

Aus dem Institut/der Klinik für Klinische Pharmakologie
der Medizinischen Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

Untersuchungen zur Pharmakokinetik und Toxizitätsprofil von
Bendamustin an Patienten mit eingeschränkter Leberfunktion

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

vorgelegt der Medizinischen Fakultät
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Susanne Preiß

aus Berlin

Gutachter/in: 1. .Prof. Dr.med. I.Roots.....
2. .Prof. Dr.Dr. W.Kirch.....
3. Prof.Dr.med.Dr.S.M.Bode-Böger

Datum der Promotion: 04.02.2011

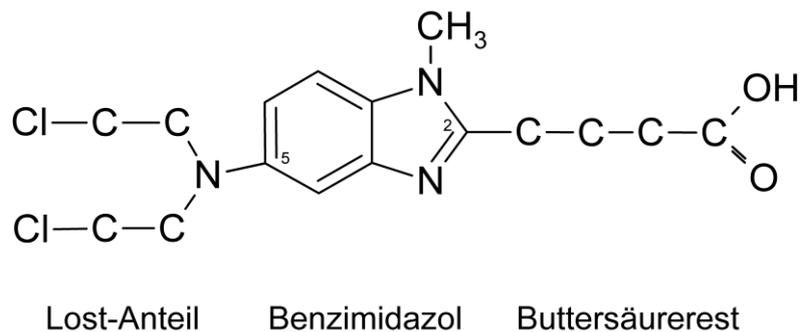
Inhaltsverzeichnis

	Seite
Inhaltsverzeichnis	3
1. Einleitung	5
2. Studienziel	18
3. Material und Methoden	20
3.1. Patientenauswahl	20
3.1.1. Allgemeine Einschlusskriterien	20
3.1.2. Spezifische Einschlusskriterien	20
3.1.2.1. Patienten mit normaler Leberfunktion (Kontrollgruppe)	20
3.1.2.2. Patienten mit hepatozellulärem Karzinom (HCC) und eingeschränkter Leberfunktion	21
3.1.3. Ausschlusskriterien	22
3.2. Prüfmedikation Bendamustin	23
3.2.1. Darreichungsform	23
3.2.2. Dosierung und Applikation von Bendamustin	23
3.3. Erhebung der Pharmakokinetik von Bendamustin und seinen Metaboliten	24
3.3.1. Probengewinnung	24
3.3.2. Probenvorbereitung	25
3.3.3. Analyseverfahren	25
3.3.4. Methodvalidierung	25
3.4. Erfassung des Verträglichkeitsprofils von Bendamustin	26
3.5. Berechnung pharmakokinetischer Parameter	27
3.6. Statistische Analyse und Ergebnispräsentation	28
4. Ergebnisse	29
4.1. Patientencharakteristik	29
4.1.1. Patienten mit normaler Leberfunktion (Kontrollgruppe)	29
4.1.2. Patienten mit hepatozellulärem Karzinom und eingeschränkter Leberfunktion (HCC-Gruppe)	33
4.1.3. Vergleich zwischen Patienten der Kontrollgruppe und	

	Patienten mit hepatozellulärem Karzinom	38
4.2.	Pharmakokinetik von Bendamustin und seinen Metaboliten	38
4.2.1.	Bendamustin	42
4.2.2.	γ -Hydroxy-bendamustin	45
4.2.3.	N-Desmethyl-bendamustin	48
4.2.4.	Monohydroxy-bendamustin	51
4.3.	Verträglichkeit von Bendamustin	54
4.3.1.	Klinisches Toxizitätsprofil	54
4.3.2.	Paraklinisches Toxizitätsprofil	58
4.3.2.1.	Verhalten von ASAT, ALAT, γ -GT und Gesamtbilirubin	59
4.3.2.2.	Verhalten von PTT und Quick	66
4.3.2.3.	Verhalten von Kreatinin	67
4.3.2.4.	Verhalten der hämatologischen Parameter Hämoglobin, Leukozyten, neutrophilen Granulozyten, Lymphozyten und Thrombozyten	68
4.3.3.	Vergleich der klinischen Reaktionen und der hämatologischen Parameter zwischen beiden Patientengruppen	79
5.	Diskussion	82
6.	Zusammenfassung und Schlußfolgerungen	105
7.	Literaturverzeichnis	109
	Anhang	116

1. Einleitung

Bendamustin wurde erstmals Anfang der 60iger Jahre als IMET 3393 am Institut für Mikrobiologie und experimentelle Therapie in Jena durch Ozegowski und Krebs (1971) im Rahmen der Synthese von Benzimidazol-Lost-Verbindungen synthetisiert. Es stellt chemisch das γ -[1-Methyl-5-bis-(β -chloräthyl)-amino-benzimidazolyl-(2)]buttersäurehydrochlorid dar, das an der C5-Position des Benzimidazolgrundkörpers eine alkylierende bis-Chlorethylamin-Gruppe und an der C2-Position einen Buttersäurerest besitzt.



Neben der zu erwartenden zytostatischen Aktivität durch den alkylierenden Lost- Charakter der Substanz propagierten Ozegowski und Krebs eine zusätzliche purin- und aminosäurenantagonistische tumorhemmende Wirkung der Verbindung aufgrund der strukturellen Nähe des Benzimidazolgrundgerüsts zu Purinstrukturen.

In ersten tierexperimentellen Untersuchungen an 3 transplantablen Mäusetumoren (Ehrlich-Aszites-Karzinom, solides Sarkom 180 und Leukämie LAJI) bewirkte IMET 3393, das in der damaligen DDR als Handelspräparat Cytostasan[®] geführt wurde, eine gegenüber Cyclophosphamid vergleichbare Tumorhemmung, wobei die Wirkung gegenüber der Leukämie LAJI besonders stark ausgeprägt war (Schnabel et al. 1967). Zeitgleich erschienen erste klinische Erfahrungsberichte zu Bendamustin (Cytostasan[®]), die gute therapeutische Erfolge bei der chronischen Lymphadenose, Lymphoretikulose und -granulomatose und vor allem beim Plasmozytom belegten, während solide Neubildungen keine sichere Rückbildungstendenz aufwiesen (Anger et al. 1968, Anger et al. 1969, Anger et al. 1975).

Der Wirkungsmechanismus von Bendamustin erscheint bis gegenwärtig nicht ausreichend geklärt. Entsprechend seiner Grundstruktur als N-Lost-Derivat kann sicher von einer für alkylierende Zytostatika charakteristischen, über die Bildung von sogenannten Aziridinum-Ionen verlaufenden Alkylierung der DNA ausgegangen werden. Die Bildung von cross-links zwischen DNA-Basen (DNA-Interstrang-/ Quervernetzung) hat die Hemmung der DNA-

Replikation und damit der Transkription zur Folge. Die Bildung entsprechender DNA-cross-links ist für Bendamustin zweifelsfrei gezeigt worden (Strumberg et al. 1996). Andererseits konnten Strumberg und Mitarbeiter (1996) an Ovarialkarzinom- und Brustzellkarzinomzelllinien auch zeigen, dass unter Bendamustin mehr und länger anhaltende Doppelstrangbrüche auftraten als unter Melphalan, Cyclophosphamid oder BCNU, und Bendamustin keine komplette Kreuzresistenz zu diesen Alkylantien aufwies. Unter Nutzung des in-vitro antitumor-screen-Systems des National-Cancer-Institute der USA konnten Leoni und Mitarbeiter (2008) an einer breiten Palette humaner Tumorzelllinien zeigen, dass die wachstumshemmende Wirkung der Alkylantien Melphalan, Chlorambucil und Cyclophosphamid-phosphoramidmustard streng untereinander, jedoch nicht mit Bendamustin korrelierten. Die Arbeitsgruppe konnte zudem an Cyclophosphamid-resistenten Non-Hodgkin-Zelllinien eine wachstumshemmende Wirkung von Bendamustin nachweisen. Leoni und Mitarbeiter (2008) diskutierten auf der Basis ihrer Ergebnisse eine, von der alkylierenden Aktivität unabhängig bestehende, zusätzlich tumorstatische Wirkkomponente von Bendamustin und sehen diese, wie vorab rein hypothetisch durch Konstantinov und Mitarbeiter (2002) und Schwänen und Mitarbeiter (2002) vertreten, als purinantagonistische, antimetabolische Komponente aufgrund der zentralen Benzimidazol-Struktur. Gegenwärtig kann diese für Zytostatika bislang einmalige Sonderstellung der Wirkentfaltung von Bendamustin aber als noch nicht ausreichend belegt angesehen werden. Die Arbeitsgruppe von Keating und Kirpatrick (2008) resümiert diesbezüglich in ihrem Kurz-Review zu Bendamustin im „Nature Reviews“ in 2008, dass dieser Hybrid-Charakter von Bendamustin noch nicht validiert ist.

Bendamustin weist eine ausgewiesene Wirksamkeit bei lymphoproliferativen Erkrankungen bei insgesamt mäßiggradiger Toxizität auf. Es besitzt in Deutschland die Zulassung zur Therapie der chronisch lymphatischen Leukämie (CLL), zur Primärtherapie fortgeschrittener indolenter Non-Hodgkin-Lymphome in Kombination und zur Therapie des fortgeschrittenen Multiplen Myeloms im Stadium II oder III nach Durie und Salmon in Kombination mit Prednison (Fachinformation zu Ribomustin, April 2009). In den USA wurde Bendamustin unter dem Handelsnamen Treanda durch den Entscheid der Food and Drug Administration (FDA) im März 2008 für die Initialtherapie der CLL und im Oktober 2008 für die Therapie des indolenten Non-Hodgkin-Lymphom (NHL) vom B-Zell-Typ mit Therapieversagen von Rituximab oder eines Rituximab enthaltenen Therapieregimes zugelassen (Leong und Bonk, 2009; Knauf 2009).

Für die CLL gilt als Zulassungsstudie in beiden Fällen die randomisierte, im Vergleich zu Chlorambucil geführte, Phase III Studie von Knauf (2009) an nicht vortherafierten Patienten mit CLL. Knauf (2009) hat 306 vorher unbehandelte CLL- Patienten vom B- Zell- Typ im Stadium B/C nach Binet einer randomisierten Therapie mit intravenöser Gabe von je 100 mg/m² Bendamustin an Tagen 1 und 2 bzw. einer oralen Gabe von 0,8 mg/kg Chlorambucil an Tagen 1 und 15 im jeweils 4- wöchigen Rhythmus zugeführt. Die Behandlung wurde bis maximal 6 Zyklen geführt. In den Bewertungskriterien overall response, komplette Remission, mediane Dauer der Remission und medianes progressionsfreies Überleben zeigte hierbei Bendamustin (68%, 30%, 18,9 Monate, 21,7 Monate) bessere Resultate als Chlorambucil (39%, 2%, 6,1 Monate, 9,3 Monate). In Analyse der Ergebnisse der Studie von Knauf (2009) berichten jedoch Maddocks und Lin (2009) und Kalaycio (2009) von einer stärkeren Hämatotoxizität, speziell einer stärker ausgeprägten Neutropenie unter der Therapie mit Bendamustin.

Niedrig maligne Non-Hodgkin-Lymphome weisen in ihrem unbehandelten wie auch relapsierten Zustand ein sehr gutes therapeutisches Ansprechen auf die alleinige wie auch kombinierte Gabe von Bendamustin auf (siehe auch Übersicht von Cheson und Rummel, 2009). Unter alleiniger Gabe von Bendamustin zu Dosen von 120 mg/m² an Tagen 1 und 2 alle 3 Wochen werden in Phase-II-Studien bei Patienten, mit gegenüber Chemotherapeutika- (Heider und Niederle, 2001) bzw. Rituximab- refraktären niedrig malignen Non-Hodgkin-Lymphomen (Friedberg et al. 2008; Kahl et al. 2007), overall Response-Raten zwischen 73 und 84% gefunden. Der randomisierte Vergleich von BOP (Bendamustin, Oncovin, Prednison) gegenüber COP (Cyclophosphamid, Oncovin, Prednison) an 164 therapienaiven Patienten mit fortgeschrittenen indolenten Non- Hodgkin- Lymphomen und Mantelzelllymphom zeigte zwar keine Unterschiede in der overall Response und im Überleben, jedoch wiesen Responder der Therapie in der BOP-Gruppe eine längere Zeit bis zur Progression auf und zeigten BOP-Patienten eine geringer ausgeprägte Leukopenie und Alopezie (Herold et al. 2006).

In zwei Studien der kombinierten Gabe von Bendamustin plus Rituximab an 63 bzw. 66 Patienten mit therapierefraktären indolenten Non-Hodgkin-Lymphomen, mit einer Beteiligung von Patienten mit Mantelzelllymphom zu 25 bzw. 18%, wurden unter der Gabe von je 90 mg/m² Bendamustin an den ersten beiden Tagen und von 375 mg/m² Rituximab am 1. Tag eines jeweils 28 tägigen Zyklus sehr beachtenswerte Raten der overall response zu 90 bzw. 92% und komplette Remissionen zu 60 bzw. 55% ermittelt (Rummel et al. 2005;

Robinson et al. 2008). Die primäre Toxizität waren Grad 3 und 4 Reaktionen der Leukopenie bzw. Neutropenie zu 16 bzw. 36%.

In der Therapie des multiplen Myeloms belegen ältere kontrollierte Studien unter einer täglich niedrig dosierten Gabe von Bendamustin bei nichtvorbehandeltem multiplen Myelom eine gegenüber Cyclophosphamid (33 Patienten, täglich 25 mg Bendamustin über 14 Tage) bzw. Melphalan/Prednisolon (83 Patienten, täglich 50 mg/m² Bendamustin plus 100 mg Prednisolon über Tage 1-5 alle 28 Tage) nicht unterschiedliche Wirksamkeit mit jeweiligen overall response Raten von 60-70% (Anger et al. 1975; Blumenstengel et al. 1998). In den Untersuchungen von Blumenstengel et al. (1998) wiesen auch 6 von 12 von Melphalan/Prednisolon auf Bendamustin/Prednisolon gewitchte Patienten Remissionen auf, welches ein Anzeichen für die offenbar nicht bestehende Kreuzresistenz zwischen Bendamustin und Melphalan unter diesen Therapiebedingungen darstellt.

Im Rahmen einer randomisierten Phase III- Studie werden 2006 durch die Arbeitsgruppe von Pönisch et al. erstmals umfangreiche Daten zur vergleichenden Wirksamkeit von Bendamustin gegenüber Melphalan beim multiplen Myelom vorgelegt. An 131 nicht vorbehandelten Patienten mit multiplen Myelom im Stadium II und III nach Durie und Salmon waren unter der Therapie mit Bendamustin und Prednisolon (150 mg/m² Bendamustin Tag 1 und 2, 60 mg/m² Prednisolon Tag 1-4, alle 4 Wochen) eine signifikant höhere Rate an kompletter Remission (32 vs. 13%), eine signifikant längere Zeit bis zum Therapieversagen (TTF) (14 vs. 10 Monate) und ein signifikant höherer Index der Lebensqualität nachweisbar, während Toxizitätsreaktionen nicht unterschiedlich gefunden wurden. Die Autoren propagieren Bendamustin und Prednisolon als neuen Standard in der Behandlung von Patienten mit multiplen Myelom, die nicht zur Transplantation anstehen.

Erste Untersuchungen mit kinetischem und metabolischem Hintergrund belegen frühzeitig anhand von massenspektrometrischen und radiochromatographischen Untersuchungen mit ¹⁴C-Cytostasan die rasche Hydrolyse von Bendamustin in sein Monohydroxy- und Dihydroxyderivat (siehe spätere metabolische Übersicht) im wässrigen Milieu (Hesse 1971; Werner et al. 1987; Scasnar et al. 1988).

Erste kinetische Daten von Bendamustin wurden Mitte der 80iger Jahre durch die Arbeitsgruppe von Preiss et al. (1985) vorgelegt. An 7 Tumorpatienten mit normaler Leber- und Nierenfunktion konnten die Autoren nach intravenöser Applikation von Bendamustin über 3 Minuten in einem Dosierungsbereich von 4,2-5,5 mg/kg eine rasche, zweiphasige Elimination aus Plasma, mit einer Halbwertszeit der Terminalphase von 36 Minuten, ein Verteilungsvolumen im steady state von 20,5 l und eine hohe totale Körperclearance von 529

ml/min nachweisen. Nach Oralgabe von Bendamustin in Form von Gelatine kapseln im gleichen Dosisbereich wurde eine orientierende orale Bioverfügbarkeit von 57% bei rascher Resorption (t_{\max} -Werte < 1 Stunde) ermittelt. Die Autoren bestätigten die bekannte rasche spontane Hydrolyse von Bendamustin im wässrigen neutralen Medium und ermittelten eine Halbwertszeit der Spontanhydrolyse von Bendamustin im Plasma von 1,7 Stunden. Sie konnten zudem chromatographisch einen gegenüber Bendamustin stärker polaren Metaboliten nachweisen und vermuteten in diesem das Essigsäurederivat von Bendamustin, in Analogie zum metabolischen Geschehen von Chlorambucil, das wie Bendamustin im Molekül einen Buttersäureanteil aufweist. Durch gezielte Substanzsynthesen und chemische Strukturanalyse (Massenspektrometrie, NMR- Spektroskopie) konnte die Arbeitsgruppe diesen Metaboliten zwischenzeitlich als das Essigsäurederivat von Bendamustin ausschließen (Werner et al. 1991) und ihn später als das γ -Hydroxy- Derivat des Bendamustins (siehe nachfolgendes metabolisches Schema von Bendamustin) definitiv identifizieren (Teichert et al. 2007).

In weiterer Charakterisierung von Bendamustin konnte dann die Arbeitsgruppe für das bifunktionelle Alkylans folgendes nachweisen: Ein dosisunabhängiges lineares Kinetikverhalten in dem geprüften breiten Dosisbereich von 0,8 - 5 mg/kg, eine orale Bioverfügbarkeit von 63%, die durch Nahrungsaufnahme vermindert wurde, an 12 Tumorpatienten eine im therapeutischen Konzentrationsbereich im Plasma (0,1-30 $\mu\text{g/ml}$) konzentrationsunabhängige Bindung zu 95% an Plasmaproteine, vorwiegend Albumin, im Plasma neben den Metaboliten Monohydroxy-, Dihydroxy-bendamustin und dem im Buttersäurerest oxydiertem Bendamustin auch das Auftreten von N-Desmethyl-bendamustin, und das Vorkommen dieser 4 Metabolite neben Bendamustin selbst auch im Urin und in der Galle (Preiss et al. 1989 a+b; Haase et al. 1990; Preiss et al. 1998).

Der Metabolismus von Bendamustin am Menschen ist eingehend durch Teichert et al. (2005, 2007, 2009) untersucht worden. Teichert et al. (2007) konnten mittels gezielter Synthese und massenspektrometrischer und NMR-spektroskopischer Charakterisierung neben der bereits erwähnten Identifizierung von γ -Hydroxy-bendamustin auch jene für N-Desmethyl-bendamustin führen. In Untersuchungen an 5 Patienten mit Cholangiokarzinom konnte der Nachweis beider Metabolite neben dem Vorkommen von Mono- und Dihydroxy-bendamustin in Plasma, Gallenflüssigkeit und Urin erfolgen. In gezielten Markerenzymuntersuchungen und Humanexperimenten an humanen Lebermikrosomen konnten die Autoren die Bildung von γ -Hydroxy- und N- Desmethyl-bendamustin über Cytochrom P-450 1A2 und zudem die nichtenzymatische Bildung von Monohydroxy-bendamustin belegen. Im Humanexperiment an drei Non- Hodgkin- Zelllinien und an gesunden humanen Leukozyten konnten sie

außerdem zeigen, dass gegenüber Bendamustin, γ -Hydroxy-bendamustin eine vergleichbare, N-Desmethyl-bendamustin eine 10fach geringere Cytotoxizität besitzen.

In gezielten weiteren Untersuchungen, die hier nicht im einzelnen referiert werden sollen, konnten Teichert et al. (2005, 2009) zahlreiche weitere, über Glutathion- Konjugation gebildete Phase-II-Metabolite von Bendamustin bzw. seinen Primärmetaboliten in Form von Cystein- Konjugation und ihrer Folgeprodukte, sowie Merkaptansäurederivaten und dessen Sulfoxiden nachweisen. Der Nachweis dieser Konjugate gelang durchgehend in der Galle von Tumorpatienten, in der sie den überwiegenden Anteil aller ausgeschiedenen Bendamustinäquivalente darstellen, partiell auch in Plasma und Urin. Eine Übersicht aller bisher von Teichert et al. am Menschen identifizierten 16 Metabolite von Bendamustin ist in nachfolgender Abbildung wiedergegeben.

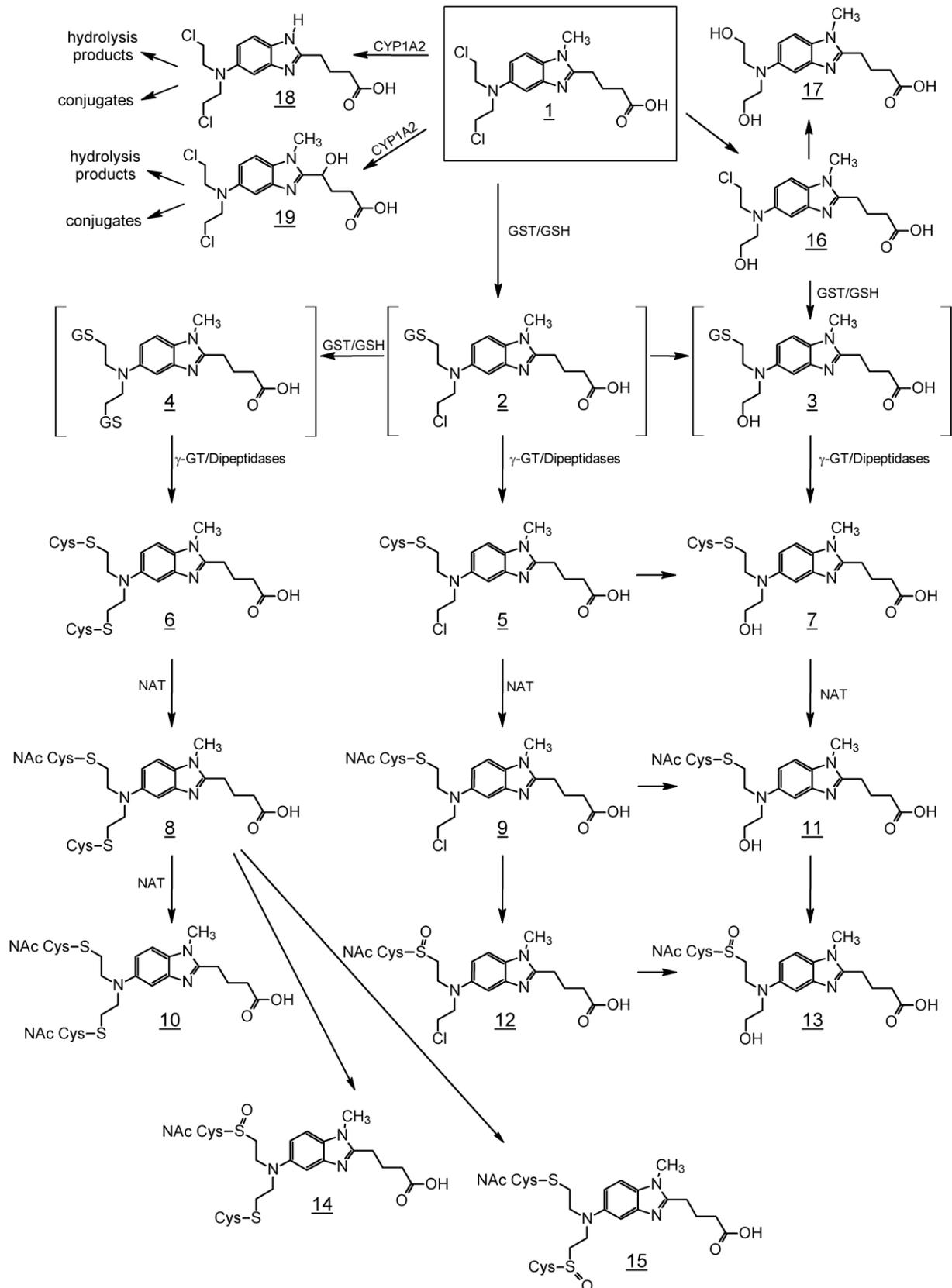


Abb.1 Bisher am Menschen identifizierte Metabolite von Bendamustin nach Teichert et al. (2009) 1: Bendamustin, 19: γ -Hydroxy-b., 18: N-Desmethyl-b., 16: Monohydroxy-b., 17: Dihydroxy-b., 5-15: Cystein-/Merkaptursäure- und Mercaptursäuresulfoxid-Konjugate von Bendamustin und seinen Primärmetaboliten. Die als Zwischenmetabolite geltende Glutathion-Konjugate (2-4) konnten bisher nicht detektiert werden.

Das quantitative Ausscheidungsverhalten von Bendamustin und seinen Metaboliten in Galle und Urin ist bislang weniger detailliert untersucht. Nach intravenöser Gabe von Bendamustin ist seine Ausscheidung als auch die seiner Metabolite im Wesentlichen in einem Zeitraum von 10 Stunden post applicationem in beiden Medien abgeschlossen.

In quantitativer Sammlung der Galle über 24 Stunden an 5 Patienten mit Cholangiokarzinom erfolgt die Ausscheidung zu 97% als Phase-II-Konjugate (Cystein-, Merkaptursäure- und Sulfoxid-Derivate), hingegen nur zu 0,5% als Bendamustin und im restlichen Anteil als Phase-I-Metaboliten und als Mono- und Dihydroxy-bendamustin (Teichert et al. 2009).

Bereits in frühen tierexperimentellen Untersuchungen an Maus und Ratte in der Ganzkörperradiographie und quantitativen Gewebeverteilung mit Hilfe von ¹⁴C-Bendamustin konnten Bezek et al. (1991, 1996) nach intravenöser Gabe eine rasche, im Wesentlichen in den ersten 2 Stunden nach Gabe ablaufende Elimination in Galle und Urin nachweisen. Des Weiteren fanden sie 5 Minuten nach Applikation von ¹⁴C-Bendamustin 10fach höhere Konzentrationen in Leber und Niere im Vergleich zu Lunge, Herz, Milz, Muskulatur und Plasma und unter Bezug auf letztgenannte 5 Organ/Gewebekompartimente höhere Konzentrationen in der Haut, während im Gehirn nur Spuren der Radioaktivität gefunden wurden. Die Autoren konnten an mittels Dünnschichtchromatographie analysierten Gallenproben zudem zeigen, dass die Gesamtmenge an Radioaktivität in Form von Konjugaten und zwei Hydroxymetaboliten ausgeschieden wurde.

In der renalen Ausscheidung dominiert im Gegensatz zur Elimination über die Galle die Ausscheidung von Bendamustin und Monohydroxy-bendamustin. In kumulativer Erfassung der Ausscheidung an 5 Patienten mit Cholangiokarzinom werden, unter Bezug auf alle ausgeschiedenen Bendamustinäquivalente in der Galle und Urin, Bendamustin und Monohydroxy-bendamustin zu 39,0 bzw. 21,4% im Urin, hingegen nur zu 0,5 bzw. 0,8% in der Galle ausgeschieden (Teichert et al. 2005, 2009).

Bisher liegen in der wissenschaftlichen Literatur keine Daten zur Pharmakokinetik von Bendamustin bei eingeschränkter Leber- und/oder Nierenfunktion vor. Auch das Toxizitätsverhalten von Bendamustin unter diesen Bedingungen ist bislang nicht untersucht. Gegenstand der vorliegenden Arbeit ist es daher, das Kinetik- und Toxizitätsverhalten von Bendamustin an Patienten mit eingeschränkter Leberfunktion erstmals im Rahmen einer formalen Studie zu untersuchen.

Das Verträglichkeits- und Toxizitätsprofil von Bendamustin ist im Rahmen von Phase-I-Studien an Patienten mit soliden Tumoren in unterschiedlichen Applikationstechniken und Applikationsregimen untersucht worden. In ersten Untersuchungen unter dreiminütiger

intravenöser Bolusapplikation von Bendamustin an 21 Patienten, beginnend mit einer Startdosis von 155 mg/m^2 und Dosissteigerungen von 20 mg/m^2 sind eine maximal tolerierbare Dosis (MTD) von 215 mg/m^2 mit einer dosislimitierenden Toxizität (DLT) in Form einer anticholinergen, vegetativ neurotoxischen Reaktion (Mundtrockenheit, Tachyarrhythmien, Desorientierung/Somnolenz) beschrieben (Preiss et al. 1998). In fraktionierter Gabe von Bendamustin zu gleichen Dosen an Tagen 1-4 ermittelten die Autoren bei gleicher intravenöser Gabe von Bendamustin über jeweils 3 Minuten an 24 Tumorpatienten eine kumulative MTD von 340 mg/m^2 , wobei eine Leuko- und Thrombozytopenie als DLT zu verzeichnen war. Beide Zytopenieformen waren vom verzögerten Typ mit Nadirwerten nach 3-4 Wochen. Eine Erfassung der Lymphozyten wurde in dieser Studie nicht vorgenommen.

Unter Gabe von Bendamustin an Tagen 1 und 8 in 4-wöchentlichen Zyklen in Form von 30minütigen intravenösen Kurzinfusionen ermittelten Schöffski et al. (2000 a) an 19 Patienten eine MTD von 160 mg/m^2 für beide Tage. Mundtrockenheit und körperliche Schwäche wurden als dosislimitierend gefunden. Ein Patient entwickelte bei dieser Dosis einen totalen, jedoch reversiblen atrioventrikulären Block. Hämodepressionen waren mit Ausnahme ausgeprägter Lymphozytopenien milden Grades. Lymphozytopenien der Schweregrade 3 / 4 mit Nadirwerten von 100-200 Zellen/ μl traten hingegen bei allen Patienten und im gesamten geprüften Dosisbereich ($100\text{-}160 \text{ mg/m}^2$) auf, wiesen Nadirwerte häufig sehr frühzeitig bereits nach 8 Tagen auf, zeigten im weiteren Zyklusverlauf kaum Rückbildungstendenz, waren andererseits jedoch nicht von opportunistischen Infektionen begleitet.

Zu im Wesentlichen gleichen Ergebnissen gelangte die Arbeitsgruppe Schöffski et al. (2000, b) bei kontinuierlicher wöchentlicher Einmalgabe von Bendamustin. Bei intravenöser Kurzzeitinfusion über 30 Minuten wurde an 12 Tumorpatienten eine MTD von 80 mg/m^2 ermittelt, wobei wiederum Mundtrockenheit und körperliche Schwäche, zusätzlich auch eine Grad 4-Fieberreaktion, dosislimitierend waren. Hämodepressive Reaktionen waren wiederum, mit Ausnahme ausgeprägter Lymphozytopenien, nur milden Ausmaßes und nicht dosislimitierend. Lymphozytopenien der Grade 3 / 4 wurden in 11 der 12 untersuchten Patienten und bei allen geprüften Dosisstufen ($60\text{-}80 \text{ mg/m}^2$) gefunden, erlangten mit 100-300 Zellen/ μl ihr Nadirverhalten nach ca. 4 Wochen ohne nachfolgende Regenerierungstendenz, waren jedoch nicht vom Auftreten opportunistischer Infektionen begleitet. Die Lymphozytopenie betraf die Suppression aller Lymphozytensubpopulationen, wobei jedoch B-Lymphozyten stärker als T-Lymphozyten und NK-Zellen betroffen waren. Eine Änderung des T4/8-Quotienten wurde nicht beobachtet.

