9.1	Mononukleäre IMPDH-Aktivität und MPA-AUC	41
3.9.2	Kumulative MMF-Dosis und mononukleäre IMPDH-Aktivität	42
3.10	Erythrozytäre IMPDH-Aktivität	43
3.10.1	Erythrozytäre IMPDH-Aktivität und MPA-AUC	44
3.10.2	Kumulative Dosis und erythrozytäre IMPDH-Aktivität	44
4.	Diskussion	46
4.1	TDM der Mycophenolsäure	46
4.2	MPA-AUC-Werte und Inzidenz von akuten Rejektionen	47
4.3	Verträglichkeit von MPA	49
4.4	Praktikabilität und Grenzen des Therapeutischen Drug Monitorings	51
4.5	Pharmakodynamisches Monitoring	53
4.5.1	Mononukleäre IMPDH-Aktivität	53
4.5.2	Erythrozytäre IMPDH-Aktivität	55
5.	Zusammenfassung	57
6.	Literaturverzeichnis	59
7.	Abkürzungsverzeichnis	69
8.	Eidesstattliche Versicherung	71
9.	Lebenslauf	72
10.	Publikationsliste	74
11.	Danksagung	75

Abstrakt

Einleitung

Die Mycophenolsäure (MPA) gehört zur standardmäßigen immunsuppressiven Therapie nach Nierentransplantation. Es gibt nur wenige prospektive Studien zur Überprüfung der Eignung von Dosisschemata für eine Therapie mit Mycophenolatmofetil. Mit dieser Arbeit sollte überprüft werden, ob durch Therapeutisches Drug Monitoring der Mycophenolsäure im ersten Jahr nach Nierentransplantation das klinische Outcome verbessert werden kann. Außerdem wurde im Rahmen einer Substudie die Bedeutung der IMPDH-Aktivität für das Monitoring der MPA-Pharmakodynamik untersucht.

Methodik

Die Untersuchungen erfolgten im Rahmen einer offenen, prospektiven, randomisierten, kontrollierten, multizentrischen Studie (FDCC-Studie). Alle Patienten wurden zentral randomisiert (1:1 in den Arm, der eine feste MMF-Dosis (FD) und den Arm, der eine konzentrationskontrollierte MMF-Dosis (CC) erhielt). Die MPA-AUC wurde an den Tagen 3 und 10, in der Woche 4 und in den Monaten 3, 6 und 12 nach Transplantation aus 3 MPA-Konzentrationen (C_0 , $C_{0,5}$, C_2) kalkuliert (Ziel-AUC: 45 mg·h/l).

Primäre Endpunkte waren Therapieversagen durch akute Rejektion, Transplantatverlust, Tod oder Unterbrechung der MMF-Therapie. Sekundäre Endpunkte waren die Inzidenz opportunistischer Infektionen und maligner Erkrankungen, die Nierenfunktion und das Auftreten unerwünschter Ereignisse.

Im Rahmen der Substudie wurde die mononukleäre und die erythrozytäre IMPDH-Aktivität bestimmt.

Ergebnisse

Es wurden 56 Patienten randomisiert, wobei 31 Patienten dem CC-Arm (AUC-gesteuerte MMF-Dosierung) und 25 Patienten dem FD-Arm (MMF-Standard-Dosis) zugeordnet wurden.

Insgesamt konnte kein signifikanter Unterschied der MPA-AUC-Werte zwischen den beiden Behandlungsgruppen dokumentiert werden.

Es wurden keine statistisch signifikanten Unterschiede der Endpunkte nachgewiesen.

Auffällig war, dass die MPA-AUC-Werte am Tag 10 nach Transplantation bei beiden beobachteten Patientengruppen zu mehr als 65% unterhalb von 30 mg·h/l lagen. 41,7% der Patienten mit einer MPA-AUC<30 mg·h/l am Tag 3 nach Transplantation erlitten eine akute Rejektion, dagegen nur 23,5% der Patienten mit einer MPA-AUC>30 mg·h/l. Sämtliche akuten Rejektionen traten während der ersten 20 Tage des gesamten Beobachtungszeitraums auf.

Die mononukleäre IMPDH-Aktivität fiel während des Beobachtungszeitraums kontinuierlich ab. Lediglich am 10. postoperativen Tag kam es zu einem einmaligen, statistisch signifikanten Anstieg. Zu allen Visiten waren jeweils den höheren MPA-AUC-Werten niedrigere IMPDH-Aktivitäten zuzuordnen.

Die erythrozytäre IMPDH-Aktivität stieg bis Monat 9 kontinuierlich an.

Schlussfolgerung

Es wurde kein signifikanter Unterschied der MPA-AUC-Werte zwischen den Patienten beider Behandlungsarme festgestellt. Somit war ein Effektivitätsunterschied nicht erreichbar.

Vor allem in der Frühphase nach Transplantation ist möglicherweise eine intensivierete MPA-Exposition wichtig, um akute Rejektionen zu vermeiden.

Die mononukleäre IMPDH-Aktivität scheint ein guter pharmakodynamischer Parameter für das biologische Ansprechen einer MMF-Therapie zu sein.

Der Anstieg der erythrozytären IMPDH-Aktivität muß weiter untersucht werden.

Abstract

Background

Mycophenolic acid (MPA) is a part of standard immunosuppressive therapy after renal transplantation. There are only sparse prospective studies investigating different dose schemes of MMF therapy. This dissertation intends to examine whether patients outcome in the first year after renal transplantation could be improved by therapeutic drug monitoring of MPA. Moreover within the context of a substudy the value of IMPDH activity for monitoring MPA pharmacodynamics was verified.

Methods

Investigations were performed within the context of an open, prospective, randomized, controlled, multicentre study (FDCC study). Patients were randomized centrally (1:1 into the fixed dose arm (FD) and the concentration controlled arm (CC)). MPA-AUC was calculated (target AUC 45mg·h/l) on day 3 and 10, in week 4 and in month 3, 6 and 12 after transplantation out of 3 MPA-concentrations (C_0 , $C_{0.5}$, C_2). Primary endpoints were treatment failure by acute rejection, graft loss, death or discontinuation of MMF therapy. Secondary endpoints were the incidence of opportunistic infections and malignancies, renal function and the incidence of adverse events. Within the context of the substudy IMPDH activity of monocytes and erythrocytes were measured.

Results

56 patients were randomized (31 patients were assigned to the CC-arm (concentration-controlled) and 25 to the FD-arm (fixed dose)).

There were neither significant differences in MPA-AUC values between both treatment groups, nor in primary and secondary endpoints.

10 days after transplantation more than 65% of all patients had MPA-AUC values below 30 mg·h/l. 41.7% of the patients with MPA-AUC<30mg·h/l on day 3 after transplantation were experiencing an acute rejection. In contrast, only 23.5% of the patients with an MPA-AUC>30 mg·h/l had an acute rejection.

All acute rejections occurred during the first 20 days after transplantation.

Except a significant increase on day 10, mononuclear IMPDH activity decreased continuously. Higher MPA-AUC values could always be assigned to lower IMPDH activity at any time of the study. IMPDH activity of erythrocytes increased continuously until month 9.

Conclusions

There were no significant differences between MPA-AUC levels in the FD-arm and the CC-arm. Therefore, no difference in efficacy could be achieved.

To prevent acute rejections an intensified MPA exposure may be important especially in the early phase after transplantation.

Mononuclear IMPDH activity seems to be an appropriate pharmacodynamic parameter for the biological efficacy of MMF therapy. The rise in erythrocyte's IMPDH activity needs further investigation.

1. Einleitung

1.1 Immunsuppressive Therapie nach Nierentransplantation

In Deutschland wurden im Jahr 2011 ca. 2.800 Nieren transplantiert (1, 2). Um das Nierentransplantat im Organismus des Empfängers zu erhalten, ist es erforderlich, die Abwehrreaktion gegen das fremde Organ zu unterdrücken. Dies erfolgt durch die Gabe immunsuppressiver Medikamente.

Die gegenwärtige immunsuppressive Erhaltungstherapie nach Nierentransplantation besteht in der Regel aus einem Calcineurininhibitor (Ciclosporin, Tacrolimus) in Kombination mit einem antiproliferativen Medikament (Mycophenolsäure) und Kortikosteroiden (3). In drei großen Zulassungsstudien (European study, US study, TriContinental study) wurde gezeigt, dass im Vergleich zur Placebo/Azathioprin-Gabe die Kombination von Mycophenolatmofetil mit einem Ciclosporin-basierten Regime die Inzidenz von akuten Rejektionen nach Nierentransplantation von 40-45% auf 20-25% reduziert (4-6). Eine ähnliche Senkung der Inzidenz von akuten Rejektionen konnte bei pädiatrischen Patienten und auch in Kombination von MMF mit Tacrolimus nachgewiesen werden (7, 8).

In diesen großen Studien wurde jeweils eine initial konstante MMF-Dosis verwendet, die nur beim Auftreten von Nebenwirkungen reduziert werden konnte. Der Vergleich zwischen Tagesdosen mit 2 bzw. 3 g MMF zeigte keine wesentliche Reduktion der Zahl von akuten Rejektionen, jedoch mehr Nebenwirkungen, vor allem den Gastrointestinaltrakt betreffend (4-6). Daher ist die offizielle Empfehlung bisher die Gabe von 2 g MMF täglich in Kombination mit Ciclosporin. Für Tacrolimus in Kombination mit MMF liegt bisher keine Dosisfindungsstudie vor, aber auch in dieser Kombination wird MMF meist in einer fixen Dosierung von initial 2 g eingesetzt und analog zur Symphony-Studie (9) nur beim Auftreten von Nebenwirkungen reduziert.

1.2 Pharmakokinetik

1.2.1 Definition der Pharmakokinetik

Die Pharmakokinetik ist die Lehre und Forschung von der quantitativen Auseinandersetzung zwischen Organismus und Pharmakon.

Sie beschäftigt sich insbesondere mit den Prozessen der Aufnahme des Arzneistoffes (Absorption), der Verteilung im Körper (Distribution), dem biochemischen Um- und Abbau (Metabolisierung) sowie der Ausscheidung (Exkretion) (10). Die Kenntnis der pharmakokinetischen Eigenschaften einer Substanz ist eine Voraussetzung für eine effektive und sichere Therapie. Neben Messungen von Talspiegeln (vor Medikamenteneinnahme) ist die Bestimmung der Exposition mittels Konzentrations-Zeit-Kurve (AUC, area under the curve) eine Methode der Pharmakokinetik. Dabei wird die Konzentration eines Arzneimittels im Blut in bestimmten Zeitintervallen nach Verabreichung bestimmt. Die AUC bezeichnet die Fläche unter der Konzentrations-Zeit-Kurve eines Pharmakons im Blut und ist ein Maß für die Exposition eines Arzneimittels.

1.2.2 Pharmakokinetik von Mycophenolatmofetil

Die Substanz MMF als „Prodrug“ wird nach oraler Verabreichung rasch, d.h. durchschnittlich innerhalb von 70 min, nahezu vollständig resorbiert und durch präsystemische Metabolisierung (z.B. in der Leber) rasch und vollständig zu dem aktiven, immunsuppressiv wirksamen Metaboliten MPA konvertiert (11). Die Bioverfügbarkeit von MMF liegt bei ca. 94%. Die überwiegende Mehrheit von MPA (97,5%) ist an Plasmaproteine gebunden. Der restliche freie Anteil (fMPA) ist die eigentlich pharmakologisch aktive Form. Die Verteilung von MPA erfolgt innerhalb von 2 h nach dem Zeitpunkt maximal erreichter Blutkonzentrationen. Die Substanz reichert sich vor allem in den Organen an, die an der Resorption, der Verstoffwechslung und der Elimination in entscheidender Weise beteiligt sind. Das betrifft insbesondere den Magen, den Darm, die Leber und die Nieren. Organe des lymphatischen Systems (Milz, Thymus und Knochenmark) enthalten ebenfalls beträchtliche Konzentrationen (12). MPA wird im Organismus - katalysiert durch die UDP-Glukuronosyltransferase - zu der pharmakologisch inaktiven Substanz Phenolglukuronid bzw. Mycophenolsäureglukuronid (MPAG) metabolisiert. Die Konversion zur inaktiven Substanz erfolgt vornehmlich im Magen-Darm-Trakt und in der Leber, möglicherweise auch in den Nieren. MPA wird außerdem zu weiteren Metaboliten verstoffwechselt, darunter einem Acylglukuronid-Konjugat, welches in vitro die IMPDH inhibiert, und einem Glucosid-Konjugat.

Von Bedeutung für das pharmakologische Profil von MPA ist die Tatsache, dass die Substanz im enterohepatischen Kreislauf zirkuliert.

In der Leber metabolisiertes MPAG wird durch die Gallengangsepithelien in die Galle transportiert und gelangt mit ihr in den Intestinaltrakt, wo es über die von Bakterien abgesonderte Glukuronidase zu MPA konvertiert wird, welche sodann über Reabsorption wieder in den Blutkreislauf gelangt. Dies führt zu einem zweiten Anstieg der Plasmakonzentration ca. 6-12 h nach der Einnahme. Die Elimination bzw. Exkretion von MPAG und Acyl-MPA-Glukuronid erfolgt zu 85% über den Urin. Der Rest wird mit den Faeces ausgeschieden (12).

Medikamenteninteraktionen beeinflussen die Pharmakokinetik von MMF. So inhibiert Ciclosporin den enterohepatischen Kreislauf der Mycophenolsäure und seiner Metaboliten. Dies resultiert in signifikant niedrigeren MPA-Konzentrationen bei Ciclosporin-behandelten Patienten, was zu einer frühen MPA-Unterexposition ($AUC < 30 \text{ mg}\cdot\text{h/l}$) bei ca. 50% der Patienten mit einer Standarddosis von MMF (2 g Tagesdosis) führt (13). In klinischen Prüfungen konnte gezeigt werden, dass Tacrolimus im Gegensatz zu Ciclosporin die Pharmakokinetik von MMF nicht wesentlich beeinflusst (13). Tacrolimus inhibiert den enterohepatischen Kreislauf nicht. Dadurch kommt es bei nierentransplantierten Patienten, die zuvor mit Ciclosporin behandelt wurden, unter Tacrolimus zu einem Anstieg der MPA-Exposition bei Fortführung der gleichen MMF-Dosierung mit einem Anstieg der MPA-Talspiegel um ca. 30% (14-17).

1.3 Therapeutisches Drug Monitoring (TDM)

1.3.1 Bedeutung des TDM

Therapeutisches Drug Monitoring liefert Informationen über die Eignung von Dosis-schemata und die Wahrscheinlichkeit für das Auftreten von Nebenwirkungen.

Von großer Bedeutung ist Therapeutisches Drug Monitoring vor allem bei Medikamenten mit enger therapeutischer Breite, relevanter Medikamententoxizität, großen intra- und interindividuellen Variabilitäten der Pharmakokinetik, Anwesenheit von Faktoren, die mit der Pharmakokinetik oder Pharmakodynamik interagieren, Therapieversagen unter Standarddosierung und bei Überprüfung der Patienten-compliance (18, 19). Auf dem Gebiet der Organtransplantation besteht ein großes Interesse für ein Therapeutisches Drug Monitoring immunsuppressiver Medikamente, nicht nur für kürzlich eingeführte Medikamente, sondern ebenso für etablierte Agenzien, wie Tacrolimus, Ciclosporin und mTOR-Inhibitoren (20-22).

Pharmakokinetisches Monitoring fokussiert sich vor allem auf das Erzielen bestimmter Medikamenten-Ziel-Spiegel. Holt *et al.* beobachteten 1986, dass die durchschnittlichen Sandimmunspiegel 7 Tage vor einer Nierenbiopsie signifikant höher waren, wenn die Biopsie Zeichen für Nephrotoxizität zeigte und niedriger, wenn eine akute Rejektion diagnostiziert wurde (23). Da die Wahrscheinlichkeit für das Auftreten akuter Rejektionen nach Transplantation mit zunehmender Zeit immer weiter abnimmt, werden in der Erhaltungsphase nach Transplantation niedrigere Spiegel des immunsuppressiven Medikaments angestrebt. Solche Medikamenten-Zielspiegel wurden retrospektiv nach Überprüfung von Medikamenten-Spiegeln und deren Korrelation mit der Wirkung bzw. den Nebenwirkungen festgelegt. Randomisierte konzentrationskontrollierte Studien, die feste Dosisschemata mit einer Dosierung abhängig von pharmakokinetischem Monitoring vergleichen, wurden bisher nur selten durchgeführt (24).

Obwohl die immunsuppressiven Medikamente umfassend in randomisierten Studien getestet wurden, fand der Einsatz von Therapeutischem Drug Monitoring zur Festlegung von optimalen Medikamentendosierungen bisher keine angemessene wissenschaftliche Gewichtung (25).

Multizentrische konzentrationskontrollierte Studien können eine Basis für die Gestaltung von zukünftigen prospektiven TDM-Untersuchungen bieten (26). Die Bestimmung von festgesetzten Zielkonzentrationen für die Kombination von immunsuppressiven Substanzen könnte eine weitere Verbesserung für die Sicherheit und Wirksamkeit unserer immunsuppressiven Therapie bewirken.

1.3.2 Therapeutisches Drug Monitoring der Mycophenolsäure

Es besteht weiterhin ein Interesse am Therapeutischen Drug Monitoring der Mycophenolsäure, dem aktiven Wirkstoff des pro-drug Mycophenolatmofetil. Gründe hierfür sind vor allem die großen intra- und interindividuellen Variabilitäten der Pharmakokinetik von MMF, potentielle Wechselwirkungen und die Änderung der Exposition nach Transplantation (14-17).

Mehrere pharmakokinetische Studien haben gezeigt, dass das Risiko für eine Transplantatabstoßung bei niedriger MPA-Exposition ansteigt (27-29). Auf der Basis dieser Untersuchungen wurde zunächst eine Ziel-MPA-AUC von 30-60 mg·h/l festgelegt. Dieses Ziel wird von einigen Patienten unter der Standard-MMF-Dosis nicht erreicht.

Eine erhebliche interindividuelle Variabilität der MPA-Exposition, Veränderungen der MPA-Exposition über die Zeit (unter gleichbleibender MMF-Dosis) und der Einfluss von Komedikationen und Urämie auf die MPA-Exposition wurden in mehreren Studien beschrieben (30-32). Eine individualisierte MPA-Dosis könnte erforderlich sein, um bei einer größeren Zahl von Patienten adäquate MPA-Expositionen zu erzielen.

In einer randomisierten konzentrationskontrollierten Studie konnte eine signifikante Korrelation zwischen MPA-Plasma-Konzentrationen und der Wahrscheinlichkeit für das Auftreten akuter Rejektionen nach Nierentransplantation gezeigt werden (27). Im Rahmen dieser Studie wurde die Behandlung mit entweder niedrigen, intermediären oder hohen Ziel-MPA-AUC-Werten doppelblind zugeordnet und ein umfangreiches pharmakokinetisches Monitoring durchgeführt. Es wurde ein eindrucksvolles Abfallen der Mycophenolsäure-Clearance beobachtet. (33). Diese Studie lieferte umfangreiche pharmakokinetische Daten über einen weiten Bereich von MMF-Dosierungen. Aufgrund der veränderten Clearance waren die letzten MPA-AUC-Werte im 6. Monat 50% höher als die vorgegebenen Ziel-AUC-Werte, trotz erfolgter Dosisreduktionen bei der Mehrzahl der Patienten nach Tag 21 nach Transplantation. Die durchschnittlichen MMF-Dosierungen bei den niedrigen, intermediären und hohen Ziel-MPA-AUC-Werten betragen 1,0; 2,3 und 3,8 g täglich. Die Analyse dieser Studie zeigte eine starke Pharmakokinetik-/Pharmakodynamik-Beziehung für die MPA-AUC und die Wahrscheinlichkeit für das Auftreten von akuten Rejektionen. Bemerkenswerterweise schienen die charakteristischen Nebenwirkungen der MMF-Therapie mit der Medikamentendosis jedoch nicht mit der MPA-Plasma-Konzentration zu korrelieren. Eine Erklärungsmöglichkeit hierfür wäre, dass die lokale und nicht die systemische MPA-Konzentration für die Nebenwirkungen verantwortlich ist. Es könnte eine Verbindung zwischen direkter Exposition des Medikaments mit dem intestinalen Epithel und der Entwicklung von Nebenwirkungen geben, die erklärt, warum Diarrhoen und abdominelle Beschwerden nicht mit der Plasmakonzentration korrelierten, sondern ausschließlich mit der lokalen Anwesenheit des Medikaments im Darm (12). Eine andere Möglichkeit ist, dass die Diskrepanz durch statistische Methoden bei der Analysierung der Daten verursacht wurde. Bei der Analyse wurde die logistische Regression verwandt. Die pharmakokinetischen Daten, die für diese Analyse genutzt wurden, waren jeweils Durchschnittswerte für die MPA-AUC und die MMF-Konzentrationen vor Dosisgabe.

Für die Auswertung wurde jedem Patienten ein abschließendes Outcome zugeteilt.

Die medianen MPA-Werte der Patienten, die frühzeitig nach der Transplantation aus der Studie ausgeschieden sind und bei denen die schrittweise Erhöhung der MPA-Exposition noch nicht erfolgt war, waren relativ niedrig. Möglicherweise war dies der Grund dafür, dass das Ausscheiden wegen eines unerwünschten Ereignisses nicht mit dem MPA-Spiegel jedoch mit der MMF-Dosis korrelierte.

Eine ähnliche Beziehung zwischen Medikamentenkonzentration und Wirksamkeit konnte in einer Population nierentransplantierter Kinder (34, 35) und bei erwachsenen Herztransplantierten gezeigt werden (36, 37). Meiser *et al.* vollzogen eine MMF-Dosis-Anpassung basierend auf MMF-Talspiegel-Messungen und reduzierten signifikant die Inzidenz von akuten Rejektionen nach Herztransplantation (38). Andere Autoren haben Korrelationen zwischen MPA-Konzentrationen und Nebenwirkungen gefunden (39, 40). Aber diese randomisierten konzentrationskontrollierten Studien bezogen sich mehr auf die Medikamentendosis als auf pharmakokinetische Parameter. Während feste MMF-Dosen bei der Medikamenteneinführung die Norm waren, haben die Informationen, die von den kontrollierten pharmakokinetischen Studien gewonnen werden konnten, das Interesse an der MPA-Messung stimuliert (41).