In vorliegender Arbeit wird das kinetische Verhalten von Bendamustin und seinen Metaboliten γ -Hydroxy-bendamustin, N-Desmethyl- und Monohydroxy-bendamustin im Plasma und das Toxizitätsprofil nach Gabe von Bendamustin an 12 Tumorpatienten mit normaler Leberfunktion und 13 Patienten mit hepatozellulären Karzinom (HCC) und mittelgradig eingeschränkter Leberfunktion untersucht. Letztere Patienten resultieren aus einem Phase-I/II-Studienprojekt, das neben der Erhebung kinetischer Daten und Daten zur Verträglichkeit vor allem auch die Beurteilung der therapeutischen Effizienz von Bendamustin bei dieser Tumorentität zum Inhalt hat. Ausgangspunkt für die Prüfung von Bendamustin am HCC waren Ergebnisse an isolierten HCC-Zelllinien und am Maus-Xenograft-Modell. An 5 HCC-Zelllinien bewirkte Bendamustin eine ausgeprägte Wachstumshemmung mit IC_{50} -Hemmkonzentrationen, die in ihrer Höhe der am Menschen unter üblicher Bendamustintherapie im Plasma vorkommenden Konzentrationen entsprechen. Die intraperitoneale Gabe von Bendamustin führte zudem an Nude-Mäusen, die mit den HCC-Zelllinien Huh-7 bzw. HepG2 inokuliert waren, zu einer gesicherten und drastischen Hemmung des Tumorwachstums (Wiedmann et al. 2008). Zeitgleich erschienen erste Daten im Schrifttum, die eine gute Verträglichkeit von Bendamustin an Patienten mit Gallengangskarzinom und eingeschränkter Leberfunktion belegten (Schoppmeyer et al. 2007).

Obwohl die Beurteilung der therapeutischen Effizienz von Bendamustin beim HCC nicht Gegenstand der vorliegenden Arbeit ist, sollen doch einige wenige Ausführungen zur prinzipiellen Therapie des HCC erfolgen, zumal im fortgeschrittenen Zustand der Arbeit die Zulassung von Sorafenib für die Therapie des HCC einen partiellen Wandel des Studienprotokolls zur Folge hatte.

Die Therapie des HCC hat mit der Zulassung des Sorafenib, welche in Deutschland 2008 erfolgte, und der daraufhin erfolgten Adaptierung des Barcelona Clinic Liver Cancer (BCLC) Staging Systems im Sinne von Veränderungen im therapeutischen Vorgehen als auch im Sinne veränderter Empfehlungen für den klinischen Prüfablauf neuer Therapeutika für die Behandlung des HCC einen grundlegenden Wandel erfahren (Llovet et al. 2008, a und b).

Das BCLC kann als das am breitesten akzeptierte Tumorstaging-System des HCC gelten. Nach Lau und Lei (2008) ist kein diesbezügliches staging System universell akzeptiert. Das BCLC beruht auf der Zusammenfassung von Tumorausbreitung, der Erhebung der Leberfunktion in den Child-Pugh Stufen A, B und C und der Einschätzung des Allgemeinzustandes mittels Performance Status. Es wird selbst in Stage 0/A (early stage, ein Knoten oder bis 3 Knoten (<3cm), Child-Pugh A), Stage B (intermediate stage, multinodal,

Child-Pugh A-B), Stage C (advanced stage, portale Invasion und/oder extrahepatische Metastasierung, Child-Pugh A-B) und Stage D (end stage, Child-Pugh C) unterteilt.

Im Stage 0/A verfolgen die operativen Maßnahmen der Tumorresektion, Hemihepatektomie oder der begrenzt führbaren Lebertransplantation kurative Therapieziele, sind aber nur in ca. 10-30% der Patienten ausführbar, führen zu 5- Jahres- Überlebensraten von 70%, bedürfen jedoch einer weitestgehend unbeeinträchtigten Leberfunktion (Llovet und Bruix, 2008; Lau und Lai, 2008).

Lokal ablativ Verfahren in Form der perkutanen Ethanolinjektion (PEI), der Radiofrequenzablation (RFA), der Mikrowellenablation als auch weiterer thermischer Verfahren werden bei Nichtdurchführbarkeit operativer Verfahren ebenfalls im Stage 0/A und vor allem auch bei beeinträchtigter Leberfunktion vorgenommen, führen jedoch als primär nicht kurative Maßnahmen zu geringeren 5-Jahres-Überlebensraten als chirurgische Verfahren (Lau und Lai, 2008; Lau et al. 2003).

Neoadjuvante und adjuvante (vor bzw. nach der Ausführung chirurgischer oder lokal ablativer Maßnahmen) chemotherapeutische Verfahren werden heutzutage nicht als therapeutische Standards akzeptiert (Llovet et al. 2008 a; Lau et al. 2009).

Während im Stage D nach BCLC mit durchschnittlichen Überlebensraten von 3 Monaten und weniger verständlicher Weise keine tumorspezifischen therapeutischen Maßnahmen mehr anstehen (Llovet und Bruix, 2008), sind chemoembolische bzw. radioembolische und rein chemotherapeutische Maßnahmen Therapie der ersten Wahl in den Stadien B und C nach BCLC.

Die transarterielle Chemoembolisation (TACE) stellt die simultane oder sequenzielle Lokalapplikation eines an Lipiodol gebundenen Tumorchemotherapeutikums (Emulgierungseffekt) mit einer okkludierenden embolischen Substanz (häufig Gelatinepartikel) in das arterielle Gefäßnetz der Leber dar. Die TACE macht sich den Umstand zunutze, dass die Gefäßversorgung des HCC zu >90% durch Äste der Arteria hepatica, die des Leberparenchyms jedoch vorwiegend über die Pfortader erfolgt (Lau und Lai 2008). Die TACE gilt als Therapie der ersten Wahl bei Stage B nach BCLC und führt, durch eine Reihe von randomisierten klinischen Studien belegt, zu gesichert längeren Überlebensraten. Eine Vielzahl von Tumorstatika wurde hierbei genutzt, wobei jedoch die umfangreichsten Erfahrungen mit 5- Fluorouracil und Cisplatin gesammelt wurden (Nagai und Sumino 2008). Von ähnlich guten Erfolgen wird auch in der Anwendung der transarteriellen Radioembolisation (TARE) berichtet, bei welcher das Tumorthapeutikum

durch einen radioaktiven Träger ersetzt ist, so im ¹³¹Jod- Lipiodol oder in ⁹⁰Yttrium-Mikrosphären (Lau und Lai 2008).

Im fortgeschrittenen Zustand des HCC, nach der BCLC- Klassifikation im Stage C, also bei Einbruch des Tumors in das portale System bzw. seiner extrahepatischen Metastasierung, sind lokale chemotherapeutische Maßnahmen nicht mehr angezeigt, sondern muss auf die systemische Tumorchemotherapie zurückgegriffen werden. Bis zur Einführung von Sorafenib in die Therapie des HCC im Jahre 2007 in den USA, wurde eine Vielzahl von Tumorchemotherapeutika in isolierter bzw. kombinierter Gabe in Phase II bzw. Phase-III-Studienprotokollen erprobt, ohne dass bei dem als relativ Chemotherapie-resistent geltenden HCC überzeugende Erfolge erzielt werden konnten (Yau et al. 2008). Überlebenszeitverlängerungen wurden mit keinem Therapieansatz erzielt, obwohl Response-Raten zwischen 10-30% insbesondere für die Kombinationen PIAF (Cisplatin, Interferon-alpha-2b, Doxorubicin, 5-Fluoruracil), Gemcitabin plus Oxaliplatin und für die Monotherapie mit Doxorubicin ermittelt wurden. Bis zur Markteinführung von Sorafenib galt die alleinige Gabe von Doxorubicin als ein gewisser Standard für die Therapie des fortgeschrittenen HCC (Yau et al. 2008).

Ein Durchbruch in der antineoplastischen Therapie des HCC gelang mit dem Multikinaseinhibitor Sorafenib. In der randomisiert und doppelblind an 602, nicht systemisch antineoplastisch vorbehandelten, Patienten mit fortgeschrittenem HCC durchgeführten SHARP- Studie, die die Zulassung von Sorafenib in der Behandlung des nicht rezidierbaren HCC durch die FDA im November 2007 in den USA zur Folge hatte, führte die kontinuierliche tägliche orale Gabe von Sorafenib an 299 Patienten im Vergleich zu 303 Patienten unter Gabe von Placebo zu einem gesichert längerem medianen Überleben (10,7 vs. 7,9 Monate) und gesichert längerer medianer Zeit bis zur radiologisch belegbaren Progression (5,5 vs. 2,8 Monate) (Llovet et al. 2008 b).

Als Nebenwirkungen wurden Diarrhoe, Gewichtsverlust, palmare und plantare Erytheme und Hypophosphatämien häufiger unter Sorafenib als unter Placebo gefunden. Die Daten der SHARP (Sorafenib HCC Assessment Randomized Protocol)- Studie hatten nicht nur den grundlegenden Wandel der Therapie des fortgeschrittenen HCC, sondern fortan auch neue Orientierungen in der konzeptionellen Erstellung von Therapieprotokollen für das fortgeschrittenen HCC zur Folge. Vor Einführung von Sorafenib war für die Wirkeffizienzprüfung eines Tumorchemotherapeutikums in der Behandlung des fortgeschrittenen HCC's das klassische, nichtkontrollierte Phase-II-Protokoll die Regel. Nun, unter Sorafenib, wird in der first-line-Therapie Sorafenib vs. Sorafenib plus Neues

Arzneimittel (AM) bzw. bei vorausgegangenem vielversprechenden Ergebnis für das neue AM Sorafenib vs. Neues AM und in der second-line-Therapie (nach Sorafenibversagen) neues AM vs. Placebo empfohlen (Llovet und Bruix 2008).

Ausgehend von diesen Empfehlungen wurde in vorliegender Arbeit beim fortgeschrittenen HCC nach Einführung von Sorafenib der Einsatz und damit die Prüfung von Bendamustin nur an jenen HCC-Patienten vorgenommen, die unter einer Therapie mit Sorafenib eine Tumorprogression oder nicht tolerierbare Nebenwirkungen aufwiesen.

2. Studienziel

Das Ziel der Untersuchungen besteht in der Erhebung des Kinetik- und Toxizitätsprofils von Bendamustin an Patienten mit eingeschränkter Leberfunktion erstmalig im Rahmen einer formalen Studie. Ausgehend von der bisher in der wissenschaftlichen Literatur belegten tumorstatistischen Wirksamkeit von Phase-I-Metaboliten des Bendamustins, wird neben der Kinetik im Plasma von Bendamustin auch jene für γ -Hydroxy-bendamustin, N-Desmethyl-bendamustin und Monohydroxy-bendamustin aufgenommen.

Für die Bearbeitung der erhobenen Zielstellung wurden die Daten vergleichsweise an 12 austherapierten Patienten mit soliden Tumoren und normaler Leberfunktion und 13 Patienten mit mittelgradig eingeschränkter Leberfunktion der Child-Pugh Grade A und B und bis zu einem oberen Bilirubinwert von 3mg/dl (51 μ mol/l) erhoben. Die gemessenen Plasmakonzentrationen von Bendamustin und seinen drei aufgeführten Metaboliten als auch die Toxizitätsdaten des bifunktionellen Alkylans an den 12 Tumorpatienten wurden einer drei Jahre zurückliegenden Untersuchung entnommen. Die Messung der Plasmakonzentrationen von Bendamustin und seinen drei ausgewiesenen Metaboliten als auch die Erhebung der Toxizitätsdaten des bifunktionellen Alkylans an den 13 Patienten mit mittelgradig eingeschränkter Leberfunktion wurden aktuell im Rahmen der vorgelegten Arbeit ausgeführt. Die Untersuchungen an den 13 Patienten mit mittelgradig eingeschränkter Leberfunktion wurden im Rahmen eines Phase-II-Studienprotokolls zur Wirksamkeitsprüfung von Bendamustin beim fortgeschrittenen hepatozellulärem Karzinom geführt.

Die Messung der Plasmakonzentrationen von Bendamustin und seinen drei ausgewiesenen Metaboliten als auch die Erhebung der Toxizitätsdaten wurden nach einheitlichem methodischem Vorgehen in beiden Patientengruppen vorgenommen. Alle an beiden Patientengruppen erhobenen Daten wurden nach einheitlicher Methodik und aktuell im Rahmen der vorgelegten Arbeit ausgewertet.

Beide Patientenkollektive hatten eine normale Nierenfunktion zur Studienvoraussetzung.

Die Patienten beider Gruppen erhielten Bendamustin standardgemäß in Form einer 30-minütigen intravenösen Infusion in einer aus Daten bisheriger Phase-I-Studien abgeleiteten mittelhohen Dosierung von je 120 mg/m² Bendamustinhydrochlorid an Tagen 1 und 2. Aus Sicherheitsgründen erfolgte an den ersten 5 Patienten mit hepatozellulärem Karzinom eine Dosisreduktion um 40 mg/m² am Tag 2 der Gabe.

Die Aufnahme der Kinetik von Bendamustin und seinen Metaboliten erfolgte am Tag 1 der Gabe von Bendamustin, die der hämatologischen und nichthämatologischen Toxizität wöchentlich über einen Zeitraum von 4 Wochen.

Die zu erhebenden Daten dienen erstmalig im Schrifttum der deskriptiven Darstellung des kinetischen Verhaltens von Bendamustin und seinen wirksamen Metaboliten im Plasma und der Beschreibung des Toxizitätsprofils von Bendamustin an Patienten mit mittelgradig eingeschränkter Leberfunktion und werden zudem erstmalig begründete Empfehlung für die Dosierung von Bendamustin an dieser Patientenklientel erlauben.

3. Material und Methoden

3.1. Patientenauswahl

3.1.1. Allgemeine Einschlusskriterien

In die Studie wurden männliche und weibliche Patienten (Caucasians) im Alter von 18-78 Jahren mit fortgeschrittenen malignen Tumorerkrankungen einbezogen, die auf alle Formen herkömmlicher Chemo-, Hormon- und Strahlentherapie kein therapeutisches Ansprechen zeigten.

Die Studienteilnahme setzte einen ausreichenden Allgemeinzustand (Karnofsky-Index \geq 70%), einen normalen Ernährungszustand ohne Zeichen einer Kachexie, eine zu erwartende minimale Lebenserwartung von mehr als 3 Monaten und eine normale Nierenfunktion mit zu nach Cockcroft and Gault ermittelten Kreatininclearancewerten ($Cl_{\text{Kreatinin}}[\text{ml/min}] = (140 - \text{Alter}) \times \text{Körpergewicht}[\text{kg}] / 72 \times \text{Serumkreatinin}[\text{mg/dl}]$; bei Frauen Multiplikation mit 0,85) bei Frauen \geq 63 ml/min und bei Männern \geq 55ml/min voraus.

Vor Untersuchungsbeginn wurde jeder Patient ausführlich über das Anliegen der klinischen Prüfung, deren Ziele, Ablauf sowie mögliche Nebenwirkungen im Einsatz von Bendamustin informiert. Seine Einwilligung zur Studienteilnahme lag in schriftlicher Form vor. Vor Beginn der Untersuchungen waren für alle Studienteile die positiven Voten der entsprechenden Ethikkommissionen eingeholt worden.

3.1.2. Spezifische Einschlusskriterien

3.1.2.1. Patienten mit normaler Leberfunktion (Kontrollgruppe)

Als spezifische Einschlusskriterien galten:

- Der Norm entsprechende Leberfunktionsparameter ASAT, ALAT, Gamma-Glutamyltransferase (γ -GT) und Gesamtbilirubin
- Kein oder weniger als 10%iger Tumor-/Metastasenbefall der Leber, belegt durch Sonographie (Konvexschallkopf mit einer Frequenz von 3,5 MHz) und/oder Computertomographie (Scans mit und ohne einem intravenös verabreichten jodhaltigen nichtionischen Kontrastmittel) der Leber

Isoliert auftretende Abweichungen von Lebernormalwerten unterlagen einer kritischen Beurteilung durch die Studienleitung und führten nicht notwendigerweise zum Ausschluß des Patienten.

3.1.2.2. Patienten mit hepatozellulärem Karzinom (HCC) und eingeschränkter Leberfunktion

Als spezifische Einschlusskriterien galten:

- Histologisch nachgewiesenes, lokal fortgeschrittenes (3 Knoten > 3cm oder 1 Knoten > 5cm) oder metastasiertes HCC
- Zustand nach oder Nichtdurchführbarkeit von Segmentteilresektion, orthotoper Lebertransplantation, perkutaner Ethanolinjektion oder transarterieller Chemoembolisation
- Leberzirrhose mit Child-Pugh scores 5-9
- Gesamtbilirubin 17-51µmol/l

Infolge der im späten Verlauf der vorliegenden Studie erfolgten Zulassung von Sorafenib (Nexavar®) für die Behandlung des Leberzellkarzinoms, nicht jedoch seines bis dato empfohlenen Einsatzes bei Leberkarzinompatienten im Stadium Child-Pugh B, wurde eine Änderung der Einschlusskriterien im Sinne des nun vorzunehmenden Einsatzes von Bendamustin bei therapeutischem Versagen oder Kontraindikationen für die Anwendung von Sorafenib, oder speziell unter Child-Pugh B-Bedingungen vorgenommen.

Die Einschlusskriterien hinsichtlich des Vortherapiezustandes und der Ausführungen zur Leberzirrhose wurden eliminiert und durch folgende weitere Einschlusskriterien ergänzt, wobei für den Einschluss eines Patienten mindestens eines der nachfolgenden 7 Einschlusskriterien gegeben sein musste:

- Nichtdurchführbarkeit von Segmentresektion, orthotoper Lebertransplantation, perkutaner Ethanolinjektion, Radiofrequenzablation, transarterieller Embolisation oder Chemoembolisation an HCC-Patienten im Stadium Child-Pugh-B (scores 7-9)
- Überempfindlichkeit gegenüber Sorafenib oder entsprechenden Inhaltsstoffen der Sorafenib- Medikation
- Das zweimalige Auftreten einer nichthämatologischen Grad 4-Toxizitätsreaktion unter einer Therapie mit Sorafenib
- Gleichzeitiges Bestehen einer radiologisch nachgewiesenen Tumorprogression und Verschlechterung des FACT Hepatobiliary Symptom Index (FHSI-8) um 4 Punkte in Erhebungsintervallen von 8 Wochen unter einer Therapie mit Sorafenib

- Eine erforderliche Erholungszeit von Grad 3 bzw. 4-Toxizitätsreaktion von mehr als 3 Wochen unter der Therapie mit Sorafenib
- Das zweimalige Auftreten von Grad 3 Toxizitätsreaktionen an Händen und Füßen (Hautablösungen, Ulcerationen, Blasenbildung oder schwerer Schmerzzustand) unter einer Therapie mit Sorafenib
- Das dreimalige Auftreten von Grad 2 Toxizitätsreaktion an Händen oder Füßen (schmerzhafte Erythem und Schwellung) unter einer Therapie mit Sorafenib.

Analog zum Vorgehen in der Kontrollgruppe wurden zur Diagnostik des hepatischen Tumorgeschehens die Methoden der Sonographie und Computertomographie genutzt und in der Hälfte der Patienten zusätzlich auf die Magnetresonanztomographie zurückgegriffen.

3.1.3. Ausschlusskriterien

Beim Vorliegen von mindestens einem der nachfolgenden Kriterien war eine Aufnahme in die Studie nicht zulässig:

- Schwangerschaft/Stillperiode (Schwangerschaftstest zu Studienbeginn bei weiblichen Patienten vor der Monopause)
- Keine adäquate Kontrazeption bei Frauen im gebärfähigem Alter (als kontrazeptive Maßnahme galten: Implantate, orale Kontrazeptive, intrauterine devices (Spiralen etc.), vasktomisierte Partner)
- Nicht ausgeschöpfte lokal interventionelle oder operative Therapiemaßnahmen
- Ein weniger als 4 Wochen zurückliegender operativer Eingriff
- Eine weniger als 4 Wochen zurückliegende Behandlung des Tumorleidens mittels Strahlen- oder Chemotherapie
- Klinischer Verdacht oder Nachweis von ZNS- Metastasen
- Therapierefraktäre hepatische Enzephalopathie
- Schwere Begleiterkrankungen (Herzinsuffizienz NYHA III-IV, instabile KHK, Zustand nach Herzinfarkt, pathologisches EKG im Zeitraum von innerhalb 4 Wochen vor Studienbeginn, höhergradige Herzrhythmusstörung, schwere COPD)
- Anfallsleiden
- Eingeschränkte Knochenmarksfunktion: Hämoglobin < 5,5 mmol/l, Leukozyten < 4000/µl, Thrombozyten < 100000/µl bei tumorchemotherapeutischer Vorbehandlung

oder Hämoglobin $< 5,5$ mmol/l, Leukozyten $< 3000/\mu\text{l}$, Thrombozyten $< 75000/\mu\text{l}$ bei tumorchemotherapeutischer Primärbehandlung

- Bekannte Allergie oder Überempfindlichkeit gegenüber Bendamustin oder Mannitol
- Hauterkrankungen und Erkrankungen allergischer Natur
- Behandlungsbedürftige Zweitumoren
- Akute Infektionskrankheiten
- Andere Begleiterkrankungen, die die für die Studienteilnahme erforderliche Compliance einschränken
- Teilnahme an einer anderen klinischen Studie innerhalb der letzten 8 Wochen oder während der gegenwärtigen klinischen Prüfung.

3.2. Prüfmedikation Bendamustin

3.2.1. Darreichungsform

Bendamustin wurde in Durchstechflaschen als Trockensubstanz zu 25 bzw. 100 mg Bendamustinhydrochlorid und 30 bzw. 120 mg Mannitol vom Sponsor der Studie, der Ribosepharm GmbH, als Ribomustin® zur Verfügung gestellt. Die Lagerung der Prüfmedikation wurde gemäß den Empfehlungen des Sponsors bei Raumtemperatur vorgenommen.

Zur Herstellung der gebrauchsfertigen Lösung wurde der Inhalt der Durchstechflaschen zuerst unter Schütteln in 10 bzw. 40 ml Wasser zur klaren Lösung gebracht und anschließend zur individuellen Dosis des Patienten sogleich mit 0,9%iger NaCl-Lösung zu einem Endvolumen von 500 ml verdünnt. Entsprechend dieser Vorschrift hergestellte Infusionslösungen sind bei Raumtemperatur 2 Stunden, im Kühlschrank (2-8°C) mindestens 48 Stunden stabil. Ausschließlich in dieser Form stabile Lösungen kamen in der vorliegenden Studie zum Einsatz. Die Herstellung der Bendamustinhydrochlorid-Lösungen erfolgte apothekenseits in den entsprechenden Prüfzentren.

3.2.2. Dosierung und Applikation von Bendamustin

Gemäß sponsorensseits gegebener Empfehlungen und auf der Basis der Ergebnisse klinischer Phase-I-III-Studien an Patienten mit weitestgehend normaler Knochenmarkreserve und normaler Eliminationsleistung wurde Bendamustinhydrochlorid in zwei Einzeldosen von je 120 mg/m^2 an zwei aufeinanderfolgenden Tagen intravenös verabreicht.

Aus Gründen der Verträglichkeit von Bendamustin im Sinne des Vermeidens möglicher stärkerer toxischer Begleitwirkungen erfolgte an den ersten 5 Patienten mit HCC und Leberfunktionseinschränkung die Gabe von Bendamustin zu 120 mg/m² am Tag 1 und zu 80 mg/m² am Tag 2. Nach Toxizitätsbewertung an diesen ersten 5 Patienten und Vertretbarkeit der Dosiserhöhung von Bendamustinhydrochlorid am 2. Tag der Applikation auf 120 mg/m² wurden nachfolgende 8 Patienten nach dem üblichen Applikationsschema je 120 mg/m² an 2 aufeinanderfolgenden Tagen behandelt.

Die Verabreichung von Bendamustinhydrochlorid erfolgte jeweils als 30-minütige intravenöse Kurzinfusion mit konstanter Infusionsgeschwindigkeit (Infusomat) über die Cubitalvene oder ein bestehendes Katheter- Port- System morgens zwischen 8.00 und 9.00 Uhr.

Zur Minderung der für Bendamustin bekannten gastrointestinalen Nebenwirkungen erhielten alle Patienten eine antiemetische Prämedikation bestehend aus 8 mg Dexamethason und 3 mg Granisetron bzw. 4-10 mg Ondansetron.

3.3. Erhebung der Pharmakokinetik von Bendamustin und seinen Metaboliten

Die Erhebung der Kinetik von Bendamustin und seinen Metaboliten im Plasma erfolgte in beiden Patientengruppen am ersten Tag der Gabe von jeweils 120 mg/m² Bendamustinhydrochlorid.

3.3.1. Probengewinnung

Die Aufnahme der Pharmakokinetik erfolgte durch Entnahme von Cubitalvenenblut aus dem der Bendamustinapplikation dienenden kontralateralen Arm. Jeweils 4,5 ml Blut wurden über Lithium- Heparin-Monovetten (Sarstedt) zu den Zeiten 0 (vor Gabe von Bendamustinhydrochlorid= Leerwert), 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 60, 75, 90, 110, 140 Minuten und 3, 4, 6 und 8 Stunden nach Start der Bendamustininfusion entnommen. Die Blutproben wurden sofort nach Entnahme für 4 min bei 2000g zentrifugiert. Das überstehende Plasma wurde fraktioniert zu zwei Hälften bei -20°C eingefroren.

Nach Abschluß der Blutentnahmen erfolgte der Probentransport mittels Trockeneis zur Messeinrichtung, wo die Lagerung bei -70°C bis zur Analyse erfolgte.

3.3.2. Probenvorbereitung

Die Proben wurden auf einem Thermomixer bis zu 37° C und bei 800 U/min aufgetaut. Jeweils 200 µl Plasma wurden mit 30 µl internem Standard unter Mischen bei 1000 U/min versetzt. Zur Eiweißfällung wurden 100 µl 20%ige Perchlorsäure zugesetzt und 5 min bei 1000 U/min gemischt. Nach Zentrifugation bei 12500 g (5 min) erfolgte die Überführung des Überstandes in ein HPLC- Probefläschchen. Alle Arbeitsschritte wurden unter Kühlung der Proben auf 5° C durchgeführt.

3.3.3. Analyseverfahren

Die Bestimmung von Bendamustin, γ -Hydroxy-bendamustin, N-Desmethyl-bendamustin und Monohydroxy-bendamustin im Plasma erfolgte mittels HPLC und Fluoreszenzdetektion. Das HPLC-System bestand aus einem Trenn-Modul Waters Alliance 2695 und einem Fluoreszenzdetektor Waters 2475. Die Detektion erfolgte bei einer Excitationswellenlänge von 328 nm und einer Emissionswellenlänge von 420 nm. Als analytische Säule wurde eine AQUASIL C¹⁸ -Säule, 5 µm, 150×3 mm (Thermoscientific) mit integrierter Vorsäule, 10×3mm, verwendet. Die mobile Phase bestand im Gradientenverfahren aus Laufmittel A (0,1% TFA) und Laufmittel B (Acetonitril/Laufmittel A 8:2). Während der Probenraum auf 5° C thermostatiert wurde, erfolgte die Chromatographie bei 40° C. Das Injektionsvolumen betrug 5 µl und die Flussgeschwindigkeit 0,3 ml/min. Die Konzentrationsberechnungen erfolgten mittels Flächenquotienten Analyt/interner Standard unter Nutzung der Millennium®-Software, Version 4.00 (Waters). Als interner Standard wurde 5{5[bis-(2-chloroethyl)amino]-1-methyl-benzimidazolyl-(2)}-pentansäure-hydrochlorid-hydrat verwendet.

3.3.4. Methodenvalidierung

Systemkalibrierung

Stammlösungen von Bendamustinhydrochlorid und seinen Metaboliten in DMSO wurden mit Acetonitril so verdünnt, dass Arbeitslösungen entstanden, die bei Zugabe zu Leerplasma jeweils 6 Kalibratoren einer Substanz zu unterschiedlichen Konzentrationen ergaben.

Jede Kalibrierung umfasste neben den 6 Kalibratoren ein Leerplasma sowie ein mit dem internen Standard versetztes Leerplasma. Die Kalibrierung war für alle 4 Substanzen mit Abweichungen < 15% über den gesamten Konzentrationsbereich reproduzierbar.

Selektivität

In sechs verschiedenen Plasma- Blindproben und nur mit dem internen Standard gespikten Zero- Proben wurden keine Interferenzen zwischen endogenen Substanzen und den Analyten, inklusive interner Standard, zu deren Retentionszeiten beobachtet.

Linearität und Bestimmungsgrenzen

Die Kalibrierfunktion aller Analyten war in den gewählten Konzentrationsbereichen linear ($R \geq 0,9986$).

Als untere Bestimmungsgrenzen (LLOQ) wurden die kleinsten Konzentrationen der jeweiligen Kalibratoren ermittelt. Sie betragen 0.8 ng/ml für Bendamustin, 1,1 ng/ml für γ -Hydroxy-bendamustin, 1,3 ng/ml für N-Desmethyl-bendamustin und 7,4 ng/ml für Monohydroxy-bendamustin.

Präzision und Richtigkeit

Die Präzision und Richtigkeit aller durch Dotierung von Plasma-Leerproben mit den Referenzsubstanzen hergestellten Standards sollte nicht mehr als $\pm 15\%$ von der nominalen Konzentration abweichen, außer für die Bestimmungsgrenze (lower limit of quantitation, LLOQ), wo der CV kleiner als $\pm 20\%$ sein sollte.

Präzision und Richtigkeit der Kalibrierkurven und day-to-day Variationen erfüllten die Anforderungen an die quantitative Arzneimittelanalytik bei pharmakokinetischen Studien.

3.4. Erfassung des Verträglichkeitsprofils von Bendamustin

Entsprechend den vorgegebenen allgemeinen und spezifischen Einschlusskriterien wurden die Patienten der Gruppe mit normaler Leberfunktion (Kontrollgruppe) oder der Gruppe mit hepatozellulärem Karzinom und eingeschränkter Leberfunktion (HCC-Gruppe) zugeordnet.

Über einen Zeitraum von 28 Tagen post applicationem erfolgten die Erfassung des klinischen Status einschließlich aller organbezogenen klinischen Toxizitätsreaktionen, die Messung der Herzfrequenz, des Blutdrucks und der Körpertemperatur sowie die Untersuchung ausgewählter Laborparameter. Die Erhebung erfolgte zu folgenden Zeitpunkten:

- - 7 bis 0 Tage vor erster Bendamustingabe
- 1. Woche post applicationem
- 2. Woche post applicationem
- 3. Woche post applicationem

- 4. Woche post applicationem

Zu all diesen Erhebungszeitpunkten wurden folgende Laborparameter untersucht: Hämoglobin, Zahl der Thrombozyten, Leukozyten, neutrophilen Granulozyten und Lymphozyten, ASAT, ALAT, γ -Glutamyltransferase, Gesamtbilirubin, PTT, Quick, Kreatinin, Harnstoff und Elektrolyte Natrium, Kalium, Calcium.

Alle Laborparameter und organbezogenen Unverträglichkeitsreaktionen wurden gemäß NCI/NIH Common Toxicity Criteria Version 3.0 (August 2006) erfasst.

Zu Beginn und am Ende des vierwöchigen Analysezeitraums wurde ein 12-Kanal-EKG geschrieben.

Die in den Eingangsuntersuchungen bei wenigen Patienten festgestellten isolierten Abweichungen einzelner Laborparameter hinsichtlich der Gruppenzuordnung der Patienten wurden unter Einbeziehung der bestehenden Tumorerkrankung und der erhobenen CTC-Kriterien einer kritischen Analyse unterzogen. Auf die Relevanz dieser Werte wird im Ergebnisteil der Arbeit (Punkt 4.1.) gesondert hingewiesen.

Die über weitere Therapiezyklen erhobene Verträglichkeit und das therapeutische Ansprechen von Bendamustin (Restaging der Patienten) in der Gruppe der HCC- Patienten war nicht Gegenstand der vorliegenden Arbeit.