Leitlinien für die Definition eines therapeutischen Fensters für MPA in der frühen Phase nach Transplantation wurden erstmals 1998 durch einen consensus panel formuliert (42). In der Folge wurden erheblich mehr klinische Daten zugänglich, und zuletzt wurden neue Leitlinien angeregt (29, 43). Ob die wiederholte Messung von MPA-Talspiegeln der Messung von MPA-AUC-Werten überlegen sein wird, ist noch unklar. In Anbetracht der Tatsache, dass die Korrelation zwischen Talspiegeln und MPA-AUC-Werten relativ gering ist, scheint die Durchführung eines MPA-AUC-Monitoring vielversprechender zu sein (44-46). Da die Routinebestimmung von multiplen Blutproben unpraktikabel ist, wurden begrenzte Blutentnahme-Strategien untersucht. Dabei erfolgten die Blutentnahmen jeweils direkt vor ($0\text{ h} = C_0$) und in definierten Abständen nach der MMF-Einnahme (z.B. $3\text{ h} = C_3$). Willis *et al.* berichteten über ein 4-Proben-Modell (C_0, C_1, C_3 und C_6), welches zuverlässig die AUC voraussagte (47). Le Guellec zeigte, dass ein 3-Proben-Modell ($C_0; C_1$ und C_3) bei Komedikation mit Cyclosporin A verlässliche AUC-Werte lieferte (48). Oellerich *et al.* nutzten ebenfalls eine 3-Proben-Strategie ($C_0; C_{1,25}$ und C_4) bei pädiatrischen Patienten, die mit Cyclosporin A komediziert wurden (34). Shaw schlug ein 3-Proben-Modell ($C_0; C_{0,5}$ und C_2) für die Kombination von MMF und Tacrolimus vor (49).

Obwohl einige Zentren bereits ein TDM für die Behandlung mit MMF begonnen haben, ist der Wunsch nach einer wissenschaftlichen Beurteilung des zusätzlichen Nutzens eines TDM für MMF bei vielen Transplantationsmedizinern groß.

Nur eine randomisierte Studie, die die Behandlung mit fixen MMF-Dosen (derzeitige Praxis) mit einer konzentrationskontrollierten Behandlung (TDM) vergleicht, kann den wissenschaftlichen Beweis für die Notwendigkeit eines TDM liefern.

Le Meur *et al.* konnten bereits 2007 Hinweise dafür finden, dass TDM die Wirksamkeit und Sicherheit der MPA-Therapie steigern kann. Patienten, deren MPA-Dosis AUC-basiert festgelegt wurde, hatten nach 12 Monaten signifikant weniger akute Rejektionen und Therapieversagen, ohne dass ein vermehrtes Auftreten von Nebenwirkungen beobachtet wurde. Beim Transplantatüberleben und der Transplantatfunktion nach einem Jahr gab es jedoch keine Unterschiede (50, 51). Die Opticcept-Studie zeigte, dass Patienten, die Tacrolimus einnehmen, ein signifikant niedrigeres Risiko für akute Rejektionen haben, wenn sie MPA-Talspiegel erreichten, die größer als 1,5 mg/ml waren (52, 53).

Auf der Basis von in-vitro-Untersuchungen wird vermutet, dass die freie MPA-Konzentration für den immunsuppressiven Effekt verantwortlich ist (54). Ungebundene MPA-Konzentrationen machen nur ungefähr 1-2% der totalen MPA-Konzentration aus und sind mit den derzeitig vorhandenen Tests schwierig zu messen (55). Daher ist es unwahrscheinlich, dass das Monitoring der freien MPA-Konzentrationen die bevorzugte Methode des routinemäßigen TDM in der MMF-Behandlung wird. Auf der anderen Seite sind weitere Forschungen auf diesem Gebiet für wissenschaftliche Zwecke notwendig.

1.4 Pharmakodynamik

1.4.1 Definition der Pharmakodynamik

Die Pharmakodynamik beschreibt als Teilgebiet der Pharmakologie die Art der Arzneimittelwirkung im Körper. Es werden also die biochemischen und physiologischen Effekte des Pharmakons auf den Organismus dargestellt. Dazu gehören unter anderem die Wechselwirkungen mit Rezeptoren und die Beeinflussung von Enzymaktivitäten.

1.4.2 Pharmakodynamik der Mycophenolsäure und ihr Einfluss auf die IMPDH-Aktivität

Die Mycophenolsäure ist ein selektiver und reversibler Inhibitor der Inosinmonophosphat-Dehydrogenase (IMPDH, Abb. 1.1), einem Enzym, welches Inosinmonophosphat zu Xanthosinmonophosphat oxidiert und somit geschwindigkeitsbestimmend für die Biosynthese von Guanosintriphosphat und erforderlich für die Lymphozytenproliferation ist (56, 57).

Hohe Konzentrationen von Guanosin- und Adenosinnukleotiden, verbunden mit einer erhöhten Aktivität der IMPDH, legen den Grundstein zur Expansion und Proliferation von T- und B-Lymphozyten. Die Bedeutung der IMPDH für die Funktion der Lymphozyten wird durch die Tatsache untermauert, dass das Enzym in Milz und Thymus in größerer Menge vorkommt als in anderen Geweben (58).

Während die meisten Zellen einen großen Teil ihrer Nukleinsäuren wiederverwerten können (Salvage-Pathway), sind T- und B-Lymphozyten vollständig vom de novo-Pathway abhängig (Abb. 1.1), weshalb sich der antiproliferative Effekt von MPA selektiver auf Lymphozyten auswirkt und andere Zellen weniger tangiert.

In einer Studie konnte gezeigt werden, dass unter in-vitro-Bedingungen die Wirkung der Mycophenolsäure am Zielenzym (IMPDH) gemessen werden kann. Außerdem wurde im Rahmen dieser Untersuchungen festgestellt, dass es unabhängig vom Vorhandensein des Hemmstoffs pharmakodynamische Unterschiede gibt (59). Die Aktivität von IMPDH kann also zur Bestimmung der individuellen Wirksamkeit von Mycophenolsäure erhoben werden. Das Monitoring der MPA-Pharmakodynamik mittels Bestimmung der IMPDH-Aktivität ist somit ein neuer Ansatz für eine individualisierte MPA-Therapie (60).

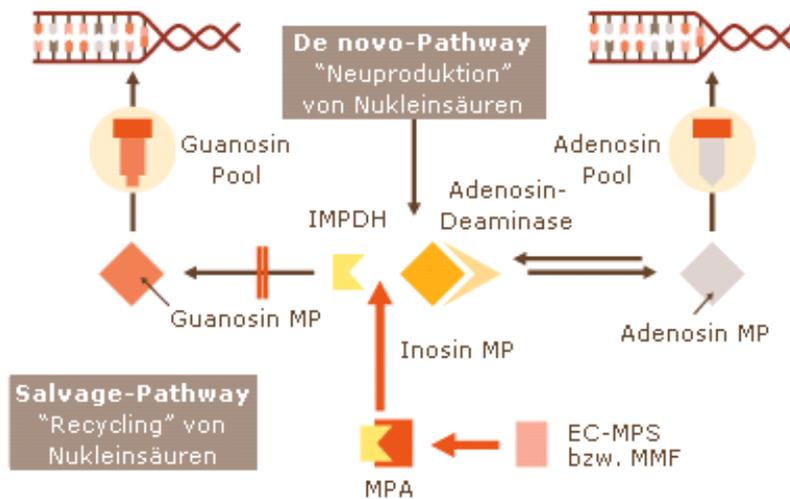


Abb. 1.1: Wirkmechanismus von Mycophenolsäure als Inhibitor der Inosinmonophosphat-Dehydrogenase (IMPDH), Novartis Pharma GmbH, 2003 (nach Kuypers DR, De Jonge H)

1.5 Zielsetzung der Arbeit

Die drei großen Zulassungsstudien konnten die Effektivität von Mycophenolatmofetil eindrucksvoll belegen, sodass MMF heute einen unverzichtbaren Stellenwert in der Prophylaxe von akuten Abstoßungen hat und zur Standardtherapie in den meisten Transplantationszentren gehört (4-6).

Für die Behandlung mit Mycophenolatmofetil ist der Nutzen des Therapeutischen Drug Monitorings noch nicht abschließend geklärt. Über- und Unterdosierung von MMF stellen eine Gefahr für den Patienten und das Transplantat dar. Eine individuelle Dosisfindung könnte diese Risiken minimieren. Daher sollte eine wissenschaftliche Beurteilung des zusätzlichen Nutzens eines TDM für MMF erbracht werden. Bisher erfolgte kleinere Studien konnten keine eindeutigen Ergebnisse liefern (28, 42, 43).

Mithilfe einer prospektiven randomisierten Studie sollte deshalb nun die Hypothese überprüft werden, ob durch Therapeutisches Drug Monitoring der Mycophenolsäure das Patientenoutcome verbessert werden kann. Dafür sollte unter anderem untersucht werden, ob durch TDM die Inzidenz von akuten Rejektionen gesenkt werden kann und ob unerwünschte Ereignisse (wie Anämie, Diarrhoe, Leukopenie und Infektionen) seltener auftreten.

Daneben sollte die Studie die Basis für Messungen der Mycophenolsäure-Konzentrationen erweitern und überprüfen, ob für die MMF-Therapie eine Dosisproportionalität vorliegt, die ein TDM überhaupt erst sinnvoll macht.

Weitere wichtige Ziele waren auch die Überprüfung der Zentrumserfahrung im Umgang mit dem TDM sowie die Untersuchung der Praktikabilität des TDM-Modells im Zentrum und deren Einfluss auf Dosisanpassungen.

Neben diesen pharmakokinetischen Überlegungen sollte im Rahmen einer Substudie die Bedeutung der IMPDH-Aktivität für das Monitoring der MPA-Pharmakodynamik untersucht werden. Die Untersuchung der Zusammenhänge zwischen MPA-Exposition und IMPDH-Aktivität stellte eine weitere neue Möglichkeit zum besseren Verständnis und zur Individualisierung der MMF-Therapie dar, denn erstmals wurden im Rahmen einer klinischen Studie mit prospektivem Ansatz longitudinal über ein Jahr die IMPDH-Aktivitäten analysiert.

2. Material und Methoden

2.1 Studiendesign und Studienablauf

Sämtliche Daten wurden im Rahmen einer offenen, randomisierten, kontrollierten, multizentrischen Studie, die die Standard-MMF-Dosisgabe mit einer anhand von Blutspiegelmessungen (AUC) angepassten Dosierung von Mycophenolatmofetil bei Patienten nach Nierentransplantation verglich, erhoben (FDCC-Studie) (61).

Es handelte sich um eine 12monatige, prospektive, offene, Parallelgruppenstudie, die zwischen Mai 2003 und April 2006 durchgeführt wurde. Sie fand in 67 Zentren in 19 Ländern Europas, Südamerikas, Kanadas, Asiens und Australiens statt. Alle teilnehmenden Patienten wurden zentral mittels eines automatisierten Telefonsystems randomisiert (1:1 in den Arm, der eine feste MMF-Dosis (FD-Arm) und den Arm, der eine konzentrationskontrollierte MMF-Dosis (CC-Arm) erhielt). Die Ergebnisse der FDCC-Studie wurden 2008 von van Gelder veröffentlicht (61). In unserem Zentrum war der Promovend als Sub-Investigator unter anderem für den Einschluss und die Aufklärung der Studienteilnehmer, die lückenlose Erfassung sowie Auswertung aller Daten und die ordnungsgemäße Umsetzung des Studienprotokolls verantwortlich.

2.1.1 Patientenrekrutierung

Erwachsene Patienten, die eine ABO-kompatible Niere von einem lebenden Spender (verwandt oder unverwandt) oder von einem verstorbenen Spender erhalten sollten, konnten in die Studie eingeschlossen werden.

Ausschlussgründe waren aktive oder anamnestisch bekannte maligne Erkrankungen (abgesehen von lokalisierten nicht-melanotischen Hautgeschwüren), Patienten mit serologischem Nachweis einer HIV- oder Hepatitis B-Infektion, aktive Infektionen, hämatologische Abnormalitäten (Hämoglobin < 9,7 g/dl für Patienten unter Erythropoetintherapie und Hämoglobin < 6,6 g/dl für Patienten ohne Erythropoetintherapie, Leukozytenzahl < 2500 /nl, Thrombozytenzahl < 75.000 /nl), panelreaktive Antikörper über 50% innerhalb der letzten 6 Monate vor Einschluss in die Studie, eine kalte Ischämiezeit von über 48 h, aktive peptische Ulzera, Leberzirrhose, klinische Hinweise auf eine portale Hypertension oder andere Hinweise für schwere Lebererkrankungen, schwangere oder stillende Frauen und Frauen, die eine adäquate Kontrazeption ablehnten.

Ausgeschlossen wurden zudem Patienten, die in den vorangegangenen 28 Tagen eine immunsuppressive Therapie (außer Steroidbehandlung) erhalten hatten, ausgenommen die präoperative immunsuppressive Medikation (bis zu 48 h vor der Transplantation), die laut Protokoll eine MMF-Gabe innerhalb von 6 h vor der Operation vorsah.

Alle selektierten Patienten haben eine Einverständniserklärung nach den Richtlinien der Deklaration von Helsinki unterschrieben. Das Studienprotokoll wurde durch die Ethikkommission genehmigt.

2.1.2 MMF-Dosierung

Alle Patienten erhielten ihre erste MMF-Dosis (1 g MMF) innerhalb der ersten 6 h vor Transplantation. Bei Patienten, die eine Niere von einem Lebendspender erhielten, war der Beginn der immunsuppressiven Therapie bis zu 48 h vor Transplantation erlaubt. In der Standard-MMF-Dosisgruppe (FD) erhielten die Patienten 2-mal täglich 1 g MMF in den ersten 30 Tagen nach Transplantation. Für die restlichen Monate war eine zentrumsspezifische MMF-Erhaltungstherapie laut Protokoll erlaubt. Nach klinischem Verlauf waren Dosisanpassungen gestattet. In der konzentrationskontrollierten Gruppe wurde wie in der Standard-MMF-Dosisgruppe mit einer 2-mal täglichen Gabe von jeweils 1 g MMF begonnen und die Dosis im weiteren Verlauf MPA-AUC-gesteuert angepasst.

2.1.3 MPA-AUC-Bestimmung

MPA-Plasmakonzentrationen wurden zu 3 Zeitpunkten bestimmt: direkt vor MMF-Gabe, 0,5 und 2 h nach MMF-Gabe. Die verkürzte MPA-AUC von 0 bis 12 h wurde aus diesen 3 MPA-Konzentrationen unter Verwendung eines Algorithmus kalkuliert (von den ursprünglich 4 zur Verfügung stehenden Algorithmen kamen für unser Zentrum 3 Algorithmen nicht in Frage, da keine pädiatrischen Patienten randomisiert wurden und weil ausschließlich Tacrolimus als Calcineurininhibitor Verwendung fand).

MPA-AUC-Algorithmus: $(7,75 + (6,49 \cdot C_0) + (0,76 \cdot C_{0,5}) + (2,43 \cdot C_2))$

(C_0 = MPA-Konz. vor Einnahme, $C_{0,5}$ = MPA-Konz. nach 0,5 h, C_2 = MPA-Konz. nach 2 h)

Die MPA-Konzentrationen wurden mithilfe eines Immunoassays (EMIT, Dade Behring, Newark, DE) bestimmt. Die Ergebnisse wurden noch am selben Tag durch das TDM-Labor der Klinischen Pharmakologie übermittelt.

So konnte eine zügige Anpassung der MMF-Dosis erfolgen. Wie alle Zentren nahm auch die Charité an internationalen Ringversuchen teil, die durch die Analytical Unit in der St George's University of London organisiert wurden.

Vom Studienprotokoll waren 6 pharmakokinetische Datenerhebungen pro Patient vorgesehen (AUC). Sie erfolgten an den Tagen 3 und 10, in der Woche 4 und in den Monaten 3, 6, und 12 nach Transplantation. Der Zielbereich der MPA-AUC wurde, wie in bereits erfolgten pharmakinetischen Studien, zwischen 30 und 60 mg·h/L festgelegt (24-26). Mit den Dosisanpassungen wurde eine Ziel-AUC von 45 mg·h/L angestrebt. MMF-Dosisanpassungen erfolgten proportional zur gewünschten Änderung der MPA-Exposition und wurden nach folgender Formel berechnet:

$$\text{neue MMF-Dosis} = \frac{\text{Ziel-AUC}}{\text{aktuelle AUC}} * \text{aktuelle MMF-Dosis}$$

Die maximale MMF-Dosis wurde mit einer Tagesdosis von 5 g (2-mal 2,5 g) festgelegt. Diese Dosierung war zu jederzeit möglich, jedoch auf eine maximale Behandlungsdauer von insgesamt 4 Wochen begrenzt.

In der festen Dosisgruppe (FD) fanden die pharmakokinetischen Datenerhebungen zu denselben Zeitpunkten nach Transplantation statt. Bis zum Studienende waren die Resultate der MPA-Assays dieser Gruppe jedoch verblindet.

2.1.4 Weitere immunsuppressive Therapie

Die begleitende immunsuppressive Therapie bestand aus einem Calcineurininhibitor (Tacrolimus oder Cyclosporin A, mit Plasma-Spiegeln, die sich nach dem zentrums-spezifischen Protokoll richteten) und Kortikosteroiden. Für die Charité erfolgte die Festlegung, dass alle Patienten in der Studie mit Tacrolimus behandelt werden.

Andere immunsuppressiven Medikamente, wie Azathioprin, Everolimus und Sirolimus waren nicht erlaubt. Eine Induktionstherapie mit Antikörpern war gestattet.

2.1.5 Primäre Endpunkte der Hauptstudie

Der primäre Endpunkt wurde definiert als Eintreten eines Therapieversagens durch bioptisch nachgewiesene akute Rejektion, Transplantatverlust, Tod oder Unterbrechung der MMF-Therapie (mehr als 14 zusammenhängende Tage oder kumulativ mehr als insgesamt 30 Tage) innerhalb von 12 Monaten nach Transplantation.

Alle klinisch in Erscheinung getretenen Episoden von akuten Transplantatabstoßungen mussten durch Nierenbiopsien bestätigt werden. Die Gewebeproben wurden durch Pathologen nach der Banff-Klassifikation (Banff 1997) beurteilt. Eine durch Biopsie nachgewiesene akute Rejektion wurde definiert als histologische Veränderung im Sinne einer Banff-Rejektion Schweregrad 1 (leicht, Grad IA und IIA), 2 (mittelgradig, Grad IB und IIB) oder 3 (schwer, Grad III).

2.1.6 Sekundäre Endpunkte der Hauptstudie

Die sekundären Endpunkte beinhalteten alle Patienten, die eine BPAR (bioptisch nachgewiesene Rejektion) oder eine vermutete akute Rejektion aufwiesen sowie die Zeit bis zur ersten akuten Rejektion, bis zum Transplantatverlust oder bis zum Tod. Untergeordnete sekundäre Endpunkte waren die Inzidenz opportunistischer Infektionen und maligner Erkrankungen, die Nierenfunktion und das Auftreten von unerwünschten Ereignissen. Insgesamt waren 5 unerwünschte Ereignisse von besonderem Interesse: Diarrhoe (mehr als 4 dünnflüssige Stühle pro Tag), Leukopenie (Leukozytenzahl < 3 /nl), Thrombozytopenie (Thrombozytenzahl < 100 /nl), Anämie (Hämoglobin < 11,3 g/dl nach Tag 28) und Gewichtsverlust (mehr als 10% des Körpergewichts nach Transplantation). Die Beziehung zwischen MPA-Exposition, Wirksamkeit und Toxizität wurde statistisch ausgewertet.

2.1.7 Calcineurininhibitor-Spiegelmessungen

Im Rahmen der Studie erfolgten an den Tagen 3, 10, 28 sowie in den Monaten 2, 3, 6, 9 und 12 nach Transplantation Talspiegelmessungen von Tacrolimus. Das Blut (EDTA-Röhrchen) wurde morgens direkt vor der ersten Tabletteneinnahme entnommen. Die Messungen erfolgten durch das Institut für Klinische Pharmakologie der Charité. Teilnahmen an Ringversuchen fanden regelmäßig statt. Die Ergebnisse wurden in der Regel noch am Tag der Blutentnahme übermittelt. Der Zielspiegel lag für die ersten 6 Monate bei 12-15 ng/ml und für die Monate 6-12 bei 6-10 ng/ml (zentrumsspezifisches Protokoll).

2.2 IMPDH-Aktivitätsbestimmung (IMPDH-Assay)

Die Blutentnahmen (Heparin-Röhrchen) für die Bestimmung der IMPDH-Aktivität (als Marker für die MPA-Pharmakodynamik) erfolgten präoperativ und jeweils 5 min vor Einnahme der morgendlichen Mycophenolatmofetil-Dosis (Talspiegel) an den Tagen 5, 10, 28, 61, 91, 183, 274 und 365 nach Transplantation.

2.2.1 Geräte

- Zentrifuge zur Zentrifugation mit einer g-Zahl von ca. 1.200 g (Megafuge 2.0 R, Heraeus Instruments GmbH)
- Verstellbare Kolbenhubpipette für 250 µl Volumen
- Eismaschine, Kühlschrank, Gefrierschrank (-80 °C)
- Kleinschüttler für Reagenzgläser (Vortex Genie 2, Scientific Industries Incorporation)
- Eppendorf Thermomixer
- RP-HPLC (Shimadzu)

2.2.2 Verbrauchsmaterialien

- Konische Zentrifugenröhrchen für Gewebekultur (Centrifuge Conical Tube 15 ml, Nalge Nunc International)
- Plastikpasteurpipetten (3,0 ml)
- Pipettenspitzen für Kolbenhubpipette
- Kryoröhrchen 1,8 ml (Cryo Tubes Vilas, Nalge Nunc International)
- Leucosep-Röhrchen 12 ml (Greiner Bio-One GmbH)
- Lithium-Heparin Monovetten 2,5 ml (Sarstedt)
- Dispenser für 1-10 ml Volumen

2.2.3 Reagenzien

- Dulbecco's Phosphate buffered saline (PBS, PAA laboratories GmbH)
- Eis
- HPLC Wasser
- Methanol (J.T. Baker)
- KH_2PO_4 (50 mmol/l)
- TBAS (7 mmol/l, pH 5,5)

- NAD⁺, IMP, AMP, XMP (Merck)
- Natriumhydrogenphosphat (40 mmol/l)
- KCL (100 mmol/l)
- Perchlorsäure (4 mol/l)
- Kaliumcarbonat (5 mol/l)

2.2.4 Software

- Class VP-Software von Shimadzu

2.2.5 Isolation von mononukleären Zellen und Herstellung von Zelllysaten

Die Zellisolation erfolgte aus peripherem Lithium-heparinisierem Blut (62). Die erforderliche Blutprobenmenge richtete sich nach der absoluten Lymphozytenzahl im Ausgangsmaterial. Bei normalem Blutbild ergaben 2,5 ml eine ausreichende Zellausbeute. Bei bekannter Verminderung der Lymphozyten wurde das doppelte Blutvolumen eingesetzt. Die Blutproben wurden vor der Separation bei Raumtemperatur transportiert und aufbewahrt. 2,5 ml PBS wurden mittels Dispenser in ein Leucosep-Röhrchen vorgelegt. Danach wurden 2,5 ml Vollblut mit einer Pasteurpipette dazu gegeben. Es folgte die Zentrifugation bei 1.200 g für 20 min bei Raumtemperatur. Anschließend wurde der Zellring der mononukleären Zellen mit einer Plastikpasteurpipette abgenommen und in ein 15 ml messendes Zentrifugationsröhrchen gegeben, das vorab mit 5 ml PBS befüllt wurde. Das Mischen erfolgte durch kurzes kopfüber schwenken. Danach erfolgte das Waschen durch 10-minütige Zentrifugation mit 1.200 g bei Raumtemperatur. Der Überstand wurde abgesaugt und auf Eis gestellt. Das Zellpellet wurde dann in 250 µl kaltem, doppeltdestilliertem Wasser resuspendiert und in einem Probenröhrchen mit Schraubverschluss bei -80 °C eingefroren. Durch langsames Auftauen, vorsichtiges Durchmischen und anschließendes Abzentrifugieren nichtlysierter Zellen und unlöslicher Zellfragmente wurde als Überstand ein homogenes Zelllysate gewonnen. Nach einem weiteren Frier-Tau-Zyklus war das Lysat bereit zur Inkubation.

2.2.6 Herstellung eines Erythrozytenlysats

In einem 15 ml Nunc Tube wurden 10 ml PBS vorgelegt. Mittels einer Transferpipette wurde 1 ml Li-Heparin-Blut dazugegeben. Nach 5-minütiger Zentrifugation bei 5000 g wurde der zellfreie PBS-Plasma-Überstand abgesaugt und verworfen. Durch Zugabe von 10 ml PBS erfolgte eine Resuspension der gepackten Erythrozyten. Nach einem weiteren Zentrifugationsschritt wurde der Waschpuffer ebenfalls abgesaugt und verworfen. Nach Zugabe von 10 ml kaltem Wasser und mehrmaligem Überkopfschütteln erfolgte die Lyse der Erythrozyten. Ein Aliquot von 1 ml des Erythrozytenlysats wurde bei -80 °C eingefroren. Nach dem Auftauen wurde das Lysat für 2 min bei 14.000 g zentrifugiert, um die unlöslichen Zelltrümmer abzutrennen. 50 µl des Überstands wurden zur Inkubation eingesetzt.

2.2.7 Enzymatische Reaktion

Zunächst wurde ein Reaktionsgemisch aus 1 mmol/l des Substrats IMP, 0,5 mmol/l des Cosubstrats NAD⁺ sowie aus 40 mmol/l Natriumhydrogenphosphat und 100 mol/l KCl (pH 7,4) hergestellt. Bei 37 °C wurden 50 µl Überstand mit 130 µl Reaktionsgemisch inkubiert und mit 800 rpm durch einen Eppendorf-Thermomixer geschüttelt. Die Inkubationszeit betrug 2,5 h. Durch Zugabe von 20 µl eiskalter Perchlorsäure (4 mol/l) wurde die Reaktion beendet und die Proben danach auf Eis gelagert. Durch Zentrifugation (15.800 g, 5 min) wurden ausgefällte Proteine entfernt. 170 µl des Überstandes wurden dann mit 10 µl Kaliumcarbonat (5 mol/l) vermischt und mindestens 30 min bei -80 °C oder mindestens 2 h bei -20 °C gelagert.

2.2.8 HPLC

Für die Bestimmung wurde das automatische RP-HPLC-System LC-2010 von Shimadzu mit einem UV-VIS-Detektor und einer ProntoSIL AQ C18 Säule als stationäre Phase bei 40 °C verwendet. Bei dem Laufmittel handelte es sich um eine Mischung (6:94) aus Methanol und einem Puffer (50 mmol/l KH₂PO₄ und 7 mmol/l TBAS, pH 5,5). 5 µl des aufgetauten Überstandes wurden injiziert und das Laufmittel mit einer Flussgeschwindigkeit von 1 ml/min für 25 min über die stationäre Phase gepumpt. Die Auswertung wurde im Anschluss mit der Class VP-Software von Shimadzu durchgeführt. Die Berechnung der IMPDH-Aktivität erfolgte nach der Formel:
 IMPDH-Aktivität = XMP (µmol/l) * 10⁶ / Inkubationszeit (s) * AMP (µmol/l). Die Einheit wurde in µmol/s/mol AMP angegeben (63).

2.3 Statistische Auswertung

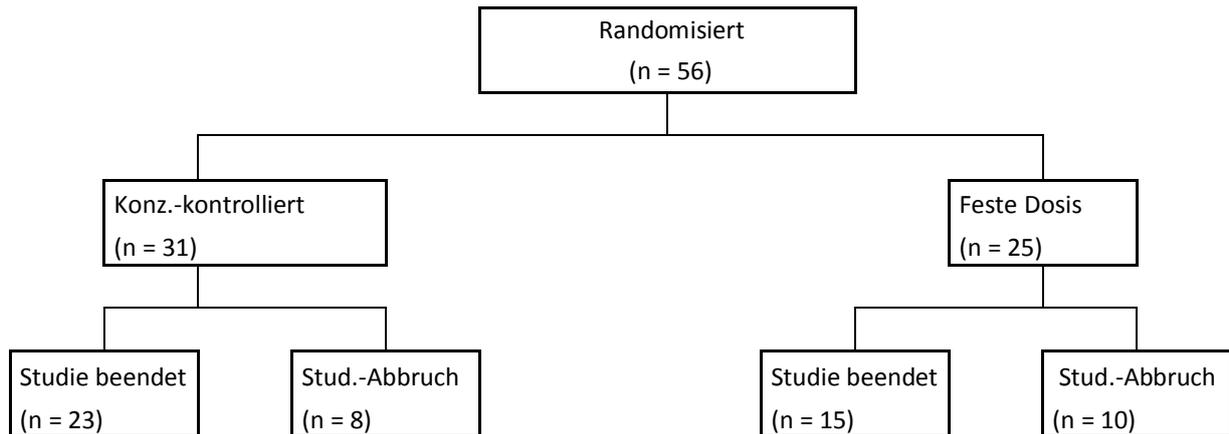
Kontinuierliche Daten wurden durch die Bestimmung von Mittelwerten und Standardabweichungen dargestellt. Gruppenvergleiche für diese Daten erfolgten mit Hilfe des t-Tests zum Mittelwertvergleich für unabhängige Stichproben. Beim Vorliegen schiefer Verteilungen wurde statt des Mittelwertes der Median mit Spannweite angegeben und nichtparametrische Testverfahren (Wilcoxon-Rangsummentest) eingesetzt. Dichotome Merkmale oder Ereignisse wurden als absolute und relative Häufigkeiten mit entsprechenden Konfidenzintervallen zusammengefasst und vergleichende Häufigkeitsanalysen mit Hilfe des Chi-Quadrat-Tests in Form von Kreuztabellen durchgeführt. Für eine Irrtumswahrscheinlichkeit von $p < 0,05$ wurde statistische Signifikanz angenommen.

Intraindividuelle Veränderungen über Zeitintervalle wurden durch paarweisen Vergleich auf statistische Signifikanz überprüft.

3. ERGEBNISSE

3.1 Patientenkollektiv

Insgesamt wurden an der Charité 56 Patienten randomisiert, wobei 31 Patienten der CC-Gruppe und 25 Patienten der FD-Gruppe zugeordnet wurden (Abb. 3.1).



Gründe für vorzeitigen Studienabbruch:

Unerwünschtes Ereignis: n = 5
 Non-compliance: n = 2
 Tod (kardiovaskulär): n = 1

Gründe für vorzeitigen Studienabbruch:

Unerwünschtes Ereignis: n = 4
 Non-compliance: n = 4
 Tod (kardiovaskulär): n = 1
 Transplantatverlust (Rejektion): n = 1

Abb. 3.1: Zuordnung der Patienten zum jeweiligen Behandlungsarm (CC oder FD) und Gründe für einen vorzeitigen Studienabbruch

Wie der Tab. 3.1 zu entnehmen ist, gab es keine bedeutenden Unterschiede bezüglich demographischer Charakteristika oder grundlegender Merkmale bezüglich Vorerkrankungen, Transplantationsvorgeschichte etc. Lediglich der Anteil von Lebendspende-Transplantationen in der CC-Gruppe war mit 45% im Vergleich zu 20% in der FD-Gruppe deutlich höher. Eine Induktionstherapie mit Antikörpern erfolgte bei 64,3% aller Patienten.

	CC (n = 31)	FD (n = 25)	Gesamt (n = 56)
Alter (Jahre) ± SD	47,2 ± 13,3	48,9 ± 14,0	48,0 ± 13,5
Kaukasisch, n (%)	31 (100)	25 (100)	56 (100)
Geschlecht, n (%)			
Weiblich	5 (16,1)	11 (44,0)	16 (28,6)
Männlich	26 (83,9)	14 (56,0)	40 (71,4)
BMI (kg/m ²) ± SD	25,4 ± 3,6	24,4 ± 3,9	24,9 ± 3,7
Vorerkrankungen, n (%)			
Glomerulonephritis	20 (64,5)	10 (40,0)	30 (53,6)
Pyelonephritis	0 (0)	4 (16,0)	4 (7,1)
Zystennieren	2 (6,5)	3 (12)	5 (8,9)
Hypertensive Nephropathie	1 (3,2)	0 (0)	1 (1,8)
Diabetes mellitus	3 (9,7)	2 (8,0)	5 (8,9)
Refluxnephropathie	1 (3,2)	2 (8,0)	3 (5,4)
unbekannt	0 (0)	1 (4,0)	1 (1,8)
anderes	4 (12,9)	3 (12,0)	7 (12,5)
NTx-Anamnese, n (%)			
1. NTx	28 (90,3)	19 (76,0)	47 (83,9)
2. NTx	3 (9,7)	4 (16,0)	7 (12,5)
≥ 3. NTx	0 (0)	2 (8,0)	2 (3,6)
Spender, n (%)			
Kadaver	17 (54,8)	20 (80,0)	37 (66,1)
Lebend	14 (45,2)	5 (20,0)	19 (33,9)
Alter (Jahre) ± SD	51,0 ± 13,9	52,5 ± 11,2	51,7 ± 12,7
KIZ, (h) ± SD	7,60 ± 6,0	10,12 ± 6,3	8,72 ± 6,2
Historischer PRA, n (%)			
< 10%	30 (96,8)	22 (88,0)	52 (92,9)
≥ 10%	1 (3,2)	3 (12,0)	4 (7,1)
PRA letzte 6 Monate, n (%)			
< 50%	31 (100)	25 (100)	56 (100)
≥ 50%	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Induktionstherapie, n (%)			
Ja	19 (61,3)	17 (68,0)	36 (64,3)
Nein	12 (38,7)	8 (32,0)	20 (35,7)
Missmatch, n ± SD	3,2 ± 1,7	2,7 ± 1,9	3,0 ± 1,8

Tab. 3.1: Darstellung der demographischen Charakteristika und grundlegenden Merkmale. Angegeben sind absolute Zahlen mit Prozentangaben bezogen auf die jeweilige Anzahl der Patienten pro Gruppe bzw. Mittelwerte ± Standardabweichung. (BMI = Body Mass Index, Tx = Transplantation, KIZ = Kalte Ischämiezeit, PRA = Panel Reactive Antibodies)

3.2 Klinische Endpunkte

3.2.1 Therapieversagen im Überblick

9 Patienten, also 36% der FD-Gruppe, hatten ein Therapieversagen (bioptisch nachgewiesene akute Rejektion, Transplantatverlust, Tod oder Unterbrechung der MMF-Therapie). Der Anteil in der CC-Gruppe betrug 29%, was ebenfalls 9 Patienten entsprach. Statistisch signifikante Unterschiede in der Verteilung der Endpunkte gab es nicht (Tab. 3.2). 96% der Patienten der FD-Gruppe und 98% der Patienten der CC-Gruppe waren nach einem Jahr noch am Leben. Das 1-Jahres-Transplantat-Überleben (zensiert für Tod) betrug in der FD-Gruppe 96% und in der CC-Gruppe 100%.

	CC (n = 31)	FD (n = 25)	p
Therapieversagen, n (%)	9 (29,0)	9 (36,0)	n.s.
Zeit bis Therapieversagen (d) ± SD	45 ± 54	84 ± 101	n.s.
Akute Rejektion (BPAR), n (%)	4 (12,9)	5 (20,0)	n.s.
Zeit bis zur 1. Abstoßung (d) ± SD	6,3 ± 0,5	7,6 ± 2,6	n.s.
Rejektionsbehandlung, n (%)	8 (25,8)	8 (32,0)	n.s.
Transplantatverlust, n (%) (zensiert für Tod)	0 (0)	1 (4,0)	n.s.
Tod, n (%)	2 (6,5)	1 (4,0)	n.s.
Transplantatverlust, n (%) (inklusive Tod)	2 (6,5)	2 (8,0)	n.s.
Abbruch MMF-Therapie, n (%)	5 (16,1)	4 (16,0)	n.s.

Tab. 3.2: Analyse der primären und sekundären Endpunkte nach 12 Monaten

3.2.2 Inzidenz von Rejektionen

Jeweils 8 Patienten beider beobachteter Gruppen erfuhren eine Rejektionsbehandlung (25,8% der CC-Gruppe, 32,0% der FD-Gruppe). Eine akute Rejektion wurde mittels Transplantatbiopsie bei 5 Patienten der FD-Gruppe (20,0%) und bei 4 Patienten der CC-Gruppe (12,9%) diagnostiziert. Gründe für nicht erfolgte Biopsien bei vermuteter Abstoßung waren vor allem Gerinnungsprobleme und technische oder logistische Probleme, die eine diagnostische Probeentnahme unmöglich machten bzw. ein nicht tolerierbares Risiko für den Patienten darstellten. Sämtliche Rejektionen traten innerhalb der ersten 3 Wochen nach Transplantation auf. Durchschnittlich trat die erste akute Rejektion in der FD-Gruppe am Tag 7 und in der CC-Gruppe am Tag 6 auf.

Weder bei der Anzahl noch bei der Schwere der aufgetretenen Rejektionen wurden signifikante Unterschiede zwischen beiden Gruppen auffällig.

Die Standard-Rejektionstherapie war eine Kortisonstoßbehandlung. In Einzelfällen wurden zusätzlich Plasmapherese- und/oder Immunglobulin-Infusionen veranlasst (siehe Tab. 3.3). In der FD-Gruppe kam es bei einem Patienten aufgrund einer schwersten humoralen Abstoßungsreaktion zum Transplantatverlust. Das nekrotische Organ wurde am 9. postoperativen Tag explantiert.

	FD	CC	p
BPAR, n (%)	5 (20)	4 (12,9)	n.s.
Banff Ia, n (%)	2 (8)	0 (0)	n.s.
Banff Ib, n (%)	0 (0)	1 (3,2)	n.s.
Banff IIa, n (%)	2 (8)	2 (6,4)	n.s.
Banff IIb, n (%)	0 (0)	1 (3,2)	n.s.
Banff III, n (%)	1 (4)	0 (0)	n.s.
vermutete Rejektion, n (%)	3 (12)	4 (12,9)	n.s.
Art der Rejektionsbehandlung			
Kortikosteroide, n (%)	8 (100)	8 (100)	n.s.
Plasmapherese, n (%)	2 (8)	3 (9,7)	n.s.
Immunglobuline, n (%)	2 (8)	3 (9,7)	n.s.

Tab. 3.3: Darstellung der akuten Rejektionen nach histologischer Banff-Klassifikation und Übersicht über die Art der Rejektionsbehandlung (inkl. vermutete Rejektionen)

3.3 Unerwünschte Ereignisse

Die Anzahl der Patienten mit mindestens einem unerwünschten Ereignis bzw. mit mindestens einem schweren unerwünschten Ereignis war in beiden Gruppen ähnlich (Tab. 3.4). Typische Nebenwirkungen der MMF-Therapie waren Diarrhoen, Infektionen, Leukopenien und Anämien.

Unerwünschte Ereignisse	CC (n = 31)	FD (n = 25)	Gesamt (n = 56)	p
Gesamtzahl AE, n	188	177	365	n.s.
Patienten mit ≥ 1 AE, n (%)	29 (93,5)	24 (96,0)	53 (94,6)	n.s.
Patienten mit ≥ 1 SAE, n (%)	16 (51,6)	16 (64,0)	32 (57,1)	n.s.
Pausierung MMF-Therapie, n (%)	5 (16,1)	5 (20,0)	10 (17,9)	n.s.
Anämie, n (%)	16 (51,6)	17 (68,0)	33 (58,9)	n.s.
Diarrhoe, n (%)	15 (48,4)	12 (48,0)	27 (48,2)	n.s.
Leukopenie, n (%)	9 (29,0)	4 (16,0)	13 (23,2)	n.s.
Thrombozytopenie, n (%)	3 (9,7)	2 (8,0)	5 (8,9)	n.s.
Gewichtsverlust, n (%)	2 (6,5)	1 (4,0)	3 (5,4)	n.s.

Tab. 3.4: Aufschlüsselung der unerwünschten Ereignisse

3.3.1 Diarrhoe

Die Inzidenz von Diarrhoen unterschied sich in beiden Gruppen nicht. Während des Beobachtungszeitraumes traten sie bei 27 von 56 Patienten (ca. 48%) auf. Die durchschnittliche MMF-Dosis beim ersten Auftreten einer Diarrhoe betrug bei Patienten des FD-Arms 1875 mg und bei Patienten des CC-Arms 2000 mg. Die durchschnittliche MPA-AUC wurde zu diesem Zeitpunkt bei Patienten des FD-Arms mit 39,6 mg·h/l und bei Patienten des CC-Arms mit 40,4 mg·h/l bestimmt. Ein statistischer Unterschied konnte nicht erhoben werden.

3.3.2 Anämie

Die niedrigsten Hämoglobinwerte waren für beide Gruppen am 10. Tag nach Transplantation zu verzeichnen. Im weiteren Verlauf kam es dann jeweils zu einem langsamen Anstieg (Abb. 3.2). Eine Anämie ($Hb < 11,3$ g/dl) wurde ≥ 28 Tage nach Transplantation bei 16 Patienten (51,6%) der CC-Gruppe und bei 17 Patienten (68,0%) der FD-Gruppe diagnostiziert.

Am 28. postoperativen Tag waren die Hb-Werte der anämischen Patienten des FD-Arms signifikant höher (siehe Abb. 3.2) und die MMF-Tagesdosen signifikant niedriger als die der Patienten des CC-Arms (siehe Abb. 3.3). Die Hb-Werte der Patienten mit Anämie, die zu diesem Zeitpunkt eine höhere MMF-Dosis als die Standard-Therapie erhielten, waren durchschnittlich um einen Punkt niedriger (hoch signifikant, $p < 0,01$) als die Hb-Werte der Patienten mit Standard- bzw. reduzierter Dosis (Abb. 3.4); die MPA-AUC-Werte dagegen um ca. 14 mg·h/l höher (Abb. 3.5).

Bei den anämischen Patienten der FD-Gruppe sind ab Monat 6 niedrigere Hb-Werte bei gleichzeitig höheren MMF-Tagesdosen zu verzeichnen. Die MMF-Tagesdosis des FD-Arms ist 6 Monate nach Transplantation sogar einmalig signifikant höher (Abb. 3.3).

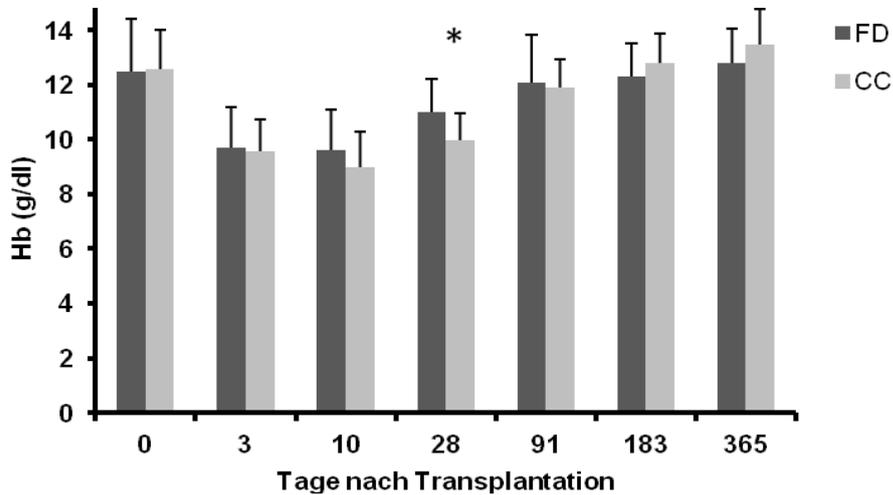


Abb. 3.2: Hb-Verlauf der Patienten, bei denen im Beobachtungszeitraum eine Anämie diagnostiziert wurde. FD-Arm (n = 17), CC-Arm (n = 16), * p<0,05 FD versus CC

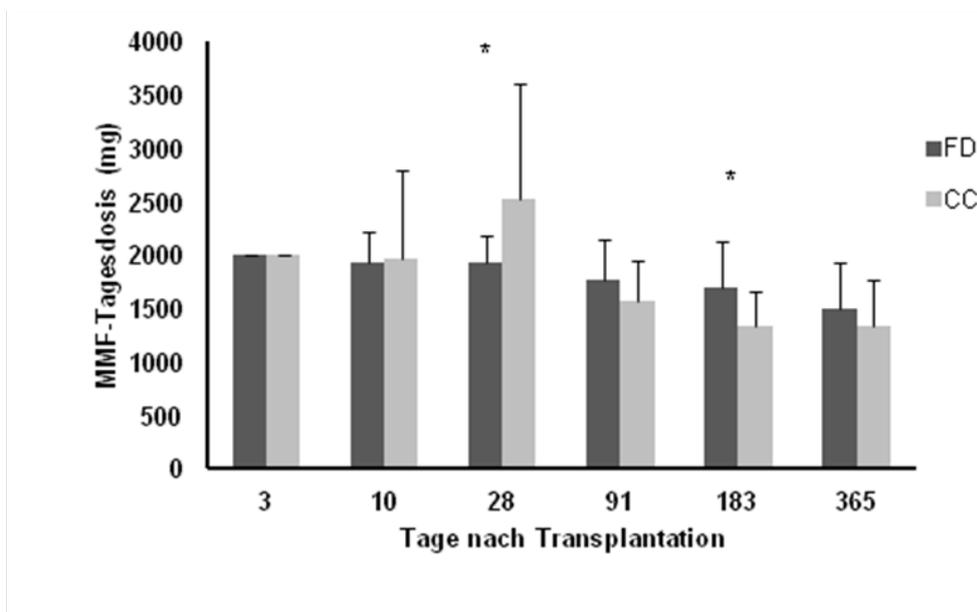


Abb. 3.3: MMF-Dosierung aller Patienten, bei denen im Beobachtungszeitraum eine Anämie diagnostiziert wurde. FD (n = 17), CC (n = 16), * p<0,05 FD vs. CC

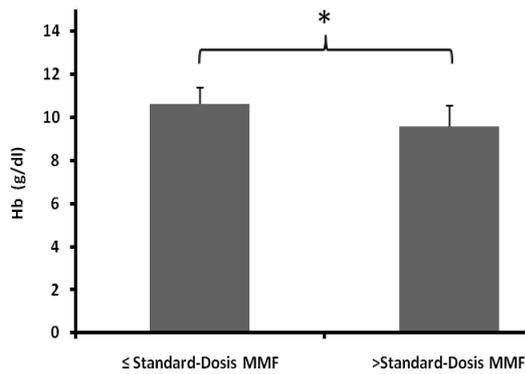


Abb. 3.4: Vergleich der Hb-Werte (Tag 28) zwischen Pat. mit einer MMF-Dosis ≤ 2 g (n = 20) und >Standard-Therapie (n = 10), * p<0,01

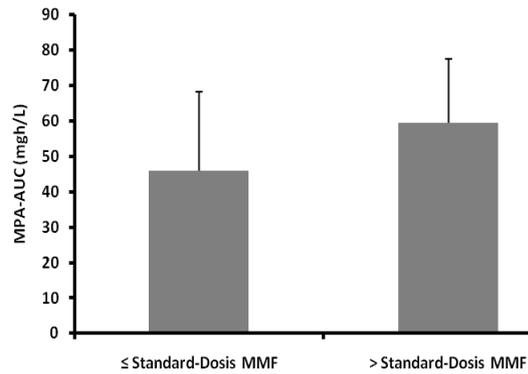


Abb. 3.5: Vergleich der MPA-AUC (Tag 28) zwischen Pat. mit MMF-Dosis ≤ 2 g (n = 20) und >Standard-Therapie (n=10), p=n.s.