3.5. Berechnung pharmakokinetischer Parameter

Die Berechnung der pharmakokinetischen Parameter für Bendamustin und seine Metaboliten wurde in kompartmentfreier Analyse mit Hilfe des Programmes Win Nonlin Professional, Version 5.2.1 (Pharsight Corporation, Cary, North Carolina, USA) vorgenommen. Für Bendamustin und seine Metabolite γ -Hydroxy-bendamustin, N-Desmethyl-bendamustin und Monohydroxy-bendamustin wurden folgende Parameter bestimmt:

Maximale Plasmakonzentration (c_{\max}), Zeit bis zum Erreichen der maximalen Plasmakonzentration (T_{\max}), terminale Eliminationshalbwertszeit ($t_{1/2}$), die Fläche unter der Plasmaspiegelkurve vom Zeitpunkt des Starts der Gabe von Bendamustin bis zum letzten Messpunkt (AUC_{last}), die totale AUC (AUC) als die Summe aus AUC_{last} und Rest-AUC, und die mittlere Verweildauer (MRT, mean residence time) aus dem Quotienten $AUMC/AUC$. Die Rest- AUC wurde nach dem Quotienten aus letztgemessener Konzentration und der über log-lineare-Regression ermittelten Geschwindigkeitskonstante der terminalen Eliminationsphase ($c_{1/2}$) ermittelt.

Für Bendamustin wurden zusätzlich die Clearance ($Cl = \text{Dosis}/AUC$), das Verteilungsvolumen im steady state ($V_{ss} = MRT \times Cl$) und das körperrgewichtbezogene Verteilungsvolumen im steady state (V_{ss}/kg) errechnet. Für die Berechnung aller pharmakokinetischer Parameter wurden nur Messwerte oberhalb der im Kapitel 3.3.4. ausgewiesenen Bestimmungsgrenzen für Bendamustin und seine Metabolite herangezogen.

3.6. Statistische Analyse und Ergebnispräsentation

Die Erfassung der Daten und ihre statistische Aufarbeitung erfolgte unter Verwendung der Software SigmaStat Version 3.1. Die graphische Ergebnisdarstellung wurde mit Hilfe der SigmaPlot Version 9.0 (Systat Software GmbH, Erkrath) vorgenommen.

Ein Patientengruppenvergleich der Daten (demographische Patientendaten, pharmakokinetische Parameter von Bendamustin und seinen Metaboliten, Laborausgangsbefunde) wurde in parametrischer Testung mit Hilfe des ungepaarten t-Test's vorgenommen, soweit die Daten die Bedingung einer mittels Kolmogorov-Smirnov-Test geprüften Normalverteilung erfüllten. Waren die Kriterien für die Durchführung des parametrischen Testverfahrens nicht erfüllt, wurde in nichtparametrischer Analyse der Mann-Whitney-Rank-Summentest im Nichtpaarvergleich angewandt.

Zur statistischen Prüfung der organfunktionellen Laborparameter in ihrem vierwöchigen Verlauf nach Gabe von Bendamustin gegenüber ihren jeweiligen Ausgangsbefunden wurde der Mann-Whitney-Rank-Summentest für korrelierende Stichproben (Paarvergleich) herangezogen.

Alle statistischen Prüfungen wurden mit zweiseitiger Fragestellung durchgeführt und das Signifikanzniveau von $p < 0,05$ festgelegt. Die ermittelten Daten sind durchgehend in Form ihrer arithmetischen Mittelwerte nebst Standardabweichungen wiedergegeben. Für eine Reihe von Daten erfolgt ihre zusätzliche Darstellung in Form der Einzelwerte, Spannweiten und Mediane. Auf spezielle Formen der Datenanalyse und -präsentation im Verhalten von klinischen Unverträglichkeitsreaktionen und organfunktionellen Parametern nach Gabe von Bendamustin wird unter Punkt 4.3.3. eingegangen.

4. Ergebnisse

4.1. Patientencharakteristik

4.1.1. Patienten mit normaler Leberfunktion (Kontrollgruppe)

In die Kontrollgruppe wurden 12 Patienten, 7 weibliche und 5 männliche einbezogen (Tab 1). Das Alter der Patienten lag zwischen 46 und 77 Jahren, im Mittel bei 62,2 Jahren, ihr body mass index zwischen 20,1 und 30,0 kg/m², im Mittel bei 25,2 kg/m². Die Beurteilung des Allgemeinzustandes wurde mit Hilfe des Karnofsky-Index vorgenommen, der zwischen 60 und 90%, im Mittel bei 79,2% lag.

Alle 12 Patienten waren an einem fortgeschrittenen Tumorleiden erkrankt. Das Kollektiv umfasste folgende Tumorarten:

3 Kolorektale Karzinome, 2 Schilddrüsenkarzinome (1 medulläres, 1 follikuläres), 2 Gallenblasenkarzinome, 2 Pankreaskarzinome, und je ein Mammakarzinom, Magenkarzinom und Leiomyosarkom (Tab.2). Bei allen Patienten war ein Tumor- und/oder Metastasenbefall der Leber ausgeschlossen worden oder betrug weniger als 10% (Patienten 5, 11 und 12) (Tab.2).

Alle Patienten mit Ausnahme der Patienten 10, 11 und 12 wiesen gänzlich der Norm entsprechende Leberfunktionsparameter (ASAT, ALAT, γ -GT, Gesamtbilirubin) auf (Tab. 3). Die nur geringfügigen Erhöhungen von ASAT, ALAT und γ -GT der Patienten 10 und 11 und von γ -GT des Patienten 12 bei der Norm entsprechenden Werten von Gesamtbilirubin wurden nicht als Anlass für eine Nichteinbeziehung dieser Patienten in die Gruppe der Kontrollpatienten bewertet. Alle Patienten wiesen mit Ausnahme des grenzwertigen Verhaltens des Patienten 5 der Norm entsprechende Kreatininclearance-Werte auf. Gemäß den vorgegebenen Ein-/Ausschlusskriterien wies keiner der Patienten eine eingeschränkte Knochenmarkreserve auf. Die Leberparameter der 12 Patienten zum Zeitpunkt ihres Einschlusses in die Untersuchungen sind im Einzel- und Mittelwertverhalten in Tabelle 3 wiedergegeben.

Eine Begleitmedikation während des gesamten Untersuchungszeitraumes wurde mit Ausnahme der Patienten 9 (Gabe von Humaninsulin) und 7 (analgetische Dihydrocodeingabe bei Bedarf) bei keinem der 12 Patienten vorgenommen.

Alle 12 Patienten waren vor Einbeziehung in die vorliegenden Untersuchungen einer kombinierten Chemotherapie interindividuell variierend zwischen 2-7 Zyklen unterzogen worden. Eine operative Behandlung mit kurativem oder palliativem Ansatz war bei 11

Patienten vorausgegangen. Bei 4 Patienten war zusätzlich eine Strahlentherapie durchgeführt worden. Eine tumorspezifische Therapie mittels Operation, Radiatio oder Chemotherapie lag bei allen Patienten mindestens 4 Wochen zurück.

Tab.1 Demographische Daten von 12 Tumorpatienten mit normaler Leberfunktion

Pat.Nr.	Initial.	Alter (Jahre)	Geschl.	Körper- größe (cm)	Körper- gewicht (kg)	BMI (kg/m ²)	Karnofsky Index (%)
201	HP	73	M	167	62,0	22,23	70
202	WB	62	M	175	81,0	26,45	90
203	HK	46	F	160	64,9	25,35	90
204	AF	60	F	173	77,5	25,89	70
205	IJ	67	F	156	73,0	30,00	70
206	GH	71	M	175	73,0	23,84	70
207	BB	52	F	173	60,0	20,05	60
208	RW	77	M	186	99,0	28,62	80
209	SG	59	F	161	65,0	25,08	80
210	JM	60	M	174	75,0	24,77	90
211	RP	61	F	156	68,0	27,94	90
212	HH	58	F	151	51,0	22,37	90
M		62,17		167,3	70,78	25,216	79,2
SD		8,75		10,4	12,19	2,856	10,8

Tab. 2 Untersuchungsbefund der Leber und zugrundeliegender Primärtumor von 12 Tumorpatienten mit normaler Leberfunktion

Patient	Art der Neoplasie	Untersuchungsmethode/Leberbefund
201	Fortgeschrittenes Magenkarzinom	Sono- Abdomen: kein Anhalt für Lebermetastasen CT- Abdomen: kein Anhalt für Lebermetastasen
202	Metastasiertes medulläres Schilddrüsenkarzinom	Sono- Abdomen: kein Anhalt für Lebermetastasen
203	Metastasiertes	Sono- Abdomen: kein Anhalt für Lebermetastasen

	follikuläres Schilddrüsenkarzinom	
204	Retroperitoneales Leiomyosarkom	Sono- Abdomen: kein Anhalt für Lebermetastasen
205	Metastasiertes Gallenblasenkarzinom	CT- Abdomen: 1 Metastase 10 mm Durchmesser am Übergang vom rechten zum linken Leberlappen, eine weitere Metastase 10 mm Durchmesser rechter LL, Segment 6
206	Metastasiertes Mammakarzinom	Sono- Abdomen: kein Anhalt für Lebermetastasen CT- Abdomen: kein Anhalt für Lebermetastasen
207	Inoperables Pankreaskarzinom	Sono- Abdomen: kein Anhalt für Lebermetastasen
208	Metastasiertes Gallenblasenkarzinom	CT- Abdomen: Verdacht auf peritoneale Metastasen im Gallenblasenbett, keine Lebermetastasen
209	Metastasiertes Pankreaskarzinom	Sono- Abdomen: kein Anhalt für Lebermetastasen CT- Abdomen: kein Anhalt für Lebermetastasen
210	Rektumkarzinom	CT- Abdomen: kein Anhalt für Lebermetastasen
211	Metastasiertes Kolonkarzinom	Sono- Abdomen: Lebermetastase Segment 6 2,8× 2,2 cm
212	Metastasiertes Kolonkarzinom	Sono- Abdomen: 2 Metastasen rechter LL (1,5 und 2,5 cm)

Tab.3 Laborspezifische Ausgangsbefunde (Werte von Laborparametern vor Gabe von Bendamustin) von 12 Tumorpatienten mit normaler Leberfunktion

Pat. Nr.	ASAT μmol/lxs	ALAT μmol/lxs	γGT dto	Bilirubin total μmol/l	Kreatinin μmol/l	Harnstoff mmol/l	Kreatininclearance ml/min	PTT sec	Quick %	Hämoglobin mmol/l	Leukozyten 10 ⁹ /l	Thrombozyten 10 ⁹ /l
201	0,15	0,18	0,19	9,7	76,4	6,18	66,76	33,0	93,2	8,5	4,7	255
202	0,15	0,12	0,17	8,9	77,9	5,43	99,58	35,9	89,7	10,3	7,0	236
203	0,19	0,20	0,15	8,5	50,0	5,30	127,33	32,1	86,4	9,3	6,5	217
204	0,27	0,16	0,66	16,6	80,7	4,51	80,18	44,7	69,3	7,8	7,7	187
205	0,48	0,51	0,69	17,0	95,0	8,10	58,54	32,7	91,5	9,1	7,8	326
206	0,17	0,13	0,22	8,7	54,5	4,83	113,47	35,5	71,5	8,1	8,9	305
207	0,10	0,10	0,70	8,5	48,5	5,74	113,61	28,1	79,0	7,4	9,2	226
208	0,16	0,18	0,44	9,2	84,5	6,62	90,62	41,2	82,6	8,5	8,0	195
209	0,13	0,20	0,22	8,5	51,3	4,88	107,11	36,6	92,3	10,3	4,4	162
210	0,79	0,71	2,44	8,8	116,0	5,30	83,68	26,2	120,0	7,9	8,1	324
211	0,64	0,77	0,88	13,6	67,0	4,00	89,07	27,7	119,3	8,1	5,0	147
212	0,38	0,36	1,04	4,3	49,0	4,60	84,97	26,1	115,0	7,8	9,7	441
M	0,30	0,30	0,65	10,21	70,00	5,46	92,91	33,3	90,05	8,58	7,25	251,8
SD	0,23	0,23	0,64	3,67	22,30	1,11	20,18	5,86	15,82	0,97	1,77	84,2

4.1.2. Patienten mit hepatozellulärem Karzinom und eingeschränkter Leberfunktion (HCC-Gruppe)

In die Gruppe der Patienten mit hepatozellulärem Karzinom und eingeschränkter Leberfunktion wurden 13 Patienten, 11 männliche und 2 weibliche, einbezogen (Tab.4).

Der Patient der Nummer 2 wurde nicht in die studienspezifische Auswertung einbezogen, da er zum Zeitpunkt der Ausgangsbefunderhebung mit einer Kreatininclearance von 38,8 ml/min Zeichen einer mittelgradigen Nierenfunktionseinschränkung aufwies.

Das Alter der Patienten lag zwischen 43 und 78 Jahren, im Mittel bei 62,3 Jahren, ihr body mass index zwischen 19,1 und 34,7 kg/m², im Mittel bei 28,1 kg/m². Der Karnofsky-Index der Patienten variierte zwischen 70 und 100% und wurde im Mittel zu 84,2% bestimmt.

Mittels Sonographie, Computer- und/oder Magnetresonanztomographie wurden an allen 13 Patienten große Tumorknoten und/oder multiple Knoten in unterschiedlichen Lebersegmenten diagnostiziert (Tab. 5). An 10 der 13 Patienten vorgenommene leberbiopsische Untersuchungen belegten an allen 10 Patienten zum einen G1 und G2 Differenzierungsgrade der Lebertumoren (Tab. 5) und zum anderen das Bestehen einer Leberzirrhose. Die Patienten waren bis dato keiner auf das hepatozelluläre Karzinom gerichteten systemischen Chemotherapie unterzogen worden oder waren mit einer transarteriellen Chemoembolisation (TACE, Lipiodol plus Doxorubicin), Radiofrequenz-Thermoablation (RFTA) oder Lebersegmentresektion behandelt worden. Entsprechend dem im fortgeschrittenen Verlauf der Studie eingetretenen Zulassungsstatus von Sorafenib zur Behandlung des HCC waren die beiden letzten Patienten der Studie (Pat.Nr. 13 und 14) einer vorausgegangenen 3- monatigen Therapie mit Sorafenib unterzogen worden.

Die Patienten befanden sich sämtlich in klinisch und laborchemisch definiertem Child-Pugh Stadium A (9 Patienten) oder B (4 Patienten) und wiesen mittelgradige bis ausgeprägte Erhöhungen in den Leberfunktionsparametern ASAT, ALAT, γ -GT und Gesamtbilirubin auf (Tab.6). Von den 13 untersuchten Patienten waren Erhöhungen über den Normwert für γ -GT in 13 (100%), für ASAT in 10 (77%), für Gesamtbilirubin in 8 (62%) und für ALAT in 4 (31%) Patienten nachweisbar. Bei keinem der 13 Patienten lag ein Gesamtbilirubinspiegel von mehr als 51 μ mol/l im Sinne einer möglichen Verletzung des Einschlusskriteriums (folglich Pkt. 3.1.2.2.) vor.

Alle Patienten wiesen mit Ausnahme des grenzwertigen Verhaltens des Patienten 13 der Norm entsprechende Kreatininclearancewerte auf (Tab.6).

Gemäß den vorgegebenen Ein-/Ausschlusskriterien wies keiner der 13 untersuchten Patienten eine eingeschränkte Knochenmarkreserve auf. Die Einbeziehung der Patienten 5 und 7 mit Thrombozytenausgangswerten von 77000 bzw. 80000 Zellen/ μ l (Tab.6) ist insofern gerechtfertigt, als dass beide Patienten vor Gabe der Prüfmedikation Bendamustin bislang keine tumorchemotherapeutische Vorbehandlung erfahren hatten (folglich Pkt. 3.1.3.).

Patienten mit hepatozellulärem Karzinom waren vergleichsweise stärker als die Patienten der Kontrollgruppe einer begleitenden medikamentösen Therapie unterzogen. Dies betraf eine saluretische/diuretische Therapie mit Spironolacton und/oder Torasemid (Pat.1, 3, 5, 7, 11, 14), eine Herz- Kreislauf- aktive Therapie mit Propanolol, Carvedilol, Valsartan/Hydrochlorothiazid, Amlodipin oder Ramipril (Pat. 1, 3, 7, 8, 10, 11, 12, 13, 14), eine Therapie mit Omeprazol bzw. Esomeprazol (Pat. 1, 3, 10, 14), eine urikostatische Therapie mit Allopurinol (Pat. 4, 7, 11, 14), eine Therapie mit Humaninsulin (Pat. 3, 4, 7, 9), eine analgetische Therapie mit Metamizol (Pat. 5, 6, 10) und eine thrombozytenaggregationshemmende Therapie mit ASS 100 (Pat. 11).

Mit Ausnahme der bereits dargelegten HCC-spezifischen Vortherapie war an allen 13 Patienten keine weitere tumorspezifische Therapie geführt worden. Die HCC- spezifischen Vortherapien lagen mindestens vier Wochen vor Gabe von Bendamustin zurück.

Tab. 4 Demographische Daten von 13 Patienten mit hepatozellulärem Karzinom und eingeschränkter Leberfunktion

Pat.Nr.	Initial.	Alter (Jahre)	Geschl.	Körper- größe (cm)	Körper- gewicht (kg)	BMI (kg/m ²)	Karnofsky Index (%)
001	RK	58	M	175	88	28,73	70
002	KH	66	M	170	76	26,30	70
003	HK	63	M	168	98	34,72	70
004	BB	58	F	176	100	32,28	100
005	GF	71	M	168	72	25,51	80
006	CR	43	F	162	50	19,05	100
007	JQ	53	M	171	96	32,83	70
008	RD	62	M	171	93,6	32,01	70
009	HD	75	M	178	85	26,83	70
010	NG	60	M	170	79	27,34	100
011	OG	78	M	171	74	25,31	100

012	AH	58	M	172	87	29,41	90
013	HH	66	M	175	76	24,82	80-90
014	CK	65	M	179	84	26,21	90
M		62,31		172,0	83,28	28,081	84,2
SD		9,24		4,6	13,53	4,223	13,2

Tab.5 Untersuchungsbefund der Leber und histologisches grading von 13 Patienten mit hepatozellulärem Karzinom und eingeschränkter Leberfunktion

Patient	Untersuchungsmethode/Leberbefund	Histologischer Differenzierungsgrad
001	CT- Abdomen: S 7/8 9,6 × 9,0cm S 3 3,9 × 3,8 cm S 5 3,5 × 3,4 cm	G2
003	CT- Abdomen: Große RF im linken LL, mehrere Läsionen im rechten LL	G2
004	MRT- Leber: Leberkuppe 8,5 × 12 cm S 7 3,6 × 3,2 cm S 6 2,5 × 1,0 cm Sono- Leber: Multifokale RF	-
005	CT- Abdomen: Rechter LL 13 × 12 cm, rechter LL 2,5 × 2,5 cm, linker LL 2,5 × 2,5 cm MRT/Sonographie Leber: Befundbestätigung	G1
006	CT- Abdomen: 4,5 × 4,0 cm	-
007	CT- Abdomen: S 8 3 × 3 cm S7/8 3 × 3 cm S 2 0,7 × 0,7 cm Sono- Leber: Befundbestätigung	G2
008	MRT- Leber: Rechter LL 18 - 20 cm Sono- Leber: Rechter LL > 10 cm	G2
009	CT- Abdomen: S2/3 5,5 × 5,3 cm	G1
010	CT- Abdomen: 4,1 × 1,8 cm Sono- Leber: 10,3 × 10,3 × 7,9 cm, multiple RF in Segmenten 4-8	G2

011	MRT- Leber: S 4 3 cm S 8 3 cm S5/6 2,4 cm S 7 4,5 cm CT- Abdomen: Läsionen an folgenden Segmenten ohne Größenangabe S 4/5, S 7/8, S 6/7 und S 7	G1
012	MRT- Leber: S 6 4,9 × 4,0 × 4,6 cm Sono- Leber: Befundbestätigung	G1
013	CT- Abdomen: S 3 1,6 cm S 4 1,2 cm Sono- Leber: 3,1 cm Knospe Leberhilus, 3,1 cm in beiden LL	-
014	CT- Abdomen: S 6 9cm Sono- Leber: S 6/7 8 cm	G2

- :Histologisches grading nicht ausgeführt, RF = Raumforderung, LL = Leberlappen,
S = Segment

Tab.6 Laborspezifische Ausgangsbefunde (Werte von Laborparametern vor Gabe von Bendamustin) an 13 Patienten mit hepatozellulärem Karzinom und eingeschränkter Leberfunktion

Pat. Nr.	ASAT μmol/lxs	ALAT μmol/lxs	γGT dto	Bilirubin total μmol/l	Kreatinin μmol/l	Harnstoff mmol/l	Kreatinin-clearance ml/min	PTT sec	Quick %	Hämoglobin mmol/l	Leukozyten 10 ⁹ /l	Thrombozyten 10 ⁹ /l
001	4,38	2,80	2,20	48,4	85	5,2	90,70	48,3	77	7,4	5,9	221
003	0,73	0,61	9,46	22,9	87	8,2	92,67	32,5	96	5,8	4,6	175
004	1,08	0,79	1,41	21,0	61	4,1	122,08	31,0	105	6,7	3,9	113
005	4,28	1,85	1,58	47,3	82	9,7	64,73	35,0	76	9,0	6,7	77
006	0,76	0,32	0,95	7,0	56	3,6	78,65	38,0	100	7,0	11,5	627
007	1,92	0,64	1,76	26,2	82	13,2	108,81	39,7	75	6,5	5,4	80
008	14,61	0,78	6,95	27,8	121	12,4	64,46	28,6	97	8,3	6,4	158
009	0,48	0,36	1,48	17,0	101	6,0	58,44	31,0	93	9,2	7,1	185
010	1,68	0,84	19,14	13,0	71	3,8	95,10	38,0	86	7,5	4,5	181
011	0,62	0,40	4,55	30,0	74	5,1	66,24	36,0	94	8,7	6,4	144
012	1,08	0,46	2,12	47,0	91	3,6	83,76	43,0	59	8,2	8,0	115
013	0,84	0,69	1,64	16,9	116	4,1	51,80	36,4	93	12,4	6,7	222
014	1,16	0,63	16,80	9,3	85	4,1	79,19	-	-	10,6	3,8	137
M	2,58	0,86	5,39	25,68	85,5	7,8	81,28	36,46	87,6	8,26	6,22	187,3
SD	3,84	0,70	6,14	14,21	18,9	3,7	20,46	5,54	13,3	1,80	2,03	140,1

4.1.3. Vergleich zwischen Patienten der Kontrollgruppe und Patienten mit hepatozellulärem Karzinom

Hinsichtlich der allgemeinen Basisdaten Alter, Körpergröße und Karnofsky-Index unterschieden sich beide Patientengruppen nicht. Patienten mit HCC wiesen gegenüber Patienten der Kontrollgruppe ein gesichert ($p < 0,025$) höheres Körpergewicht im Mittel von $83,3 \pm 13,5$ kg gegenüber $70,8 \pm 12,2$ kg auf, wobei jedoch die body mass indices beider Patientengruppen sich nicht sicher unterschieden. Der Anteil der Frauen lag in der Gruppe der Patienten mit hepatozellulärem Karzinom niedriger als in der Kontrollgruppe (2 von 13 vs. 7 von 12).

Gemäß der gewählten Patientenselektion wiesen Patienten mit HCC in den Leberfunktionsparametern ASAT, ALAT, γ -GT und Gesamtbilirubin hochsignifikant ($p < 0,002$) höhere Werte als Patienten der Kontrollgruppe auf. Ihre Mittelwerte, in den Tabellen 3 und 6 wiedergegeben, wurden an HCC-Patienten mehr als 8fach höher für ASAT und γ -GT und mehr als 2,5fach höher für ALAT und Gesamtbilirubin gegenüber Patienten der Kontrollgruppe gefunden. Beide Patientengruppen wiesen eine unbeeinträchtigte Nierenfunktion auf. Die dem Normbereich zuzuordnenden Kreatininclearancewerte beider Patientengruppen unterschieden sich nicht.

Nicht unterschiedlich wurden auch die Ausgangswerte für die partielle Thromboplastinzeit (PTT) und den Quick und für die hämatologischen Basisdaten Hämoglobin, Leukozyten und Lymphozyten zwischen beiden Patientengruppen gefunden.

Bei erheblichen interindividuellen Unterschieden wiesen jedoch Patienten mit HCC zum Startzeitpunkt der Untersuchungen gesichert ($p < 0,01$) niedrigere Thrombozytenwerte im Mittel von $187300 \pm 140100/\mu\text{l}$ gegenüber Patienten der Kontrollgruppe im Mittel von $251800 \pm 84200/\mu\text{l}$ auf.

4.2. Pharmakokinetik von Bendamustin und seinen Metaboliten

Nachfolgend wird das kinetische Verhalten von Bendamustin und seinen Hauptmetaboliten γ -Hydroxy-bendamustin, N-Desmethyl-bendamustin und Monohydroxy-bendamustin im Plasma an 13 Patienten mit hepatozellulärem Karzinom und eingeschränkter Leberfunktion (HCC-Gruppe) im Vergleich zu 12 Patienten mit normaler Leberfunktion (Kontrollgruppe) wiedergegeben.

In Tabelle 7 sind die mittleren Plasmakonzentrationen nebst Standardabweichungen für die 4 Substanzen getrennt für beide Patientengruppen über den Analysezeitraum von 8 Stunden dargestellt.

Tab.7 Mittlere Plasmakonzentrationen und zugehörige Standardabweichungen von Bendamustin und seinen Metaboliten γ -Hydroxy-bendamustin, N-Desmethyl-bendamustin und Monohydroxy-bendamustin über einen Analysezeitraum von 8 Stunden nach intravenöser Infusion mit konstanter Infusionsrate über 30 min von 120 mg/m² Bendamustinhydrochlorid an 12 Patienten mit normaler Leberfunktion (Kontrollgruppe) und 13 Patienten mit hepatozellulärem Karzinom und eingeschränkter Leberfunktion (HCC-Gruppe)

Bendamustin

Zeit	Kontrollgruppe		HCC-Gruppe	
	Mean	SD	Mean	SD
Predose	0,0	0,0	0,0	0,0
5 min	3074,7	2109,5	3005,9	1759,2
10 min	5085,2	2700,9	5348,0	2373,2
15 min	7125,8	3652,8	7547,9	3299,5
20 min	8319,3	4524,3	9695,1	4292,3
25 min	9339,8	5479,0	11251,9	5121,0
30 min	10499,1	6127,7	12389,6	5592,9
35 min	8882,0	6527,2	12148,0	5653,2
40 min	8354,5	7180,8	11262,1	5503,6
45 min	7465,1	7120,2	10038,4	5118,5
50 min	6672,1	6221,0	8953,9	4629,9
60 min	5372,8	5493,5	7212,2	4174,9
75 min	3407,4	4545,9	5456,7	3600,4
90 min	2642,8	3557,8	4201,0	3325,1
110 min	1833,3	2906,8	2945,5	2988,9
140 min	1119,1	2064,5	1891,3	2345,1
3 h	671,6	1388,2	957,8	1673,1
4 h	267,6	835,4	313,8	908,3
6 h	29,2	392,2	46,3	332,7
8 h	5,8	39,2	8,6	53,1

γ-Hydroxy-bendamustin

Zeit	Kontrollgruppe		HCC-Gruppe	
	Mean	SD	Mean	SD
Predose	0,0	0,0	0,0	0,0
5 min	22,7	38,9	1,0	1,3
10 min	38,5	57,7	9,6	10,1
15 min	77,7	72,9	25,8	21,8
20 min	137,5	102,2	54,2	43,7
25 min	221,3	143,3	86,6	68,5
30 min	292,1	188,9	118,1	95,6
35 min	328,3	193,3	160,9	130,4
40 min	390,9	180,1	194,2	160,4
45 min	415,9	203,9	229,5	188,9
50 min	428,3	241,8	249,5	216,7
60 min	388,8	255,6	251,2	234,4
75 min	283,4	248,1	204,0	209,7
90 min	191,2	229,8	165,0	155,2
110 min	120,7	187,4	112,3	115,0
140 min	75,2	130,4	68,1	75,4
3 h	43,8	95,9	32,8	50,4
4 h	11,0	58,3	11,0	26,7
6 h	1,7	13,0	2,0	10,0
8 h	0,4	3,1	0,5	2,1

N-Desmethyl-bendamustin

Zeit	Kontrollgruppe		HCC-Gruppe	
	Mean	SD	Mean	SD
Predose	0,0	0,0	0,0	0,0
5 min	2,9	4,8	0,0	0,0
10 min	4,0	6,6	1,0	1,4
15 min	13,7	18,2	3,0	3,3
20 min	17,4	20,2	6,8	6,7
25 min	29,5	20,6	11,4	10,6

30 min	39,4	25,7	16,4	14,8
35 min	49,0	27,8	23,0	20,4
40 min	63,5	36,6	28,3	25,2
45 min	70,4	44,8	34,5	30,0
50 min	77,8	52,6	40,2	36,1
60 min	73,9	56,3	43,6	41,2
75 min	63,1	57,2	38,7	39,0
90 min	46,6	56,9	33,8	32,4
110 min	31,9	48,2	24,5	25,7
140 min	21,3	38,9	15,8	17,4
3 h	12,9	31,0	7,9	11,6
4 h	2,9	18,6	2,3	6,1
6 h	0,1	4,1	0,1	2,0
8 h	0,0	0,0	0,0	0,0

Monohydroxy-bendamustin

Zeit	Kontrollgruppe		HCC-Gruppe	
	Mean	SD	Mean	SD
Predose	0,0	0,0	0,0	0,0
5 min	153,9	102,6	85,6	61,3
10 min	184,1	98,5	147,6	71,6
15 min	232,9	117,0	198,5	78,6
20 min	227,8	120,0	255,6	100,7
25 min	274,5	116,5	295,7	111,8
30 min	270,8	120,4	325,9	114,0
35 min	190,2	111,4	309,5	108,1
40 min	185,7	85,3	283,5	99,4
45 min	145,8	87,3	242,5	88,7
50 min	142,8	68,1	209,3	65,1
60 min	102,1	64,0	165,7	48,6
75 min	79,3	56,6	128,7	38,8
90 min	56,0	48,2	97,9	39,5
110 min	41,5	37,5	68,8	36,1

140 min	28,4	29,8	42,7	30,0
3 h	22,2	27,0	21,5	23,7
4 h	19,0	25,2	7,2	15,6
6 h	0,4	19,3	0,9	8,7
8 h	0,0	0,0	0,0	0,0

Angaben in ng/ml; predose- Konzentrationen von allen 4 Substanzen sämtlich 0,0 ng/ml; Konzentration im Zeitraum der ersten 30 Minuten unter laufender Infusion von Bendamustinhydrochlorid.

4.2.1. Bendamustin

Die pharmakokinetischen Parameter von Bendamustin im Einzel- und Mittelwertverhalten an 12 Patienten der Kontrollgruppe und 13 Patienten der HCC-Gruppe sind in den Tabellen 8 und 9 dargestellt. Das Mittelwertverhalten der Bendamustinkonzentrationen im Plasma beider Patientengruppen ist in Abbildung 2 wiedergegeben.