3.3.3 Leukopenie

Bei 4 von 25 Patienten der FD-Gruppe im Vergleich zu 9 von 31 Patienten der CC-Gruppe trat eine Leukopenie auf. Ein statistisch signifikanter Unterschied bestand nicht. Durchschnittlich vergingen vom Zeitpunkt der Transplantation bis zum Auftreten einer Leukopenie 155 Tage bei Patienten des FD-Arms und 112 Tage bei Patienten des CC-Arms. Die MPA-AUC betrug zu dem Zeitpunkt durchschnittlich 60,2 mg*h/l und 44,1 mg*h/l (FD vs. CC, p = n.s.) und die MMF-Tagesdosis durchschnittlich 2.000 mg und 1.639 mg (FD vs. CC, p = n.s.).

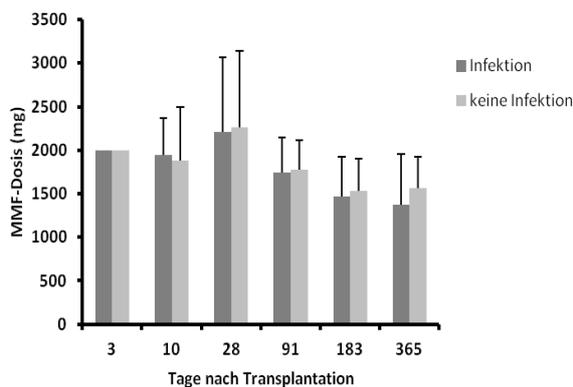
3.3.4 Infektionen

Insgesamt traten in der FD-Gruppe mehr Infektionen auf (18 von 25 versus 16 von 31). Am häufigsten kam es zu entzündlichen Erkrankungen der Harnwege, zu Pneumonien und CMV- oder Candida-Infektionen. Die prozentuale Verteilung der jeweiligen Infektionen kann der Tab. 3.5 entnommen werden. Schwere unerwünschte Ereignisse im Sinne von SAE's (serious adverse events) im Rahmen von Infektionen traten in beiden Gruppen gleichhäufig auf.

	CC (n = 31)	FD (n = 25)
Harnwegsinfektion, n (%)	10 (32,3)	14 (56,0)
Pneumonie, n (%)	0 (0)	4 (16,0)
CMV-Infektion, n (%)	1 (3,2)	2 (8,0)
Candidainfektion, n (%)	0 (0)	2 (8,0)
Sepsis, n (%)	1 (3,2)	1 (4,0)
infektiöses SAE, n (%)	6 (19,4)	5 (20,0)

Tab. 3.5: Differenzierung der verschiedenen Infektionen

Die MMF-Dosen der Patienten, bei denen eine Infektion auftrat, sind mit den MMF-Dosen der Patienten ohne Infektion nahezu identisch (Abb. 3.6). Die MPA-AUC-Werte sind jedoch bei den Patienten mit infektiöser Komplikation ab Tag 28 nach Transplantation stets höher (nicht statistisch signifikant). 3 Tage nach Transplantation sind die MPA-AUC-Werte der Patienten ohne Infektion jedoch signifikant höher (Abb. 3.7).



**Abb. 3.6: Vergleich der MMF-Dosen von Patienten mit und ohne Infektion
p = n.s.**

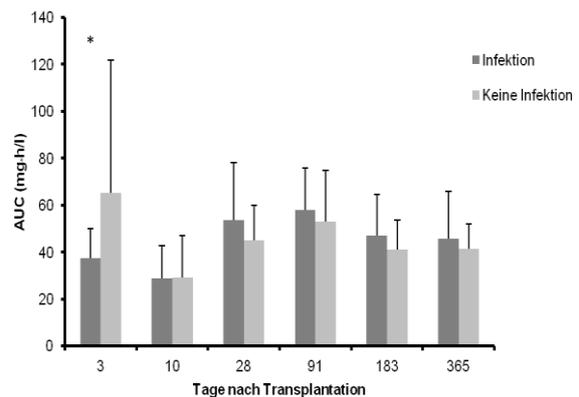


Abb. 3.7: Vergleich der MPA-AUC-Werte von Patienten mit und ohne Infektion, * p<0,01

3.3.5 Maligne Erkrankungen

Maligne Erkrankungen wurden während des Beobachtungszeitraumes in keiner Patientenpopulation beobachtet.

3.4 Pharmakokinetische Analysen

3.4.1 MPA-AUC

Die Tab. 3.6 zeigt die Verteilung der errechneten MPA-AUC-Werte zwischen beiden Behandlungsgruppen zu den verschiedenen Visiten. Bis zur Woche 4 nach Transplantation waren die MPA-AUC-Werte der FD- und der CC-Gruppe fast gleich. Am Tag 10 nach Transplantation sind in beiden Gruppen die niedrigsten MPA-AUC-Werte des gesamten Beobachtungszeitraums erzielt worden. Mehr als zwei Drittel aller Patienten hatten zu diesem Zeitpunkt Werte <30 mg·h/l. Der Abfall der MPA-AUC-Werte von Tag 3 auf Tag 10 ist für beide Behandlungsarme statistisch signifikant (Abb. 3.8). Vom 10. bis zum 28. postoperativen Tag kam es dann zu einem statistisch signifikanten Anstieg der MPA-AUC-Werte. In den darauffolgenden Monaten erreichten über 60% der CC-Gruppe die Ziel-AUC von 30-60 mg·h/l. In der FD- Gruppe waren es zwar jeweils durchschnittlich weniger Patienten (35–66%); dafür war der Anteil der Patienten mit einer AUC>60 mg·h/l in der FD-Gruppe größer, weshalb die mittlere MPA-AUC der CC-Gruppe im Monat 6 und 12 etwas niedriger ist.

Zeit nach NTx	CC			FD		
	AUC (mg·h/l)			AUC (mg·h/l)		
	<30	30-60	>60	<30	30-60	>60
Tag 3, n (%)	5 (20,0)	15 (60,0)	5 (20,0)	5 (27,8)	12 (66,7)	1 (5,5)
Tag 10, n (%)	19 (67,9)	6 (21,4)	3 (10,7)	15 (75,0)	5 (25,0)	0 (0,0)
Woche 4, n (%)	5 (17,9)	14 (50,0)	9 (32,1)	4 (20,0)	10 (50,0)	6 (30,0)
Monat 3, n (%)	0 (0,0)	18 (69,2)	8 (30,8)	5 (25,0)	7 (35)	8 (40,0)
Monat 6, n (%)	4 (20,0)	14 (70,0)	2 (10,0)	1 (7,1)	8 (57,2)	5 (35,7)
Monat 12, n (%)	5 (23,8)	13 (61,9)	3 (14,3)	0 (0,0)	6 (66,7)	3 (33,3)

Tab. 3.6: Darstellung der MPA-Exposition während der Behandlung

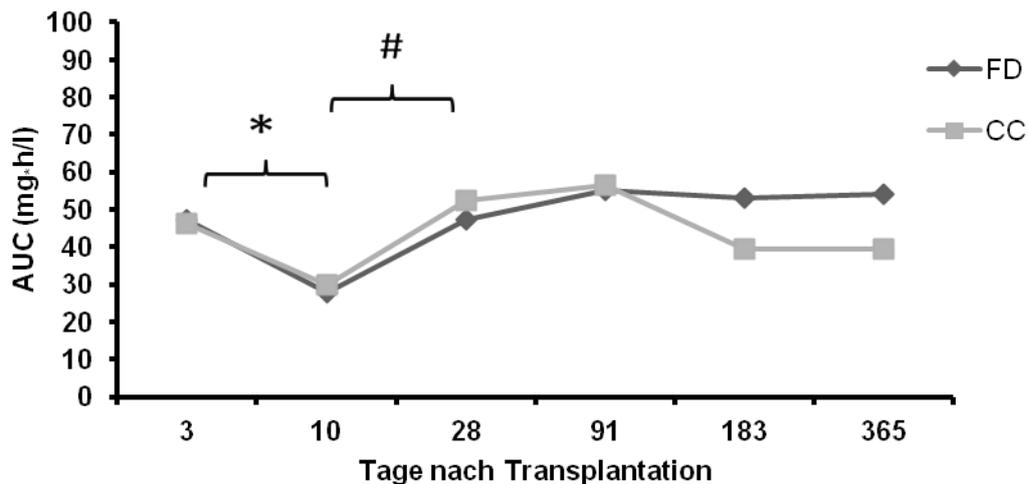


Abb. 3.8: Vergleich der MPA-AUC-Werte von Patienten des FD-Arms (d3 n = 18, d10 n = 20, d28 n = 20, d91 n = 20, d183 n = 14, d365 n = 9) und Patienten des CC-Arms (d3 n = 25, d10 n = 28, d28 n = 28, d91 n = 26, d183 n = 20, d365 n = 21). * $p < 0,05$ für FD und für CC, # $p < 0,01$ für FD und für CC

3.4.2 MPA-AUC der Patienten ohne Dosisveränderung

Betrachtet man den Verlauf der MPA-AUC-Werte der Patienten, die das gesamte Jahr die Standarddosis von 2 g pro Tag erhielten (n = 6, FD-Arm), findet man keinen Unterschied zu den Patienten mit Dosismodifikationen. Auch ohne Dosisänderung kommt es am Tag 10 zu einem deutlichen Abfall der MPA-AUC (von 41,6 auf 19,8 mg·h/l) und anschließend zu einem Wiederanstieg an Tag 28 (42,6 mg·h/l) und Monat 3 (57,3 mg·h/l). Die durchschnittlichen MPA-AUC-Werte sind nahezu identisch mit denen der FD-Gruppe. In den Monaten 6 und 12 wurden die MPA-AUC-Werte dann höher als die der CC-Gruppe bestimmt (56,0 und 47,6 mg·h/l).

3.4.3 MPA-AUC und MMF-Dosis

Es wurden zu allen Visiten die mittleren MMF-Dosen ermittelt und den entsprechenden MPA-AUC-Werten gegenübergestellt. Am Tag 3 nahmen alle Patienten eine tägliche MMF-Dosis von 2 g ein. Am Tag 10 sind es im Schnitt 100 mg MMF weniger (FD und CC). Der größte Unterschied in der Dosierung konnte für den Tag 28 festgestellt werden. Die Patienten der CC-Gruppe erhielten eine mittlere MMF-Tagesdosis von 2,5 g und damit ca. 25% mehr als die Patienten der FD-Gruppe ($p < 0,01$). Trotzdem gab es keinen statistisch signifikanten Unterschied in der mittleren AUC ($52,6 \pm 22,6$ vs. $47,2 \pm 20,6$) zwischen beiden Gruppen.

Die AUC-Werte der CC-Gruppe waren aber tendenziell höher. Nach gleicher Dosis und AUC zum Monat 3 ist ab Monat 6 die mittlere Tagesdosis und auch die durchschnittliche MPA-AUC der FD-Gruppe dann höher als die der CC-Gruppe (Tab. 3.7 und Abb. 3.9).

	CC-Arm		FD-Arm	
	MMF-Dosis (mg)	MPA-AUC (mg·h/l)	MMF-Dosis (mg)	MPA-AUC (mg·h/l)
Tag 3				
n	31	25	25	18
Mittelwert (SD)	2.000 (0)	47,7 (20,8)	2.000 (0)	37,4 (12,8)
Tag 10				
n	30	28	24	20
Mittelwert (SD)	1.933 (612)	29,8 (17,6)	1.906 (320)	27,7 (11,4)
Woche 4				
n	30	28	24	20
Mittelwert (SD)	2.517 (1030)	52,6 (22,6)	1.875 (338)	47,2 (20,6)
Monat 3				
n	28	26	23	20
Mittelwert (SD)	1.714 (395)	56,4 (17,3)	1.804 (361)	55,0 (22,6)
Monat 6				
n	24	20	20	14
Mittelwert (SD)	1.333 (351)	39,6 (11,6)	1.675 (438)	53,1 (18,8)
Monat 12				
n	24	21	15	9
Mittelwert (SD)	1.417 (525)	39,6 (14,0)	1.500 (500)	54,0 (19,7)

Tab. 3.7: Darstellung der mittleren MMF-Tagesdosis und der MPA-AUC

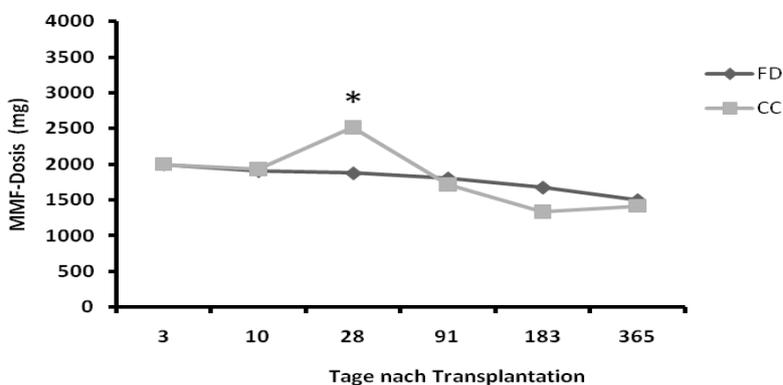


Abb. 3.9: MMF-Dosis (vor AUC-Messung) der Patienten des FD-Arms (n = 25) und des CC-Arms (n = 31), * p<0,01 FD vs. CC

3.4.4 MPA-AUC-Variabilität bei gleicher Dosis

Bei Patienten, die eine MMF-Tages-Dosis von 2 g erhielten, wurden am 10. postoperativen Tag die niedrigsten MPA-AUC-Werte des Beobachtungszeitraums gemessen. 3 Tage nach Transplantation war die Standardabweichung mit 38,3 mg·h/l besonders hoch (Abb. 3.10).

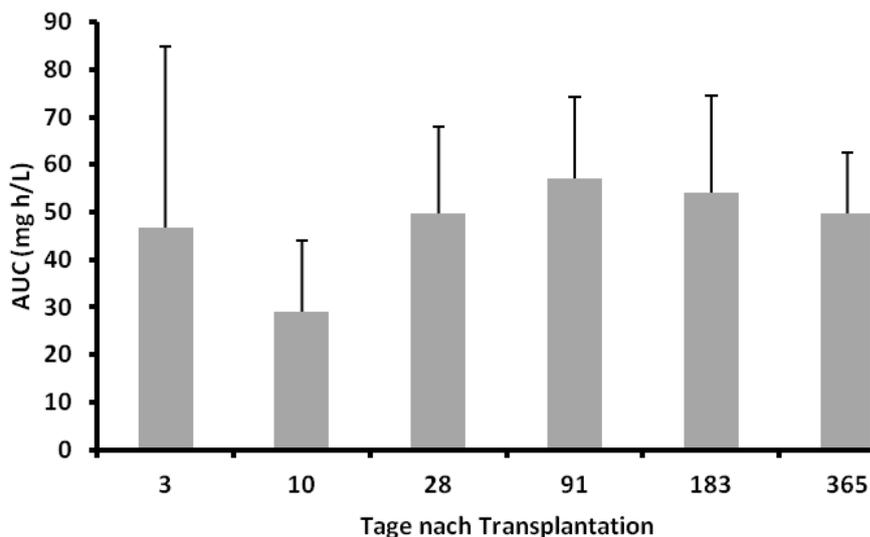


Abb. 3.10: Darstellung der MPA-AUC-Werte aller Patienten mit 2 g MMF-Tagesdosis (d3 n = 46, d10 n = 36, d28 n = 24, d91 n = 27, d183 n = 8, d365 n = 6)

3.5 MMF-Therapie im klinischen Alltag

3.5.1 Dosisanpassungen von MMF

Nach sämtlichen vom Protokoll vorgeschriebenen MPA-AUC-Messungen bei den Patienten des CC-Arms waren entsprechende Anpassungen der MPA-Dosis vorgesehen. Abb. 3.11 veranschaulicht, wie oft diese Dosisanpassungen protokollgerecht erfolgten. Am 3. Tag nach Transplantation war dies nur bei 58% der Patienten der Fall, am 10. Tag bei 64% (32% der Patienten erhielten eine niedrigere Dosis als vom Protokoll vorgesehen), was unter anderem auf unerwünschte Ereignisse (z.B. Diarrhoen) zurückzuführen war. In insgesamt 21 von 41 Fällen wurden vom Protokoll vorgesehene Dosissteigerungen während des Beobachtungszeitraums jedoch fehlerhaft umgesetzt (d.h. ohne Auftreten eines adverse events (AE)). Bis zum 91. Tag nach Transplantation stieg der Anteil protokollkonformer MPA-Dosen auf 77% an.

Am Ende des Beobachtungszeitraums fällt der Anteil auf 42,9% der Patienten ab. Bei Abweichungen vom Protokoll überwiegt eine zu niedrige MMF-Dosierung.

In 12 Monaten erfolgten bei Patienten des CC-Arms durchschnittlich 4,5 MMF-Dosisänderungen; davon durchschnittlich 2,6 aufgrund von MPA-AUC-Messungen. Bei Patienten des FD-Arms erfolgten durchschnittlich 1,8 MMF-Dosisänderungen.

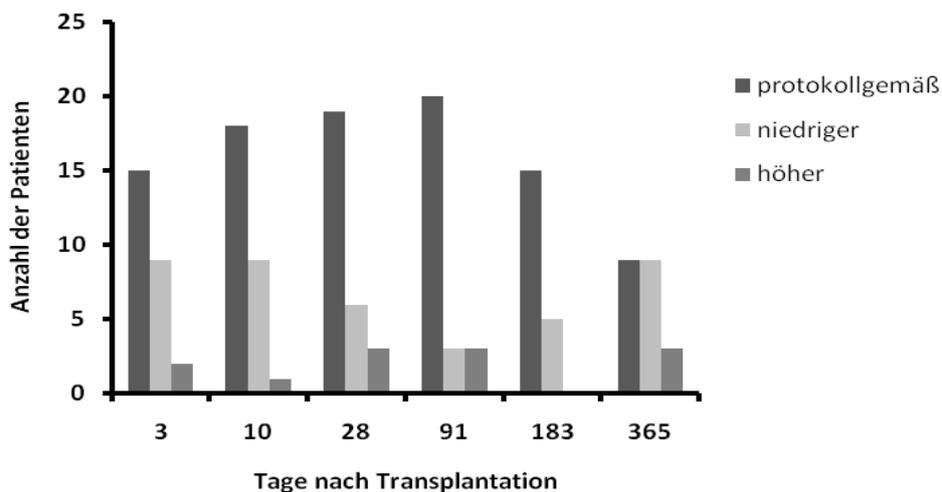


Abb. 3.11: Darstellung, bei welchen Patienten (CC-Arm) protokollgemäß oder abweichend (niedriger oder höher als vom Protokoll vorgesehen) MMF-Dosisanpassungen vorgenommen wurden, n = 28

3.5.2 Vorhersagbarkeit der MPA-AUC

Zur MMF-Dosisfestlegung anhand von MPA-AUC-Werten wurde ein linearer Zusammenhang der MMF-Kinetik vorausgesetzt, d.h. eine Verdoppelung der MMF-Dosis müsste eine doppelt so hohe MPA-AUC zur Folge haben.

Zur Überprüfung dieser These wurden für beide Behandlungsgruppen den erwarteten MPA-AUC-Werten die tatsächlich bestimmten MPA-AUC-Werte gegenübergestellt (Abb. 3.12). Um einen erwarteten MPA-AUC-Wert zu bestimmen, wurde der letzte MPA-AUC-Wert mit der aktuellen Dosis ins Verhältnis gesetzt.

Man erkennt vor allem bis Monat 3 nach Transplantation eine ausgeprägte Streuung der MPA-AUC-Werte in den jeweiligen Punktdiagrammen. Einen angedeuteten linearen Zusammenhang findet man lediglich 3 und 6 Monate nach Transplantation.

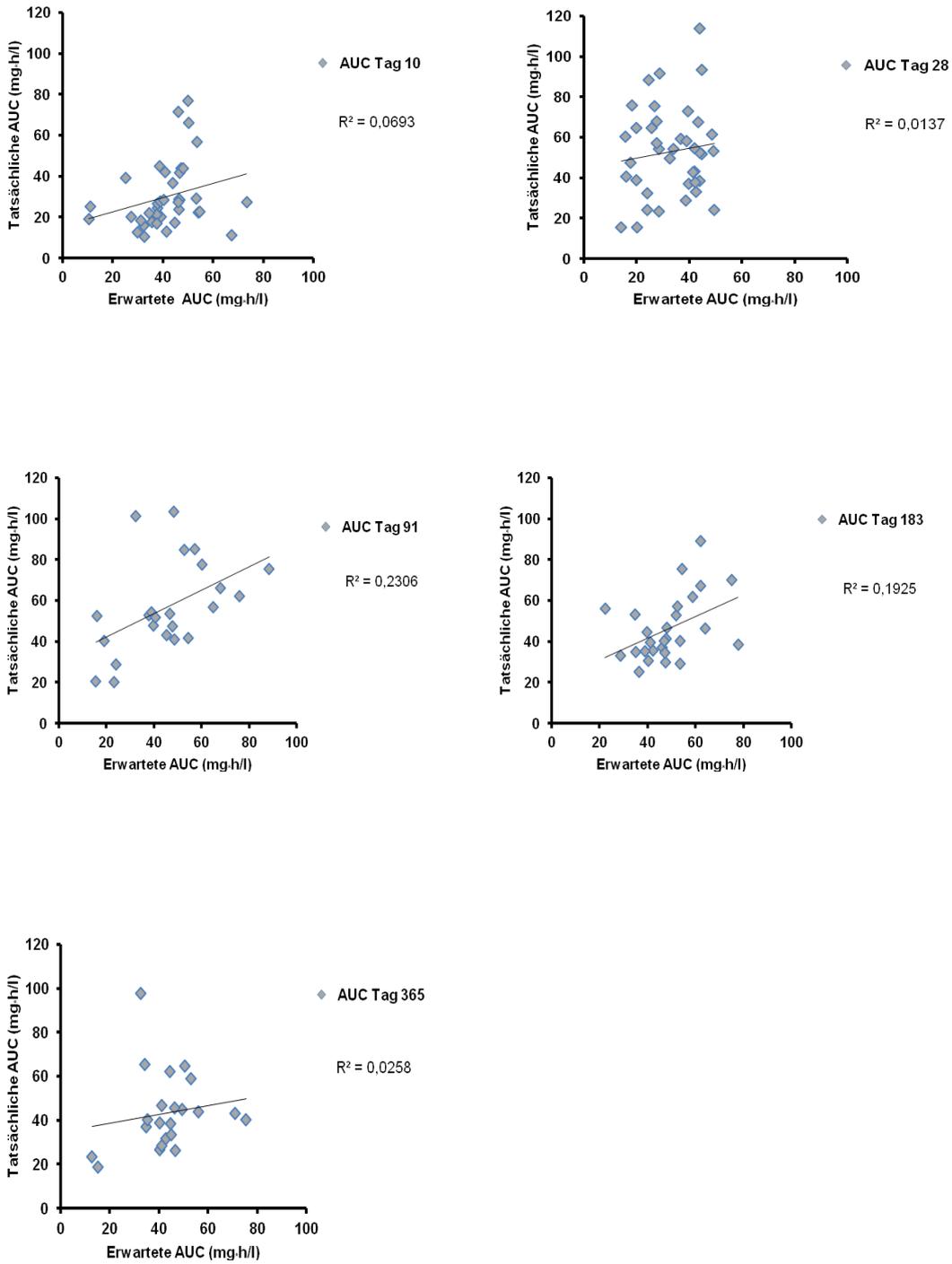


Abb. 3.12: Darstellung der Korrelation zwischen erwarteter und tatsächlicher MPA-AUC (AUC d10 n = 38; AUC d28 n = 39; AUC d91 n = 23; AUC d183: n = 27; AUC d365 n = 22)

3.5.3 Verträglichkeit von Mycophenolsäure

Im Rahmen der Studie waren die Patienten AUC-gesteuert zum Teil hohen MMF-Dosen ausgesetzt. Die Toleranz solch hoher Dosen war sehr verschieden. In Tab. 3.8 ist aufgeführt, wie lange MMF-Tagesdosen größer als 2 g von den Patienten eingenommen wurden und ob der Grund für eine anschließende Dosisreduktion die Adaptation an eine erneute MPA-AUC-Bestimmung oder die Reaktion auf ein unerwünschtes Ereignis war.

Tagesdosen von 5 g wurden von 3 Patienten durchschnittlich 11 Tage problemlos vertragen. Die Reduktion erfolgte schließlich aufgrund eines zu hohen AUC-Wertes.

Ein Patient tolerierte diese hohe Dosis jedoch nur 3 Tage. Aufgrund eines unerwünschten Ereignisses wurde die MMF-Gabe frühzeitig reduziert.

Ein Patient nahm 39 Tage eine MMF-Dosis von 4,5 g ein, ohne dass Nebenwirkungen auftraten. Insgesamt erfolgten Dosisänderungen häufiger aufgrund einer erneuten AUC-Bestimmung. In der FD-Gruppe gab es bei ca. 80% der Patienten Dosisreduktionen, die im Median 136 Tage nach Transplantation erfolgten. Eine höhere Dosis (>2 g Tagesdosis, CC-Gruppe) wurde im Median 54 Tage toleriert.

MMF-Tagesdosis (mg)	AUC	SD	AE	SD
2.000			125,9 d (n = 28)	136,9 d
2.500	26,4 d (n = 7)	21,5 d	49,5 d (n = 2)	6,3 d
3.000	34,1 d (n = 10)	52,6 d	19 d (n = 4)	9,4 d
3.500	11,5 d (n = 2)	3,5 d	4 d (n = 1)	
4.000	9,5 d (n = 2)	10,6 d	32 d (n = 1)	
4.500	39 d (n = 1)			
5.000	11,3 d (n = 3)	1,5 d	3 d (n = 1)	

Tab. 3.8: Darstellung, nach welcher Anzahl von Behandlungstagen ein neu bestimmter AUC-Wert oder ein unerwünschtes Ereignis Grund für eine MMF-Dosisreduktion war

3.6 Tacrolimus-Spiegel

Die Tacrolimus-Spiegel der Patienten des FD- und CC-Arms unterschieden sich während des Beobachtungszeitraums nicht signifikant. Am Tag 3 wurden bei den Patienten des CC-Arms etwas höhere Spiegel gemessen (15,4 ng/ml vs. 18,2 ng/ml). Die Werte beider Gruppen lagen jedoch zu dieser Visite oberhalb des Zielbereichs von 12-15 ng/ml (Abb. 3.13).

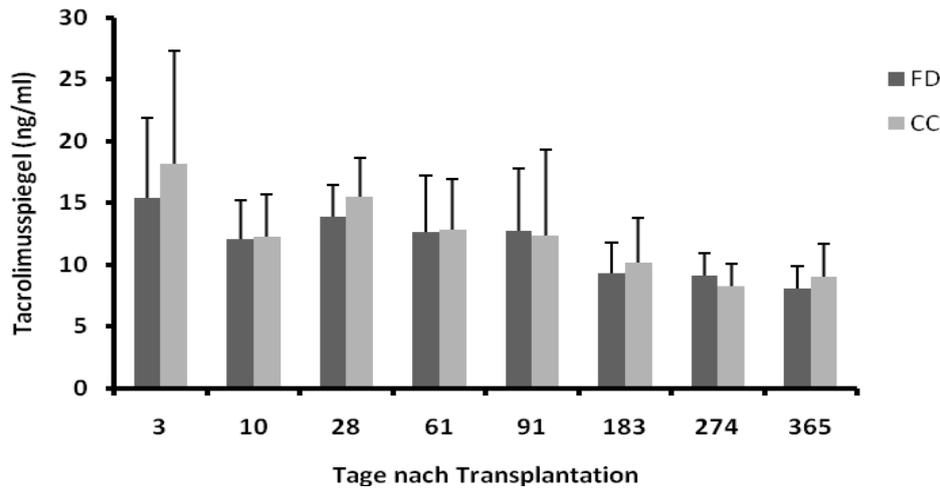


Abb. 3.13: Tacrolimuspiegel der Patienten des FD-Arms (n = 25) und des CC-Arms (n = 31) im Vergleich, p = n.s.

Beim Vergleich der Tacrolimus-Spiegel der Patienten, die eine Rejektionsbehandlung erhielten mit den Patienten, die keine Rejektion erlitten, waren ebenfalls keine signifikanten Unterschiede ersichtlich (siehe Abb. 3.14).

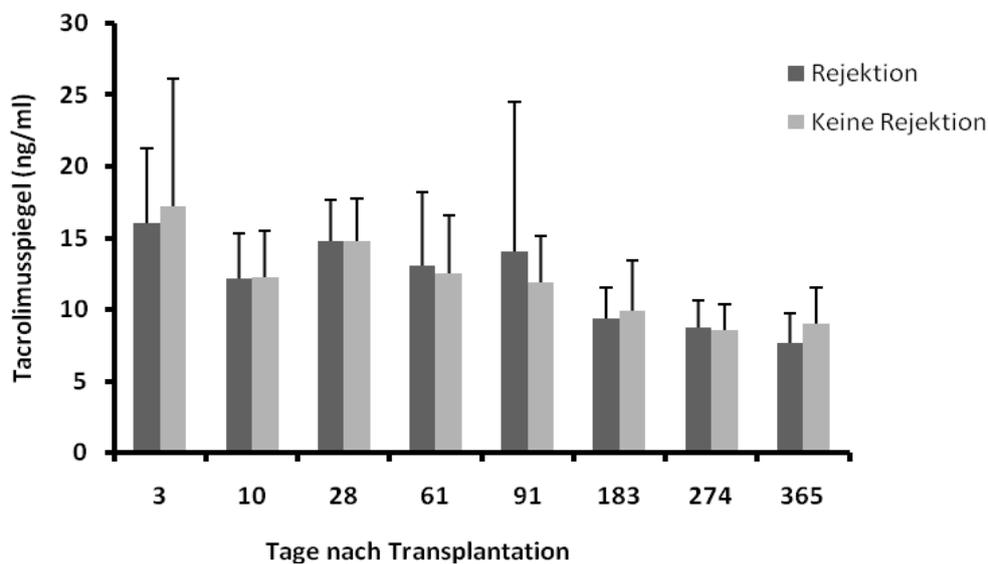


Abb.3.14: Vergleich der Tacrolimus-Spiegel zwischen Patienten, die eine Rejektionsbehandlung erhielten (n = 16) und Patienten ohne Rejektion (n = 40), p = n.s.

3.7 MPA-Dosis, AUC und Rejektion

Ein Vergleich der MPA-AUC-Werte von den Patienten, die eine Rejektion erlitten haben, mit den Patienten, die rejektionsfrei geblieben sind, erfolgte an den Tagen 3, 10 und 28. Zu beobachten war, dass die MPA-AUC-Werte der beobachteten Gruppen insgesamt sehr ähnlich waren. Am Tag 3 war die MPA-AUC der Patienten ohne Rejektion etwas höher und am Tag 28 die der Rejezierer. Ein statistisch signifikanter Unterschied wurde nicht festgestellt (Abb. 3.15). Als Rejektion wurden sämtliche behandelten Abstoßungen (also nicht nur die BPAR) betrachtet.

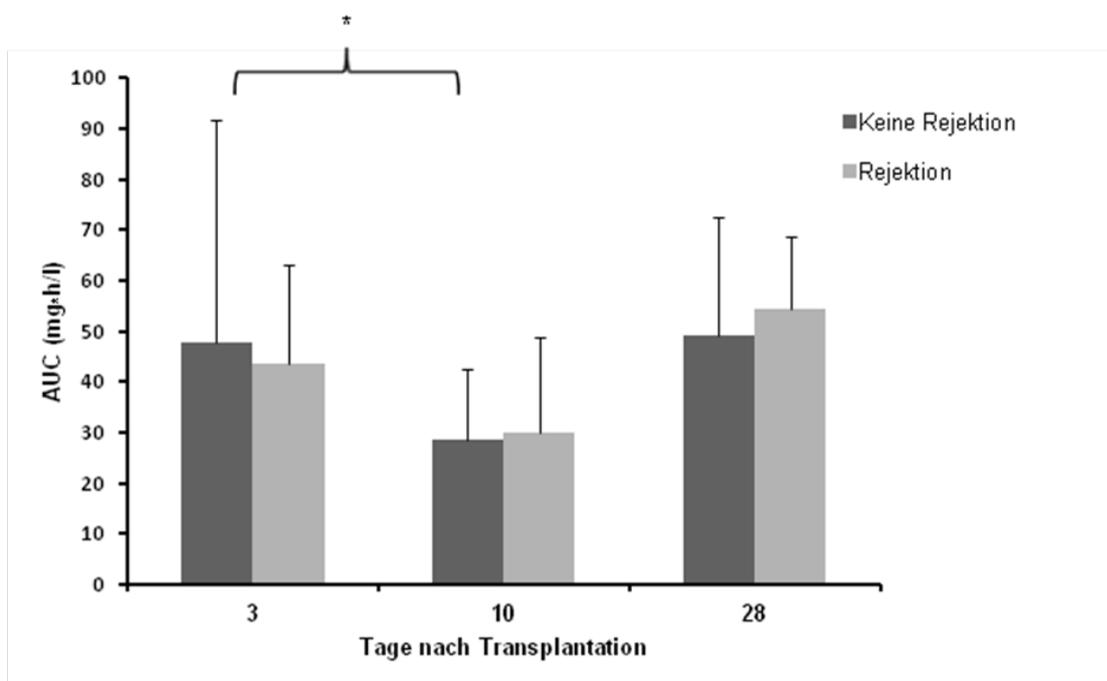


Abb. 3.15: MPA-AUC-Werte an Tag 3, 10 und 28 im Vergleich zwischen Patienten, die eine Rejektionsbehandlung erhielten (n = 13) und Patienten ohne Rejektion (n = 35), *p<0,05 Abfall der MPA-AUC von Tag 3 auf Tag 10 für Patienten ohne Rejektion

Es wurde die Wahrscheinlichkeit für das Auftreten einer akuten Rejektion in Abhängigkeit vom Erzielen der Ziel-AUC>30 mg·h/l an den Tagen 3 und 10 nach Transplantation untersucht (Tab. 3.9). Es fiel auf, dass die Patienten mit einer AUC<30 mg·h/l jeweils häufiger eine akute Rejektion erlitten, wenn die Unterschiede auch nicht statistisch signifikant waren (Tag 3 p = 0,23, Tag 10 p = 0,57).

	MPA-AUC<30 mg·h/l	MPA-AUC>30 mg·h/l
Tag 3		
Rejektion, n (%)	5 (41,7)	8 (23,5)
keine Rejektion, n (%)	7 (58,3)	26 (76,5)
Tag 10		
Rejektion, n (%)	10 (29,4)	3 (21,4)
keine Rejektion, n (%)	24 (70,6)	11 (78,6)

Tab. 3.9: Häufigkeit des Auftretens einer akuten Rejektion in Abhängigkeit vom Erzielen der Ziel-AUC>30 mg·h/l

3.8 Glomeruläre Filtrationsrate (GFR)

Die glomerulären Filtrationsraten (jeweils bestimmt nach der Cockcroft-Gault-Formel) der Patienten des CC-Arms waren zu sämtlichen Visiten höher als die der Patienten des FD-Arms (Abb. 3.16). Dieser Unterschied war ab Monat 3 besonders deutlich. Eine statistische Signifikanz bestand jedoch nur am Tag 183 nach Transplantation.

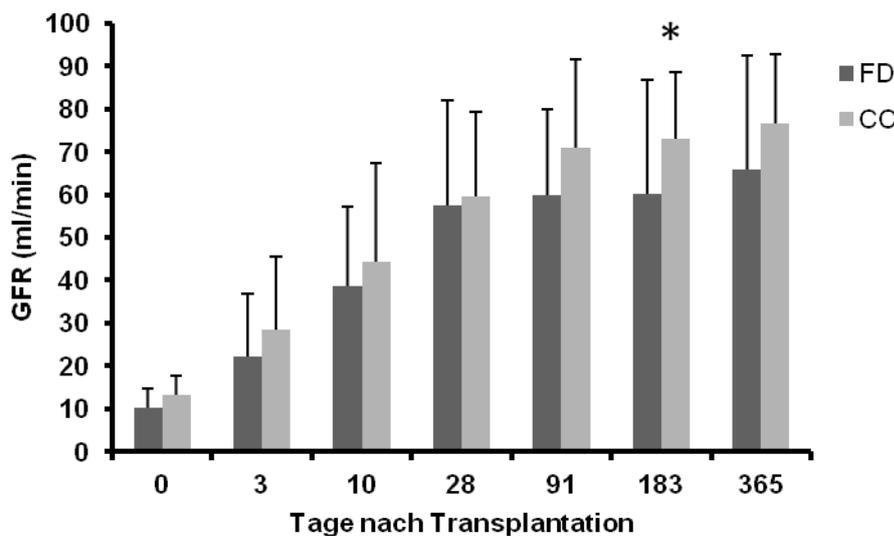


Abb. 3.16: Glomeruläre Filtrationsraten im Vergleich zwischen Patienten des FD- und CC-Arms, * $p < 0,05$ FD versus CC

3.9 Mononukleäre (MNC) IMPDH-Aktivität

In einer Subpopulation von 46 Patienten wurde die predose MNC-IMPDH-Aktivität zu verschiedenen Zeitpunkten nach Transplantation bestimmt. Bis auf Tag 10 nach Transplantation zeigte sich ein zeitabhängiger Abfall der IMPDH-Aktivitätswerte (Abb. 3.17). Am Tag 10 nach Transplantation wurden zudem auch die höchsten MNC-IMPDH-Aktivitätswerte des gesamten Beobachtungszeitraums ermittelt. Der Anstieg der IMPDH-Aktivität vom Tag 0 auf Tag 10 ist ebenso statistisch signifikant wie der Anstieg vom Tag 5 auf Tag 10.

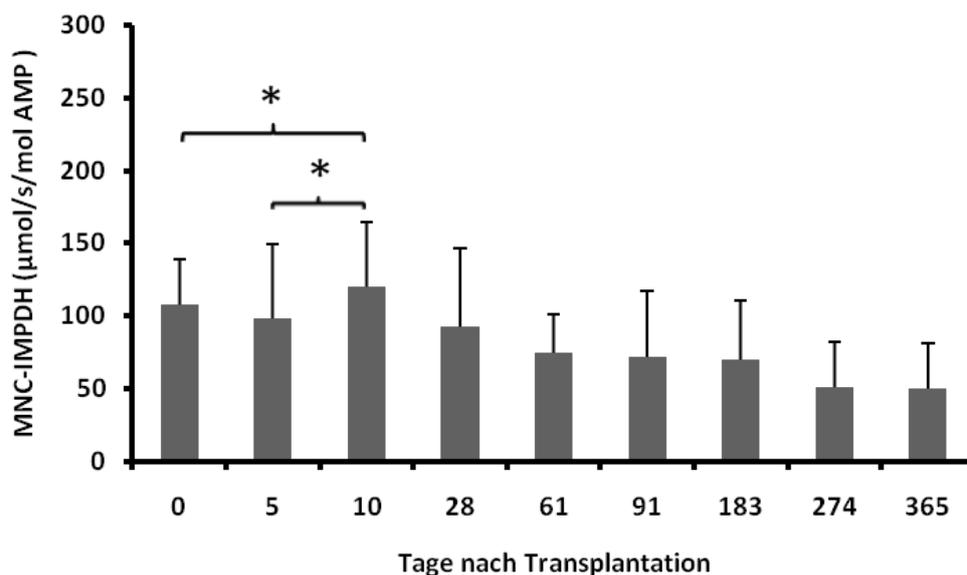


Abb. 3.17: Predose MNC-IMPDH-Aktivität aller Patienten (d0 n = 39, d5 n = 38, d10 n = 35, d28 n = 36, d61 n = 34, d91 n = 33, d183 n = 31, d274 n = 27, d365 n = 26), * p<0,05

3.9.1 Mononukleäre IMPDH-Aktivität und MPA-AUC

Um die Korrelation zwischen predose MNC-IMPDH-Aktivität und tatsächlicher MPA-Exposition zu untersuchen, wurde der jeweils ermittelten IMPDH-Aktivität der entsprechende MPA-AUC-Wert gegenübergestellt (Abb. 3.18). Bis Monat 3 konnte aufgezeigt werden, dass die MNC-IMPDH-Aktivitäten um so höher waren, je niedriger die entsprechende MPA-AUC gemessen wurde.

Lediglich in den Monaten 6 und 12 waren die IMPDH-Aktivitäten der Patienten mit einer AUC<30 mg·h/l und der Patienten, die sich im Zielbereich der MPA-AUC (30-60 mg·h/l) befanden, fast gleich.

An den Tagen 10, 91 und 365 waren die Unterschiede der MNC-IMPDH-Aktivität zwischen Patienten mit einer $AUC < 30 \text{ mg}\cdot\text{h/l}$ und einer $AUC > 60 \text{ mg}\cdot\text{h/l}$ statistisch signifikant.

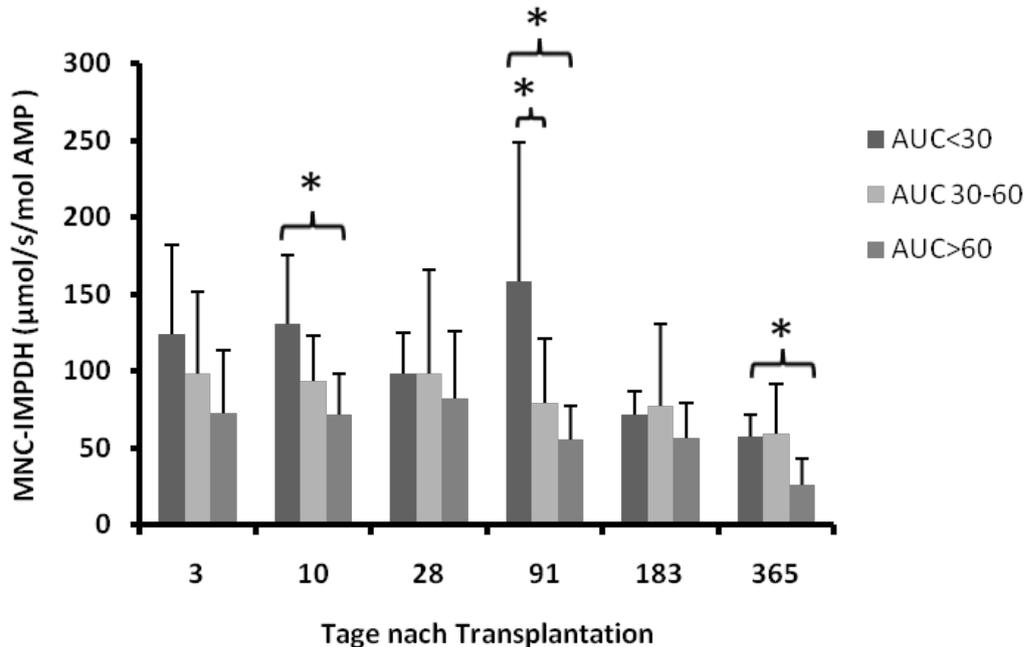


Abb. 3.18: Darstellung der predose MNC-IMPDH-Aktivität in Abhängigkeit von der MPA-AUC (d3 n = 30, d10 n = 32, d28 n = 31, d91 n = 26, d183 n = 23, d365 n = 20), * $p < 0,05$

3.9.2 Kumulative MMF-Dosis und mononukleäre IMPDH-Aktivität

Zusätzlich zu den Zusammenhängen zwischen der aktuellen MPA-Exposition (gemessen als MPA-AUC) und der IMPDH-Aktivität wurde der Einfluss der gesamten bis zur jeweiligen Visite eingenommenen MMF-Menge untersucht. Hierfür wurde für jede Visite die kumulative MMF-Dosis eines jeden einzelnen Patienten bestimmt. Bis auf den 10. postoperativen Tag wurden bei Patienten mit einer kumulativen MMF-Dosis oberhalb des Medians im ersten halben Jahr nach Transplantation niedrigere MNC-IMPDH-Aktivitäten bestimmt. In den folgenden 6 Monaten waren dann die MNC-IMPDH-Aktivitäten der Patienten mit einer kumulativen Dosis unterhalb des Medians niedriger (Abb. 3.19).