Entsprechend der 30 Minuten währenden intravenösen Infusionen mit konstanten Infusionsraten werden maximale Plasmakonzentrationen am Ende der Applikation im Mittel nach 29,6 Minuten in der Kontrollgruppe und nach 36,2 Minuten in der HCC-Gruppe ermittelt. Diese T_{max} -Werte unterscheiden sich nicht signifikant zwischen beiden Patientengruppen und zeigen eine nur gering ausgeprägte interindividuelle Variation. Die zugehörigen c_{max} -Werte werden in der HCC-Gruppe im Vergleich zur Kontrollgruppe tendenziell, jedoch nicht statistisch sicher höher gefunden (13,6 vs. 10,8 $\mu\text{g/ml}$) und weisen eine erhebliche, bis zu 9fache interindividuelle Variation auf. Analog zum Verhalten der c_{max} -Werte liegen auch die AUC-Werte tendenziell, jedoch nicht statistisch sicher höher in der HCC-Gruppe als in der Vergleichsgruppe (15,8 vs. 11,6 $\text{h}\times\mu\text{g/ml}$) und zeigen eine noch ausgeprägtere interindividuelle Variation als die c_{max} -Werte. Bendamustin zeigt das aus anderen Untersuchungen bekannte rasche Eliminationsverhalten aus Plasma mit mittleren Halbwertszeiten der terminalen Eliminationsphase von weniger als einer Stunde und hohen Clearancewerten. Vorliegend wird eine statistisch gesichert ($p < 0,01$) längere terminale Eliminationshalbwertszeit in der Gruppe der HCC-Patienten gegenüber der Kontrollgruppe bestimmt (47,1 vs. 32,8 min), wobei diese interindividuell innerhalb der Gruppen nur zu 3-4fach variiert. Die Clearance für Bendamustin wird im Mittel in der HCC-Gruppe zu mehr als 50% niedriger als in der Kontrollgruppe (304 vs. 639 ml/min) ermittelt, jedoch erlangt dieser Unterschied keine statistische Sicherheit. Die sehr beträchtliche interindividuelle Variation

der Clearancewerte vor allem innerhalb der Kontrollgruppe sollte hierfür verantwortlich gemacht werden können.

Nicht unterschiedlich zwischen beiden Patientengruppen werden die mittlere Verweildauer (MRT), das Verteilungsvolumen im steady state (V_{ss}) und das körperrgewicht-standardisierte Verteilungsvolumen im steady state für Bendamustin gefunden (sämtlich $p > 0,05$).

Tab.8 Pharmakokinetische Parameter von Bendamustin an 12 Patienten mit normaler Leberfunktion (Kontrollgruppe) nach intravenöser Gabe von 120 mg/m² Bendamustinhydrochlorid über 30 min

Pat. Nr.	T _{1/2} min	T _{max} min	C _{max} ng/ml	AUC _{last} h×ng/ml	AUC h×ng/ml	MRT min	V _{ss} ml	V _{ss} ml/kg	Cl ml/min
1	52,5	30	10487,4	9500,3	9509,2	35,5	11529,4	186,0	324,5
2	19,0	20	2987,6	1772,3	1774,4	13,4	26889,0	332,0	2012,0
3	21,4	25	10209,4	6366,5	6361,4	19,1	9170,4	141,3	480,3
4	37,8	30	13484,9	22809,1	22820,1	73,8	11252,7	145,2	152,5
5	48,5	25	18562,1	29318,4	29366,3	71,2	7627,1	104,5	107,1
6	28,4	30	5087,6	3246,9	3245,9	26,7	28079,7	384,7	1053,3
7	36,0	30	4997,6	4607,4	4607,1	34,6	23370,8	389,5	676,4
8	39,7	30	12543,9	14252,5	14255,6	46,6	13356,3	134,9	286,5
9	29,7	20	3401,6	2032,9	2031,9	17,1	25860,1	397,8	1511,3
10	12,3	45	11709,9	10502,7	10500,8	29,8	9796,4	130,6	328,5
11	33,6	40	27607,0	31364,6	31369,1	60,4	5887,9	86,6	97,4
12	34,4	35	8282,1	4109,8	4108,9	10,6	6816,1	133,6	640,6
Mean	32,8	29,6	10780,1	11657,0	11662,6	36,6	14969,7	213,9	639,2
SD	11,6	7,2	7023,7	10587,8	10597,1	21,9	8499,4	123,0	601,3
Min	12,3	20,0	2987,6	1772,3	1774,4	10,6	5887,9	86,6	97,4
Max	52,5	45,0	27607,0	31364,6	31369,1	73,8	28079,7	397,8	2012,0

Tab.9 Pharmakokinetische Parameter von Bendamustin an 13 Patienten mit hepatozellulärem Karzinom und eingeschränkter Leberfunktion (HCC-Gruppe) nach intravenöser Gabe von 120 mg/m² Bendamustinhydrochlorid über 30 min

Pat. Nr.	T _{1/2} min	T _{max} min	C _{max} ng/ml	AUC _{last} h×ng/ml	AUC h×ng/ml	MRT min	V _{ss} ml	V _{ss} ml/kg	Cl ml/min
1	28,0	30	11733,9	11003,9	11005,5	35,8	12038,4	136,8	336,0
3	51,0	75	6226,1	9528,5	9532,7	42,5	16750,2	170,9	394,2
4	42,2	35	18549,1	22204,5	22212,3	54,6	9646,3	96,5	176,5
5	40,5	30	9824,1	9196,0	9197,7	40,7	14946,8	207,6	367,1
6	63,8	30	15298,5	11481,6	11482,9	25,8	6165,2	123,3	238,7
7	33,4	30	5822,7	4523,1	4524,4	31,6	22127,9	230,5	701,3
8	43,5	40	10996,6	11697,6	11700,2	44,1	13769,3	147,6	312,5
9	48,6	25	20367,5	19020,9	19035,3	49,3	9534,7	112,2	193,6
10	44,4	45	11387,2	10239,2	10240,1	38,6	13544,3	171,4	351,0
11	46,3	30	18663,7	31722,5	31765,5	80,7	8578,3	115,9	106,3
12	40,7	30	17256,9	25507,6	25524,2	73,6	10464,8	120,3	142,2
13	51,6	35	22945,5	32191,7	32212,3	57,3	6176,4	81,3	107,9
14	78,6	35	7678,1	7104,2	7109,4	33,3	17260,9	205,5	518,3
Mean	47,1	36,2	13596,1	15801,6	15811,0	46,8	12384,9	147,7	303,5
SD	12,9	12,8	5619,0	9322,8	9333,1	16,2	4643,4	46,2	172,2
Min	28,0	25,0	5822,7	4523,1	4524,4	25,8	6165,2	81,3	106,3
Max	78,6	75,0	22945,5	32191,7	32212,3	80,7	22127,9	230,5	701,3

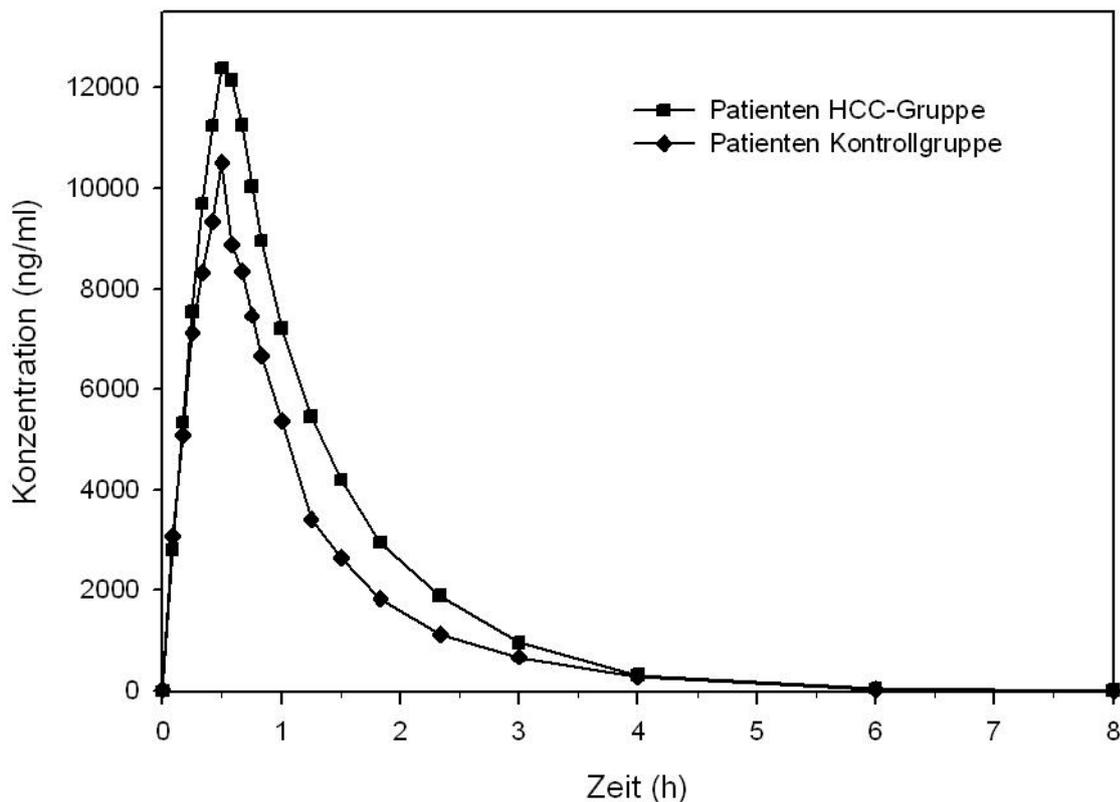


Abb.2 Mittelwertverhalten der Plasmakonzentrationen von Bendamustin nach Gabe von 120 mg/m² Bendamustinhydrochlorid an 12 Tumorpatienten mit normaler Leberfunktion (Kontrollgruppe) und 13 Patienten mit eingeschränkter Leberfunktion (HCC-Gruppe). Zeitpunkt 0: Start der 30 Minuten währenden Infusion von Bendamustinhydrochlorid.

4.2.2. γ -Hydroxy-bendamustin

Die pharmakokinetischen Parameter von γ -Hydroxy-bendamustin im Einzel- und Mittelwertverhalten an 12 Patienten der Kontrollgruppe und 13 Patienten der HCC-Gruppe sind in den Tabellen 10 und 11 wiedergegeben. Das Mittelwertverhalten der Plasmakonzentrationen von γ -Hydroxy-bendamustin beider Patientengruppen ist in Abb. 3 dargestellt.

Die mittleren γ -Hydroxy-bendamustin/Bendamustin-Quotienten liegen für c_{\max} in der Kontrollgruppe bei 0,047, in der HCC-Gruppe bei 0,020, jene für die AUC der Kontrollgruppe bei 0,051, in der HCC-Gruppe bei 0,025.

Entsprechend der Bildung von γ -Hydroxy-bendamustin aus Bendamustin werden maximale Plasmaspiegel an γ -Hydroxy-bendamustin später erreicht als jene für Bendamustin und zudem in der HCC-Gruppe später als in der Kontrollgruppe. Der mittlere T_{\max} -Wert wird mit 60,4 min gesichert ($p < 0,05$) höher in der HCC-Gruppe als jener in der Kontrollgruppe mit 47,1

min gefunden. Auch die mittlere maximale Plasmakonzentration wird in der HCC-Gruppe mit 273 ng/ml gesichert ($p < 0,05$) niedriger als in der Kontrollgruppe mit 506 ng/ml ermittelt. Tendenziell, jedoch nicht gesichert wird eine niedrigere Gesamt-AUC in der HCC-Gruppe gegenüber der Kontrollgruppe ermittelt (391 vs. 594 h \times ng/ml).

γ -Hydroxy-bendamustin zeigt eine im Wesentlichen dem Bendamustin analoge Eliminationskinetik aus Plasma mit mittleren Halbwertszeiten in der terminalen Eliminationsphase im Bereich von 30-60 Minuten. In statistischer Analyse werden hierbei grenzwertig (jeweils $p = 0,06$) längere Zeiten für $t_{1/2}$ und MRT in der HCC-Gruppe (45 und 77 min) gegenüber der Kontrollgruppe (35 und 59 min) ermittelt.

Tab.10 Pharmakokinetische Parameter von γ -Hydroxy-bendamustin an 12 Patienten mit normaler Leberfunktion (Kontrollgruppe) nach intravenöser Gabe von 120 mg/m² Bendamustinhydrochlorid über 30 min

Pat. Nr.	T _{1/2} (min)	T _{max} (min)	C _{max} (ng/ml)	AUC _{last} (h \times ng/ml)	AUC (h \times ng/ml)	MRT (min)
1	44,9	50	557,8	596,4	597,6	55,1
2	21,9	40	241,0	223,7	224,7	35,1
3	35,4	35	953,1	758,3	760,8	37,4
4	44,5	60	115,1	200,6	212,8	96,9
5	56,0	50	656,6	1349,4	1355,1	103,0
6	16,0	50	273,6	251,3	251,9	44,2
7	31,4	50	560,0	588,5	592,5	52,9
8	44,4	45	336,2	440,6	455,1	72,6
9	32,1	35	281,5	226,5	227,8	42,9
10	13,1	60	542,4	439,6	440,3	52,1
11	37,6	60	1001,6	1618,9	1619,6	89,4
12	41,5	30	553,2	383,5	384,6	25,9
Mean	34,9	47,1	506,0	589,8	593,6	59,0
SD	12,8	10,3	275,3	455,7	455,1	25,6
Min	13,1	30,0	115,1	200,6	212,8	25,9
Max	56,0	60,0	1001,6	1618,9	1619,6	103,0

Tab.11 Pharmakokinetische Parameter von γ -Hydroxy-bendamustin an 13 Patienten mit hepatozellulärem Karzinom und eingeschränkter Leberfunktion (HCC-Gruppe) nach intravenöser Gabe von 120 mg/m² Bendamustinhydrochlorid über 30 min

Pat. Nr.	T _{1/2} (min)	T _{max} (min)	C _{max} (ng/ml)	AUC _{last} (h×ng/ml)	AUC (h×ng/ml)	MRT (min)
1	35,2	60	19,5	27,5	29,3	67,6
3	30,6	75	99,5	165,8	168,6	68,2
4	36,0	60	141,2	233,5	240,1	78,8
5	45,0	50	86,8	125,9	130,6	77,7
6	27,6	50	576,5	628,9	631,3	51,5
7	44,0	45	35,2	45,3	46,6	66,7
8	60,4	50	656,6	918,3	920,2	70,9
9	62,1	50	299,0	499,3	501,1	82,7
10	43,7	60	812,5	836,4	838,2	60,7
11	53,9	90	235,2	624,0	626,7	115,2
12	56,8	60	45,6	100,1	102,1	106,4
13	64,6	90	269,2	540,8	543,1	94,5
14	27,0	45	265,9	300,9	302,5	54,5
Mean	45,1	60,4	272,5	388,2	390,8	76,6
SD	13,4	15,5	256,1	304,4	304,1	79,1
Min	27,0	45,0	19,5	27,5	29,3	51,5
Max	64,6	90,0	812,5	918,3	920,2	115,2

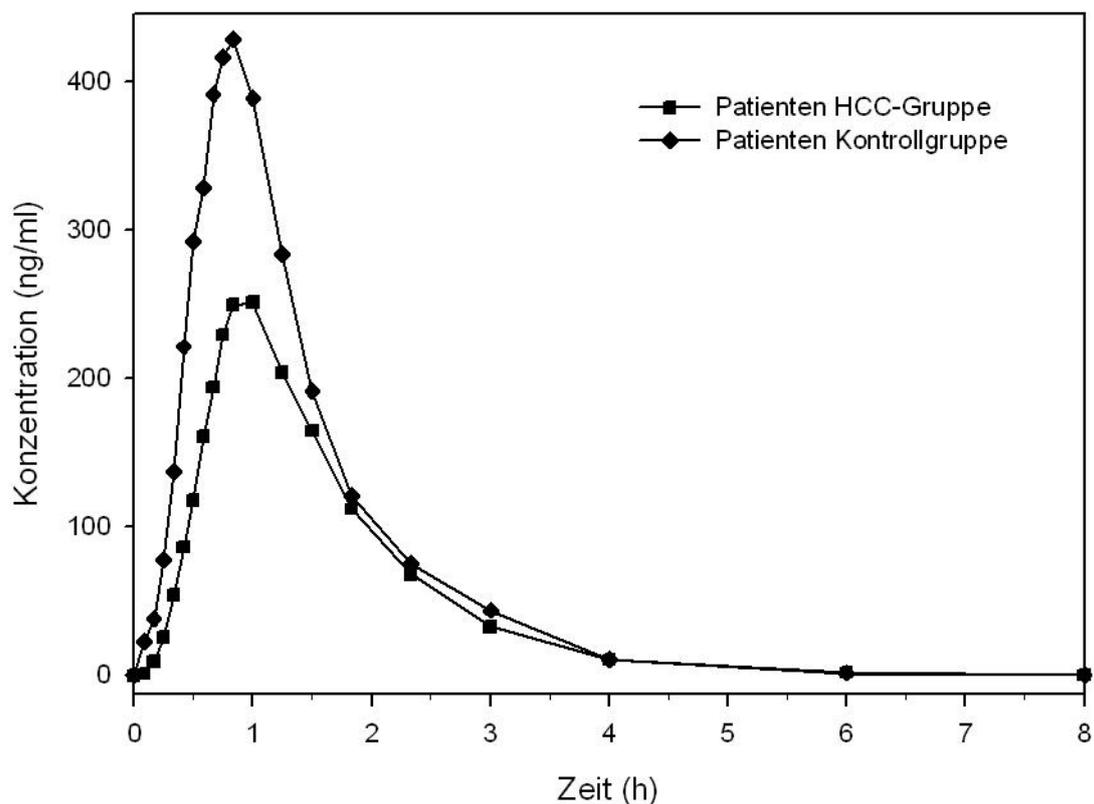


Abb.3 Mittelwertverhalten der Plasmakonzentrationen von γ -Hydroxy-bendamustin nach Gabe von 120 mg/m^2 Bendamustinhydrochlorid an 12 Tumorpatienten mit normaler Leberfunktion (Kontrollgruppe) und 13 Patienten mit eingeschränkter Leberfunktion (HCC-Gruppe). Zeitpunkt 0: Start der 30 Minuten währenden Infusion von Bendamustinhydrochlorid.

4.2.3. N-Desmethyl-bendamustin

Die pharmakokinetischen Parameter für N-Desmethyl-bendamustin im Einzel- und Mittelwertverhalten an 12 Patienten der Kontrollgruppe und 13 Patienten der HCC-Gruppe sind in den Tabellen 12 und 13 aufgeführt. Das Mittelwertverhalten der Plasmakonzentrationen von N-Desmethyl-bendamustin beider Patientengruppen ist in Abbildung 4 dargestellt.

Die mittleren N-Desmethyl-bendamustin/Bendamustin-Quotienten liegen für c_{\max} in der Kontrollgruppe bei 0,0083, in der HCC-Gruppe bei 0,0034, jene für die AUC in der Kontrollgruppe bei 0,0107, in der HCC-Gruppe bei 0,0047.

Entsprechend der Bildung von N-Desmethyl-bendamustin aus Bendamustin werden maximale Plasmaspiegel an N-Desmethyl-bendamustin später erreicht als jene für Bendamustin und zudem in der HCC-Gruppe später als in der Kontrollgruppe. Der mittlere T_{\max} -Wert in der HCC-Gruppe wird gesichert ($p < 0,05$) höher als in der Kontrollgruppe ermittelt (64,2 vs. 50,8

min). Damit resultiert für die Bildungsgeschwindigkeit für N-Desmethyl-bendamustin ein weitestgehend analoges Verhalten zu dem ebenfalls als Phase-I-Metaboliten geltenden γ -Hydroxy-bendamustin.

Während die c_{\max} -Werte für N-Desmethyl-bendamustin in der HCC-Gruppe gegenüber der Kontrollgruppe statistisch grenzwertig ($p=0,05$) erniedrigt sind (46,2 vs. 89,5 ng/ml), unterscheiden sich die AUC-Werte beider Gruppen nicht voneinander.

N-Desmethyl-bendamustin weist eine dem Bendamustin und seinem Hauptmetaboliten γ -Hydroxy-bendamustin analog rasche Elimination aus Plasma auf. Im Mittel werden die Halbwertszeiten der terminalen Eliminationsphase im Bereich von 0,5 bis einer Stunde, die Zeiten der mittleren Verweildauer (MRT) zwischen 1,0 und 1,5 Stunden bestimmt (siehe Tabellen 12 und 13). In der Gruppe der HCC-Patienten werden diese jeweils gesichert ($p < 0,05$) länger als in der Gruppe der Kontrollpatienten gefunden ($t_{1/2}$: 40,7 vs. 27,7 min, MRT: 86,2 vs. 65,1 min).

Tab.12 Pharmakokinetische Parameter von N-Desmethyl-bendamustin an 12 Patienten mit normaler Leberfunktion (Kontrollgruppe) nach intravenöser Gabe von 120 mg/m² Bendamustinhydrochlorid über 30 min

Pat. Nr.	T _{1/2} (min)	T _{max} (min)	C _{max} (ng/ml)	AUC _{last} (h×ng/ml)	AUC (h×ng/ml)	MRT (min)
1	25,0	50	98,0	102,4	104,3	55,4
2	24,2	35	34,3	32,1	33,5	46,1
3	18,8	50	164,4	125,8	126,3	40,9
4	47,8	60	25,2	52,6	57,0	109,4
5	45,9	50	176,3	386,4	416,8	106,9
6	15,3	60	36,8	30,6	32,1	44,7
7	24,8	50	108,2	118,6	120,8	55,2
8	41,7	60	35,6	50,6	52,3	77,6
9	26,1	45	28,8	31,2	31,8	55,3
10	11,9	75	91,7	92,9	93,0	59,0
11	30,7	60	186,5	369,2	370,0	97,5
12	20,8	15	88,5	65,0	65,4	32,0
Mean	27,7	50,8	89,5	121,5	125,3	65,1
SD	11,7	15,1	59,9	124,4	130,0	26,4
Min	11,9	15,0	25,2	30,6	31,8	32,0

Max	47,8	75,0	186,5	386,4	416,8	109,4
-----	------	------	-------	-------	-------	-------

Tab.13 Pharmakokinetische Parameter von N-Desmethyl-bendamustin an 13 Patienten mit hepatozellulärem Karzinom und eingeschränkter Leberfunktion (HCC-Gruppe) nach intravenöser Gabe von 120 mg/m² Bendamustinhydrochlorid über 30 min

Pat. Nr.	T _{1/2} (min)	T _{max} (min)	C _{max} (ng/ml)	AUC _{last} (h×ng/ml)	AUC (h×ng/ml)	MRT (min)
1	45,9	60	4,3	4,9	7,3	82,6
3	62,6	90	14,3	28,9	32,8	105,5
4	35,4	60	35,0	64,9	67,0	87,0
5	61,2	50	12,2	18,1	22,2	101,8
6	24,8	50	98,1	120,7	123,5	58,7
7	29,2	60	4,8	5,2	6,5	65,2
8	35,2	50	126,4	198,0	202,7	76,3
9	45,2	50	44,4	80,3	84,3	88,8
10	28,1	60	130,0	151,9	153,7	69,7
11	50,9	90	37,5	94,3	96,1	116,6
12	51,0	75	7,9	16,8	18,3	111,7
13	34,7	90	57,3	107,7	111,7	93,8
14	24,8	50	28,3	39,3	40,4	62,9
Mean	40,7	64,2	46,2	71,6	74,4	86,2
SD	13,1	16,3	44,6	60,8	61,3	19,1
Min	24,8	50,0	4,3	4,9	6,5	58,7
Max	62,6	90,0	130,0	198,0	202,7	116,6

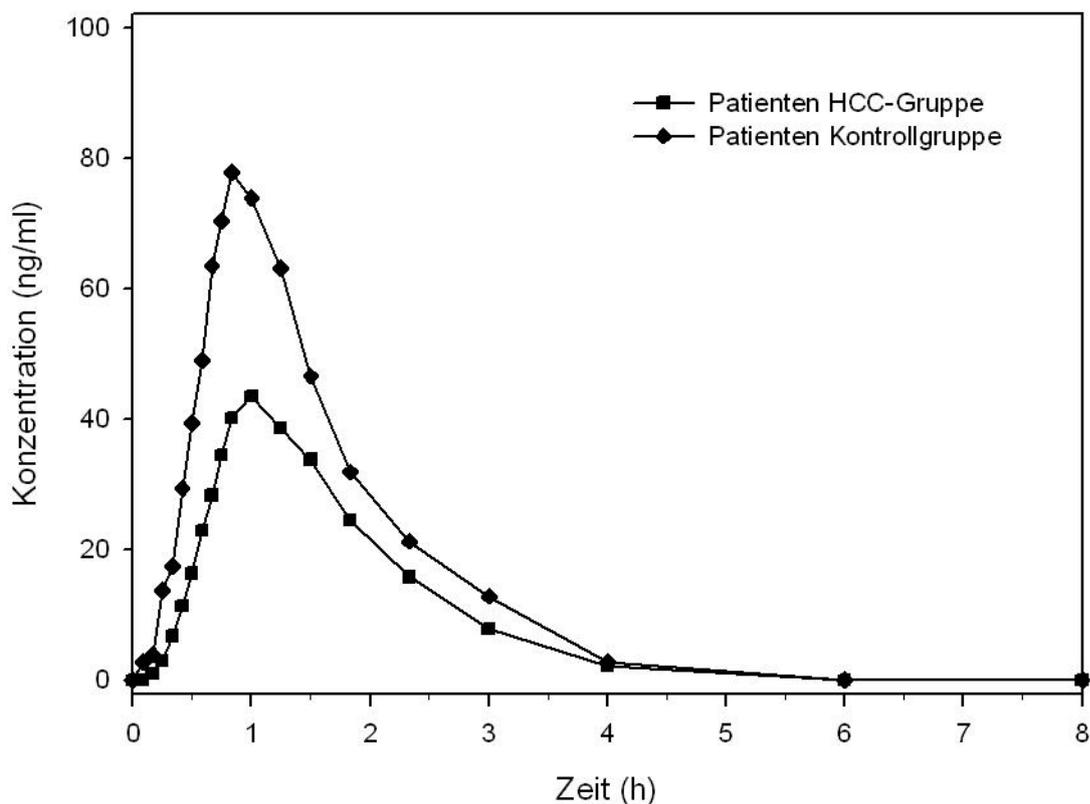


Abb.4 Mittelwertverhalten der Plasmakonzentrationen von N-Desmethyl-bendamustin nach Gabe von 120 mg/m^2 Bendamustinhydrochlorid an 12 Tumorpatienten mit normaler Leberfunktion (Kontrollgruppe) und 13 Patienten mit eingeschränkter Leberfunktion (HCC-Gruppe). Zeitpunkt 0: Start der 30 Minuten währenden Infusion von Bendamustinhydrochlorid.

4.2.4. Monohydroxy-bendamustin

Die pharmakokinetischen Parameter von Monohydroxy-bendamustin im Einzel- und Mittelwertverhalten an 12 Patienten der Kontrollgruppe und 13 Patienten der HCC-Gruppe sind in den Tabellen 14 und 15 wiedergegeben. Das Mittelwertverhalten der Plasmakonzentrationen von Monohydroxy-bendamustin beider Patientengruppen ist in Abbildung 5 dargestellt.

Die mittleren Monohydroxy-bendamustin/Bendamustin-Quotienten liegen für c_{\max} in der Kontrollgruppe bei 0,030, in der HCC-Gruppe bei 0,026, jene für die AUC in der Kontrollgruppe bei 0,029, in der HCC-Gruppe bei 0,025.

Das nichtenzymatisch, über eine Hydrolyse von Bendamustin, gebildete Monohydroxy-bendamustin folgt in seinem plasmakinetischen Ablauf prinzipiell der Kinetik von Bendamustin. Maximale Plasmakonzentrationen werden analog dem Verhalten von Bendamustin zwischen beiden Patientengruppen nicht unterschiedlich am Ende der 30

minütigen Bendamustininfusion nachgewiesen. Die T_{\max} -Werte werden im Mittel zu 28,8 Minuten in der Kontrollgruppe und zu 35,8 Minuten in der HCC-Gruppe ermittelt. Die Plasmakonzentrationen des monohydroxylierten Bendamustinderivats belaufen sich in beiden Patientengruppen auf ca. 3% der Konzentration der Muttersubstanz. Nicht unterschiedlich zwischen Patienten der Kontrollgruppe und der HCC-Gruppe belaufen sich im Mittel die c_{\max} -Konzentrationen auf 324 bzw. 360 ng/ml, die AUC-Werte auf 333 bzw. 390 h×ng/ml (siehe Tabellen 14 und 15).

Das Eliminationsverhalten von Monohydroxy-bendamustin aus Plasma wird in seiner Charakterisierung durch die Halbwertszeit der terminalen Eliminationsphase ($t_{1/2}$) und die mittlere Verweildauer (MRT) analog zu Bendamustin und seinen Metaboliten γ -Hydroxy- und N-Desmethyl-bendamustin beschrieben und nicht unterschiedlich zwischen beiden Patientengruppen gefunden. Die entsprechenden Einzel- und Mittelwerte beider Parameter sind für beide Patientengruppen Tabellen 14 und 15 zu entnehmen.

Tab.14 Pharmakokinetische Parameter von Monohydroxy-bendamustin an 12 Patienten mit normaler Leberfunktion (Kontrollgruppe) nach intravenöser Gabe von 120 mg/m² Bendamustinhydrochlorid über 30 min

Pat. Nr.	$T_{1/2}$ (min)	T_{\max} (min)	C_{\max} (ng/ml)	AUC_{last} (h×ng/ml)	AUC (h×ng/ml)	MRT (min)
1	20,1	15	214,4	156,0	156,0	27,7
2	22,9	30	464,7	304,9	308,6	21,2
3	92,6	25	219,3	205,6	233,5	81,2
4	43,8	25	387,8	476,7	481,8	109,0
5	61,2	15	539,1	422,1	445,8	60,7
6	28,9	30	130,4	92,5	97,4	23,3
7	22,8	35	174,5	169,7	174,1	33,3
8	114,0	30	339,0	411,0	526,6	134,2
9	31,9	30	422,2	287,4	295,3	23,6
10	70,5	40	317,3	393,4	470,0	107,2
11	136,9	40	374,7	497,1	642,9	148,2
12	19,3	30	306,0	153,8	161,1	18,9
Mean	55,4	28,8	324,1	297,5	332,8	65,7
SD	40,2	8,0	122,8	140,5	175,9	48,2

Min	19,3	15,0	130,4	92,5	97,4	18,9
Max	136,9	40,0	539,1	497,1	642,9	148,2

Tab.15 Pharmakokinetische Parameter von Monohydroxy-bendamustin an 13 Patienten mit hepatozellulärem Karzinom und eingeschränkter Leberfunktion (HCC-Gruppe) nach intravenöser Gabe von 120 mg/m² Bendamustinhydrochlorid über 30 min

Pat. Nr.	T _{1/2} (min)	T _{max} (min)	C _{max} (ng/ml)	AUC _{last} (h×ng/ml)	AUC (h×ng/ml)	MRT (min)
1	30,9	30	270,3	329,0	340,6	49,3
3	34,0	75	192,1	283,2	300,6	54,9
4	41,4	35	411,3	442,9	453,6	53,8
5	31,2	30	369,0	346,9	356,2	43,9
6	30,2	30	521,1	396,6	402,2	29,8
7	32,5	30	200,6	178,7	191,3	43,8
8	38,3	40	449,6	387,2	400,0	36,6
9	46,4	25	317,4	332,1	341,5	57,9
10	40,3	40	369,4	313,5	326,5	42,2
11	78,4	30	412,9	564,1	586,7	93,0
12	56,0	30	489,5	475,4	494,7	57,5
13	54,7	35	412,8	563,1	598,1	72,1
14	28,4	35	259,9	266,8	272,0	39,8
Mean	41,8	35,8	359,7	375,3	389,5	51,9
SD	14,2	12,6	105,1	113,2	118,5	16,5
Min	28,4	25,0	192,1	178,7	191,3	29,8
Max	78,4	75,0	521,1	564,1	598,1	93,0

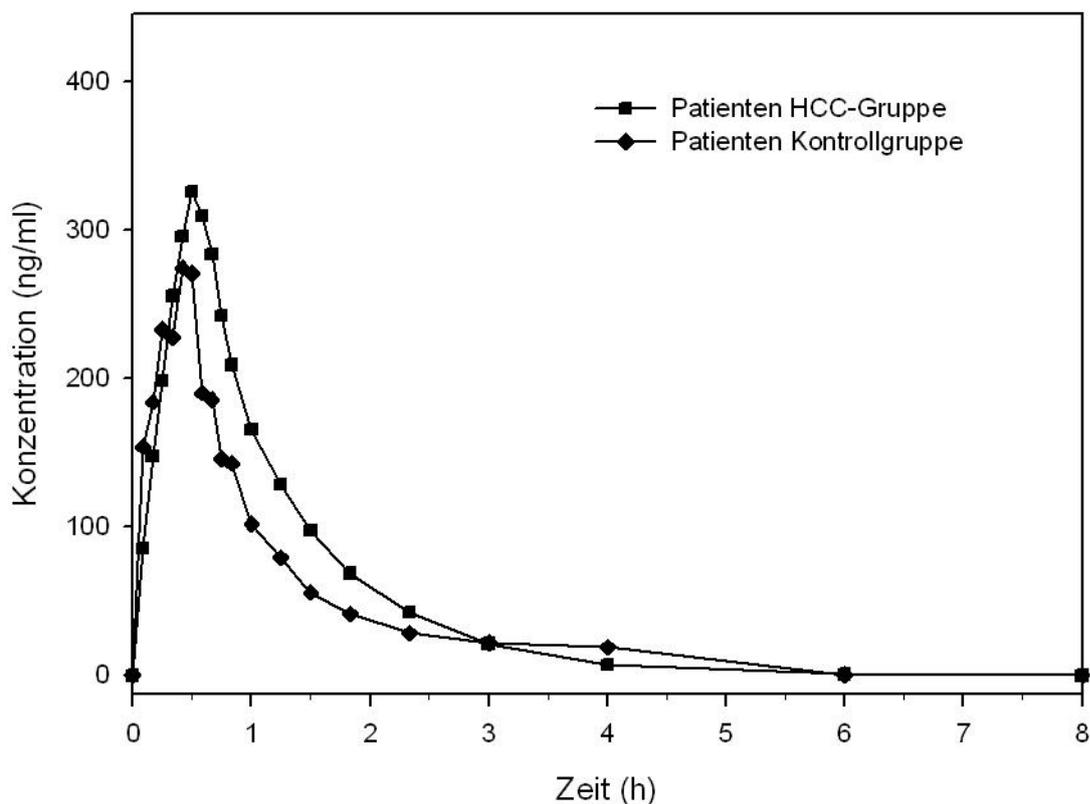


Abb.5 Mittelwertverhalten der Plasmakonzentrationen von Monohydroxy-bendamustin nach Gabe von 120 mg/m^2 Bendamustinhydrochlorid an 12 Tumorpatienten mit normaler Leberfunktion (Kontrollgruppe) und 13 Patienten mit eingeschränkter Leberfunktion (HCC-Gruppe). Zeitpunkt 0: Start der 30 Minuten währenden Infusion von Bendamustinhydrochlorid.