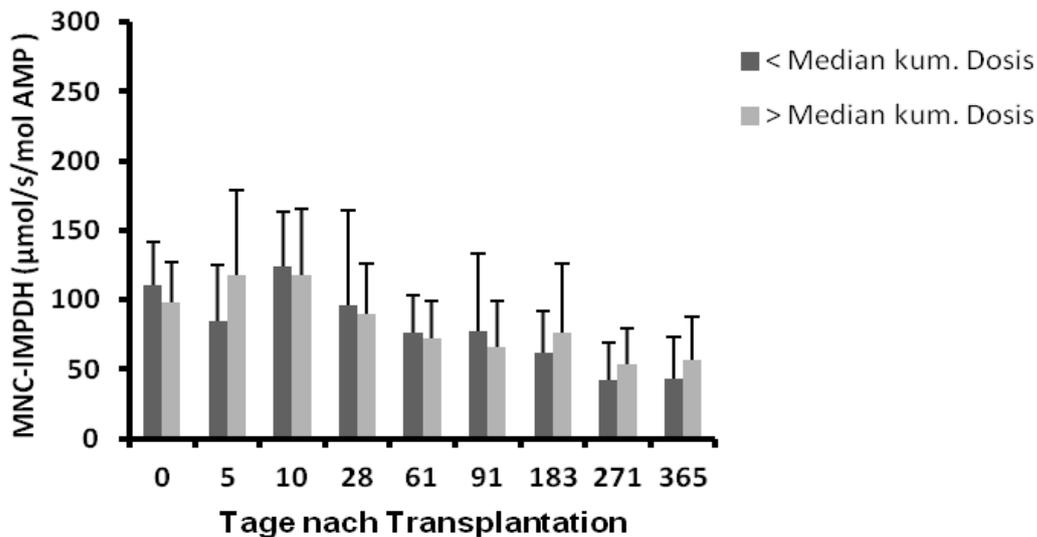


Abb. 3.19: MNC-IMPDH-Aktivitäten in Abhängigkeit von der kumulativen Dosis (Vergleich zwischen Patienten mit kum. Dosis kleiner bzw. größer als der Median), (d0 n = 39, d5 n = 38, d10 n = 35, d28 n = 36, d61 n = 34, d91 n = 33, d183 n = 31, d271 n = 27, d365 n = 26) , p = n.s.

3.10 Erythrozytäre IMPDH-Aktivität

In einer Subpopulation von 38 Patienten wurde die erythrozytäre IMPDH-Aktivität zu verschiedenen Zeitpunkten nach Transplantation bestimmt. Bis Monat 9 zeigte sich ein zeitabhängiger, z.T. hoch signifikanter Anstieg der erythrozytären IMPDH-Aktivität. Im Monat 12 kam es dann zu einem Abfall (Abb. 3.20).

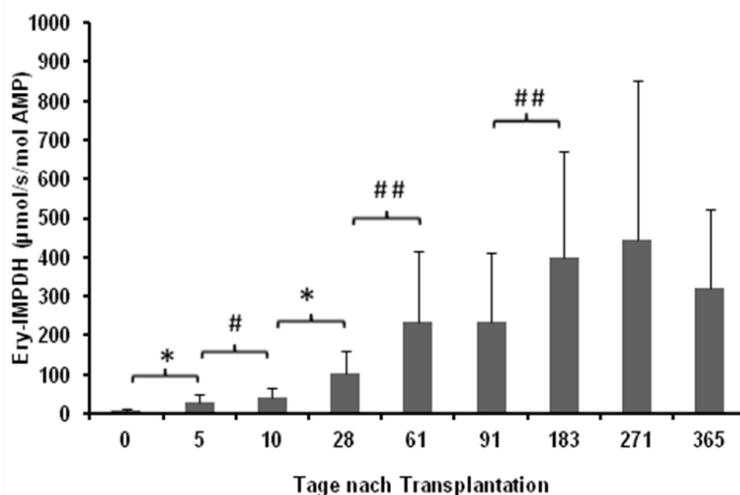


Abb. 3.20: Erythrozytäre IMPDH-Aktivitäten aller Patienten (d0 n = 38, d5 n = 34, d10 n = 35, d28 n = 31, d61 n = 29, d91 n = 29, d183 n = 29, d271 n = 24, d 365 n = 24) * p<0,0001, ## p<0,01, # p<0,05

3.10.1 Erythrozytäre IMPDH-Aktivität und MPA-AUC

Um die Korrelation zwischen der erythrozytären IMPDH-Aktivität und der tatsächlichen MPA-Exposition zu untersuchen, wurde der jeweils ermittelten erythrozytären IMPDH-Aktivität der entsprechende MPA-AUC-Wert gegenübergestellt (Abb. 3.21).

Bei einer AUC < 30 mg·h/l wurden bis auf Monat 3 stets die niedrigsten Werte für die erythrozytäre IMPDH-Aktivität ermittelt. Bei sehr hohen MPA-AUC-Werten (60-80 mg·h/l) fanden sich in Woche 4 und im Monat 6 jeweils die höchsten Werte.

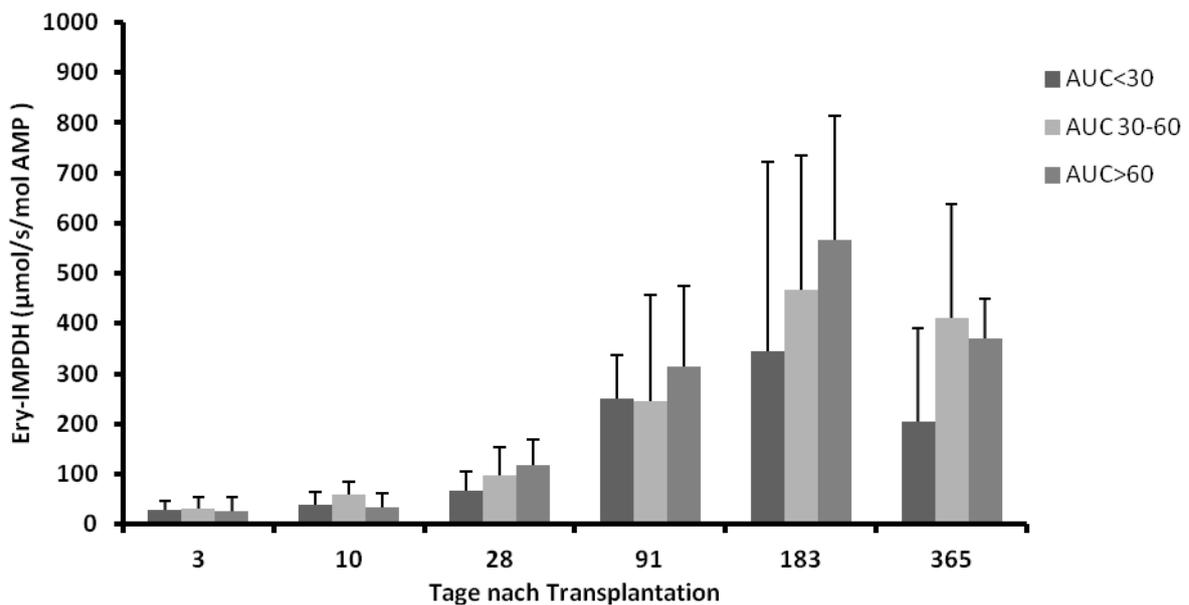


Abb. 3.21: Erythrozytäre IMPDH-Aktivität und MPA-AUC aller Patienten (d3 n = 27, d10 n = 32, d28 n = 26, d91 n = 23, d183 n = 22, d365 n = 19), p=n.s.

3.10.2 Kumulative Dosis und erythrozytäre IMPDH-Aktivität

Auch für die erythrozytäre IMPDH-Aktivität wurde der Einfluss der kumulativen MMF-Dosis untersucht. Bis einschließlich Monat 3 wurden bei Patienten mit einer kumulativen MMF-Dosis oberhalb des Medians höhere Werte für die erythrozytäre IMPDH-Aktivität bestimmt. Danach kehrte sich das Verhältnis (bis auf Monat 12 nach Transplantation) um (Abb. 3.22).

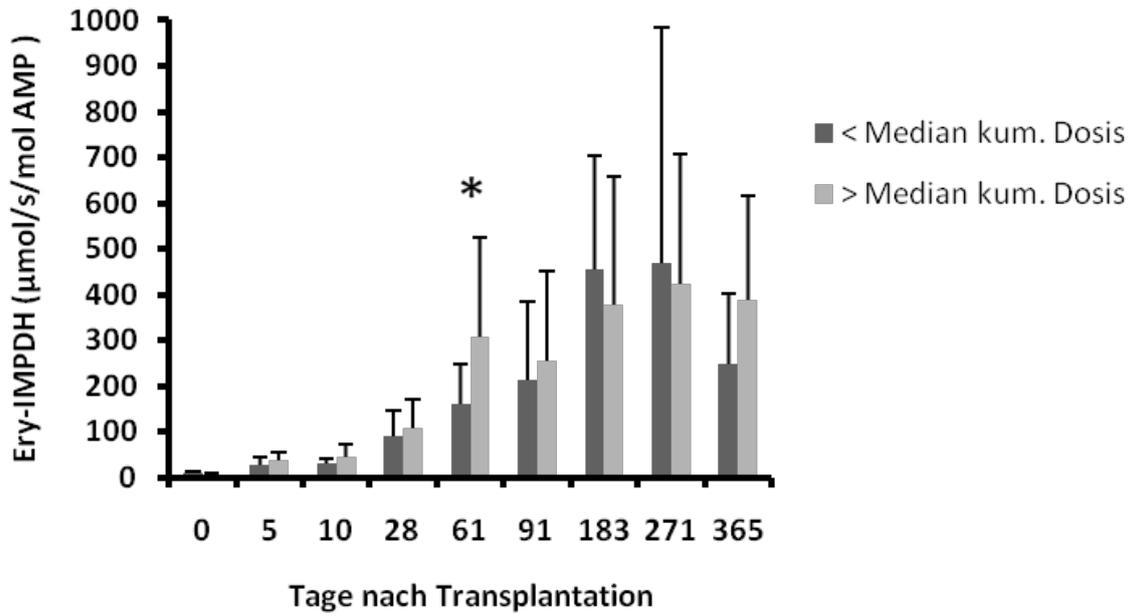


Abb. 3.22: Ery-IMPDPH-Aktivität in Abhängigkeit von der kumulativen Dosis (Vergleich zwischen Patienten mit kum. Dosis kleiner bzw. größer als der Median), (d0 n = 38, d5 n = 34, d10 n = 35, d28 n = 31, d61 n = 29, d91 n = 29, d183 n = 29, d271 n = 24, d365 n = 24), *p<0,05

4. Diskussion

4.1 TDM der Mycophenolsäure

Therapeutisches Drug Monitoring (TDM) wird zur Optimierung einer medikamentösen Therapie durchgeführt. Das Vorhandensein eines klinisch interpretierbaren Zusammenhangs von Medikamentenkonzentration und pharmakologischem Effekt, ein enger therapeutischer Bereich, eine hohe interindividuelle Variabilität der Medikamentenkonzentration, das Fehlen eines direkt bestimmbaren pharmakologischen Effekts und das Vorhandensein einer verlässlichen Analyseverfahren sind Kriterien, die das TDM eines Medikaments sinnvoll erscheinen lassen. Therapeutisches Drug Monitoring hat das Potential, die medikamentöse Therapie zu individualisieren und dabei die Effektivität zu optimieren (z.B. das Vermeiden akuter Rejektionen) und die Toxizität zu minimieren (18, 19).

Die Bestimmung von Medikamentenspiegeln (Talspiegel) ist zur Dosisfindung in der klinischen Praxis routinemäßig für Calcineurininhibitoren und mTOR-Inhibitoren - 2 Substanzklassen mit engem therapeutischen Bereich - etabliert. MMF gehört inzwischen weltweit zur standardmäßigen immunsuppressiven Therapie nach Organtransplantation, stellt jedoch einen Wirkstoff mit weitem therapeutischen Fenster dar.

Die hohe interindividuelle Variabilität der MPA-Pharmakokinetik, die über die Zeit ansteigende Medikamentenexposition und potentielle pharmakokinetische Medikamenteninteraktionen machen ein Therapeutisches Drug Monitoring von MPA trotz relativ großer therapeutischer Breite zur Verbesserung der Effektivität und Reduktion der Toxizität erstrebenswert. In mehreren Studien wurden Korrelationen zwischen MPA-Konzentrationen und Nebenwirkungen gefunden (39, 40).

Mit dieser Arbeit sollte der Nutzen und die Praktikabilität eines Therapeutischen Drug Monitorings für MMF untersucht werden. Die Beobachtungen erfolgten im Rahmen der großen multizentrischen FDCC-Studie. Mit insgesamt 56 Patienten stellte unser Transplantationszentrum einen großen Anteil des Patientenkollektivs. Im Folgenden werden die Ergebnisse dieser Patientenpopulation mit den Erkenntnissen der FDCC-Studie verglichen und zusätzlich untersuchte Zusammenhänge sowie der Einfluss lokaler Gegebenheiten diskutiert.

Zusätzlich zu den Messungen der Kurz-AUC (eine Methode pharmakokinetischen Monitorings) wurden im Rahmen einer Substudie erstmalig in einer Subpopulation auch die pharmakodynamischen Parameter der Mycophenolsäuretherapie kontinuierlich über das erste Jahr nach Transplantation gemessen und analysiert. Damit sollte der Stellenwert der Pharmakodynamik als möglicher ergänzender Parameter im Therapiemonitoring der MPA evaluiert werden.

4.2 MPA-AUC-Werte und Inzidenz von akuten Rejektionen

Van Gelder demonstrierte, dass das Ausmaß der MPA-Exposition (gemessen als MPA-AUC) mit dem Auftreten von akuten Rejektionen assoziiert ist (27). So sank die Inzidenz akuter Rejektionen mit steigender MPA-AUC von 27,5% (low target MPA-AUC) über 14,9% (intermediate target MPA-AUC) auf 11,5% (high target MPA-AUC). Basierend auf diesen und anderen Daten (35, 64) wurde für die ersten Monate nach Transplantation eine Ziel-AUC von 30-60 mg·h/l vorgeschlagen, wobei die obere Normgrenze aufgrund eines fehlenden zusätzlichen Nutzens höherer MMF-Dosen und nicht wegen zunehmender Toxizität gesetzt wurde (65).

Ziel der vorliegenden Studie war es, durch AUC-gesteuerte MMF-Dosisanpassungen häufiger den Zielbereich von 30-60 mg·h/l zu erreichen und damit das Auftreten von Therapieversagen (akute Rejektion, Transplantatverlust, Tod oder Unterbrechung der MMF-Therapie) zu reduzieren.

Insgesamt konnte (wie bei van Gelder (61)) kein signifikanter Unterschied der MPA-AUC-Werte zwischen den Patienten, die die Standard-Dosis MMF erhielten (FD) und den Patienten, deren MMF-Dosis AUC-gesteuert festgelegt wurde (CC), dokumentiert werden. Eine Besonderheit im Rahmen dieser Untersuchungen war jedoch, dass die AUC-Werte am Tag 10 nach Transplantation bei beiden beobachteten Patientengruppen zu mehr als 65% unterhalb von 30 mg·h/l lagen. Diese Beobachtung erscheint umso wichtiger, wenn man bedenkt, dass sämtliche Rejektionen (vermutete und durch Biopsie bewiesene) der Patienten während der ersten 20 Tage des gesamten Beobachtungszeitraums auftraten. Andere vorangegangene pharmakokinetische Studien hatten bereits gezeigt, dass durchschnittlich die Hälfte aller Transplantierten, die die MMF-Standarddosis in Kombination mit Cyclosporin A erhalten, in der frühen postoperativen Phase MPA-AUC-Werte unterhalb des therapeutischen Bereichs erzielten (27, 64).

Obwohl alle von unserem Zentrum eingeschlossenen Patienten Tacrolimus als Calcineurininhibitor erhielten, konnte eine ähnliche Beobachtung in dieser vulnerablen Phase bezüglich des Auftretens akuter Rejektionen gemacht werden. Selbst in den Monaten 6 und 12 nach Transplantation erreichten ca. 20% der Patienten des CC-Arms das therapeutische Fenster nicht. Sie erzielten eine $MPA-AUC < 30 \text{ mg}\cdot\text{h/l}$. Dies kann erklären, dass ein Effektivitätsunterschied nicht erreicht wurde und hinsichtlich des Erreichens eines primären Endpunktes kein signifikanter Unterschied erzielt wurde.

Wie in der FDCC-Studie belegt (61), konnte auch im Rahmen dieser Arbeit ein Trend hinsichtlich der frühen $MPA-AUC$ -Werte an Tag 3 und 10 nach Transplantation und der Inzidenz von akuten Rejektionen (durch Biopsie bewiesen) beobachtet werden. 41,7% der Patienten mit einer $MPA-AUC < 30 \text{ mg}\cdot\text{h/l}$ am Tag 3 nach Transplantation erlitten im Verlauf eine akute Rejektion; dagegen nur 23,5% der Patienten mit einer $MPA-AUC > 30 \text{ mg}\cdot\text{h/l}$. Aufgrund der geringen Fallzahlen war dieser Trend jedoch nicht statistisch signifikant. Für Tag 3 nach Transplantation war dieser Zusammenhang besonders deutlich. Untersuchungen nach Tag 10 unterblieben, da nach Tag 20 keine Rejektionen mehr diagnostiziert wurden und laut Protokoll erst am Tag 28 nach Transplantation wieder $MPA-AUC$ -Bestimmungen vorgesehen waren.

Da eine zu niedrige CNI-Exposition ebenfalls akute Rejektionen begünstigen kann, wurden sämtliche Tacrolimus-Spiegel des Beobachtungszeitraums verglichen. Hier wurden keine signifikanten Unterschiede auffällig. Am Tag 3 hatten zwar sowohl die Patienten der CC-Gruppe (Tacrolimus-Spiegel: 18,2 ng/ml) als auch die separat betrachtete Gruppe der Nicht-Rejezierer (Tacrolimus-Spiegel: 17,2 ng/ml) etwas höhere Spiegel; insgesamt wurden jedoch an Tag 3 durch alle beobachteten Gruppen (FD, CC, Rejezierer, Nicht-Rejezierer) durchschnittliche Tacrolimus-Spiegel oberhalb von 15 ng/ml erreicht (Ziel: 12-15 ng/ml), was einen relativen CNI-Mangel als Ursache für das Auftreten einer Abstoßung eher unwahrscheinlich macht und die Bedeutung einer ausreichenden MPA -Exposition unterstreicht.

Das Fehlen eines signifikanten Unterschieds zwischen den $MPA-AUC$ -Werten der Patienten des FD- und CC-Arms war ein unvorhersehbares Phänomen und bedingt letztlich das Scheitern dieser Studie und der FDCC-Studie insgesamt. Die Gründe hierfür sind vielschichtig und werden nachfolgend ausführlich diskutiert. Die Ergebnisse der Studie liefern jedoch trotz und gerade wegen des Scheiterns wertvolle Erkenntnisse für die zukünftige Optimierung der MPA -Therapie nach Nierentransplantation.

4.3 Verträglichkeit von MPA

Trotz seiner exzellenten Wirksamkeit ist die Therapie mit MMF mit einer hohen Inzidenz von gastrointestinalen, hämatologischen und anderen Nebenwirkungen assoziiert (4-6). In Phase-III-Studien mit MMF traten bei 12,7-37,3% der Patienten Diarrhoen auf (4-6). Auch Leukopenien wurden signifikant häufiger beobachtet: 11-35% der Patienten mit einer MMF-Medikation waren betroffen (4, 5). Diese Nebenwirkungen erzwingen häufig eine MMF-Dosisreduktion oder eine Unterbrechung der MMF-Gabe. Squifflet *et al.* berichteten, dass 53% der Patienten unter MMF- und Tacrolimustherapie eine MMF-Dosisreduktion aufgrund von Nebenwirkungen erfuhren (66). Bei 29,2% der Patienten musste laut Roth *et al.* (67) die MMF-Gabe vorübergehend wegen Leukopenien oder Diarrhoen unterbrochen werden. Pelletier *et al.* beschrieben MMF-Dosisreduktionen bei 70,3% aller Patienten im ersten Jahr nach Transplantation. Ursache hierfür waren Blutbildveränderungen, gastrointestinale Symptome und Infektionen (68). In einer anderen Studie wurden bei 31 Patienten 7 Episoden von schweren Anämien beobachtet (39). MMF-Dosisreduktionen führen zu subtherapeutischen Dosen und sind mit einem schlechteren klinischen Outcome verbunden (68, 69).

Im Rahmen des vorliegenden Studienprotokolls waren zum Erreichen der Ziel-AUC MMF-Dosiserhöhungen bis zu einer Tagesdosis von 5 g möglich. Die Standarddosis von 2 g MMF-Tagesdosis wurde insgesamt gut vertragen. Durchschnittlich dauerte es 125 Tage bis ein unerwünschtes Ereignis zu einer Dosisreduktion zwang. Auch höhere MMF-Dosen wurden für einen begrenzten Zeitraum gut toleriert. Von den durchschnittlich 4,5 MMF-Dosisänderungen bei Patienten des CC-Arms (während des gesamten Beobachtungszeitraums) erfolgte die Mehrheit (2,6) aufgrund von MPA-AUC-Messungen.

Hinsichtlich des Auftretens unerwünschter Ereignisse fand van Gelder (61) keine Unterschiede zwischen FD- und CC-Gruppe, was aufgrund nahezu gleicher MPA-AUC-Werte auch nicht zu erwarten war. Statistisch signifikante Unterschiede wurden bei den vorliegenden Beobachtungen auch kaum manifest. Es konnte jedoch bei den Patienten der FD-Gruppe häufiger eine Anämie als bei den Patienten der CC-Gruppe beobachtet werden (68,0% vs. 51,6%).

Die Patientenpopulation, die mittels Randomisierung dem FD- bzw. CC-Arm zugeordnet wurde, war insgesamt sehr homogen hinsichtlich demographischer Charakteristika etc. Auffallend war jedoch der höhere Anteil an Lebendspenden in der CC-Gruppe.

Eine langfristig geplante Nierentransplantation bringt dem Patienten viele Vorteile. Die prä- und perioperativen Bedingungen sind optimal und die kalten Ischämiezeiten deutlich kürzer. Outcome-Parameter wie die GFR werden ebenfalls positiv beeinflusst, da das Auftreten einer akuten Tubulusnekrose weniger wahrscheinlich ist. Die glomeruläre Filtrationsrate war bei den Patienten der CC-Gruppe über den Beobachtungszeitraum höher, wenn auch nicht statistisch signifikant (bis auf Tag 183 nach Transplantation, $p < 0,05$). Dies ist möglicherweise auch durch die bessere Qualität lebendgespender Nieren bedingt.

Wie bereits oben erwähnt, beeinflusst die GFR wiederum die Pharmakokinetik von MPA und hat unter anderem auch Auswirkungen auf die Erythropoese (70, 71). Die Wahrscheinlichkeit, eine Anämie zu entwickeln, sinkt mit zunehmender GFR. So ist das häufigere Auftreten von Anämien bei Patienten des FD-Arms unter anderem durch die etwas schlechtere glomeruläre Filtrationsrate erklärt.

Der Zusammenhang zwischen dem Ausmaß der MPA-Exposition und dem Auftreten einer Anämie wurde von van Besouw *et al.* beschrieben (72). Im Rahmen ihrer Studie beobachteten sie bei den Patienten, deren immunsuppressive Therapie von Ciclosporin auf Mycophenolatmofetil umgestellt wurde, einen signifikanten Abfall der Hämoglobinwerte. Außerdem konnten sie eine Korrelation zwischen dem MPA-Talspiegel und dem Ausmaß der Anämie feststellen.

Am Tag 28 nach Transplantation wurden in der vorliegenden Arbeit die größten Hb-Unterschiede dokumentiert. Anämische Patienten des FD-Arms hatten zu diesem Zeitpunkt signifikant höhere Hämoglobin-Werte und signifikant niedrigere MMF-Tagesdosen im Vergleich zu anämischen Patienten des CC-Arms.

Wenn man die Patienten unabhängig von ihrem Therapieregime (FD, CC) untersucht, stellt man fest, dass 4 Wochen nach Transplantation der Hb-Wert der Patienten mit einer MMF-Tagesdosis größer als 2 g im Vergleich zu den Patienten mit einer MMF-Standarddosis um einen ganzen Punkt niedriger ist ($p < 0,01$). Das Auftreten einer Anämie könnte somit ein dosislimitierender Faktor für eine intensivierete MPA-Therapie sein.

Berücksichtigt werden muss natürlich auch, dass eine Anämie aus diversen anderen Ursachen entstehen oder verschlimmert werden kann. Als Beispiele seien hier andere Medikamenteninteraktionen, Infektionen, primärer Eisenmangel oder Blutverluste im Rahmen von Operationen oder gastrintestinalen Blutungen genannt.

Es muss auch kritisch angemerkt werden, dass ein Hb-Wert von 11,3 g/dl als Grenze zur Diagnose einer Anämie (laut FDCC-Studienprotokoll) relativ hoch angesetzt wurde. Im klinischen Alltag werden durchaus Hb-Werte bis 10 g/dl toleriert. Eine Substitution mit Eisen oder Erythropoetin wird entsprechend auch nicht vorher eingeleitet. Transfusionen von Erythrozytenkonserven erfolgen in der Regel erst ab einem Hb-Wert unter 8 g/dl. Viele der Patienten, bei denen im Rahmen dieser Studie laut Protokoll eine Anämie diagnostiziert wurde, hatten nach unseren zentrumsspezifischen, klinischen Kriterien keine interventionsbedürftige Anämie.

Die Häufigkeit und Ausprägung anderer klassischer MMF-Nebenwirkungen, wie Leukopenie, Diarrhoe und Infektionen waren auf beide Patientenpopulationen gleich verteilt.

4.4 Praktikabilität und Grenzen des Therapeutischen Drug Monitorings

Viele retrospektive und prospektive Studien unterstützen die Hypothese, dass eine frühe hohe MPA-Exposition eine Voraussetzung für eine effektive Rejektionsprophylaxe ist (50, 61, 73-76). Der Gebrauch des Therapeutischen Drug Monitorings ist eine mögliche Strategie, um höhere MPA-Expositionen zu erreichen und das Outcome zu verbessern (50).

In der Pharmakologie findet die „area under the curve (AUC)“ zur Darstellung der Konzentration eines Pharmakons im Blut im Bezug zum zeitlichen Verlauf Verwendung. Die vollständige 12-h-AUC-Bestimmung der MMF-Dosis spiegelt die genaue Medikamentenexposition wieder.

Da 12-h-AUC-Messungen jedoch unpraktikabel sind und die MMF-Talspiegel allein nur unzureichend mit der tatsächlichen AUC übereinstimmen, muss ein Modell mit limitiertem Aufwand verwendet werden. Eine verkürzte 2-h-AUC-Messung (C_0 , $C_{0,5}$, C_2) zur Schätzung der tatsächlichen AUC bietet den besten Kompromiss zwischen einem theoretisch idealen und praktisch durchführbaren MMF-Dosis-Monitoring (46, 77). Die Durchführung von Kurz-AUC-Messungen ist im Gegensatz zu 12-h-AUC-Messungen zwar patientenfreundlicher, stellt jedoch immer noch hohe logistische Anforderungen an die Patienten und das Personal. Die Zeiten für die jeweiligen Blutentnahmen müssen streng eingehalten werden, um korrekte Werte für die MPA-AUC zu erhalten.

Im klinischen Alltag kann eine Blutentnahme verzögert werden, weil sich beispielsweise der Patient aufgrund unzureichender Transplantatfunktion an der Dialyse befindet. In der ersten Phase nach Transplantation werden täglich Ultraschalluntersuchungen der Transplantatniere veranlasst. Überschneidungen mit den Blutentnahmezeitpunkten sind dabei möglich. In einem Krankenhaus der Maximalversorgung mit einem hohen Anteil an schwerstkranken und pflegeintensiven Patienten ist auch eine Kapazitätsüberschreitung des blutabnehmenden Personals vorstellbar. Informationslücken an den Schnittstellen stellen eine Behinderung des TDM-Konzepts dar, wozu u.a. fehlende oder verspätet eingehende MPA-Spiegel gehören. An Wochenenden ist die AUC-Berechnung durch nicht eingewiesenes diensthabendes Personal zum Teil nicht möglich.

Neben der korrekten Bestimmung der MPA-AUC-Werte ist die zeitnahe Umsetzung der Dosisanpassung gemäß Protokoll für ein erfolgreiches TDM erforderlich. Es hat sich gezeigt, dass es vielen Ärzten schwerfällt, eine AUC-gesteuerte Dosisänderung zu akzeptieren, insbesondere dann, wenn durch Dosissteigerungen die Standardtagesdosis überschritten wurde. Bei sehr niedrig bestimmten AUC-Werten wurden sogenannte „Kontroll-AUC-Messungen“ angeordnet und damit MMF-Dosissteigerungen hinausgezögert.

Auch beim Auftreten von unerwünschten Nebenwirkungen wie z. B. Diarrhoen, die eventuell MMF-assoziiert sein könnten, wurde oft zu schnell und zu drastisch die Dosis reduziert. Eine Wiederanhebung nach Besserung des jeweiligen unerwünschten Ereignisses blieb dann zum Teil aus.

Gerade in der sensibelsten Phase nach Transplantation erfolgten im Rahmen der vorliegenden Untersuchungen und im Rahmen der gesamten FDCC-Studie die Dosisanpassungen nicht ausreichend hoch und schnell genug (61). Am 3. Tag nach Transplantation erfolgten MMF-Dosisanpassungen in nur 57,7% der Fälle protokollgerecht und am 10. Tag bei nur 64% der Patienten (32% hatten eine niedrigere MMF-Dosis als vom Protokoll vorgeschrieben). Bei den frühen Rejektionen ist das ein weiterer Grund für das Scheitern der Studie. Vom Studienprotokoll abweichende Dosierungen gingen im gesamten Beobachtungszeitraum überwiegend mit MMF-Unterdosierungen einher.

Die Pharmakokinetik von MMF ist durch eine hohe interindividuelle Variabilität gekennzeichnet, die von einer Reihe von Faktoren beeinflusst wird und die sich zumindest teilweise auch zeitabhängig intraindividuell verändern kann.

In der sensibelsten Phase bezüglich Effektivität (Vermeiden von Rejektionen) zeigt sich die höchste Dynamik hinsichtlich dosisunabhängiger Veränderungen der Pharmakokinetik von MPA. Am Tag 10 nach Transplantation wurden trotz gleichbleibender MMF-Dosis die niedrigsten MPA-AUC-Werte des gesamten Beobachtungszeitraums bestimmt. Hinzu kommt, dass eine Erhöhung der MMF-Dosis nicht zu einem proportionalen Anstieg der MPA-AUC führte. Ursächlich für diese fehlende Dosisproportionalität ist unter anderem der Einfluss der GFR und der Begleitmedikation (Inhibierung des enterohepatischen Kreislaufs der MPA) auf die MPA-AUC (78). Gerade in den ersten Tagen und Wochen nach Transplantation sind intra- und interindividuelle Veränderungen der GFR und der Begleitmedikation besonders ausgeprägt. Die MPA-AUC wird in diesem Zeitraum falsch geschätzt. Es gibt eine Fluktuation der MPA-Exposition über die Zeit. Lineare Zusammenhänge zwischen erwarteter und tatsächlicher MPA-AUC finden sich im hier untersuchten Patientenkollektiv angedeutet erst ab Monat 3 nach Transplantation, d.h. nach der sensibelsten Phase bezüglich der MMF-Effektivität.

In Anbetracht der guten Verträglichkeit von MPA und der Schwierigkeit zeitnaher und ausreichender MPA-AUC-gesteuerter Dosisescalation gerade in der Frühphase nach Transplantation scheint das Konzept der Optimize-Studie (73) eine gute Alternative für die zukünftige MPA-Therapie zu sein. In den ersten Wochen nach Transplantation sollte demnach eine intensiviertere MPA-Dosierung angestrebt werden (ohne Kinetikbestimmungen). Die individuelle Dosisreduktion kann dann gegebenenfalls im weiteren Verlauf in Abhängigkeit von MPA-AUC-Messungen erfolgen.

4.5 Pharmakodynamisches Monitoring

4.5.1 Mononukleäre IMPDH-Aktivität

Pharmakokinetische Messungen können die unterschiedliche Aufnahme, Metabolisierung und Verteilung von MMF nachweisen. Um Aussagen über das individuelle biologische Ansprechen von MMF machen zu können, sind zusätzlich pharmakodynamische Untersuchungen erforderlich. Die immunsuppressive Aktivität von MMF basiert auf der reversiblen Hemmung von IMPDH. Eine Bestimmung der IMPDH kann als Effektmessung der MMF-Therapie dienen. Glander *et al.* (59) etablierten eine Methode der IMPDH-Messung in peripheren mononukleären Zellen.

Sie stellten eine hohe interindividuelle Variabilität der IMPDH-Aktivität dar. Diese Variabilität könnte den pharmakodynamischen Unterschieden MMF-behandelter Patienten Rechnung tragen und als Grundstein pharmakodynamischen Monitorings bei der Entwicklung besserer MMF-Dosisstrategien helfen.

Im Rahmen der vorliegenden Untersuchungen wurde Pionierarbeit geleistet, da erstmals im Rahmen einer klinischen Studie mit prospektivem Ansatz longitudinal über ein Jahr die IMPDH-Aktivitäten bestimmt wurden. Es konnte die Routinefähigkeit der Methode mit begrenztem Probenaufkommen (Ein-Punktbestimmung) bewiesen werden. Ähnlich wie in einer vorangegangenen Studie konnte bei den Patienten während des Beobachtungszeitraums ein kontinuierlicher Abfall der MNC-IMPDH-Aktivität demonstriert werden (79). Lediglich am 10. postoperativen Tag kam es zu einem kurzfristigen, statistisch signifikanten Anstieg. Dies entsprach gleichzeitig dem Maximum der während des gesamten Beobachtungszeitraums erreichten IMPDH-Aktivität und reichte sogar über das Ausgangsniveau hinaus (präoperativ). Der Zusammenhang zwischen Pharmakokinetik und Pharmakodynamik wurde analysiert, indem die MNC-IMPDH-Aktivitäten den MPA-AUC-Bestimmungen gegenübergestellt wurden. Hier konnte ein eindeutiger Trend postuliert werden. Zu sämtlichen Visiten waren jeweils den höheren MPA-AUC-Werten niedrigere IMPDH-Aktivitäten zuzuordnen. Interessanterweise waren die MPA-AUC-Werte am Tag 10 die niedrigsten des gesamten Beobachtungszeitraums und korrelierten mit der hohen MNC-IMPDH-Aktivität an diesem Tag. Der Unterschied der IMPDH-Aktivitäten zwischen Patienten mit einer $MPA-AUC < 30$ und > 60 mg·h/l war hier sogar statistisch signifikant. Die Bestimmung der MNC-IMPDH-Aktivität scheint ein guter pharmakodynamischer Parameter für das biologische Ansprechen einer MMF-Therapie zu sein. Aufgrund der hohen interindividuellen Variabilität ist das Festlegen eines festen Normbereichs für die IMPDH-Aktivität jedoch nicht sinnvoll. Vielmehr scheint der individuelle Verlauf Bedeutung für prognostische Aussagen und Dosisanpassungen zu haben. Zudem könnten wertvolle Hinweise für die Patientencompliance gewonnen werden, da die MNC-IMPDH-Aktivität mit der aktuellen MPA-Exposition korreliert und für den IST-Zustand steht. Aussagen über einen langfristigen Therapieeffekt können jedoch nicht gemacht werden (nach Reduktion von MMF oder „drug holiday“ kam es zu einem schnellen Anstieg der Werte). Deshalb ist es erforderlich, einen anderen pharmakodynamischen Parameter zu finden, der in der Lage ist, Langzeiteffekte widerzuspiegeln.

4.5.2 Erythrozytäre IMPDH-Aktivität

Die Bestimmung der aus Erythrozyten isolierten IMPDH-Aktivität könnte ein solcher Parameter sein. Yasuaki Mino veröffentlichte die erste Studie, die die MPA-Dosisabhängigkeit gezeigt hat (80). In der vorliegenden Arbeit konnte ein ähnlicher Effekt demonstriert werden. Nach Transplantation kam es während des Beobachtungszeitraums zu einem kontinuierlichen, fast durchgehend statistisch signifikanten Anstieg der erythrozytären IMPDH-Aktivität bis Monat 9. Der leichte Abfall bis Monat 12 ist durch einen Sättigungseffekt zu erklären. Bis Monat 3 scheint es einen gewissen Zusammenhang zwischen kumulativer Dosis und erythrozytärer IMPDH-Aktivität zu geben. Dass sich in den folgenden Monaten dieser Zusammenhang nicht mehr darstellt, könnte damit erklärt werden, dass im Rahmen der Untersuchungen in den letzten Monaten des Beobachtungszeitraums weniger Daten zur Auswertung zur Verfügung standen. Außerdem war in den ersten 3 Monaten nach Transplantation der MMF-Dosisunterschied höher und der Effekt auf die erythrozytäre IMPDH-Aktivität somit besser sichtbar.

Während die MNC-IMPDH-Aktivität Aussagen zum aktuellen MPA-Dosis-Effekt ermöglicht und durch Dosisänderungen kurzfristige Veränderungen erfährt, könnte die erythrozytäre IMPDH-Aktivität möglicherweise die Langzeitwirkung von MPA widerspiegeln. Die Erythropoese beginnt mit der Reifung von Retikulozyten. Werden diese einer bestimmten MPA-Menge ausgesetzt, wird deren intrazelluläre IMPDH gehemmt. Dieser Prozess ist irreversibel und damit während der gesamten Erythrozytenlebenszeit meßbar. Mit zunehmender Menge MPA wird die IMPDH von mehr Erythrozyten gehemmt. Mögliche Fehlerquellen in der Interpretation von Erythrozytären IMPDH-Aktivitäten werden somit auch offensichtlich. Nach Nierentransplantation kommt es aufgrund perioperativer Blutverluste, infektiöser oder medikamententoxischer Komplikationen zu therapiebedürftigen Anämien. Falls der Patient Transfusionen von Erythrozytenkonzentraten erhält, kommt es natürlich zur Verfälschung der Ergebnisse, da die transfundierten Erythrozyten keinen Kontakt zu MPA hatten und eine falsch-niedrige Aktivität bestimmt wird. Unklar ist bisher ebenfalls, inwieweit die Zellpopulation (Retikulozytenanteil, Anteil von Leukozyten und Thrombozyten) oder die Gabe von Erythropoetin Auswirkungen auf die Messungen hat. Die Stabilität der erythrozytären IMPDH in Abhängigkeit von der Lagerung wurde bisher nicht untersucht. Im Gegensatz dazu ist z.B. die MNC-IMPDH-Bestimmung inzwischen voll validiert (62).

Zusammenfassend muss konstatiert werden, dass derzeit noch eine große analytische Unsicherheit bei der Bestimmung der erythrozytären IMPDH-Aktivität besteht. Die Optimierung der Analytik steht zukünftig im Vordergrund.

Trotz der noch unausgereiften analytischen Verfahren, erkennt man einen gewissen Zusammenhang der Ery-IMPDH-Aktivitäten. Sie sind möglicherweise ein Maß für die Exposition über die Zeit (gewissermaßen der HbA1c der MPA-Exposition). Diese These müsste jedoch in weiteren Studien überprüft werden.

5. Zusammenfassung

Die Mycophenolsäure gehört zur standardmäßigen immunsuppressiven Therapie nach Nierentransplantation. Es ist erwiesen, dass der Einsatz von Mycophenolsäure die Inzidenz von akuten Rejektionen signifikant senkt, was seine große Bedeutung in der Transplantationsmedizin widerspiegelt.

Mit dieser Arbeit sollte überprüft werden, ob durch Therapeutisches Drug Monitoring der Mycophenolsäure das klinische Outcome verbessert werden kann. Dafür wurde ein festes MMF-Dosisregime mit einem konzentrationskontrollierten Regime bei de novo Nierentransplantierten verglichen. Zusätzlich zu diesen pharmakokinetischen Untersuchungen wurde im Rahmen einer Substudie die Bedeutung der IMPDH-Aktivität für das Monitoring der MPA-Pharmakodynamik untersucht.

Studien belegen, dass eine signifikante Korrelation zwischen niedrigen MPA-Plasmakonzentrationen und der Wahrscheinlichkeit für das Auftreten akuter Rejektionen nach Nierentransplantation besteht. Prospektive Studien zur Überprüfung der Eignung von Dosisregimen für eine Therapie mit MMF sind bisher kaum erfolgt. Die offizielle Empfehlung ist derzeit eine tägliche Gabe von 2 g MMF.

Die Untersuchungen erfolgten im Rahmen einer offenen, randomisierten, kontrollierten, multizentrischen Parallel-Gruppenstudie (FDCC-Studie). Unser Studienzentrum randomisierte insgesamt 56 Patienten, wobei 31 Patienten dem CC-Arm und 25 Patienten dem FD-Arm zugeordnet wurden. Insgesamt konnte wie bei van Gelder (61) kein signifikanter Unterschied der MPA-AUC-Werte zwischen den Patienten des FD- bzw. CC-Arms festgestellt werden und ein Effektivitätsunterschied war somit nicht erreichbar. In der Praxis nicht ausreichend hoch und schnell genug erfolgte MMF-Dosisanpassungen und die fehlende MPA-Dosisproportionalität waren zwei wichtige Gründe dafür. Eine wichtige Erkenntnis der vorliegenden Untersuchungen war jedoch, dass die MPA-AUC-Werte an Tag 10 nach Transplantation bei beiden beobachteten Patientengruppen zu mehr als 65% unterhalb von 30 mg·h/l lagen. Insgesamt wurden am Tag 10 nach Transplantation die niedrigsten MPA-AUC-Werte des gesamten Beobachtungszeitraums bestimmt. Diese Beobachtung erscheint umso wichtiger, wenn man bedenkt, dass sämtliche akuten Rejektionen während der ersten 20 postoperativen Tage auftraten. Wie in der FDCC-Studie (61) wurde auch in der vorliegenden Arbeit ein

Trend hinsichtlich der frühen MPA-AUC-Werte an Tag 3 und 10 nach Transplantation und der Inzidenz von akuten Rejektionen (durch Biopsie bewiesen) beobachtet. Patienten mit einer MPA-AUC < 30 mg·h/l erlitten häufiger eine Abstoßungsreaktion als Patienten mit einer MPA-AUC im Zielbereich - auch wenn aufgrund der geringen Fallzahlen das Ergebnis nicht statistisch signifikant war.

In Anbetracht der guten Verträglichkeit von MPA, der fehlenden Dosisproportionalität und der Schwierigkeit einer zeitnahen und ausreichenden MPA-AUC-gesteuerten Dosisescalation gerade in der Frühphase nach Transplantation, erscheint das Konzept der Optimize-Studie (73) eine gute Alternative für die zukünftige MPA-Therapie zu sein. Das bedeutet, eine intensiviertere MPA-Dosierung in den ersten Wochen nach Transplantation (ohne Kinetikbestimmungen) anzustreben und dann im Verlauf gegebenenfalls eine individuelle Dosisreduktion nach jeweiliger MPA-AUC zu beginnen.