4.3. Verträglichkeit von Bendamustin

4.3.1. Klinisches Toxizitätsprofil

Das klinische Toxizitätsprofil von Bendamustin wurde, wie unter Pkt. 3.4. beschrieben, nach Gabe von Bendamustin in wöchentlichen Abständen bis zum Ablauf von 4 Wochen erhoben. Toxizitätsreaktionen des Grades 4 gemäß NCI/NIH Common Toxicity Criteria wurden in beiden Patientengruppen zu keinem Zeitpunkt der Untersuchungen beobachtet. Selbst Toxizitätsreaktionen des Grades 3 wurden mit Ausnahme der jeweils für einen einwöchigen Beobachtungszeitraum beobachteten Reaktionen von Mundtrockenheit bzw. Übelkeit an Patienten 4 und 11 der Kontrollgruppe und dem Auftreten einer Fieberreaktion an Patienten 10 der HCC-Gruppe nicht gefunden.

Als häufigste Unverträglichkeitsreaktionen nach Gabe von Bendamustin waren Mundtrockenheit, Übelkeit/Erbrechen und Schmeckstörungen zu verzeichnen. Nachfolgend werden die Unverträglichkeitsreaktionen nach Häufigkeit ihres Auftretens abgehandelt.

Die **Mundtrockenheit** ist die häufigste beobachtete unerwünschte klinische Wirkung und wurde in 9 Patienten der Kontrollgruppe (75 %) und 8 Patienten der HCC-Gruppe (62 %) gefunden.

Mit Ausnahme einer Grad-3-Reaktion unmittelbar nach Gabe von Bendamustin (Pat. 4 der Kontrollgruppe) trat sie als Grad-1- und 2-Reaktion auf, war jedoch längerfristig exprimiert.

Tab.16 Auftreten von Mundtrockenheit in Toxizitätsgraden nach NCI/NIH nach Gabe von Bendamustin an 12 Patienten der Kontrollgruppe (KG) und 13 Patienten der HCC-Gruppe (HCC)

Pat. Nr.	Ausgangs-Wert		W1		W2		W3		W4	
	KG	HCC	KG	HCC	KG	HCC	KG	HCC	KG	HCC
1	0	0	1	1	2	0	0	0	0	0
2	0	0	1	-	2	-	2	-	2	-
3	0	0	1	1	2	1	2	1	1	0
4	0	0	3	0	1	0	1	0	1	0
5	0	0	1	0	1	0	2	2	1	2
6	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0
7	0	0	1	1	2	0	2	0	2	0
8	0	0	1	2	1	0	1	2	0	2
9	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
10	0	0	0	0	0	1	0	1	0	1
11	0	0	0	0	0	0	0	1	0	2
12	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
13	-	0	-	1	-	0	-	0	-	0
14	-	0	-	0	-	0	-	0	-	0

A: Ausgangsbefund, W: Wochen

Übelkeit/Erbrechen stellt den zweithäufigsten Nebenwirkungskomplex dar. Er wird in 7 Patienten (Übelkeit 5 Patienten, Erbrechen 2 Patienten) der Kontrollgruppe (58 %) und 7 Patienten (Übelkeit 6 Patienten, Erbrechen 1 Patient) der HCC-Gruppe (54 %) gefunden. Mit Ausnahme einer Grad-3-Reaktion (Übelkeit) unmittelbar nach Gabe von Bendamustin (Pat.

11 der Kontrollgruppe) trat dieser Nebenwirkungskomplex als Grad-1- und 2-Reaktion auf und zeigte insbesondere in der Kontrollgruppe mit zunehmender Erhebungsdauer eine klare Rückbildungstendenz.

Tab.17 Auftreten von Übelkeit/Erbrechen in Toxizitätsgraden nach NCI/NIH nach Gabe von Bendamustin an 12 Patienten der Kontrollgruppe (KG) und 13 Patienten der HCC-Gruppe (HCC)

Pat. Nr.	Ausgangswert		W1		W2		W3		W4	
	KG	HCC	KG	HCC	KG	HCC	KG	HCC	KG	HCC
1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2	0	0	0	-	0	-	0	-	0	-
3	0	0	0	1 1*	0	0 0*	0	0 0*	0	0 0*
4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5	0	0	1	2	1	2	1	2	0	2
6	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
7	0	0	0	0	0	1	1	1	0	1
8	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
9	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0
10	0	0	0	1	0	1	0	1	0	1
11	0	0	3 2*	1	1 1*	0	1 0*	0	0 0*	0
12	0	0	1 1*	0	1 1*	0	1 1*	0	1 0*	0
13	-	0	-	0	-	1	-	1	-	0
14	-	0	-	0	-	0	-	0	-	0

A: Ausgangsbefund, W: Wochen, *Erbrechen

An weiteren Unverträglichkeitsreaktionen im Ablauf der 4-wöchigen Beobachtungsperiode nach Gabe von Bendamustin wurden **Schmeckstörungen, Stomatitis, Diarrhoe, Schwitzen, Kopfschmerzen, Obstipation, Fieber, eine depressive Stimmungsänderung, Alopezie, Ösophagitis/Dysphagie, Husten, Schwindel, Asthenie, Herzklopfen, ein asymptomatisches Erythem** und ein **Gesichtsflush** gefunden. Sie wurden innerhalb einer Patientengruppe an Null bis maximal 3 Patienten, mithin zu einer Häufigkeit von 0 bis maximal 25 %, gefunden und beliefen sich mit Ausnahme von einer Grad-3-Reaktion für

Infektion bzw. Fieber (Patient 10 der HCC-Gruppe) sämtlich auf Grad-1- bzw. 2-Reaktionen. Die nachfolgende tabellarische Aufstellung gibt eine Übersicht über Häufigkeit, Schweregrad und Dauer dieser Reaktionen in beiden Patientengruppen:

Tab.18 Auftreten von Unverträglichkeitsreaktionen mit Ausnahme von Mundtrockenheit und Übelkeit/Erbrechen in Toxizitätsgraden nach NCI/NIH nach Gabe von Bendamustin an 12 Patienten der Kontrollgruppe und 13 Patienten der HCC-Gruppe

Patienten Kontrollgruppe						Patienten HCC-Gruppe					
Pat. Nr.	Ausgangswert	W1	W2	W3	W4	Pat. Nr.	Ausgangswert	W1	W2	W3	W4
Schmeckstörungen											
2	0	1	1	1	0	4	0	1	0	0	0
4	0	1	0	0	0	5	0	0	2	2	2
5	0	1	1	1	0	8	0	2	0	0	0
Stomatitis											
2	0	1	0	0	0	1	0	1	1	0	0
4	0	1	0	0	0						
11	0	1	0	0	0						
Diarrhoe											
2	0	1	0	0	0	13	0	0	0	0	1
5	0	0	0	1	0						
6	0	2	0	0	0						
Schwitzen											
5	0	0	0	1	1	4	0	0	0	1	0
12	0	1	0	0	0	8	0	0	0	1	0
Kopfschmerzen											
9	0	1	0	0	0	6	0	1	0	0	0
11	0	1	0	0	0	7	0	1	1	1	1
Obstipation											
						4	0	2	0	0	0
						6	0	1	0	0	0
						10	0	1	0	0	0

Fieber											
12	0	1	0	0	0	6	0	1	0	0	0
						10	0	0	2	3	2
Depressive Stimmungsänderung											
4	0	1	0	0	0	4	0	0	1	1	1
						5	0	0	1	1	0
Alopezie											
11	0	2	2	2	2	13	0	1	1	0	0
Ösophagitis/Dysphagie											
2	0	1	0	0	0						
Husten											
2	0	1	0	0	0						
Schwindel											
						7	0	1	1	1	1
Asthenie											
						13	0	1	1	1	1
Herzklopfen											
						13	0	0	1	1	1
Asymptomatisches Erythem											
						13	0	1	0	0	0
Gesichtsflush											
						13	0	1	0	0	0

A: Ausgangsbefund, W: Wochen

4.3.2. Paraklinisches Toxizitätsprofil

Das paraklinische Toxizitätsprofil von Bendamustin wurde analog zum klinischen Toxizitätsprofil nach Gabe von Bendamustin in wöchentlichen Abständen bis zum Ablauf von 4 Wochen erhoben. Jeweils getrennt für die Patienten der Kontrollgruppe und Patienten der HCC-Gruppe sind die einzelnen Laborparameter nachfolgend in ihren Mittelwerten, Standardabweichungen der Mittelwerte (SD), Minimal- und Maximalwerten, Median und Signifikanzniveau gegenüber dem Ausgangsmesswert wiedergegeben. Für die hämatologischen Parameter Leukozyten, neutrophile Granulozyten, Lymphozyten und Thrombozyten werden über den 4wöchigen Beobachtungszeitraum neben den Absolutwerten

auch das Verhalten der auf die jeweiligen Ausgangswerte bezogenen Relativwerte, als auch die Ergebnisse der statistischen Prüfung (mögliche Unterschiede dieser Relativwerte zwischen beiden Patientengruppen unter Nutzung der nichtparametrischen Analyse nach dem Mann-Whitney Rank-Summentest im Nichtpaarvergleich) wiedergegeben.

Im Verhalten der Parameter ASAT, ALAT, γ -GT und Gesamtbilirubin wird zusätzlich auch das Messwertverhalten an Patienten der Kontrollgruppe unter Nichtberücksichtigung des Patienten 5 ausgewiesen. Eine nähere Erörterung des Grundes der Nichtberücksichtigung dieses Patienten wird im Unterpunkt „Verhalten von Gesamtbilirubin“ vorgenommen. Da in allen weiteren Laborparametern der Patient 5 keine Auffälligkeiten aufwies, ist diese zusätzliche Darstellung nur auf das Verhalten von ASAT, ALAT, γ -GT und Gesamtbilirubin beschränkt.

4.3.2.1. Verhalten von ASAT, ALAT, γ -GT und Gesamtbilirubin

Die vier als primäre Leberfunktionsparameter zu bewertenden Parameter wurden durchgehend an 12 Patienten der Kontrollgruppe und 13 Patienten der HCC-Gruppe erhoben.

ASAT

Wie unter Punkt 4.1.3. bereits aufgeführt, liegt der Mittelwert des Ausgangsbefundes von ASAT gesichert ($p < 0,001$) und im Mittel mehr als 8fach höher in der HCC-Gruppe als in der Kontrollgruppe. Nach Gabe von Bendamustin werden im gesamten 4-wöchigen Beobachtungszeitraum in der Kontrollgruppe als auch in der HCC-Gruppe keine gesicherten Änderungen gegenüber dem jeweiligen Ausgangsbefund gefunden. Der tendenzielle, jedoch nicht gesicherte Anstieg des ASAT- Wertes in der 4. Beobachtungswoche der HCC-Gruppe ist vor allem durch das Messwertverhalten des Patienten 8 (Grad 4 Toxizität) zurückzuführen, wobei jedoch dieser Patient bereits mit einem Grad 3 entsprechenden ASAT-Wert in die Untersuchungen startete.

Der tendenzielle Anstieg von ASAT mit zunehmender Beobachtungsdauer in der Kontrollgruppe ist auf das Messwertverhalten des Patienten 5, mit in den Wochen 3 und 4 3fach gegenüber dem Ausgangsbefund erhöhten Werten (Grad 2 Toxizität), zurückzuführen.

Nach Nichtberücksichtigung dieses Patienten resultiert ein Schwanken der Messwerte um die Ausgangslage, im Sinne üblicher Normbereichsschwankungen.

Tab.19 Verhalten von Mittelwert, Standardabweichung, Minimal-und Maximalwert, Median und Signifikanzniveau gegenüber den Ausgangsbefunden von ASAT nach Gabe von Bendamustin

an Patienten der Kontrollgruppe

	Ausgangswert	W1	W2	W3	W4
Mean	0,30	0,32	0,39	0,42	0,41
SD	0,23	0,22	0,32	0,46	0,42
Min	0,10	0,12	0,11	0,12	0,12
Max	0,79	0,72	1,09	1,76	1,56
Median	0,18	0,19	0,23	0,21	0,20
Signifikanz		n.s.	n.s.	n.s.	n.s.

an Patienten der HCC-Gruppe

	Ausgangswert	W1	W2	W3	W4
Mean	2,58	2,52	2,61	3,11	3,22
SD	3,84	4,30	4,29	4,97	5,42
Min	0,48	0,50	0,51	0,41	0,58
Max	14,61	16,52	15,82	18,45	19,40
Median	1,08	1,05	1,06	1,22	1,19
Signifikanz		n.s.	n.s.	n.s.	n.s.

an Patienten der Kontrollgruppe ohne Patient 5

	Ausgangswert	W1	W2	W3	W4
Mean	0,28	0,29	0,33	0,30	0,31
SD	0,23	0,20	0,24	0,20	0,22
Min	0,10	0,12	0,11	0,12	0,12
Max	0,79	0,72	0,81	0,71	0,76
Median	0,17	0,18	0,17	0,19	0,19
Signifikanz		n.s.	n.s.	n.s.	n.s.

W: Wochen; Signifikanz: Signifikanz gegenüber Ausgangswert; n.s. nicht signifikant; Angaben in $\mu\text{mol/l}\times\text{sec}$

Nach Gabe von Bendamustin wird in der Kontrollgruppe, mit Ausnahme des Patienten 5, bei keinem Patienten eine Zunahme des Toxizitätsgrades gefunden. An HCC-Patienten erfolgt gegen Ende der vierwöchigen Beobachtungsperiode an 4 Patienten eine Toxizitätszunahme um maximal ein Grad.

ALAT

Der Mittelwert des Ausgangsbefundes von ALAT liegt gesichert ($p < 0,001$) und im Mittel mehr als 2,5fach höher in der HCC-Gruppe als in der Kontrollgruppe. In beiden Patientengruppen werden im 4wöchigen Beobachtungszeitraum nach Bendamustingabe keine gesicherten Änderungen gegenüber den jeweiligen Ausgangslagen gefunden. Der analog zum Verhalten von ASAT beobachtete tendenzielle Anstieg der ALAT-Werte in der Gruppe der Kontrollpatienten, mit in den Wochen 3 und 4 bis 2fach gegenüber dem Ausgangsbefund erhöhten Werten ist wiederum auf den Patienten 5 zurückzuführen. Nach Eliminierung dieses Patienten resultiert ein Schwanken der Messwerte um die Ausgangslage.

Tab.20 Verhalten von Mittelwert, Standardabweichung, Minimal-und Maximalwert, Median und Signifikanzniveau gegenüber den Ausgangsbefunden von ALAT nach Gabe von Bendamustin

an Patienten der Kontrollgruppe

	Ausgangswert	W1	W2	W3	W4
Mean	0,30	0,33	0,44	0,60	0,54
SD	0,23	0,21	0,51	1,14	0,95
Min	0,10	0,11	0,10	0,10	0,08
Max	0,77	0,68	1,92	4,18	3,51
Median	0,19	0,24	0,23	0,24	0,22
Signifikanz		n.s.	n.s.	n.s.	n.s.

an Patienten der HCC-Gruppe

	Ausgangswert	W1	W2	W3	W4
Mean	0,86	0,75	0,74	0,92	1,13
SD	0,70	0,41	0,47	0,70	0,91
Min	0,32	0,39	0,37	0,40	0,34
Max	2,80	1,74	2,12	2,71	2,80
Median	0,64	0,58	0,55	0,60	0,59
Signifikanz		n.s.	n.s.	n.s.	n.s.

an Patienten der Kontrollgruppe ohne Patient 5

	Ausgangswert	W1	W2	W3	W4
Mean	0,28	0,29	0,31	0,27	0,29
SD	0,23	0,19	0,22	0,17	0,19
Min	0,10	0,11	0,10	0,10	0,08
Max	0,77	0,64	0,70	0,70	0,69
Median	0,18	0,22	0,22	0,23	0,21
Signifikanz		n.s.	n.s.	n.s.	n.s.

W: Wochen; Signifikanz: Signifikanz gegenüber Ausgangswert; n.s. nicht signifikant; Angaben in $\mu\text{mol/l}\times\text{sec}$

Analog zum Verhalten von ASAT wird auch für ALAT nach Gabe von Bendamustin in der Kontrollgruppe, mit Ausnahme des Patienten 5, bei keinem Patienten eine Zunahme des Toxizitätsgrades und an HCC-Patienten gegen Ende der vierwöchigen Beobachtungsperiode an 4 Patienten eine Toxizitätszunahme von maximal einem Grad gefunden.

γ -GT

Die γ -GT wird in ihren Ausgangswerten interindividuell erheblich variierend (siehe nachfolgende tabellarische Übersicht), analog zum Verhalten der ASAT, in ihrem Mittelwertverhalten in der HCC-Gruppe mehr als 8fach ($p<0,001$) höher als in der Kontrollgruppe ermittelt. Nach Gabe von Bendamustin werden im 4 wöchigen Beobachtungszeitraum in beiden Patientengruppen keine signifikanten Änderungen gegenüber der Ausgangslage gefunden. Der in der Kontrollgruppe imponierende, jedoch nicht signifikante Anstieg mit fortschreitender Beobachtungszeit ist wiederum auf das Reaktionsverhalten des Patienten 5 zurückzuführen mit Anstiegen der Messwerte in Woche 3 und 4 auf 11,7 (Grad 3) bzw. 9,5 (Grad 3) $\mu\text{mol/l}\times\text{sec}$ gegenüber dem Ausgangswert von 0,7 $\mu\text{mol/l}\times\text{sec}$. (Grad 1). Nach Eliminierung dieses Patienten werden die γ -GT-Werte über die 4-wöchige Beobachtungszeit variierend um das Normniveau gefunden, wobei im Mittel der Wert in der 4. Woche sogar gering, aber signifikant niedriger als vor Gabe von Bendamustin gefunden wird. Analog zum Verhalten von ASAT und ALAT wird auch für die γ -GT nach Gabe von Bendamustin, mit Ausnahme des Patienten 5, bei keinem Patienten eine Zunahme des Toxizitätsgrades gefunden.

In der Gruppe der Patienten mit HCC sind nach Gabe von Bendamustin Zunahmen der Toxizitätsgrade um jeweils einen Grad in vier Patienten aufgetreten, wobei die Ausgangswerte dieser Patienten jeweils Grad 1 (Patienten 5, 6 und 12) bzw. Grad 3 (Patient

14) aufwiesen. Am Patienten 3 war eine Minderung vom Ausgangsbefund Grad 3 auf Grad 2 im weiteren Verlauf zu verzeichnen.

Tab.21 Verhalten von Mittelwert, Standardabweichung, Minimal-und Maximalwert, Median und Signifikanzniveau gegenüber den Ausgangsbefunden von γ -GT nach Gabe von Bendamustin

an Patienten der Kontrollgruppe

	Ausgangswert	W1	W2	W3	W4
Mean	0,65	0,69	0,77	1,47	1,36
SD	0,64	0,63	0,84	3,28	2,78
Min	0,15	0,16	0,15	0,12	0,13
Max	2,44	2,15	2,67	11,70	9,51
Median	0,55	0,52	0,46	0,30	0,34
Signifikanz		n.s.	n.s.	n.s.	n.s.

an Patienten der HCC-Gruppe

	Ausgangswert	W1	W2	W3	W4
Mean	5,40	5,07	5,32	5,24	6,24
SD	6,14	5,73	6,44	5,79	8,04
Min	0,95	1,15	1,15	1,14	1,18
Max	19,14	17,74	20,04	19,98	26,48
Median	2,12	2,31	2,36	2,57	2,68
Signifikanz		n.s.	n.s.	n.s.	n.s.

an Patienten der Kontrollgruppe ohne Patient 5

	Ausgangswert	W1	W2	W3	W4
Mean	0,65	0,60	0,60	0,54	0,54
SD	0,67	0,59	0,62	0,65	0,67
Min	0,15	0,16	0,15	0,12	0,13
Max	2,44	2,15	2,30	2,28	2,34
Median	0,44	0,41	0,42	0,23	0,34
Signifikanz		n.s.	n.s.	n.s.	p<0,05

W: Wochen; Signifikanz: Signifikanz gegenüber Ausgangswert; n.s. nicht signifikant; Angaben in $\mu\text{mol/l}\times\text{sec}$

Gesamtbilirubin

Der Mittelwert der Ausgangsbefunde liegt, wie bereits unter Punkt 4.1.3. dargestellt, in der Gruppe der HCC-Patienten 2,5fach höher ($p < 0,002$) als in der Kontrollgruppe. Die interindividuelle Variation ist insbesondere im Vergleich zu ASAT und ALAT geringer ausgeprägt, wie der diesbezügliche Vergleich der Standardabweichungen (SD) und der minimalen (Min) und maximalen Werte (Max) innerhalb der Patientenkohorten zeigt. Nach Gabe von Bendamustin werden im vierwöchigen Beobachtungszeitraum in der Gruppe der Kontrollpatienten keine signifikanten Änderungen gegenüber der Ausgangslage gefunden. Analog zum bisher beschriebenen Verhalten von ASAT, ALAT, γ -GT ist auch für Gesamtbilirubin nach Gabe von Bendamustin in der Kontrollgruppe, mit Ausnahme des Patienten 5, bei keinem Patienten eine Zunahme des Toxizitätsgrades nachweisbar.

Auffällig ist das Verhalten des Gesamtbilirubingehaltes des Patienten 5. Von der Ausgangslage von 17 $\mu\text{mol/l}$ steigt das Gesamtbilirubin über den 4-wöchigen Beobachtungszeitraum kontinuierlich an und erreicht mit 102 bzw. 178 $\mu\text{mol/l}$ in den Wochen 3 und 4 Toxizitätsreaktionen der Grade 3 und 4. Klinisch entwickelte die Patientin einen ausgeprägten Ikterus. Das Verhalten des Gesamtbilirubins ging konform mit dem bereits dargestellten kontinuierlichen Anstieg von ASAT, ALAT und γ -GT, welcher in der 3. Woche (Grad 2 bis 3-Reaktionen) maximale Ausmaße erlangte. Alle 4 Leberfunktionsparameter waren zum Zeitpunkt des Studienstarts normal bzw. nur grenzwertig erhöht (Grad 0-1 Reaktionen). Bei der Patientin war primär ein Gallenblasenkarzinom diagnostiziert worden. Während der Beobachtungsphase wurde im Computertomogramm eine Größenzunahme der Metastase im 6. Lebersegment festgestellt.

In der Gruppe der HCC-Patienten ist ein Anstieg des Gesamtbilirubins gegen Ende der 4-wöchigen Beobachtungsphase festzustellen und erlangt in der 4. Woche statistische Signifikanz. An allen 13 Patienten werden die Bilirubinwerte in der 4. Woche höher als zum Zeitpunkt der Ausgangsbefunderhebung gefunden. Bezogen auf die Ausgangsbefunde werden keine Änderungen der Toxizitätsgrade in 6 Patienten und vorwiegend gegen Ende der vierwöchigen Beobachtungsperiode Anstiege um einen Toxizitätsgrad in 5 Patienten (Patienten 1, 4, 7, 12, 13), um zwei Toxizitätsgrade an einem Patienten (Patient 10) und um 3 Toxizitätsgrade an einem weiteren Patienten (Patient 14) nachgewiesen.

Tab.22 Verhalten von Mittelwert, Standardabweichung, Minimal-und Maximalwert, Median und Signifikanzniveau gegenüber den Ausgangsbefunden von Gesamtbilirubin nach Gabe von Bendamustin

an Patienten der Kontrollgruppe

	Ausgangswert	W1	W2	W3	W4
Mean	10,2	11,0	11,0	17,3	26,9
SD	3,7	3,7	6,7	26,9	53,2
Min	4,3	5,1	3,6	4,1	4,8
Max	17,0	18,1	28,7	102,0	178,0
Median	8,9	10,1	8,8	9,5	9,3
Signifikanz		n.s.	n.s.	n.s.	n.s.

an Patienten der HCC-Gruppe

	Ausgangswert	W1	W2	W3	W4
Mean	25,7	30,2	26,9	32,2	38,2
SD	14,2	17,9	12,5	16,0	22,4
Min	7,0	9,0	9,0	9,0	10,0
Max	48,4	65,0	53,5	60,4	83,3
Median	22,9	26,0	23,9	28,2	31,8
Signifikanz		n.s.	n.s.	n.s.	p< 0,001

an Patienten der Kontrollgruppe, Patienten der Kontrollgruppe ohne Patient 5

	Ausgangswert	W1	W2	W3	W4
Mean	9,6	10,4	9,4	9,6	10,1
SD	3,1	3,1	3,8	3,3	3,4
Min	4,3	5,1	3,6	4,1	4,8
Max	16,6	16,7	18,3	17,0	16,7
Median	8,8	9,8	8,6	9,2	8,8
Signifikanz		n.s.	n.s.	n.s.	n.s.

W: Wochen; Signifikanz: Signifikanz gegenüber Ausgangswert; n.s. nicht signifikant; Angaben in $\mu\text{mol/l}$

4.3.2.2. Verhalten von PTT und Quick

Für beide Parameter PTT und Quick werden, wie bereits in Kapitel 4.1.3. ausgeführt, keine Unterschiede der jeweiligen Ausgangswerte zwischen beiden Patientengruppen gefunden. Ebenso wenig werden für beide Parameter nach Gabe von Bendamustin gesicherte Änderungen gegenüber den jeweiligen Ausgangswerten in beiden Patientengruppen festgestellt. Das Auftreten von Toxizitätsreaktionen nach Gabe von Bendamustin wird in beiden Patientengruppen mit Ausnahme des Patienten 10 der HCC-Gruppe ebenfalls nicht beobachtet. Patient 10 der HCC- Gruppe weist Verlängerungen der PTT und eine Abnahme des Quick-Wertes im Ausmaß von Grad 2-bzw. 3 Toxizitätsreaktionen in der Phase nach Gabe von Bendamustin auf.

Tab.23 Verhalten von Mittelwert, Standardabweichung, Minimal-und Maximalwert, Median und Signifikanzniveau gegenüber den Ausgangsbefunden von PTT/Quick nach Gabe von Bendamustin

an Patienten der Kontrollgruppe

	Ausgangswert	W1	W2	W3	W4
Mean	33,3/90,1	32,8/88,6	32,4/87,9	35,4/87,9	35,8/87,9
SD	5,9/15,8	4,6/18,1	4,7/15,6	4,9/18,6	4,1/18,3
Min	26,1/69,3	27,8/68,7	26,6/70,8	28,2/65,5	28,4/67,1
Max	44,7/120,0	41,1/120,0	42,6/120,0	43,4/120,0	42,4/120,0
Median	32,9/89,7	31,4/84,1	32,3/87,2	34,3/83,3	37,0/86,4
Signifikanz		n.s./n.s.	n.s./n.s.	n.s./n.s.	n.s./n.s.

an Patienten der HCC-Gruppe

	Ausgangswert	W1	W2	W3	W4
Mean	36,5/87,6	36,7/86,0	37,4/82,7	40,9/81,0	37,5/88,1
SD	5,5/13,3	8,0/19,9	8,0/22,3	16,0/26,0	8,3/18,8
Min	28,6/59,0	29,0/59,0	28,3/29,0	29,3/18,0	29,0/44,0
Max	48,3/105,0	40,8/110,0	59,0/113,0	82,0/103,0	60,0/110,0
Median	36,2/93,0	35,0/90,0	35,0/87,0	36,0/90,0	36,0/93,0
Signifikanz		n.s./n.s.	n.s./n.s.	n.s./n.s.	n.s./n.s.

W: Wochen; Signifikanz: Signifikanz gegenüber Ausgangswert; n.s. nicht signifikant; 1. Wert: PTT Angaben in sec, 2. Wert: Quick Angaben in %

4.3.2.3. Verhalten von Kreatinin

Für die Clearance von Kreatinin war in Kapitel 4.1. bereits gezeigt worden, dass mit Ausnahme des grenzwertigen Verhaltens des Patienten 5 in der Kontrollgruppe und des Patienten 13 in der HCC-Gruppe alle Patienten beider Patientengruppen der Norm entsprechende Clearancewerte aufwiesen.

Entsprechend der Beurteilung der Nierenfunktion nach NCI/NIH-Toxizitätskriterien auf der Basis des Verhaltens von Serumkreatininspiegeln und der relativen Konstanz der weiteren Einflussfaktoren Alter und Gewicht der Patienten auf die nach Cockcroft und Gault zu ermittelnde Kreatininclearance während des hier gewählten vierwöchigen Beobachtungszeitraums, wurde zur Beurteilung eines möglichen Einflusses von Bendamustin auf die Nierenfunktion der Patienten ihr Serumkreatininspiegel herangezogen.

Nach Gabe von Bendamustin ist eine isolierte, signifikante Erhöhung des Serumkreatinins in der 3. Woche in Patienten der Kontrollgruppe zu verzeichnen, während in der Gruppe der HCC-Patienten ein vergleichbares Reaktionsmuster während der vierwöchigen Nachbeobachtungsphase zu keinem Analysezeitpunkt gefunden wurde.

Zu keinem Zeitpunkt der Untersuchungen werden Erhöhungen des Serumkreatininspiegels im Sinne des Übersteigens von Grad 1 Reaktionen beobachtet. Für mindestens zwei Wochen anhaltende Toxizitätsreaktionen des Grades 1 wurden an Patienten 1 und 4 der Kontrollgruppe und am Patienten 3 der HCC-Gruppe vorwiegend gegen Ende der vierwöchigen Beobachtungsperiode registriert. Die Patienten 5 der Kontrollgruppe und 13 der HCC-Gruppe, die mit grenzwertigen Kreatininclearancewerten in die Untersuchungen starten, zeigten nach Gabe von Bendamustin keine weitere Zunahme der marginal erhöhten Serumkreatininwerte.

Tab.24 Verhalten von Mittelwert, Standardabweichung, Minimal-und Maximalwert, Median und Signifikanzniveau gegenüber den Ausgangsbefunden von Kreatinin nach Gabe von Bendamustin

an Patienten der Kontrollgruppe

	Ausgangswert	W1	W2	W3	W4
Mean	70,0	76,4	75,6	79,7	78,3
SD	22,3	25,6	25,6	24,1	29,6
Min	48,5	45,6	44,2	49,0	44,5
Max	116,0	134,0	132,0	117,0	132,0
Median	71,7	78,0	78,3	83,3	75,0

Signifikanz		n.s.	n.s.	p<0,01	n.s.
-------------	--	------	------	--------	------

an Patienten der HCC-Gruppe

	Ausgangswert	W1	W2	W3	W4
Mean	85,5	89,1	88,8	93,9	89,3
SD	18,9	21,2	17,2	24,9	17,2
Min	56	59,3	62,8	55	55,7
Max	116	125,5	110	146	114
Median	85	84	96,5	97	85
Signifikanz		n.s.	n.s.	n.s.	n.s.

W: Wochen; Signifikanz: Signifikanz gegenüber Ausgangswert; n.s. nicht signifikant; Angaben in $\mu\text{mol/l}$

4.3.2.4. Verhalten der hämatologischen Parameter Hämoglobin, Leukozyten, neutrophile Granulozyten, Lymphozyten und Thrombozyten

Hämoglobin

Die Ausgangsbefunde beider Patientengruppen unterschieden sich nicht. Ebenso wenig wird nach Gabe von Bendamustin während der gesamten 4 Wochen in der Kontrollgruppe als auch in den ersten 3 Wochen in der HCC-Gruppe eine Abnahme des Hämoglobingehaltes beobachtet. Lediglich der Wert der 4. Woche in der HCC-Gruppe liegt gesichert unter dem Ausgangsbefund.

In der Kontrollgruppe wiesen 4 Patienten im Ausgangsbefund eine Grad 1 Reaktion auf und zeigen keine Veränderung dieses Verhaltens während der 4wöchigen Post-Bendamustinphase. In der HCC-Gruppe starten 6 Patienten mit einem Toxizitätsgrad 1 und ein Patient (Patient 3) mit einem Toxizitätsgrad 2. Gegen Ende der 4wöchigen Post-Bendamustinphase steigt in 2 dieser 6 Patienten der Toxizitätsgrad auf 2 bzw. 3 (Patient 4), während ein weiterer Patient eine Toxizitätsreaktion Grad 1 aufweist, bei vorausgegangenem unauffälligem Ausgangsbefund.

Tab.25 Verhalten von Mittelwert, Standardabweichung, Minimal-und Maximalwert, Median und Signifikanzniveau gegenüber den Ausgangsbefunden von Hämoglobin nach Gabe von Bendamustin

an Patienten der Kontrollgruppe

	Ausgangswert	W1	W2	W3	W4
Mean	8,58	8,38	8,45	8,44	8,33
SD	0,97	0,84	0,67	0,81	0,80
Min	7,4	6,9	7,5	7,6	6,9
Max	10,3	10,1	10,0	10,3	9,9
Median	8,1	8,2	8,2	8,2	8,3
Signifikanz		n.s.	n.s.	n.s.	n.s.

an Patienten der HCC-Gruppe

	Ausgangswert	W1	W2	W3	W4
Mean	8,26	7,96	7,58	7,86	7,49
SD	1,80	1,86	1,66	1,68	1,78
Min	5,8	4,2	4,1	4,1	4,0
Max	12,4	11,1	10,6	10,8	11,0
Median	8,2	8,1	7,9	8,1	8,2
Signifikanz		n.s.	n.s.	n.s.	p<0,05

W: Wochen; Signifikanz: Signifikanz gegenüber Ausgangswert; n.s. nicht signifikant; Angaben in $\mu\text{mol/l}$

Leukozyten

Die Leukozytenausgangswerte unterscheiden sich, wie bereits im Kapitel 4.1.3. dargelegt, nicht signifikant zwischen beiden Patientengruppen und liegen sämtlich, mit Ausnahme des Patienten 4 in der HCC-Gruppe, der einen Startwert im Sinne einer Grad 1 Minderung zeigte, im Normbereich.

Nach Gabe von Bendamustin wird das Auftreten von Toxizitätsreaktionen der Grade 3 und 4 nicht beobachtet. Toxizitätsreaktionen der Grade 1 und 2 werden in nur wenigen Patienten, vor allem gegen Ende der 4wöchigen Beobachtungsperiode und nicht länger als über 2 Messzeitpunkte auftretend beobachtet (Grad 1 Reaktionen bei Patienten 11 der Kontrollgruppe und Patienten 3, 4, 7, 8, 13 und 14 der HCC-Gruppe und eine Grad 2-Reaktion am Patienten 5 der HCC-Gruppe).

Andererseits führt die Gabe von Bendamustin zu einer moderaten und gesicherten Leukozytendepression, die nach 3 bis 4 Wochen die stärkste Ausprägung zeigt und in der HCC-Gruppe gesichert stärker auftritt als in der Kontrollgruppe, wie nachfolgend gezeigt.

In der Kontrollgruppe liegen die Werte der 3. und 4. Beobachtungswoche, in der HCC-Gruppe die Werte aller 4 Beobachtungswochen gesichert unter den jeweiligen Ausgangsbefunden (Tab.26).

In der HCC-Gruppe weist der Patient 10 ein konträres Verhalten auf. Während alle übrigen Patienten der HCC-Gruppe nach Gabe von Bendamustin einen Abfall der Leukozytenwerte aufwiesen, reagiert dieser Patient mit einem kontinuierlichen Ansteigen der Leukozytenzahlen von 4500/µl zum Startzeitpunkt auf 10300/µl in der 3. Woche, gefolgt von einem Abfall auf 4700/µl in der 4. Woche. Wie in Kapitel 4.3.1. gezeigt, wies der Patient im erwähnten Zeitraum ein ausgeprägtes febriles Geschehen auf. Nach Nichteinbeziehung dieses Patienten in die Auswertung wird die bendamustininduzierte Depression der Leukozyten verlaufsgerecht und ausgeprägt gefunden (Tab.26, Abb.6).

Zum direkten Vergleich des Ausmaßes der bendamustininduzierten Leukozytendepression in beiden Patientengruppen ist in Abb.6 das Mittelwertverhalten der relativen Leukozytenwerte gegenüber den jeweiligen Ausgangsbefunden (jeweils 1,0) für beide Patientengruppen dargestellt. Die Abbildung zeigt, dass im Zeitraum der 2. bis 4. Woche nach Gabe von Bendamustin die Leukozytendepression in der Gruppe der HCC-Patienten stärker als in der Gruppe der Kontrollpatienten gefunden wird.

Tab.26 Verhalten von Mittelwert, Standardabweichung, Minimal- und Maximalwert und Median der Absolutwerte, der auf die jeweiligen Ausgangsbefunde von 1,0 bezogenen Relativwerte und Signifikanzniveau der Absolutwerte gegenüber den Ausgangsbefunden der Zahl an Leukozyten nach Gabe von Bendamustin

an Patienten der Kontrollgruppe

	Ausgangswert/R	W1/R	W2/R	W3/R	W4/R
Mean	7,25/1,0	6,86/0,98	6,95/1,00	5,99/0,86	6,17/0,88
SD	1,77	1,49/0,26	1,50/0,27	1,75/0,24	1,53/0,18
Min	4,4	4,6/0,63	4,6/0,67	4,0/0,49	3,4/0,68
Max	9,7	9,2/1,57	9,2/1,60	9,2/1,38	8,6/1,23
Median	7,8	6,9/0,94	6,9/0,92	6,3/0,82	5,8/0,79
Signifikanz		n.s.	n.s.	p<0,05	p<0,025

an Patienten der HCC-Gruppe

	Ausgangswert/R	W1/R	W2/R	W3/R	W4/R
Mean	6,22/1,0	5,43/0,89	5,06/0,84	5,25/0,86	4,43/0,73
SD	2,03	1,72/0,22	1,03/0,27	2,02/0,48	1,45/0,17
Min	3,8	3,0/0,70	3,2/0,52	3,2/0,48	2,9/0,55
Max	11,5	8,6/1,52	7,2/1,60	10,3/2,28	8,2/1,04
Median	6,4	5,3/0,85	5,0/0,76	4,9/0,76	4,0/0,74
Signifikanz		p<0,001	p<0,05	p<0,05	p<0,05

an Patienten der HCC-Gruppe ohne Patient 10

	Ausgangswert/R	W1/R	W2/R	W3/R	W4/R
Mean	6,36/1,0	5,31/0,84	4,86/0,77	4,75/0,72	4,41/0,71
SD	2,05	1,74/0,12	0,80/0,13	1,19/0,18	1,51/0,15
Min	3,8	3,0/0,70	3,2/0,52	3,2/0,48	2,9/0,55
Max	11,5	8,6/1,09	6,0/0,93	6,4/1,07	8,2/1,03
Median	6,4	5,1/0,83	4,8/0,75	4,8/0,71	4,0/0,73
Signifikanz		p<0,001	p<0,001	p<0,001	p<0,001

W: Wochen; Signifikanz: Signifikanz gegenüber Ausgangswert; n.s. nicht signifikant; Angaben in $10^9/1$, R = Relativwerte zu den jeweiligen Ausgangswerten von 1,0

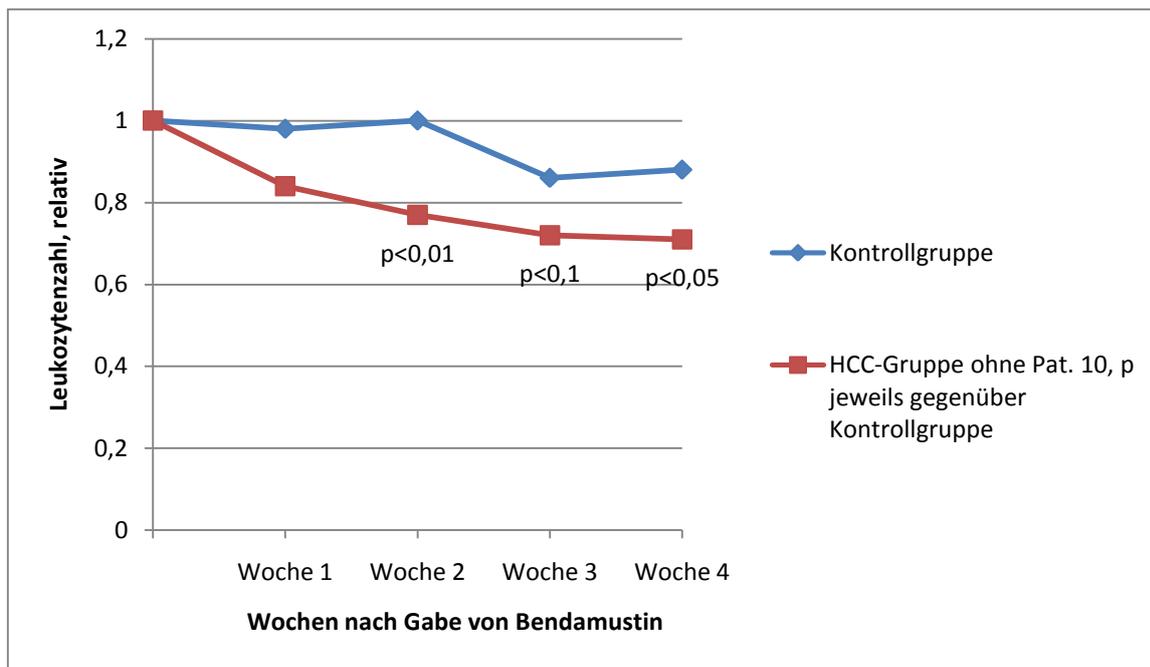


Abb.6 Verhalten der Mittelwerte der auf die jeweilige Ausgangsbefunde von 1,0 bezogenen relativen Leukozytenzahlen in der Kontrollgruppe und HCC-Gruppe über 4 Wochen nach Gabe von Bendamustin

Neutrophile Granulozyten

Zum Zeitpunkt der Erhebung der Ausgangsbefunde liegt die Zahl der neutrophilen Granulozyten in der Gruppe der HCC-Patienten signifikant ($p < 0,05$) niedriger als in der Gruppe der Kontrollpatienten, jedoch mit Ausnahme von 2 Patienten der HCC- Gruppe, welche mit einer Grad 1 Toxizität in die Untersuchungen starten, alle im Normbereich.

Nach Gabe von Bendamustin werden zu keinem Zeitpunkt der Untersuchungen in beiden Patientengruppen Toxizitätsreaktionen oberhalb des Grades 1 beobachtet. Selbst Grad 1 Reaktionen sind mit Ausnahme des Patienten 13 in der HCC-Gruppe (in der 3. und 4. Woche auftretend) an keinen weiteren Patienten beider Gruppen nachweisbar. Patient 14 in der HCC-Gruppe startet mit einer Grad 1 Reaktion und behält diese unverändert in der Post-Bendamustinphase.

Andererseits führt die Gabe von Bendamustin, analog zum Reaktionsgeschehen der Leukozyten, zur zeitlich verzögert auftretenden Depression der neutrophilen Granulozyten, die in den Wochen 3 und 4 in der Gruppe der Kontrollpatienten nur tendenzielle Züge zeigt, in der Gruppe der HCC-Patienten in Woche 4 und nach Nichtberücksichtigung des Patienten 10 in den Wochen 2 bis 4 statistisch eindeutig gesichert ist (Tab.27).

Wie im Verhalten der Leukozyten berichtet, zeigt der im relevanten Zeitraum Fieberreaktionen der Grade 2 und 3 aufweisende Patient 10 der HCC-Gruppe auch im Verhalten der neutrophilen Granulozyten ein gegenüber den anderen Patienten gänzlich konträres Verhalten, mit einem kontinuierlichen Ansteigen von 2350/ μ l im Ausgangsbefund auf 7930/ μ l in der 3. Woche und nachfolgendem Zurückkehren auf die Ausgangslage in der 4. Beobachtungswoche.

Die im methodischen Vorgehen analog zum Verhalten der Leukozyten gewählte Darstellung der relativen Zahl der neutrophilen Granulozyten zeigt erneut die verzögerte, vor allem jedoch die signifikant (Woche 2) und tendenziell (Woche 3 und 4) stärkere Depression der neutrophilen Granulozyten in der Gruppe der HCC-Patienten im Vergleich zur Gruppe der Kontrollpatienten (Abb.7).

Tab.27 Verhalten von Mittelwert, Standardabweichung, Minimal-und Maximalwert und Median der Absolutwerte, der auf die jeweiligen Ausgangsbefunde von 1,0 bezogenen Relativwerte und Signifikanzniveau der Absolutwerte gegenüber den Ausgangsbefunden der Zahl an neutrophilen Granulozyten nach Gabe von Bendamustin

an Patienten der Kontrollgruppe

	Ausgangswert/R	W1/R	W2/R	W3/R	W4/R
Mean	5,39/1,0	5,96/1,15	5,48/1,06	4,68/0,90	5,11/0,92
SD	1,51	1,59/0,29	1,43/0,28	1,35/0,25	1,22/0,16
Min	2,86	3,77/0,70	3,62/0,72	2,77/0,51	2,90/0,68
Max	8,00	8,37/1,65	7,38/1,60	7,18/1,26	7,14/1,19
Median	5,34	6,44/1,11	5,42/1,05	4,85/0,92	5,08/0,90
Signifikanz		n.s.	n.s.	n.s.	n.s.

an Patienten der HCC-Gruppe

	Ausgangswert/R	W1/R	W2/R	W3/R	W4/R
Mean	3,97/1,0	4,69/1,10	3,51/0,91	3,83/1,05	3,02/0,80
SD	1,33	1,36/0,44	0,80/0,45	2,20/1,05	0,85/0,24
Min	2,35	2,77/0,65	2,25/0,66	2,03/0,44	2,15/0,46
Max	6,31	7,06/2,11	4,68/1,99	7,93/3,37	5,23/1,26
Median	3,78	4,77/0,99	3,76/0,79	3,03/0,60	2,93/0,79
Signifikanz		n.s.	n.s.	n.s.	p<0,025

an Patienten der HCC-Gruppe ohne Patient 10

	Ausgangswert/R	W1/R	W2/R	W3/R	W4/R
Mean	4,11/1,0	4,66/0,95	3,47/0,76	3,14/0,66	3,02/0,76
SD	1,28	1,45/0,18	0,66/0,12	1,37/0,23	0,90/0,20
Min	2,40	2,77/0,65	2,25/0,66	2,03/0,44	2,15/0,46
Max	6,31	7,06/1,17	4,00/0,91	5,67/1,08	5,23/1,10
Median	4,06	4,68/0,97	3,73/0,76	2,79/0,58	2,78/0,76
Signifikanz		n.s.	p<0,025	p<0,025	p<0,01

W: Wochen; Signifikanz: Signifikanz gegenüber Ausgangswert; n.s. nicht signifikant; Angaben in $10^9/l$, R = Relativwerte zu den jeweiligen Ausgangswerten von 1,0

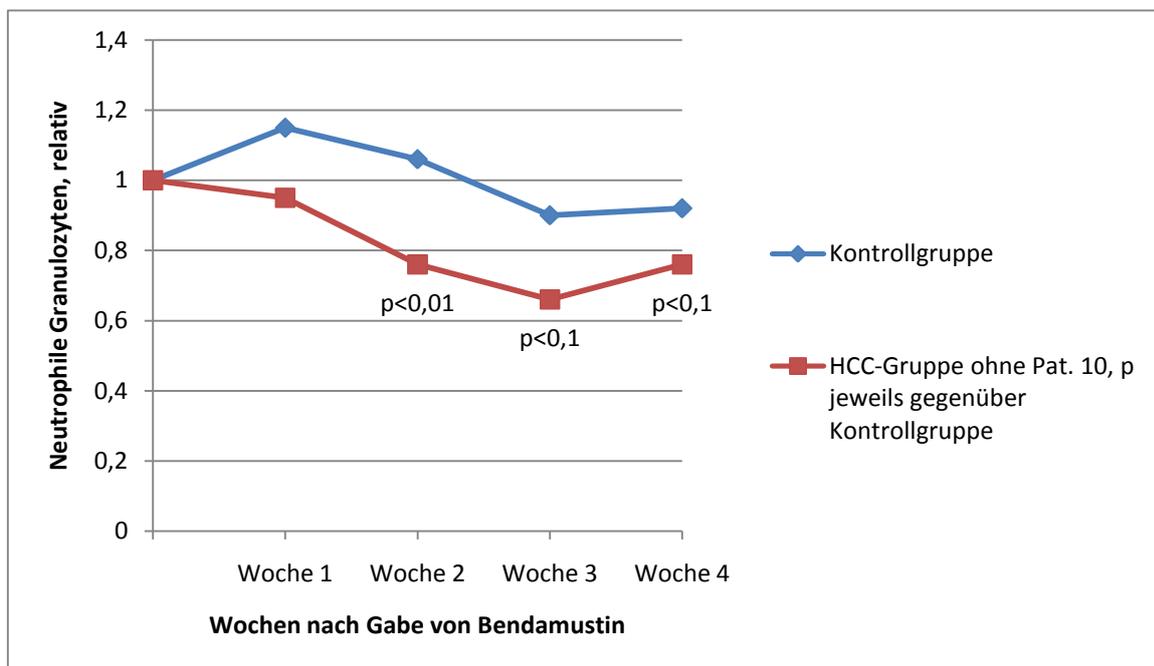


Abb.7 Verhalten der Mittelwerte der auf die jeweilige Ausgangsbefunde von 1,0 bezogenen Zahl der neutrophilen Granulozyten in der Kontrollgruppe und HCC-Gruppe über 4 Wochen nach Gabe von Bendamustin

Lymphozyten

Die Lymphozytenausgangswerte beider Patientengruppen unterschieden sich nicht statistisch sicher voneinander, wobei in der Gruppe der Kontrollpatienten 3 Patienten mit einer Grad 1 Reaktion und ein Patient (Patient 1) mit einer Grad 3 Reaktion und in der HCC-Gruppe 6 Patienten mit einer Grad 1 Reaktion und 2 Patienten (Patienten 4 und 5) mit einer Grad 2 Reaktion in die Untersuchungen starteten.

Nach Gabe von Bendamustin setzt die Depression der Lymphozyten frühzeitig, im Gegensatz zum Verhalten der Depression der Leukozyten und neutrophilen Granulozyten, bereits nach einer Woche und insbesondere in der HCC-Gruppe sehr ausgeprägt ein. Die relative Senkung beträgt gegenüber der Ausgangslage in der Gruppe der HCC-Patienten nach einer Woche nahezu 80% (Tab.28). Zu diesem Zeitpunkt weisen zwei Patienten (Patienten 6 und 10) Grad 2-Toxizitäten, alle übrigen Patienten Grad 3 (7 Patienten) bzw. Grad 4 (4 Patienten)-Toxizitäten auf. In der Nachfolgezeit bis zum Ablauf der 4. Woche steigen die Lymphozytenwerte wieder an, ohne jedoch die Ausgangslage zu erreichen. In dieser Phase werden überwiegend Grad 1- und 2-Reaktionen, zum Teil auch Grad 3 Reaktionen und an einem Patienten (Patient 5) eine anhaltende Grad 4 Reaktion analysiert. Patient 5, der mit einer Grad 2-Toxizität in die Untersuchungen startete, wies während des gesamten vierwöchigen Beobachtungszeitraumes Lymphozytenwerte zwischen 90-120/mm³ und damit durchgehend Grad 4-Toxizitätsreaktionen auf. In der 4wöchigen Post-Bendamustinphase liegen die Lymphozytenwerte zu allen 4 Messzeitpunkten gesichert und ausnahmslos in allen Patienten unter den jeweiligen individuellen Ausgangswerten (Tab.28).

Auch in der Kontrollgruppe ist in der ersten Woche ein gesicherter Abfall der Lymphozytenzahl feststellbar. Diesem folgt in den Wochen 2-4 ein Wiederanstiegen der Lymphozytenwerte, statistisch gesehen auf die Höhe des Ausgangsbefundes. Mit der Ausnahme des Auftretens von Grad 3 Reaktionen in nur 2 Patienten (Patienten 4 und 11) werden in allen übrigen Patienten der Kontrollgruppe nur Grad 1 und 2 Reaktionen in der Post-Bendamustinphase beobachtet, wobei jedoch beide Patienten bereits mit einer Grad 1-Reaktion in die Untersuchungen starteten.

Unter der analog zur Ergebnispräsentation der Leukozyten und neutrophilen Granulozyten gewählten Darstellung der relativen Abweichungen der Lymphozytenwerte von den jeweiligen Ausgangsbefunden (jeweils 1.0) wird zu den Messzeitpunkten der 1. und 4. Woche eine signifikant und zu den Messzeitpunkten der 2. und 3. Woche eine grenzwertig stärkere Lymphozytendepression in der HCC-Gruppe im Vergleich zur Kontrollgruppe gefunden (Abb. 8).

Tab.28 Verhalten von Mittelwert, Standardabweichung, Minimal-und Maximalwert und Median der Absolutwerte, der auf die jeweiligen Ausgangsbefunde von 1,0 bezogenen Relativwerte und Signifikanzniveau der Absolutwerte gegenüber den Ausgangsbefunden der Zahl an Lymphozyten nach Gabe von Bendamustin

an Patienten der Kontrollgruppe

	Ausgangswert/R	W1/R	W2/R	W3/R	W4/R
Mean	1,50/1,0	0,75/0,54	1,09/0,91	1,03/0,89	1,07/0,77
SD	0,59	0,28/0,21	0,53/0,58	0,45/0,75	0,42/0,35
Min	1,20	0,23/0,18	0,54/0,25	0,32/0,26	0,39/0,32
Max	2,03	1,14/0,97	2,21/1,97	1,75/2,74	1,80/1,68
Median	1,33	0,83/0,54	1,04/0,86	1,04/0,71	1,09/0,91
Signifikanz		p<0,001	n.s.	n.s.	n.s.

an Patienten der HCC-Gruppe

	Ausgangswert/R	W1/R	W2/R	W3/R	W4/R
Mean	1,17/1,0	0,27/0,21	0,62/0,49	0,60/0,43	0,63/0,49
SD	0,58	0,22/0,15	0,35/0,26	0,37/0,18	0,42/0,22
Min	0,60	0,06/0,03	0,09/0,15	0,12/0,20	0,09/0,15
Max	2,64	0,71/0,46	1,16/0,85	1,18/0,77	1,46/0,78
Median	1,09	0,21/0,18	0,64/0,34	0,57/0,45	0,69/0,48
Signifikanz		p<0,01	p<0,01	p<0,001	p<0,01

W: Wochen; Signifikanz: Signifikanz gegenüber Ausgangswert; n.s. nicht signifikant; Angaben in $10^9/l$, R = Relativwerte zu den jeweiligen Ausgangswerten von 1,0

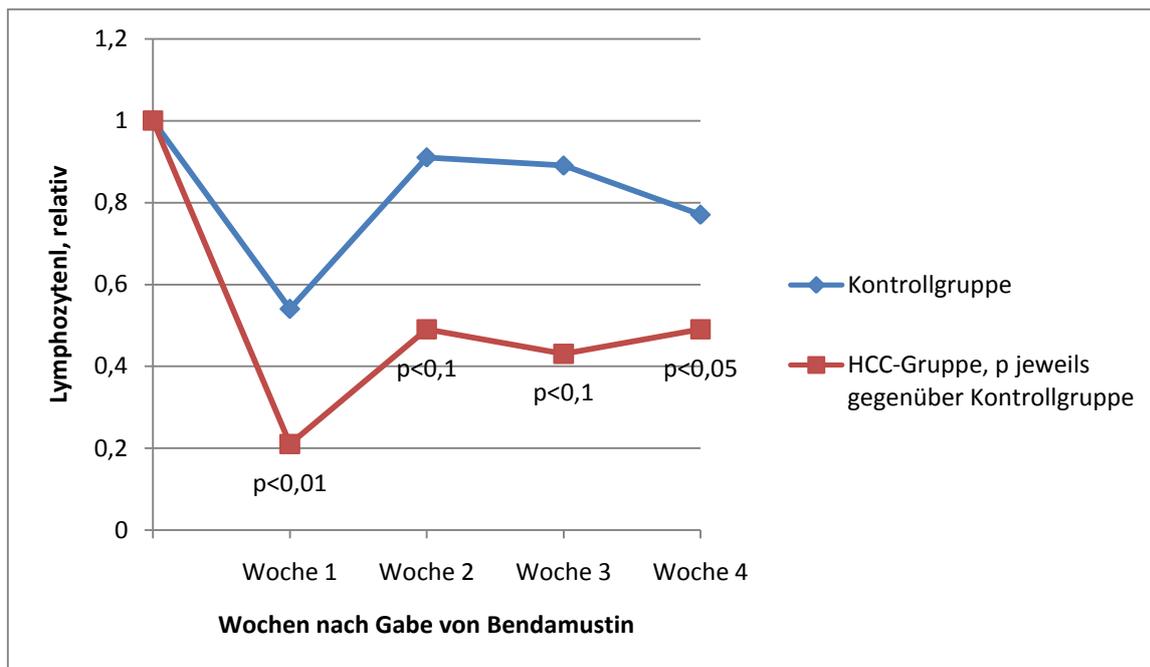


Abb.8 Verhalten der Mittelwerte der auf die jeweilige Ausgangsbefunde von 1,0 bezogenen relativen Lymphozytenzahlen in der Kontrollgruppe und HCC-Gruppe über 4 Wochen nach Gabe von Bendamustin

Thrombozyten

Die Zahl der Thrombozyten wird im Mittel unter Ausgangsbedingungen in der Gruppe der HCC-Patienten signifikant ($p < 0,01$) niedriger im Vergleich zu Patienten der Kontrollgruppe (187300 vs. 251800/ μl) gefunden. Während die Patienten der Kontrollgruppe sämtlich mit normalen Thrombozytenwerten in die Untersuchungen starteten, wiesen 4 Patienten der HCC-Gruppe (Patienten 5, 7, 12 und 14) zum Startzeitpunkt Grad 1 Reaktionen auf.

Die Gabe von Bendamustin führt, wie nachfolgend gezeigt, ähnlich dem Verhalten der Leukozyten und neutrophilen Granulozyten, zu einer Depression mit niedrigsten Werten 3-4 Wochen nach Verabreichung von Bendamustin und zu einer gesichert stärkeren Depression in HCC-Patienten im Vergleich zu Patienten der Kontrollgruppe.

In der Gruppe der Kontrollpatienten werden mit Ausnahme einer Grad 1 Reaktion (Patient 11, 3. Woche) bei keinen Patienten Toxizitätsreaktionen nach Gabe von Bendamustin gefunden. Während die Thrombozytenwerte der Wochen 1-3 sich nicht von den Ausgangsbefunden unterschieden, liegt jener der 4. Woche gesichert unterhalb des Startwertes (Tab.29).

In der Gruppe der HCC-Patienten wiesen lediglich 3 Patienten (3, 6, 14) keine Toxizitätsreaktion bzw. keine Zunahme der graduierten Toxizitätsreaktionen gegenüber dem Ausgangsbefund auf. In allen übrigen Patienten werden Toxizitätsreaktionen der Grade 1 und

2, vorwiegend zu den Messzeitpunkten der 3. und 4. Woche registriert, und lediglich eine Grad 3 Reaktion (Patient 5, 3. Woche) gefunden. Grad 4 Reaktionen waren nicht zu verzeichnen.

Die Thrombozytenwerte der Wochen 1-4 nach Gabe von Bendamustin liegen in der Gruppe der HCC-Patienten sämtlich signifikant unterhalb der Ausgangswerte (Tab.29).

Das Verhalten der relativen Abweichungen der Thrombozytenwerte gegenüber den Ausgangslagen (jeweils 1.0) belegt, dass die Depression der Thrombozyten in der Gruppe der HCC-Patienten gesichert stärker als in der Gruppe der Kontrollpatienten auftritt (Abb.9). Die Relativwerte zu allen 4 Messzeitpunkten liegen in der HCC-Gruppe signifikant ($p < 0.01$, $p < 0.05$) unterhalb derer der Kontrollgruppe.