Die zusätzlichen pharmakodynamischen Untersuchungen ergaben, dass die Bestimmung der mononukleären IMPDH-Aktivität ein guter pharmakodynamischer Parameter für das biologische Ansprechen einer MMF-Therapie zu sein scheint. Während des Beobachtungszeitraums konnte ein kontinuierliches Abfallen der mononukleären IMPDH-Aktivität beobachtet werden (bis auf Tag 10). Außerdem konnte eine Korrelation mit den gleichzeitig ermittelten MPA-AUC-Werten dargestellt werden. Hohen MPA-AUC-Werten konnten niedrigere MNC IMPDH-Aktivitäten zugeordnet werden (die niedrigste AUC korrelierte mit der höchsten IMPDH-Aktivität an Tag 10). Der individuelle Verlauf der MNC-IMPDH-Aktivität scheint Bedeutung für prognostische Aussagen und Dosisanpassungen zu haben. Aufgrund der Korrelation mit der aktuellen MPA-Exposition könnten zusätzlich wertvolle Hinweise für die Patientencompliance gewonnen werden.

Die vorliegenden Untersuchungen liefern Hinweise dafür, dass die erythrozytäre IMPDH-Aktivität möglicherweise ein Maß für die MPA-Exposition über die Zeit zu sein scheint. Diese These müßte jedoch in weiteren Studien überprüft und die Analytik der erythrozytären IMPDH-Aktivität optimiert und standardisiert werden.

6. Literaturverzeichnis

1. Eurotransplant International Foundation (ET), Annual Report 2011.
2. Deutsche Stiftung für Organtransplantation, Statistik 2011.
3. Türk TR, Witzke O, Zeier M. KDIGO-Leitlinien zur Betreuung von Nierentransplantatempfängern. *Nephrologe* 2010;5:94-107.
4. European Mycophenolat Mofetil Cooperative Study Group. Placebo-controlled study of mycophenolate mofetil combined with cyclosporin and corticosteroids for prevention of acute rejection. *Lancet* 1995;345(8961):1321-5.
5. The Tricontinental Mycophenolate Mofetil Renal Transplantation Study Group. A blinded, randomized clinical trial of mycophenolate mofetil for the prevention of acute rejection in cadaveric renal transplantation. *Transplantation* 1996;15;61(7):1029-37.
6. Sollinger HW. Mycophenolate mofetil for the prevention of acute rejection in primary cadaveric renal allograft recipients. U.S. Renal Transplant Mycophenolate Mofetil Study Group. *Transplantation* 1995;15;60(3):225-32.
7. Shapiro R, Jordan ML, Scantlebury VL, *et al.* A prospective randomised trial of tacrolimus/prednisone versus tacrolimus/prednisone/mycophenolate mofetil in renal transplantation recipients. *Transplantation* 1999;67:411-6.
8. Bunchman T, Navarro M, Broyer M, *et al.* The use of mycophenolate mofetil suspension in pediatric renal allograft recipients. *Pediatric Nephrol* 2001;16(12):978-84.
9. Ekberg H, Tedesco-Silva H, Demirbas A, *et al.* Reduced Exposure to Calcineurin Inhibitors in Renal Transplantation. *N Engl J Med* 2007;357:2562-75.

10. Roskopf D, Siegmund W, Kroemer HK. Therapiehandbuch: A1 Arzneimitteltherapie. Elsevier Urban&Fischer. 2008:A1-2.
11. Shipkova M, Armstrong VW, Wieland E, *et al.* Identification of glucoside and carboxy-linked glucuronide conjugates of mycophenolic acid in plasma of transplant recipients treated with mycophenolate mofetil. *Br J Pharmacol.* 1999; 126(5):1075-82.
12. Land WG. Immunsuppressive Therapie: IMPDH-hemmende immunsuppressive Medikamente (Band 3). Georg Thieme Verlag. 2004:65-122.
13. Kuypers DR. Influence of interactions between immunosuppressive drugs on therapeutic drug monitoring. *Ann Transplant.* 2008;13(3):11-8.
14. Smak Gregoor PJH, van Gelder T, Hesse CJ, van der Mast BJ, van Besouw NM, Weimar W. Mycophenolic acid plasma concentrations in kidney allograft recipients with or without cyclosporin: a cross-sectional study. *Nephrol Dial Transplant.* 1999;14(3):706–8.
15. Smak Gregoor PJH, de Sévaux RG, Hené RJ, *et al.* Effect of cyclosporine on mycophenolic acid trough levels in kidney transplant recipients. *Transplantation* 1999;68:1603-6.
16. Pou L, Brunet M, Cantarell C, *et al.* Mycophenolic acid plasma concentrations: influence of comedication. *Ther Drug Monit* 2001;23: 35–8.
17. Zucker K, Rosen A, Tsaroucha A *et al.* Augmentation of mycophenolate mofetil pharmacokinetics in renal transplant patients receiving Prograf and CellCept in combination therapy. *Transplant Proc* 1997;29:334–6.
18. Lindholm A, Säwe J. Pharmacokinetics and Therapeutic drug monitoring in immunosuppressants. *Ther Drug Monit* 1995;17:570-3.

19. Johnston A, Holt DW. Immunosuppressant drugs-the role of therapeutic drug monitoring. *Brit J Clin Pharmacol*. 2001;52:61-73.
20. Mahalati K, Kahan BD. Advancing the art of immunosuppression with the science of pharmacology. *Curr Opin Organ Transplant*. 2000;5(3):255-62.
21. Armstrong VW, Oellerich M. New developments in the immunosuppressive drug monitoring of cyclosporine, tacrolimus and azathioprine. *Clin Biochem*. 2001; 34:9-16.
22. Kahan BD, Keown P, Levy GA, Johnston A. Therapeutic drug monitoring of immunosuppressant drugs in clinical practice. *Clin Ther*. 2002;24:330-50.
23. Holt DW, Marsden JT, Johnston A, Bewick M, Taube DH. Blood cyclosporine concentrations and renal allograft dysfunction. *Br Med J*. 1986;293:1057-9.
24. Van Gelder T, Smak Gregoor PJH, Weimar W. Therapeutic drug monitoring in solid organ transplant recipients. *Curr Opin Organ Transplant*. 2000;5:330-5.
25. Ensom MH, Davis GA, Cropp CD, Ensom RJ. Clinical pharmacokinetics in the 21st century. Does the evidence support definitive outcomes? *Clin Pharmacokinet*. 1998;34(4):265-79.
26. Shaw LM, Kaplan B, Brayman KL. Prospective investigations of concentration-clinical response for immunosuppressive drugs provide the scientific basis for therapeutic drug monitoring. *Clin Chem*. 1998;44:381-7.
27. Van Gelder T, Hilbrands LB, Vanrenterghem Y, *et al*. A randomized double blind, multicenter plasma concentration study of the safety and efficacy of oral mycophenolate mofetil for the prevention of acute rejection after kidney transplantation. *Transplantation* 1999;68(2):261-6.

28. Hale MD, Nicholls AJ, Bullingham RE, *et al.* The pharmacokinetic-pharmacodynamic relationship for mycophenolate mofetil in renal transplantation. *Clin Pharmacol Ther.* 1998;64:672–83.
29. Shaw LM, Holt DW, Oellerich M, Meiser B, van Gelder T. Current issues in therapeutic drug monitoring of mycophenolic acid: Report of roundtable discussion. *Ther Drug Monit.* 2001;23(4):305–15.
30. Shaw LM, Korecka M, Venkataramanan R, Goldberg L, Bloom R, Brayman KL. Mycophenolic acid pharmacodynamics and pharmacokinetics provide basis for rational monitoring strategies. *Am J Transplant.* 2003;3(5):534–42.
31. Shaw LM, Korecka M, Aradhye S, *et al.* Mycophenolic acid area under the curve values in African American and Caucasian renal transplant patients are comparable. *Clin Pharmacol.* 2000;40:624–33.
32. Van Hest RM, van Gelder T, Vulto AG, Mathot RA. Population pharmacokinetics of mycophenolic acid in renal transplant recipients. *Clin Pharmacokinet.* 2005;44:1083–96.
33. Hale MD, Nicholls AJ, Bullingham RES, *et al.* The pharmacokinetic-pharmacodynamic relationship for mycophenolate mofetil in renal transplantation. *Clin Pharmacol Ther.* 1998;64(6):672-83.
34. Oellerich M, Shipkova M, Schütz E, *et al.* Pharmacokinetic and metabolic investigations of mycophenolic acid in paediatric patients after renal transplantation: implications for therapeutic drug monitoring. German Study Group on Mycophenolate Mofetil Therapy in Paediatric Renal Transplant Recipients. *Ther Drug Monit.* 2000;22(1):20-6.
35. Weber LT, Shipkova M, Armstrong VW, *et al.* 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.* 2002;13(3):759-68.

36. DeNofrio D, Loh E, Kao A, *et al.* Mycophenolic acid concentrations are associated with cardiac allograft rejection. *J Heart Lung Transplant.* 2000;19(11):1071-6.
37. Yamani MH, Starling RC, Goormastic M, *et al.* The impact of routine mycophenolate mofetil drug monitoring on the treatment of cardiac allograft rejection. *Transplantation* 2000;69(11):2326-30.
38. Meiser BM, Pfeiffer M, Schmidt D, *et al.* Combination therapy with tacrolimus and mycophenolate mofetil following cardiac transplantation: importance of mycophenolic acid therapeutic drug monitoring. *J Heart Lung Transplant.* 1999;18:143-9.
39. Mourad M, Malaise J, Chaib Eddour D, *et al.* Correlation of mycophenolic acid pharmacokinetic parameters with side effects in kidney transplant patients treated with mycophenolate mofetil. *Clin Chem.* 2001;47(1):88-94.
40. Hübner GI, Eismann R, Sziegoleit W. Relationship between mycophenolate mofetil side effects and mycophenolic acid plasma trough levels in renal transplant patients. *Arzneimittelforschung* 2000;50(10):936-40.
41. Shaw LM, Kaplan B, De Nofrio D, Korecka M, Brayman KL. Pharmacokinetics and concentration-control investigations of mycophenolic acid in adults after transplantation. *Ther Drug Monit,* 2000;22(1):14-9.
42. Shaw LM, Nicholls A, Hale M, *et al.* Therapeutic monitoring of mycophenolic acid. A consensus panel report. *Clin Biochem.* 1998;31(5):317-22.
43. Shaw LM, Holt DW, Keown P, Venkataramanan R, Yatscoff RW. Current opinions on therapeutic drug monitoring of immunosuppressive drugs. *Clin Ther.* 1999; 21 (10):1632-52.

44. Van Hest RM, Mathot RA, Vulto AG, Ljzermans JN, van Gelder T. Within-patient variability of mycophenolic acid exposure: therapeutic drug monitoring from a clinical point of view. *Ther Drug Monit.* 2006;28(1):31-4.
45. Pape L, Ehrich JH, Offner G. Long-term follow-up of pediatric transplant recipients: mycophenolic acid trough levels are not a good indicator for long-term graft function. *Clin Transplant.* 2004;18(5):576-9.
46. Kuypers DR, Claes K, Evenepoel P, *et al.* Long-term changes in mycophenolic acid exposure in combination with tacrolimus and corticosteroids are dose dependent and not reflected by trough plasma concentration: a prospective study in 100 de novo renal allograft recipients. *J Clin Pharmacol.* 2003;43(8):866-80.
47. Willis C, Taylor P, Salm P, Tett SE, Pillans PI. Evaluation of limited sampling strategies for estimation of 1-hour mycophenolic acid area under the plasma concentration-time curve in adult renal transplant patients. *Ther Drug Monit.* 2000;22(5):549-54.
48. Le Guellec C, Büchler M, Giraudeau B, *et al.* Simultaneous estimation of cyclosporin and mycophenolic acid areas under the curve in stable renal transplant patients using a limited sampling strategy. *Eur J Clin Pharmacol.* 2002;57(11):805-11.
49. Shaw LM, Pawinski T, Korecka M, Nawrocki A. Monitoring of mycophenolic acid in clinical transplantation. *Ther Drug Monit.* 2002;24(1):68-73.
50. Le Meur Y, Büchler M, Thierry A, *et al.* Individualized mycophenolate mofetil dosing based on drug exposure significantly improves patient outcomes after renal transplantation. *Am J Transplant.* 2007;7(11):2496-503.
51. Byrne R, Yost SE, Kaplan B. Mycophenolate mofetil monitoring: is there evidence that it can improve outcomes? *Clin Pharmacol Ther.* 2011;90(2):204-6.

52. Gaston RS, Kaplan B, Shah T, *et al.* Fixed-or controlled-dose mycophenolate mofetil with standard-or reduced-dose calcineurin inhibitors: the Opticept trial. *Am J Transplant.* 2009; 9(7):1607-19
53. T. van Gelder . Therapeutic drug monitoring for mycophenolic acid value for (little) money. *Clin Pharmacol Ther.* 2011;90(2):203-4.
54. Nowak J, Shaw LM. Mycophenolic acid binding to human serum albumin: characterization and relation to pharmacodynamics. *Clin Chem* 1995;41:1011-17.
55. Holt DW, Armstrong VW, Griesmacher A, Morris RG, Napoli KL, Shaw LM. International federation of clinical chemistry/ international association of therapeutic drug monitoring and clinical toxicology working group on immunosuppressive drug monitoring. *Ther Drug Monit.* 2002;24:59-67.
56. Allison AC, Eugui EM. Purine metabolism and immunosuppressive effects of mycophenolate mofetil (MMF). *Clin Transplant.* 1996;10:77-84.
57. Allison AC, Eugui EM. Mechanisms of action of mycophenolate mofetil in preventing acute and chronic allograft rejection. *Transplantation* 2005;80:181-90.
58. Walter Gottlieb Land. *Immunsuppressive Therapie*, 2006 Georg Thieme Verlag
59. Budde K, Glander P, Bauer S, *et al.* Pharmacodynamic monitoring of mycophenolate mofetil. *Clin Chem Lab Med.* 2000;38(11):1213-6.
60. Weimert NA, Derotte M, Alloway RR, Woodle ES, Vinks AA. Monitoring of inosine monophosphate dehydrogenase activity as a biomarker for mycophenolic acid effect: potential clinical implications. *Ther Drug Monit.* 2007;29(2):141-9.
61. Van Gelder T, Silva HT, de Fijter JW, *et al.* Comparing mycophenolate mofetil regimens for de novo renal transplant recipients: the fixed-dose concentration-controlled trial. *Transplantation* 2008;86(8):1043–51.

62. Glander P, Sombogaard F, Budde K, *et al.* Improved assay for the nonradioactive determination of inosine 5'-monophosphate dehydrogenase activity in peripheral blood mononuclear cells. *Ther Drug Monit.* 2009;31(3):351-9.
63. Glander P, Braun KP, Hambach P, *et al.* Non-radioactive determination of inosine 5'-monophosphate dehydrogenase (IMPDH) in peripheral mononuclear cells. *Clin Biochem.* 2001;34(7):543-9.
64. Kiberd BA, Lawen J, Fraser AD, Keough-Ryan T, Belitsky P. Early adequate mycophenolic acid exposure is associated with less rejection in kidney transplantation. *Am J Transplant.* 2004;4:1079–83.
65. Van Gelder T, Le Meur Y, Shaw LM, *et al.* Therapeutic drug monitoring of mycophenolate mofetil in transplantation. *Ther Drug Monit.* 2006;28(2):145–54.
66. Squifflet JP, Bäckman L, Claesson K, *et al.* Dose optimization of mycophenolate mofetil when administered with a low dose of tacrolimus in cadaveric renal transplant recipients. *Transplantation* 2001;72(1):63-9.
67. Roth D, Colona J, Burke GW, Ciancio G, Esquenazi V, Miller J. Primary immunosuppression with tacrolimus and mycophenolate mofetil for renal allograft recipients. *Transplantation* 1998;65:248-52.
68. Pelletier RP, Akin B, Henry ML, *et al.* The impact of mycophenolate mofetil dosing patterns on clinical outcome after renal transplantation. *Clin Transplant.* 2003;17: 200-5.
69. Knoll GA, MacDonald I, Khan A, van Walraven C. Mycophenolate mofetil dose reduction and the risk of acute rejection after renal transplantation. *J Am Soc Nephrol.* 2003;14:2381-6.
70. Shah N, Al-Khoury S, Afzali B, *et al.* Posttransplantation anemia in adult renal allograft recipients: prevalence and predictors. *Transplantation* 2006;81:1112-8.

71. Grzegorzewska AE. Administration of iron-containing drugs in non-dialyzed patients with chronic kidney disease. *Pol Arch Med Wewn.* 2007;117(4):52-7.
72. Van Besouw NM, van der Mast BJ, Smak Gregoor PF, *et al.* Effect of mycophenolate mofetil on erythropoiesis in stable renal transplant patients is correlated with mycophenolic acid trough levels. *Nephrol Dial Transplant.* 1999; 14(11):2710-3.
73. Budde K, Arns W, Glander P, *et al.* Intensified dosing regimen of EC-MPS leads to higher MPA-AUC early post-transplant in de novo renal transplant patients. *Transpl Int.* 2007;20:131.
74. Knight SR, Morris PJ. Does the evidence support the use of mycophenolate mofetil therapeutic drug monitoring in clinical practice? A systematic review. *Transplantation* 2008;85:1675–85.
75. Jeong H, Kaplan B. Therapeutic monitoring of mycophenolate mofetil. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2007;2:184–91.
76. Staatz CE, Tett SE. Clinical pharmacokinetics and pharmacodynamics of mycophenolate in solid organ transplant recipients. *Clin Pharmacokinet.* 2007;46: 13–58.
77. Weber LT, Hoecker B, Armstrong VW, Oellerich M, Tönshoff B. Validation of an abbreviated pharmacokinetic profile for the estimation of mycophenolic acid exposure in pediatric renal transplant recipients. *Ther Drug Monit.* 2006;28:623-31.
78. Van Hest RM, Mathot RA, Pescovitz MD, *et al.* Explaining variability in mycophenolic acid exposure to optimize mycophenolate mofetil dosing: a population pharmacokinetic meta-analysis of mycophenolic acid in renal transplant recipients. *J Am Soc Nephrol.* 2006;17:871-80.

79. Glander P, Hambach P, Braun KP, *et al.* Effect of mycophenolate mofetil on IMP dehydrogenase after first dose and after long-term treatment in real transplant recipients. *Int J Clin Pharmacol Ther.* 2003;41(10):470-6.
80. Mino Y, Naito T, Otsuka A, Ozono S, Kagawa Y, Kawakami J. Inosine monophosphate dehydrogenase activity depends on plasma concentrations of mycophenolic acid and its glucuronides in kidney transplant recipients. *Clin Chim Acta.* 2009;409:56-61.

7. Abkürzungsverzeichnis

AUC	Area Under the Curve
AE	Adverse Event
Banff	Klassifikation der akuten Abstoßung
BMI	Body Mass Index
BPAR	Biopsy Proven Acute Rejection
C ₀	Blutspiegelkonzentration vor Medikamenteneinnahme
C _{0,5}	Blutspiegelkonzentration 0,5 h nach Medikamenteneinnahme
C ₂	Blutspiegelkonzentration 2 h nach Medikamenteneinnahme
CC	Concentration Controlled
CNI	Calcineurininhibitor
d	Tag
Ery	Erythrozyten / erythrozytäre
FD	Fixed Dose
FDCC	Fixed Dose versus Concentration Controlled
fMPA	freier Anteil von Mycophenolsäure
GFR	Glomeruläre Filtrationsrate
Hb	Hämoglobin
IMPDH	Inosinmonophosphat-Dehydrogenase
KIZ	Kalte Ischämiezeit
Konz.	Konzentration
kum.	Kumulativ
Li	Lithium
MMF	Mycophenolatmofetil

MPA	Mycophenolsäure
MPAG	MPA-Glucuronid
mTOR	mammalian Target of Rapamycin
n	Anzahl
NTx	Nierentransplantation
Pat.	Patient/Patienten
PBS	Dulbecco's Phosphate buffered saline
PRA	Panel Reactive Antibodies
SAE	Serious Adverse Event
SD	Standardabweichung
Stud.-Abbruch	Studienabbruch
TDM	Therapeutisches Drug Monitoring
Tx	Transplantation
vs.	versus

8. Eidesstattliche Versicherung

„Ich, Denise Markmann, versichere an Eides statt durch meine eigenhändige Unterschrift, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema: „Untersuchungen zur Pharmakokinetik und Pharmakodynamik von Mycophenolatmofetil im ersten Jahr nach Nierentransplantation“ selbstständig und ohne nicht offengelegte Hilfe Dritter verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel genutzt habe.

Alle Stellen, die wörtlich oder dem Sinne nach auf Publikationen oder Vorträgen anderer Autoren beruhen, sind als solche in korrekter Zitierung (siehe „Uniform Requirements for Manuscripts (URM)“ des ICMJE -www.icmje.org) kenntlich gemacht. Die Abschnitte zu Methodik (insbesondere praktische Arbeiten, Laborbestimmungen, statistische Aufarbeitung) und Resultaten (insbesondere Abbildungen, Graphiken und Tabellen) entsprechen den URM (s.o) und werden von mir verantwortet.

Die Bedeutung dieser eidesstattlichen Versicherung und die strafrechtlichen Folgen einer unwahren eidesstattlichen Versicherung (§156,161 des Strafgesetzbuches) sind mir bekannt und bewusst.“

Datum

Unterschrift

9. Lebenslauf

„Mein Lebenslauf wird aus datenschutzrechtlichen Gründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht veröffentlicht.“

„Mein Lebenslauf wird aus datenschutzrechtlichen Gründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht veröffentlicht.“

10. Publikationsliste

Bräsen JH, Nieminen-Kelhä M, Markmann D, et al. Lectin-like oxidized low-density lipoprotein (LDL) receptor (LOX-1)-mediated pathway and vascular oxidative injury in older-age rat renal transplants. *Kidney Int.* 2005;67(4):1583-94.

11. Danksagung

An dieser Stelle möchte ich allen danken, die zum Gelingen der Arbeit beigetragen haben.

Herrn Professor Dr. Klemens Budde für die Überlassung des Themas meiner Doktorarbeit und die umfassende, sehr gute und zügige Betreuung.

Frau Dr. Petra Glander für Ihre unermüdliche Unterstützung und Hilfe bei der Planung, Durchführung und Auswertung dieser Arbeit. Ohne sie wäre diese Dissertation nicht möglich gewesen.

Herrn Professor Dr. Hans-H. Neumayer für die Bereitstellung der wissenschaftlichen Freiräume und Ressourcen.

Den Mitarbeiterinnen und Mitarbeitern des Nephrologischen Forschungslabors für Ihre Kooperation und Unterstützung.

Herrn Dr. Klaus Trommler für die rasche Durchsicht des Manuskripts und seine wertvollen Ratschläge.

Frau Dr. Daniela Klonower, Herrn Michael Steinborn und Herrn Jörg Spötter für die hilfreichen Korrekturen.

Meinen Eltern danke ich für die Ermöglichung meines Studiums und der Promotion.

Meiner lieben Omi, Ester Spötter, danke ich für die moralische Unterstützung. Ihr ist diese Arbeit gewidmet.