Tab.29 Verhalten von Mittelwert, Standardabweichung, Minimal-und Maximalwert und Median der Absolutwerte, der auf die jeweiligen Ausgangsbefunde von 1,0 bezogenen Relativwerte und Signifikanzniveau der Absolutwerte gegenüber den Ausgangsbefunden der Zahl an Thrombozyten nach Gabe von Bendamustin

an Patienten der Kontrollgruppe

	Ausgangswert/R	W1/R	W2/R	W3/R	W4/R
Mean	251,8/1,0	262,8/1,06	254,9/1,06	213,6/0,87	205,1/0,86
SD	84,2	84,5/0,14	76,2/0,14	86,8/0,24	64,6/0,18
Min	147	167/0,89	163/0,85	91/0,58	108/0,58
Max	441	466/1,37	363/1,27	376/1,29	323/1,12
Median	231	230/1,03	273/1,07	200/0,85	206/0,82
Signifikanz		n.s.	n.s.	n.s.	$p < 0,05$

an Patienten der HCC-Gruppe

	Ausgangswert/R	W1/R	W2/R	W3/R	W4/R
Mean	187,3/1,0	162,7/0,87	157,8/0,88	104,3/0,59	105,9/0,67
SD	140,1	128,8/0,13	96,2/0,13	64,4/0,20	38,8/0,26
Min	77	77/0,73	71/0,68	34/0,35	53/0,30
Max	627	574/1,09	442/1,10	266/0,97	186/1,33
Median	158	132/0,87	137/0,90	81/0,56	100/0,68
Signifikanz		$p < 0,01$	$p < 0,01$	$p < 0,05$	$p < 0,01$

W: Wochen; Signifikanz: Signifikanz gegenüber Ausgangswert; n.s. nicht signifikant; Angaben in $10^9/l$, R = Relativwerte zu den jeweiligen Ausgangswerten von 1,0

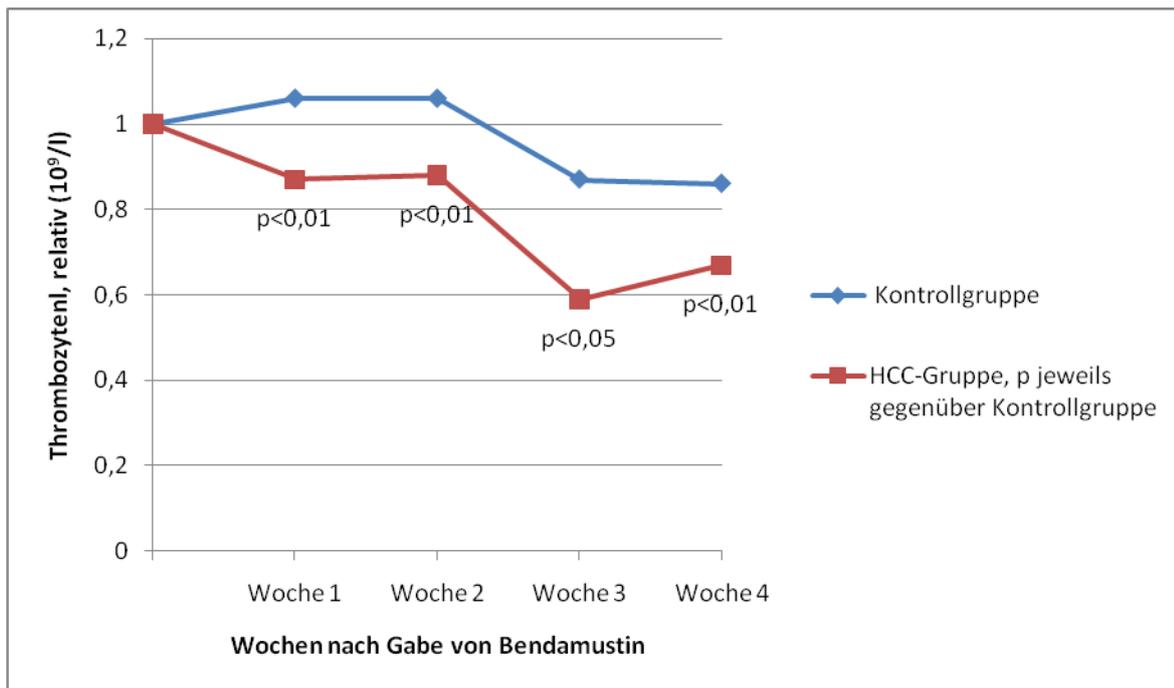


Abb.9 Verhalten der Mittelwerte der auf die jeweilige Ausgangsbefunde von 1,0 bezogenen relativen Thrombozytenzahlen in der Kontrollgruppe und HCC-Gruppe über 4 Wochen nach Gabe von Bendamustin

4.3.3. Vergleich der klinischen Reaktionen und der hämatologischen Parameter zwischen beiden Patientengruppen

Nach Darstellung des Verhaltens der Einzelparameter wird nachfolgend das komplexe Geschehen der klinischen Reaktionen und der hämatologischen Parameter nach Gabe von Bendamustin vergleichend zwischen beiden Patientengruppen einer semiquantitativen Analyse unterzogen. Hierzu werden jeweils die stärksten Toxizitätsreaktionen, erfaßt in Form der NCI/NIH- Toxizitätsgrade 1-4, innerhalb der ersten zwei Wochen bzw. innerhalb aller 4 Wochen nach Gabe von Bendamustin für jeden einzelnen klinischen bzw. hämatologischen Parameter erhoben. Eine Zunahme der Toxizitätsgrade gegenüber der jeweiligen Ausgangslage des Patienten um die Grade 1, 2, 3 und 4 wird mit Punkten 1, 3, 5 und 8 versehen. Separat für das klinische und hämatologische Verhalten des Patienten werden dann, getrennt für die Perioden 0-2 Wochen und 0-4 Wochen nach Gabe von Bendamustin, innerhalb der Komplexe „Klinische Reaktionen“ und „Hämatologische Befunde“ die Punkte eines jeden Patienten addiert. Sie sind in ihrer Summe in Tab. 30 im Einzel- und Mittelwertverhalten wiedergegeben.

Tab.30 Semiquantitative Erfassung der Toxizitätsreaktionen in den Komplexen „Klinische Reaktionen“ und „Hämatologische Befunde“ innerhalb der Perioden 0-2 Wochen und 0-4 Wochen nach Gabe von Bendamustin in Patienten der Kontrollgruppe (KG) und Patienten der HCC-Gruppe (HCC)

Pat. Nr.	Klinische Reaktionen				Hämatologische Befunde			
	2 Wochen		4 Wochen		2 Wochen		4 Wochen	
	KG	HCC	KG	HCC	KG	HCC	KG	HCC
1	3	2	3	2	0	8	0	9
2	8	-	8	-	1	-	1	-
3	3	3	3	8	3	1	3	4
4	8	5	8	6	1	7	3	8
5	2	7	6	10	3	3	3	9
6	5	7	5	7	1	3	1	3
7	3	4	4	4	2	6	2	8
8	1	6	1	7	1	5	1	10
9	5	0	5	0	1	5	3	5
10	0	6	0	8	3	4	3	4
11	13	1	13	4	3	5	5	6
12	4	0	13	0	3	3	4	3
13	-	7	-	8	-	3	-	6
14	-	0	-	0	-	4	-	4
Mean	4,58	3,69	5,75	4,92	1,83	4,38	2,42	6,08
SD	3,60	2,84	4,16	3,50	1,11	1,89	1,44	2,47

Signifikanzprüfung zwischen den Gruppen

	Klinische Reaktionen		Hämatologische Befunde	
	2 Wochen	4 Wochen	2 Wochen	4 Wochen
		n.s.	n.s.	p<0,002

n.s. nicht signifikant

Die Ergebnisse der Tabelle 30 zeigen, dass erwartungsgemäß die Punktezahl in der Periode 0-4 Wochen höher als in der Periode 0-2 Wochen ist. Die Ergebnisse zeigen jedoch auch, dass in den hämatologischen Befunden, nicht hingegen im klinischen Reaktionsgeschehen, in der Gruppe der HCC-Patienten im Vergleich zu Patienten der Kontrollgruppe signifikant

($p < 0,002$) stärkere Toxizitätsreaktionen sowohl in der Periode 0-2 Wochen als auch in der Periode 0- 4 Wochen nach Gabe von Bendamustin auftreten.

5. Diskussion

Das Ziel der vorgelegten Arbeit besteht in der erstmaligen Beschreibung der Kinetik von Bendamustin und seinen bisher belegten wirksamen Metaboliten im Plasma und des Toxizitätsprofils des bifunktionellen Alkylans unter Bedingungen einer mittelgradig eingeschränkten Leberfunktion. Abgeleitet aus diesen Ergebnissen sollen auch erste Dosisempfehlungen für den Einsatz des Tumorstatikums an Patienten mit mittelgradig eingeschränkter Leberfunktion erarbeitet werden.

Spezifische Aspekte des Studiendesigns

Zur Erreichung der Zielstellungen wurde im Sinne von modifizierten Phase I/II-Studienprotokollen die Untersuchungen vergleichsweise an 12 Tumorpatienten mit normaler Leberfunktion und 13 Tumorpatienten mit fortgeschrittener, jedoch nicht drastisch eingeschränkter Leberfunktion, geführt. Ausgehend von der in der Einleitung der vorgelegten Arbeit dargestellten gemischten Ausscheidung von Bendamustin und seinen Metaboliten am Menschen über Leber und Nieren (Teichert et al. 2005, 2009) wurde für die Auswahl der Patienten besonderes Augenmerk darauf gelegt, dass diese eine der Norm entsprechende Nierenfunktion aufwiesen. Dies war für alle Patienten beider Gruppen, mit Ausnahme des grenzwertigen Verhaltens (Unterschreitung des unteren Normwertes der Kreatinin-clearance zu weniger als 8%) der Patienten 5 in der Kontrollgruppe und 13 der HCC-Gruppe, auch gegeben. Der in der primären Patientenrekrutierung mit der Patientennummer 02 versehene Patient der HCC-Gruppe wies eine eindeutig verminderte renale Leistung (Unterschreiten des unteren Normwertes der Kreatinin-clearance um 30%) auf und wurde daher für die weitere Ergebnisanalyse nicht herangezogen.

Die Beurteilung der Leberfunktion der Studienpatienten wurde entscheidend auf der Basis der Höhe des Gesamtbilirubinserumspiegels vorgenommen. Für eine Reihe von Tumorstatika, so z.B. für Doxorubicin und Daunorubicin, für Paclitacel, Etoposid, 5-Fluorouracil und Procarbazin wird die Dosierungshöhe in Abhängigkeit von der Höhe des Serumbilirubinspiegels festgelegt (King und Perry, 2001).

In vorliegender Arbeit wiesen alle Patienten der Kontrollgruppe einen der Norm entsprechenden Serumbilirubin Spiegel auf (siehe Tab. 3). Grenzwertige bis leichte Erhöhungen von ASAT und/oder ALAT und der γ -GT der Patienten 10-12 der Kontrollgruppe wurden daher auch nicht zum Anlass für den Ausschluss dieser Patienten aus

der Kontrollgruppe genommen. Auch das Auftreten von maximal zwei kleinen Lebermetastasen bei nichthepatischem Primärtumor an diesen Patienten (Patienten 11 und 12) und am Patienten 5, bei gleichzeitig normalem Serumbilirubinspiegel und normalen bzw. nur minimal erhöhten ASAT- und ALAT-Spiegeln, wurde nicht als Zustand einer eingeschränkten Leberfunktion bewertet.

Alle Patienten mit eingeschränkter Leberfunktion befanden sich im Stadium des fortgeschrittenen, therapierefraktären hepatozellulären Karzinoms (HCC-Gruppe). Entsprechend dem vorgegebenen Einschlusskriterium eines Totalserumbilirubinspiegels von 17-51 μ mol/l wiesen mit Ausnahme der Patienten 6, 10 und 14 alle Patienten Serumbilirubinspiegel im oberen Normgrenzbereich bzw. ganz überwiegend erheblich darüber auf. Der mittlere Serumbilirubinspiegel wurde in der Gruppe der HCC-Patienten gesichert 2,5fach höher als in der Kontrollgruppe gefunden und muss als hinreichend sicher für die Leberfunktionseinschränkung dieser Patienten gelten.

Andererseits wurde zum Zeitpunkt des Studienstarts kein Patient mit einem Serumbilirubinwert von >51 μ mol/l und damit mit dem Vorliegen einer schweren Leberfunktionseinschränkung diagnostiziert. Die Patienten 6, 10 und 14 der HCC- Gruppe, die zum Zeitpunkt des Studienstarts keine erhöhten Bilirubinwerte aufwiesen, zeigten andererseits neben Erhöhungen von ASAT, teilweise auch von ALAT, zum Teil beträchtliche, das obere Normlimit um bis zu mehr als das 20fach übersteigende γ -GT-Werte und wurden daher berechtigt der Gruppe der Patienten mit eingeschränkter Leberfunktion zugeordnet. Die γ -GT- und ASAT-Werte der Patienten mit eingeschränkter Leberfunktion (HCC- Gruppe) liegen im arithmetischen Mittel um mehr als das 8-fache höher als in Patienten mit normaler Leberfunktion (Kontrollgruppe), bei jedoch erheblichen interindividuellen Unterschieden. Jedoch werden auch die Medianwerte beider Leberfunktionsparameter 4-6 fach höher in der HCC- Gruppe im Vergleich zur Kontrollgruppe ermittelt. Als Zeichen eines fortgeschrittenen Grades der Beeinträchtigung der Leberfunktion in Patienten der HCC-Gruppe muss auch gelten, dass an 10 der 13 Patienten geführte bioptische Untersuchungen der Leber an allen diesen 10 Patienten das Bestehen einer Leberzirrhose belegten.

Alle Patienten mit hepatozellulärem Karzinom und eingeschränkter Leberfunktion wiesen, auch gemäß den vorgegebenen Einschlußkriterien, Child-Pugh-Werte von 5-9 und damit Child-Pugh-Grade A und B auf. Eine entsprechende Score- Punktebewertung wurde unter Einbeziehung der Parameter Enzephalopathie, Ascites, Serumspiegel an Bilirubin, Albumin und Prothrombinzeit gemäß dem Verfahren von Child-Pugh (Pugh et al. 1973) vorgenommen.

In ihren wesentlichen demographischen Daten unterschieden sich die Patienten beider Untersuchungsgruppen nicht voneinander. Zwar ist in der Gruppe der Patienten mit eingeschränkter Leberfunktion (HCC- Gruppe) der Anteil der Männer höher als in der Kontrollgruppe, jedoch sind bislang keine geschlechtsspezifischen Unterschiede in Kinetik und Toxizitätsprofil für Bendamustin beschrieben worden (Fachinformation Treanda- Initial U.S. Approval, 2008). Mit dem höheren Anteil von Männern in der HCC- Gruppe kann auch das gesichert höher ermittelte Körpergewicht in dieser Patientengruppe im Vergleich zur Kontrollgruppe verbunden gesehen werden, wobei dann jedoch keine Unterschiede in den body mass indices der Patienten beider Gruppen gefunden werden. Auch hinsichtlich der Basisdaten Alter, Körpergröße und dem nach dem Karnofsky- Index ermittelten Allgemeinzustand unterschieden sich die Patienten beider Gruppen nicht voneinander.

In zusammenfassender Bewertung kann unter methodenspezifischen Gesichtspunkten festgestellt werden, dass homogene, valide Patientengruppen zu den Untersuchungen herangezogen wurden, die sich lediglich in dem gewählten Hauptkriterium der Leberfunktion unterscheiden und Patienten mit normaler Leberfunktion bzw. Patienten mit mittelgradig eingeschränkter Leberfunktion beinhalten.

Für die Beurteilung des Einflusses der Leberfunktion auf Kinetik und Toxizitätsverhalten des Tumorstatikums Bendamustin ist insbesondere unter therapeutischen Gesichtspunkten die Wahl einer geeigneten Dosierung in üblicher Applikationstechnik von Bedeutung. Bendamustin wurde in vorliegenden Untersuchungen zu Dosierungen von jeweils 120 mg/m^2 Bendamustinhydrochlorid an den Tagen 1 und 2 in Form einer seit Jahren herstellerseits empfohlenen intravenösen kontinuierlichen Infusion über 30 Minuten appliziert. An Patienten mit eingeschränkter Leberfunktion (HCC-Gruppe) erfolgten Wiederholungen dieser Therapiezyklen in 4wöchigen Intervallen bis zum Therapieversagen. An den ersten 5 Patienten mit hepatozellulärem Karzinom war aus Sicherheitsgründen die Bendamustindosierung am Tag 2 der Applikation auf 80 mg/m^2 Bendamustinhydrochlorid reduziert worden. Nach Bewertung des Verträglichkeitsprofils von Bendamustin an diesen ersten 5 Patienten und dem Nichtnachweis von bendamustininduzierten Grad 4-Toxizitätsreaktionen an diesen 5 Patienten wurde an den weiteren 8 Patienten der HCC-Gruppe die Bendamustindosierung am Tag 2 der Applikation wie an allen Patienten der Kontrollgruppe zu 120 mg/m^2 Bendamustinhydrochlorid vorgenommen. Die hier gewählte Dosierung liegt niedriger als die herstellerseits für die kombinatorische Chemotherapie

empfohlenen kumulativen Dosierungen für das multiple Myelom (über 2 Tage) und für Non-Hodgkin-Lymphome (über 4 Tage), jedoch höher als die empfohlene kumulative Dosierung für die Chronisch Lymphatische Leukämie (über 2 Tage) (Fachinformation Ribomustin®, 2009). Sie entspricht andererseits nahezu gänzlich jener Dosis, die zu 120 mg/m² Bendamustinhydrochlorid an den Tagen 1 und 2 in dreiwöchigen Intervallen von der Food and Drug Administration der USA für die Behandlung von Non-Hodgkin Lymphomen empfohlen wird (Cheson und Rummel, 2009). Die in vorliegender Untersuchung vorgenommene Dosierung von Bendamustin wurde auch in Bewertung der Ergebnisse mehrerer und bereits in der Einleitung zu dieser Arbeit erörterter Phase-I-Studienprotokolle gewählt. In einem zu den vorliegenden Untersuchungen sehr ähnlichen Applikationsregime der intravenösen Gabe von Bendamustin über jeweils 30 Minuten an Tagen 1 und 2 im 3wöchigen Intervall ermittelten Rasschaert et al. (2007,b) an Patienten mit soliden Tumoren und normaler bzw. nur leicht eingeschränkter Leber- und/oder Nierenfunktion maximal tolerierbare Tagesdosen zu 180 mg/m² Bendamustinhydrochlorid und empfahlen entsprechende Tagesdosen zu 160 mg/m² für nachfolgende Phase-II-Studienprotokolle. Wie in vorliegenden Untersuchungen beobachteten die Autoren als entscheidende Toxizitätsreaktionen schwere Thrombozytopenien vom verzögerten Typ und bereits nach 8 Tagen auftretende schwere Lymphozytopenien.

Auch in einer Reihe von Phase-II-Studien an soliden Tumoren war ein Applikationsregime in gleicher bzw. sehr ähnlicher Weise gewählt worden wie in vorliegender Untersuchung, so in der Gabe von Bendamustinhydrochlorid zu 120 mg/m² an Tagen 1 und 2 alle 3 bzw. 4 Wochen am Mammakarzinom, kleinzelligem Bronchialkarzinom oder uvealem Melanom (Reichmann et al. 2007, Schmittel et al. 2007, Schmidt-Hieber et al. 2004), zu 100-150 mg/m² an den Tagen 1 und 2 alle 4 Wochen ebenfalls am Mammakarzinom und am Weichteilsarkom (Höffken et al. 1998, Hartmann et al. 2007) als auch in kombinierter Strahlen- oder Chemotherapie zu 100-150 mg/m² an Tagen 1 und 2 bei Hals- und Kopftumoren und beim kleinzelligen Bronchialkarzinom (Rahn et al. 2001, Köster et al. 2004).

Die vorliegend gewählte Dosierung von je 120 mg/m² Bendamustinhydrochlorid an den Tagen 1 und 2 eines Therapiezyklus entspricht daher gänzlich den in Studienprotokollen als auch in klinischer Routine in der Behandlung von lymphoproliferativen Erkrankungen gewählten Dosierung für Bendamustin.

Pharmakokinetik

Die Erhebung der Pharmakokinetik im Plasma wurde an beiden Patientengruppen für Bendamustin und seine Metabolite γ -Hydroxy-, N-Desmethyl- und Monohydroxy-bendamustin vorgenommen. Es war bereits einleitend ausgeführt worden, dass Bendamustin einem erheblichen Metabolismus unterliegt. Die Auswahl dieser drei Metabolite aus der Gesamtpalette der 16 bisher am Menschen nachgewiesenen Metabolite (siehe Abb.1) erfolgte aus pharmakodynamischen Erwägungen, d.h. aufgrund ihrer zu erwartenden, zumindest partiellen tumorstatistischen Wirksamkeit. Es war auch bereits ausgeführt worden, dass die tumorstatische Wirksamkeit des bifunktionellen Alkylans Bendamustin an die intakte Chlor-Ethylamin-Struktur mit der Bildung von zwei oder einem Aziridinium-Ion/en gebunden ist. Diese Strukturkomponente ist in vollem Umfang bzw. zumindest noch zum Teil in den obig erwähnten drei Metaboliten, nicht jedoch, mit Ausnahme der Metabolite 5, 9 und 12, bei den weiteren konjugierten Metaboliten und beim Dihydroxy-bendamustin gegeben. Die Metabolite 9 und 12 sind bisher nicht, der Metabolit 5 bisher nur in ersten orientierenden Untersuchungen im Plasma des Menschen detektiert worden (Teichert et al. 2005, 2009). Für die Metabolite γ -Hydroxy- und N-Desmethyl-bendamustin ist andererseits, wie einleitend bereits ausgeführt, in Untersuchungen an Tumorzelllinien und an humanen Leukozyten die cytotoxische Wirksamkeit belegt worden, während entsprechende Untersuchungen für Monohydroxy-bendamustin noch ausstehen.

Bendamustin

Die Kinetik von Bendamustin im Plasma zeigt an Tumorpatienten mit der Norm entsprechender Leber- und Nierenfunktion (Patienten der Kontrollgruppe), für die ein Vergleich zu entsprechenden Literaturdaten geführt werden kann, das charakteristische, aus dem Schrifttum bekannte, Verhaltensmuster. Erwartungsgemäß und wenig interindividuell unterschiedlich werden maximale Konzentrationswerte an Bendamustin am Ende der mit konstanter Geschwindigkeit geführten 30-minütigen Infusion ermittelt. Die dazugehörigen c_{\max} -Werte variieren interindividuell erheblich und werden an den 12 Patienten mehr als 9fach unterschiedlich gefunden. Gleiches trifft für das Verhalten von AUC zu, wobei die interindividuellen Unterschiede noch stärker ausgeprägt sind, sich jedoch ein intraindividuell weitestgehend konformes Verhalten zwischen Höhe der c_{\max} - und AUC-Werte ergibt.

An dieser Stelle sei erwähnt, dass der extrapolierte Anteil der AUC, also die Differenz aus AUC und AUC_{last} , sich auf lediglich 0,1% der AUC beläuft und diese damit nahezu gänzlich durch gemessene Konzentrationswerte von Bendamustin belegt ist. Analoges trifft für die

Messdatenermittlung in der Gruppe der HCC-Patienten zu, in der dieser Anteil zu 0,05% ermittelt wurde.

Die ermittelten Mittelwerte für die Eliminationshalbwertszeit $t_{1/2}$ zu 32,8 min, für die totale Körperclearance Cl zu 639 ml/min und für das Verteilungsvolumen im steady state V_{ss} zu 15,0 l fallen in den Bereich der im Schrifttum an Kollektiven von Patienten mit weitestgehend der Norm entsprechender Leber- und Nierenfunktion erhobenen Mittelwerten zu 32,0-49,1 min für die Eliminationshalbwertszeit, zu 528-826 ml/min bzw. 265-288 ml/min \times m² für die totale Körperclearance und zu 19,8-20,5 l für das Verteilungsvolumen im steady state (Preiss et al. 1985, 1998; Rasschaert et al. 2007 a+b; Owen et al. 2008).

In der Gruppe der Patienten mit eingeschränkter Leberfunktion (HCC-Gruppe) wird erwartungsgemäß das zeitliche Erreichen der maximalen Plasmaspiegel nicht unterschiedlich gegenüber Patienten mit der Norm entsprechender Leberfunktion gefunden. Die t_{max} -Werte beider Gruppen unterscheiden sich nicht signifikant voneinander. Die c_{max} - als auch die AUC-Werte werden im Trend, jedoch nicht gesichert, im Mittel in der HCC-Gruppe 26-36% höher als in der Kontrollgruppe gefunden. Die totale Körperclearance für Bendamustin liegt sogar um mehr als 50% niedriger in der Gruppe der Patienten mit eingeschränkter Leberfunktion gegenüber Patienten mit der Norm entsprechender Leberfunktion, ohne dass dieser Unterschied statistisch belegbar ist.

Die beträchtlichen interindividuellen Unterschiede in der Höhe der Bendamustinkonzentrationen im Plasma vor allem bei Patienten mit normaler Leberfunktion bei dosisnormierter Gabe des alkylierenden Zytostatikums müssen vordergründig für die statistisch nicht sichere Belegbarkeit dieser Unterschiede verantwortlich gemacht werden. So liegen die Varianzkoeffizienten als Quotienten aus Standardabweichung und Mittelwert für die AUC und Clearance in der Gruppe der Patienten mit normaler Leberfunktion bei jeweils über 90%, in der Gruppe der Patienten mit eingeschränkter Leberfunktion bei 57-59%.

Die im Trend eindeutig verzögerte Elimination von Bendamustin unter Bedingungen mittelgradig eingeschränkter Leberfunktion wird auch dahingehend objektiviert, als dass Patienten der HCC-Gruppe mit 47,1 min gegenüber Patienten der Kontrollgruppe mit 32,8 min eine gesichert längere Eliminationshalbwertszeit für Bendamustin aufweisen. Die Eliminationshalbwertszeit einer Substanz stellt eine Hybridkonstante aus Elimination und Verteilungsverhalten dar. Eine verteilungsbedingte Verlängerung dieses kinetischen Parameters in der Gruppe der HCC-Patienten kann jedoch ausgeschlossen werden, da Patienten der HCC-Gruppe eher ein kleineres absolutes als auch körpergewichtsbezogenes

Verteilungsvolumen im steady state als Patienten der Kontrollgruppe aufweisen (siehe Tabellen 8 und 9).

In summarischer Bewertung der erhobenen Befunde kann festgestellt werden, dass unter Bedingungen mittelgradig eingeschränkter Leberfunktion klare Anzeichen für eine verzögerte Elimination von Bendamustin aus Plasma bestehen, mit möglichen, noch zu erörternden Auswirkungen auf das Verträglichkeitsprofil des bifunktionellen Alkylans.

γ -Hydroxy-bendamustin und N-Desmethyl-bendamustin

Von allen bisher am Menschen identifizierten 16 Metaboliten von Bendamustin nehmen γ -Hydroxy-bendamustin und N-Desmethyl-bendamustin eine Sonderstellung ein. Sie sind bisher die einzigen Metabolite, die analog zum Bendamustin selbst, über eine intakte Bis-chlorethylamin-Struktur verfügen und über Phase-I-Reaktionen gebildet werden. Die nachgewiesene cytotoxische Wirksamkeit beider Metabolite sollte mit Sicherheit in dieser intakten Bis-chlorethylamin-Struktur begründet sein. Beide Metabolite werden über das Cytochrom P450-Isoenzym 1A2 am Menschen gebildet.

Die kinetischen Daten von γ -Hydroxy-bendamustin im Plasma an Patienten mit normaler Leberfunktion (Kontrollgruppe) zeigen eine gute Übereinstimmung zu diesbezüglich, jedoch spärlich in der Literatur vorliegenden Daten. Der ermittelte AUC-Quotient aus γ -Hydroxy-bendamustin zu Bendamustin von 0,051 liegt am unteren Ende des unter vergleichbarer Bendamustindosierung im Schrifttum zwischen 0,067 und 0,1 angegebenen Bereiches (Teichert et al. 2007, Rasschaert et al 2007 a, Owen et al. 2008).

An 5 Patienten mit Cholangiokarzinom beschreiben Teichert et al. (2007) bei gleicher intravenöser Applikationsweise von Bendamustin über 30 min t_{\max} -Werte und Eliminationshalbwertszeiten von γ -Hydroxy-bendamustin im Mittel zu 51,0 und 38,8 min, während diese in der vorliegenden Untersuchung zu 47,1 und 34,9 min ermittelt wurden.

Die vorliegenden Ergebnisse zeigen, dass Patienten mit mittelgradiger Einschränkung der Leberfunktion (HCC-Gruppe) eine verzögerte und geringere Bildung von γ -Hydroxy-bendamustin aufweisen. Gegenüber Patienten der Kontrollgruppe weisen Patienten der HCC-Gruppe jeweils gesichert längere t_{\max} -Zeiten und geringere c_{\max} -Werte als auch tendenziell niedrigere AUC-Werte für γ -Hydroxy-bendamustin auf. Die Eliminationsgeschwindigkeit des Metaboliten aus Plasma, erfaßt durch die Eliminationshalbwertszeit, unterscheidet sich dagegen nicht gesichert zwischen beiden Patientengruppen. Die Elimination des Metaboliten erfolgt gemischt biliär und renal und hypothetisch über die Bildung entsprechender Sekundärmetabolite, so zu erwartender Hydroxyderivate und Phase-II-Konjugate, deren

Existenz jedoch bisher am Menschen noch nicht belegt wurde. Für das später noch zu erörternde veränderte Toxizitätsverhalten von Bendamustin unter Bedingungen eingeschränkter Leberfunktion sollten jedoch die aufgezeigten Änderungen in der Kinetik von γ -Hydroxy-bendamustin eher von geringer Bedeutung sein. Zwar weist γ -Hydroxy-bendamustin, wie bereits gezeigt, eine gegenüber Bendamustin vergleichbare Zytotoxizität auf, jedoch belaufen sich seine Plasmakonzentrationen unter Bedingungen normaler Leberfunktion auf lediglich 5% der Konzentrationen von Bendamustin.

Die kinetischen Daten von N-Desmethyl-bendamustin im Plasma an Patienten mit normaler Leberfunktion (Kontrollgruppe) zeigen analog zu γ -Hydroxy-bendamustin eine gute Übereinstimmung zu entsprechenden, jedoch ebenfalls spärlich im wissenschaftlichen Schrifttum vorliegenden Daten, die im Bezug auf die Leberfunktion an vergleichbaren Tumorpatienten erhoben wurden. Der in vorliegender Untersuchung ermittelte Quotient aus AUC N-Desmethyl-bendamustin und AUC Bendamustin von 0,011 fällt in den unter vergleichbarer Bendamustindosierung in der Literatur angegebenen Bereich von 0,010 bis 0,013 (Teichert et al. 2007, Rasschaert et al 2007 a, Owen et al. 2008). An 5 Patienten mit Cholangiokarzinom beschreiben Teichert et al. (2007) bei gleicher intravenöser Applikationsweise von Bendamustin über 30 min mittlere t_{\max} -Werte und Eliminationshalbwertszeiten für N-Desmethyl-bendamustin zu 57,0 und 43,8 min, während diese in den vorliegenden Untersuchungen zu 50,8 und 27,7 min ermittelt wurden.

N-Desmethyl-bendamustin weist wie γ -Hydroxy-bendamustin an Patienten mit mittelgradig eingeschränkter Leberfunktion eine verzögerte und reduzierte Bildung auf. Patienten der HCC-Gruppe weisen gegenüber Patienten der Kontrollgruppe signifikant längere t_{\max} -Werte und statistisch grenzwertig ($p=0,05$) niedrigere c_{\max} -Werte auf. Die Elimination von N-Desmethyl-bendamustin wird jedoch, im Gegensatz zu γ -Hydroxy-bendamustin, unter Bedingung reduzierter Leberfunktion ebenfalls verzögert gefunden, wie die statistisch gesichert höheren Werte für die Eliminationshalbwertszeit und die mittlere Verweildauer in der Gruppe der HCC-Patienten gegenüber Patienten der Kontrollgruppe belegen. Für N-Desmethyl-bendamustin ist wie für γ -Hydroxy-bendamustin die gemischt biliäre und renale Ausscheidung belegt. Ob eine Überführung in Sekundärmetabolite existiert und unter Bedingungen reduzierter Leberfunktion verzögert ist, kann als möglicher ursächlicher Mechanismus für die vorgefundene Datenlage gegenwärtig nicht entschieden werden. Für das nachfolgend noch zu erörternde Toxizitätsverhalten von Bendamustin in Abhängigkeit von der Leberfunktion sollten jedoch die aufgezeigten Änderungen im kinetischen Verhalten von

N-Desmethyl-bendamustin ohne Bedeutung sein. Zum einen weist N-Desmethyl-bendamustin, wie bereits ausgeführt, eine etwa 10fach geringere Zytotoxizität als Bendamustin auf und zum zweiten belaufen sich die Plasmakonzentrationen des Metaboliten unter Bedingungen normaler Leberfunktion auf lediglich 1% der Konzentrationen von Bendamustin.

Wie bereits ausgeführt werden N-Desmethyl-bendamustin und γ -Hydroxy-bendamustin maßgeblich über das Cytochrom P450-Isoenzym 1A2 aus Bendamustin am Menschen gebildet. Hinsichtlich eines möglichen arzneimittelinteraktiven Potentials wäre in Anbetracht der Begleittherapie für beide Patientengruppen nur die Gabe von Omeprazol/Esomeprazol erwähnenswert, die in üblicher Dosierung zu 20 mg täglich an 4 Patienten der HCC-Gruppe, jedoch an keinem Patienten der Kontrollgruppe erfolgte. Eine relevante Beeinflussung der Kinetik von Bendamustin kann nahezu gänzlich ausgeschlossen werden, da unter Normbedingungen (Patienten der Kontrollgruppe) die AUC-Quotienten der Metaboliten zur Muttersubstanz zu 0,05 und darunter liegen. Die insgesamt geringe Bildung der Metabolite aus Bendamustin könnte durch die Begleittherapie mit Omeprazol/Esomeprazol in 4 der 13 HCC-Patienten geringfügig induziert sein, wie die gering höheren mittleren Metabolit/Bendamustin-AUC-Quotienten in diesen 4 gegenüber den restlichen 9 Patienten zeigen (0,036 vs. 0,026, γ -Hydroxy-bendamustin; 0,0062 vs. 0,0052, N-Desmethyl-bendamustin). In Anbetracht dieser kinetischen Verhältnisse, vor allem aber der gegenüber Bendamustin gleichstark bzw. 10fach geringer zu erwartenden cytotoxischen Wirksamkeit von γ -Hydroxy- und N-Desmethyl-bendamustin, kann ein Einfluß der aufgezeigten Unterschiede in der Therapie mit Omeprazol/Esomeprazol zwischen beiden Patientengruppen auf das noch zu erörternde Toxizitätsverhalten von Bendamustin ausgeschlossen werden. Im Rauverhalten, als einen möglichen weiteren Faktor für eine Induktion von CYP1A2, unterschieden sich beide Patientenkollektive insofern nicht, als sich in beiden Gruppen jeweils nur ein Raucher mit einem Konsum von jeweils weniger als 10 Zigaretten pro Tag befand.

Monohydroxy-bendamustin

Analog zu beiden Phase-I-Metaboliten weist auch Monohydroxy-bendamustin in seinen kinetischen Daten im Plasma an Patienten mit normaler Leberfunktion (Kontrollgruppe) eine gute Übereinstimmung zu diesbezüglichen, jedoch spärlich in der Literatur vorliegenden Daten an hinsichtlich der Leberfunktion vergleichbaren Tumorpatienten auf. Der vorliegend

zu 0,03 ermittelte AUC-Quotient aus Monohydroxy-bendamustin zu Bendamustin zeigt eine gute Übereinstimmung zu dem unter vergleichbarer Bendamustindosierung im Schrifttum angegebenen Quotienten von 0,04 (Teichert et al. 2007, Rasschaert et al. 2007a). An 5 Patienten mit Cholangiokarzinom beschreiben Teichert et al. (2007) bei gleicher intravenöser Applikationsweise von Bendamustin über 30 min mittlere t_{\max} -Werte und Eliminationshalbwertszeiten von Monohydroxy-bendamustin zu 38,0 und 38,4 min. In vorliegenden Untersuchungen an Patienten mit normaler Leberfunktion (Kontrollgruppe) werden mittlere t_{\max} -Werte zu 28,8 min und damit gut übereinstimmend zu Teichert et al. (2007) ermittelt, während die mittlere Eliminationshalbwertszeit zu 55,4 min offenbar gering höher als in den Untersuchungen von Teichert et al. bestimmt wurde, wobei jedoch mit einem Variationskoeffizienten von mehr als 70% eine erhebliche interindividuelle Variation besteht. Für keinen der kinetischen Parameter von Monohydroxy-bendamustin im Plasma werden statistisch gesicherte Unterschiede zwischen Patienten mit normaler Leberfunktion (Kontrollgruppe) und Patienten mit mittelgradig eingeschränkter Leberfunktionsleistung (HCC-Gruppe) gefunden. Entsprechend der nichtenzymatischen Bildung von Monohydroxy-bendamustin aus Bendamustin über einen reinen spontanhydrolytischen Vorgang sind primär auch keine Unterschiede im kinetischen Verhalten des Metaboliten zwischen beiden Patientengruppen zu erwarten. Es gibt keine rationalen Gründe für die Annahme, dass dieser physikochemische Prozess unter Bedingungen eingeschränkter Leberfunktion verändert sein könnte.

Aufgrund des nicht unterschiedlichen kinetischen Verhaltens von Monohydroxy-bendamustin an beiden Patientengruppen kann eine ursächliche Beteiligung des Metaboliten an den später noch zu diskutierenden stärkeren cytotoxischen Wirkungen von Bendamustin an Patienten mit eingeschränkter Leberfunktion ausgeschlossen werden. Von einer, wenn auch geringen cytotoxischen Wirksamkeit von Monohydroxy-bendamustin sollte aufgrund des Vorhandenseins noch einer Bis-chlorethylamin-Strukturkomponente im Molekül des Metaboliten ausgegangen werden können, obwohl der diesbezügliche Wirksamkeitsbeleg bisher noch nicht geführt wurde.

Toxizitätsprofil

Die Ergebnisse der vorliegenden Untersuchungen belegen, dass das klinische Toxizitätsprofil von Bendamustin ganz überwiegend milder Natur (Grad 1 oder 2 Reaktionen) ist, sich vor allem in Form von gastrointestinalen Reaktionen manifestiert und nicht unterschiedlich

zwischen Patienten mit normaler Leberfunktion und Patienten mit mittelgradig eingeschränkter Leberfunktion gefunden wird.

Als häufigste klinische Unverträglichkeitsreaktionen wurden gastrointestinale Nebenwirkungen in Form von Mundtrockenheit, Übelkeit/Erbrechen und Schmeckstörungen beobachtet, die mit Ausnahme von lediglich zwei Grad 3-Reaktion sämtlich nur als Grad 1 und 2-Reaktionen registriert wurden. Sie wurden ohne erkennbaren Gruppenunterschied in der Kontrollgruppe bzw. in der HCC-Gruppe zu Häufigkeiten von 75 bzw. 62% für Mundtrockenheit, 58 bzw. 54% für Übelkeit/Erbrechen und 25 bzw. 23% für Schmeckstörungen gefunden. Gastrointestinale Unverträglichkeitsreaktionen dieser und ähnlicher Charakteristik und in vergleichbarer Häufigkeit mit ganz überwiegend geringem Ausprägungsgrad (Grad 1 und 2-Reaktionen) sind auch in mehreren Phase-II-Studien und Monographien zu Bendamustin als die häufigsten nichthämatologischen Toxizitäten beschrieben worden (Schmittl et al. 2007, Köster et al. 2004, Höffken et al. 1998, Plosker und Carter 2008, Blumel et al. 2008, Hussar 2008). Mundtrockenheit schweren Ausmaßes wurde unter Dosisescalation in einzelnen Phase I-Studien neben weiteren Reaktionen als dosislimitierend identifiziert (Schöffski et al. 2000a+b).

Weitere klinische Unverträglichkeitsreaktionen lassen, wie gastrointestinale Reaktionen, keine unterschiedliche Ausprägung in beiden Patientengruppen erkennen, treten in der Gesamt-Patientenpopulation zu maximal 16% auf und sind mit einer Ausnahme einer Fieberreaktion (Grad 3-Toxizität) gänzlich milden Ausmaßes (Grad 1 und 2-Reaktionen). Das Auftreten einer leichten Alopezie in jeweils einem Patienten der Kontroll- und HCC-Gruppe deckt sich mit dem im Schrifttum beschriebenen nicht bzw. nur gering ausgeprägten Alopeziepotential von Bendamustin (Schmittl et al. 2007, Köster et al. 2004, Reichmann et al. 2007, Höffken et al. 1998, Plosker und Carter 2008, Blumel et al. 2008).

Eine Fieberreaktion der Stärke Grad 3, 3 Wochen nach Applikation von Bendamustin auftretend, wurde am Patienten 10 der HCC-Gruppe beobachtet. Der Patient wies zum Zeitpunkt des Studienstarts eine Neutrozytopenie Grad 1 bei andererseits normalen Lymphozyten- und Leukozytenwerten auf und entwickelte nach Gabe von Bendamustin und konform zur Fieberreaktion beträchtliche Anstiege der Zahl an Leukozyten und neutrophilen Granulozyten mit parallel zur Fieberreaktion stärkster Ausprägung 3 Wochen nach Gabe von Bendamustin. Dieser Reaktionsverlauf spricht nicht für eine bendamustininduzierte neutropenische Fieberreaktion. Häufigkeitsangaben zum Auftreten von neutropenischem Fieber nach Gabe von Bendamustin schwanken im Schrifttum zwischen 6 und 11% (Plosker

und Carter 2008, Friedberg et al. 2008), jene für das Auftreten von Fieber wenig differenziert in dem weiten Bereich von 1-24% (Leong und Bonk 2009, Hussar 2008).

Opportunistische Infektionen, wie sie bisweilen in der Anwendung von Bendamustin beschrieben werden (Friedberg et al. 2008, Cheson und Rummel 2009, Leong und Bonk 2009), wurden in vorliegender Untersuchung nicht beobachtet. Auch für das Auftreten sehr seltener, jedoch in aller Regel mittelgradiger bis schwerer Verläufe von klinischen Unverträglichkeitsreaktionen in der Anwendung von Bendamustin, so in Form von mit Blutdruckabfällen, Tachykardien, Atemnot, Hautausschlag und Frösteln einhergehenden Infusionszwischenfällen, welche meist während oder unmittelbar nach der Infusion als Tumor- Lyse- Syndrom mit Harnsäureanstiegen und der Gefahr der Nierenschädigung auftreten, und in Form von toxischen Hautreaktionen (Blumel et al. 2008, Hussar 2008, Kahl et al. 2007, Plosker und Carter 2008, Leong und Bonk 2009, Hummel et al. 2005, Friedberg et al. 2008) wurden keine Anhaltspunkte gefunden.

Kardiotoxische Reaktionen, wie sie in einigen Phase-I-Studienprotokollen in einem der maximal tolerierbaren Dosis entsprechenden Dosisbereich in Form von Tachykardien und AV-Blockbildern beschrieben werden (Preiss et al. 1998, Schöffski et al. 2000 a, Rasschaert et al. 2007 b) wurden ebenfalls nicht beobachtet.

Die bislang vorgenommene deskriptive Analyse des klinischen Toxizitätsprofils zeigt, dass sich dieses in seinem Ausmaß offenbar nicht zwischen Patienten mit normaler Leberfunktion und Patienten mit mittelgradig eingeschränkter Leberfunktion unterscheidet. Diese Aussage wird auch durch die Ergebnisse einer semiquantitativen Analyse zur Stärke der klinischen Toxizitätsreaktionen untermauert (siehe Kapitel 4.3.3., Tab. 30). Es war gezeigt worden, dass für die Auswertungszeiträume 0-2 und 0-4 Wochen nach Bendamustingabe sich die Summenscores aller klinischen Toxizitätsreaktionen nicht zwischen den Patienten beider Untersuchungsgruppen unterscheiden.

Zur Beurteilung des paraklinischen, inklusive hämatologischen, Toxizitätsprofils von Bendamustin diente die Erfassung von ASAT, ALAT, γ -GT, Gesamtbilirubin, Kreatinin, partielle Thromboplastinzeit (PTT), Quick-Wert, Hämoglobingehalt und Zahl der Leukozyten, neutrophilen Granulozyten, Lymphozyten und Thrombozyten im peripheren Blut.

Die Ergebnisse der vorliegenden Untersuchungen zeigen, dass nach Gabe von Bendamustin in der Gruppe der Patienten mit normaler Leberfunktion zu keinem Zeitpunkt der vierwöchigen

Nachbeobachtung für die vier erhobenen Leberfunktionsparameter ASAT, ALAT, γ -GT und Gesamtbilirubin nach NCI/NIH-Kriterien erfasste Toxizitätsreaktionen auftraten bzw. bei wenigen einzelnen Patienten vorbestehende Toxizitätsreaktionen verstärkt wurden. Zu den 4 Messzeitpunkten ergaben sich im Mittelwertverhalten der 4 Funktionsparameter weder statistisch gesicherte noch trendmäßige Unterschiede gegenüber den jeweiligen Ausgangslagen.

Auf der Grundlage dieser Ergebnisse erscheint die Aussage berechtigt, dass Bendamustin im therapeutisch relevanten Dosisbereich keine hepatotoxische Komponente entfaltet.

Abweichend hiervon stellt sich das Reaktionsverhalten des Patienten 5 der Kontrollgruppe dar. Patient 5, welcher zum Zeitpunkt vor Gabe von Bendamustin Grad 0-1-Toxizitätsreaktionen für alle 4 Leberfunktionsparameter aufwies, reagierte nach Gabe von Bendamustin mit einer kontinuierlichen Verschlechterung der Leberfunktionsleistung und dem Auftreten von Grad 2/3-Toxizitätsreaktionen für ASAT, ALAT und γ -GT und einer Grad 4-Toxizität für Bilirubin am Ende der 4. Beobachtungswoche. Bei der Patientin war primär ein Gallenblasenkarzinom diagnostiziert worden. Während der Beobachtungsphase wurde im Computertomogramm eine Größenzunahme der Metastase im 6. Lebersegment festgestellt. Das Verhalten der Leberfunktionsparameter sollte daher eher als dem tumorösen Verlauf geschuldet bewertet werden, als dass es Folge der Gabe von Bendamustin ist.

Das gute Verträglichkeitsverhalten von Bendamustin in Bezug auf die Leberfunktion wird auch an Patienten mit mittelgradig eingeschränkter Leberfunktion gefunden. Im Verhalten von ASAT, ALAT und γ -GT wird jeweils nur an 4 Patienten das Neuaufreten bzw. eine Zunahme der Werte gegenüber der jeweiligen Ausgangslage im Ausmaß einer Grad 1-Reaktion beobachtet. Zu mehr als 80% waren diese Reaktionen am Ende der Beobachtungsperiode in der 3. und/oder 4. Woche nachweisbar. In allen 3 Leberfunktionsparametern wurden zu allen 4 Messzeitpunkten keine statistisch gesicherten Änderungen im Mittelwertverhalten gegenüber den jeweiligen Ausgangslagen gefunden. Ein Patient der HCC-Gruppe (Patient 3) reagierte im Verhalten der γ -GT sogar mit einer Abnahme des Toxizitätsgeschehens von Grad 3 im Ausgangsbefund auf Grad 2 in der 4. Beobachtungswoche.

Ein ähnliches Verhalten ist auch für Gesamtbilirubin nachweisbar. In den 13 HCC-Patienten waren Zunahmen gegenüber den Ausgangsbefunden im Ausmaß von einer Grad 2-Reaktion und einer Grad 3-Reaktion an jeweils nur einem Patienten nachweisbar. Analog zu den Parametern ASAT, ALAT und γ -GT traten diese Reaktionen zu mehr als 70% in der 3., vor allem jedoch in der 4. Beobachtungswoche auf. Im Mittelwertverhalten liegen die

Bilirubinwerte in der 4. Woche, nicht jene der Wochen 1-3, gesichert höher als der Bilirubinwert vor Gabe von Bendamustin. Die Bilirubinwerte aller 13 Patienten liegen in der 4. Beobachtungswoche jeweils höher als die entsprechenden Ausgangswerte.

Die moderaten und lediglich in wenigen Patienten und zudem ganz überwiegend am Ende der vierwöchigen Beobachtungsperiode, nicht hingegen in den ersten 2-3 Wochen nach Gabe von Bendamustin, beobachteten Beeinträchtigungen der Leberfunktionsparameter ASAT, ALAT und γ -GT, vor allem aber die erst in der 4. Woche bei ausnahmslos allen Patienten der HCC-Gruppe im interindividuell vergleichbaren Ausmaß auftretenden Anstiege der Bilirubinwerte im Vergleich zur Ausgangsbefundlage, führen sehr berechtigt zu der Annahme, dass dieses Reaktionsverhalten nicht als Folge der Gabe von Bendamustin, sondern vielmehr als Folge eines kontinuierlichen Fortschreitens der Tumorgrunderkrankung der an einem hepatozellulären Karzinom erkrankten Patienten zu sehen ist. Hieraus folgt jedoch auch, dass im dosisreduzierten Herangehen eine Gabe von Bendamustin an Patienten mit mittelgradig eingeschränkter Leberfunktion vertretbar ist.

Die hier erhobenen Befunde stehen in gutem Einklang mit bisher im Schrifttum ausgewiesenen Daten. Nach Kenntnis der Autorin ist in den überaus zahlreichen Phase I-II-Studien zu Bendamustin als auch in der Vielzahl der zu Bendamustin erschienenen Reviews im Schrifttum nie von einer hepatotoxischen oder die Leberfunktion beeinträchtigenden Wirkung des bifunktionellen Alkylans berichtet worden. Lediglich eine in Bulgarien ausgeführte und 2006 publizierte Studie an Patienten mit chronisch-lymphatischer Leukämie vom B-Zelltyp berichtet unter einer Gabe von Bendamustin zu einer Dosis von 100-120 mg/m², an Tagen 1 und 2 alle 3 Wochen verabreicht, in 6 von 15 Patienten von Bilirubinerhöhungen der Grade 3/ 4 nach CTC (Lissitchkov et al. 2006). Die methodische Validität der Arbeit ist jedoch selbst nach Positionierung durch die Autoren zu hinterfragen. Weder waren die Basiswerte für Bilirubin an diesen Patienten gemessen worden, noch wurden zusätzliche leberfunktionsspezifische Parameter erhoben. Die Autoren führen selbst aus, dass unter Bezug auf Literaturbefunde Berichte über Bilirubinerhöhungen nach Gabe von Bendamustin lediglich auf ihre eigene Studie limitiert sind. Sie schlussfolgern zudem aus ihren Ergebnissen, dass Bilirubinerhöhungen wahrscheinlich keine klinische Relevanz für die Durchführung von klinischen Studien mit Bendamustin und den Einsatz von Bendamustin in der klinischen Praxis besitzen werden.

Bei nicht unterschiedlichen Ausgangswerten sowohl für PTT als auch Quick zwischen Patienten der Kontrollgruppe und jenen der HCC-Gruppe werden beide Funktionsparameter während der 4-wöchigen Beobachtungsperiode nach Gabe von Bendamustin auch nicht

verändert gegenüber den entsprechenden Ausgangslagen gefunden. Nach Gabe von Bendamustin wird an allen Patienten der Kontrollgruppe als auch, mit Ausnahme des Patienten 10, in allen Patienten der HCC-Gruppe das Ausreten von Toxizitätsreaktionen für beide Parameter nicht gefunden. Patient 10 wies für beide Parameter Toxizitätsreaktionen der Grade 2 und 3 von der 2. bis 4. Beobachtungswoche auf. Dieser Patient wies unter allen Patienten mit eingeschränkter Leberfunktion bei sonst eher unauffälligem Verhalten für ASAT, ALAT und Gesamtbilirubin die höchsten Werte für die γ -GT auf, ohne dass jedoch hier ein plausibler Zusammenhang erwogen werden kann.

Ein gesichert unterschiedliches Verhalten von Quick und PTT nach Gabe von Bendamustin wird zwischen Patienten beider Gruppen nicht gefunden. Zumindest für Patienten mit der Norm entsprechender Leberfunktion kann die Aussage getroffen werden, dass die Gabe von Bendamustin im therapeutisch relevanten Dosisbereich offenbar ohne Einfluss auf das Gerinnungspotential ist. Entsprechende Daten sind nach Kenntnis der Autorin im Schrifttum nicht verfügbar.

Im Ergebnisteil der Arbeit war gezeigt worden, dass zum Zeitpunkt des Studienstarts mit Ausnahme von jeweils einem Patienten in der Kontrollgruppe und in der HCC-Gruppe mit jeweils grenzwertigem Verhalten der Kreatininclearance, alle übrigen Patienten eine gänzlich der Norm entsprechende Nierenfunktion aufwiesen und die Kreatininclearance sich zwischen beiden Patientengruppen nicht unterschied. Nach Gabe von Bendamustin waren in zwei Patienten der Kontrollgruppe und einem Patienten der HCC- Gruppe gegen Ende der vierwöchigen Beobachtungsperiode, über 2 Wochen bestehend, leichte Anstiege der Serumkreatininspiegel zu einer maximalen Toxizitätsreaktion des Grades 1 nachweisbar. Andererseits fällt sowohl im Verhalten der arithmetischen Mittelwerte als auch der Mediane ein Trend für ein geringgradiges Ansteigen der Serumkreatininspiegel vom Startzeitpunkt bis hin zur 3. Beobachtungswoche auf, der in der Gruppe der Kontrollpatienten sogar statistische Signifikanz erreicht, in der 4. Woche jedoch wieder eine tendenzielle Rückentwicklung zeigt. Ob tatsächlich in der hier geprüften therapeutisch relevanten Dosierung Bendamustin über ein geringes nephrotoxisches Potential verfügt, kann auf der Basis der hier vorgelegten Daten nicht entschieden werden, sondern muß weiteren Untersuchungen vorbehalten bleiben. Auch bisher in der Literatur hierzu erhobene Daten liefern kein einheitliches Bild. Während in der Vielzahl bisher vorgelegter Phase I-II-Studien, als auch unter alleiniger Gabe von Bendamustin in Phase III-Studienprotokollen über keine die Nierenfunktion beeinflussende Wirkung des bifunktionellen Alkylans berichtet wird, finden Reichmann et al. (2007) und Höffken et al. (1998) in Phase II-Studien an Patienten mit Mammakarzinom unter einer

Therapie mit Bendamustin, zu Dosen von 120 bzw. 150 mg/m² an Tagen 1 und 2 alle 4 Wochen verabreicht, renale Toxizitäten bzw. Anstiege des Serumkreatinins jeweils der Schweregrade 1 und 2 in 2-6% der Patienten. In 76 Patienten mit Rituximab refraktären Non-Hodgkin-Lymphomen wird in 3 Patienten über transiente Kreatininanstiege berichtet, die jedoch alle im Rahmen von Transfusionszwischenfällen mit Bendamustin auftraten (Friedberg et al. 2008).

Gegenüber Patienten mit normaler Nierenfunktion wird an Patienten mit milder Nierenfunktionseinschränkung (Kreatininclearance 49-80 ml/min) keine Änderung der Kinetik von Bendamustin gefunden (Owen et al. 2008).

Das hämatotoxische Verhalten von Bendamustin an beiden Patientengruppen wurde anhand des Hämoglobingehaltes und der Zahl der Leukozyten, neutrophilen Granulozyten, Lymphozyten und Thrombozyten im Blut erfasst.

Der Hämoglobingehalt wird in geringerem Ausmaß als die Zahl der Leukozyten, neutrophilen Granulozyten, Lymphozyten und Thrombozyten durch die Gabe von Bendamustin beeinflusst. In der Gruppe der Kontrollpatienten wird bei keinem Patienten eine bendamustininduzierte Toxizitätsreaktion beobachtet.

Im Vergleich hierzu werden an Patienten mit eingeschränkter Leberfunktion (HCC-Gruppe), welche sich in der Ausgangsbefundlage nicht von Patienten der Kontrollgruppe unterschieden, bendamustininduzierte anämische Reaktionen beobachtet im Sinne des Neuauftretens bzw. der Zunahme gegenüber der Ausgangssituation von Grad 1-Toxizitäten an 2 Patienten und einer Grad 2-Toxizität an einem Patienten gegen Ende des vierwöchigen Beobachtungszeitraums und im Sinne eines in der 4. Woche gesichert niedrigeren Hämoglobingehalts als zum Startzeitpunkt. Der nachgewiesene, lediglich moderate Einfluss von Bendamustin auf den Hämoglobingehalt steht in gutem Einklang mit Daten aus dem Schrifttum. Insbesondere in Studien mit höheren Patientenzahlen ist in der Therapie von Tumoren unterschiedlicher Entitäten mit Bendamustin eine im Vergleich zur Leuko- und Thrombozytopenie geringere Häufigkeit von anämischen Reaktionen, vor allem aber auch von schweren Grad 3 / 4- Anämien (Reichmann et al. 2007, Höffken et al. 1998, Friedberg et al. 2008, Kahl et al. 2007, Knauf et al. 2006) gefunden worden. Auch in mehreren Phase I-Studienprotokollen werden schwere Thrombo- oder Leukozytopenien als partiell dosislimitierend beschrieben, nicht hingegen anämische Reaktionen (Preiss et al. 1998, Schöffski et al. 2000 a+b, Rasschaert et al. 2007b). Demgegenüber beschrieben Pönisch et al.

(2006) an nicht vorbehandelten Patienten mit multiplem Myelom unter einer Therapie mit Bendamustin und Prednisolon Grad 3 / 4-Toxizitäten für Anämie, Leukozyto- und Thrombozytopenie zu 24, 40 und 10%.

Das Verhalten der Zahl der Leukozyten und neutrophilen Granulozyten zeigt nach Gabe von Bendamustin ein weitestgehend identisches Verhalten.

Die jeweils im Normbereich liegenden Ausgangswerte für Leukozyten unterscheiden sich nicht zwischen beiden Patientengruppen, jene für neutrophile Granulozyten liegen in der HCC-Gruppe jedoch gesichert niedriger als in der Kontrollgruppe. Im Ergebnisteil der Untersuchungen war gezeigt worden, dass nach Gabe von Bendamustin in der Gruppe der Kontrollpatienten mit der Ausnahme einer Leukozytopenie des Grades 1 an einem Patienten keine Toxizitätsreaktionen sowohl für Leukozyten als auch für neutrophile Granulozyten auftraten, jedoch ein Trend zur Abnahme beider Zelltypen gegenüber den Ausgangsbefunden mit zunehmender Beobachtungsdauer zu verzeichnen war und dieser für Leukozyten in der 3. und 4. Woche auch statistisch gesichert nachweisbar war.

Im Vergleich zu diesem weitestgehend indifferenten Verhalten in der Gruppe der Kontrollpatienten führt die Gabe von Bendamustin an HCC-Patienten zu gesichert stärkeren Depressionen beider Zelltypen und zum gehäuftem Auftreten von Grad 1- und 2- Toxizitäten. Schwere, Grad 3 / 4-Suppressionen von Leukozyten und neutrophilen Granulozyten, wie sie in der Gabe von Bendamustin in vergleichbarer Dosis, jedoch in mehrzyklischer Verabreichung, an Patienten mit Non-Hodgkin-Lymphomen, chronisch lymphatischer Leukämie und multiplem Myelom wiederholt beschrieben wurden (Kahl et al. 2007, Friedberg et al. 2008, Knauf et al. 2007, Pönisch et al. 2006), werden jedoch auch an Patienten der HCC-Gruppe nicht beobachtet.

Die Ergebnisse der vorgelegten Untersuchungen stehen daher eher im Einklang mit dem Nichtnachweis von leukozytopenischen und neutropenischen dosislimitierenden Toxizitäten in Phase I-Studien (Schöffski et al. 2000 a+b, Rasschaert et al. 2007 a+b) und den nicht oder nur selten nachweisbaren Grad 4-Leukozytopenien in Phase II-Studienprotokollen (Höffken et al. 1998, Reichmann et al. 2007) an Patienten mit soliden Tumoren.

Die Depression der Leukozyten und neutrophilen Granulozyten, als auch, wie nachfolgend gezeigt wird, die der Thrombozyten, manifestiert sich als eine verzögerte Reaktion mit Nadirwerten nach circa 3-4 Wochen. Dieses Reaktionsverhalten ist auch bereits in früheren Untersuchungen für Bendamustin aufgezeigt worden (Preiss et al. 1998, Rasschaert et al. 2007b) und kann als charakteristisch für eine Reihe von alkylierenden Zytostatika gelten. Nadirwerte von Leukozyten und Thrombozyten nach 2 bzw. 3 Wochen werden für die

Alkylantien Cyclophosphamid und Chlorethamin und nach 4-5 Wochen für die alkylierenden Nitrosoharnstoffderivate beschrieben (Colvin und Chabner 1990, Colvin 2003).

Von allen in vorliegender Untersuchung erfassten klinischen und paraklinischen Toxizitätsreaktionen nach Gabe von Bendamustin stellt die Depression der Lymphozyten im peripheren Blut die stärkste Reaktion dar. Nadirwerte sind hierbei, im Gegensatz zum Verhalten von Leukozyten, neutrophilen Granulozyten und Thrombozyten bereits nach einer Woche ausgeprägt. Zu diesem Zeitpunkt weisen bei einem normalen oder höchstens mit einem Toxizitätsgrad 2 behafteten Vorbefund 4 Patienten der HCC- Gruppe Reduktionen der Zahl der Lymphozyten auf unter 200/ μ l, mithin Toxizitätsreaktionen des Schweregrades 4 auf. Das Abfallen der Lymphozyten nach einer Woche in der Gruppe der HCC-Patienten im Mittel um 79% gegenüber der Ausgangslage ist prominent. Zum Zeitpunkt der maximalen Lymphozytendepression eine Woche nach Gabe von Bendamustin belaufen sich die Zunahmen der Toxizitätsgrade gegenüber den Ausgangsbefunden auf Grad 1-Reaktionen in 8 Patienten und Grad 2-Reaktionen in 2 Patienten der Kontrollgruppe, hingegen auf Grad 2-Reaktionen in 8 Patienten, Grad 3-Reaktionen in 3 Patienten und Grad 4-Reaktionen an einem Patienten der HCC-Gruppe.

Die Depression der Lymphozyten eine Woche nach Verabreichung von Bendamustin ist signifikant und beträchtlich stärker in der HCC-Gruppe als in der Kontrollgruppe ausgeprägt. Während in der Kontrollgruppe bereits nach 2 Wochen das Ausgangsniveau wieder erreicht ist, bleibt der supprimierte Zustand der Lymphozyten in der HCC-Gruppe über den gesamten vierwöchigen Beobachtungszeitraum bestehen. Ein gegenüber den Ergebnissen der vorliegenden Untersuchungen nahezu identisches Verhalten wurde in Phase I-Studien an Patienten mit soliden Tumoren erhalten. Unter Gabe von Bendamustin zu Dosen im Bereich von 100-180 mg/m^2 an Tagen 1 und 8 wurden bereits nach 8 Tagen und vor der nächsten Bendamustinapplikation in 27 von 28 Patienten mit im Mittel normalen Lymphozytenausgangswerten Grad 3- und 4-Lymphozytendepressionen mit Nadirwerten von 100-200 Zellen/ μ l beobachtet, die in nachfolgenden 3 Wochen keine Regenerierungstendenz aufwiesen und wie in vorliegenden Untersuchungen nicht von opportunistischen Infektionen begleitet waren (Schöffski et al. 2000a). In der wöchentlichen Gabe von Bendamustin zu Einzeldosen von 60-80 mg/m^2 gelangt die gleiche Autorengruppe zu analogen Daten. Lymphozytendepressionen der Toxizitätsgrade 3 und 4 mit Nadirwerten zwischen 100-300/ μ l waren an 11 von 12 Patienten mit im Mittel der Norm entsprechenden Lymphozytenausgangswerten zu verzeichnen, traten entsprechend dem Zeitregime der Gabe

von Bendamustin nach 4-6 Wochen auf, betrafen alle gemessenen Lymphozytensubfraktionen bei unveränderter T4/T8-ratio, beliefen sich auf prozentuale Senkungen von >90, >60 und >70% für B-Lymphozyten, T-Lymphozyten und NK-Zellen und waren erneut nicht vom Auftreten opportunistischer Infektionen begleitet (Schöffski et al. 2000b). Die Autoren diskutierten diese lymphozytendepressive Wirkung von Bendamustin als pharmakologische Rationale für die Behandlung von Tumoren des Lymphoidsystems. Unter Gabe von Bendamustin zu Dosen im Bereich von 120-180 mg/m², jeweils an Tagen 1 und 2 verabreicht, berichten Rasschaert et al. (2007b) an allen 15 involvierten Patienten von Lymphozytendepletionen des Toxizitätsgrades 4, die bereits nach 8 Tagen auftraten und lang anhielten, jedoch nicht von opportunistischen Infektionen begleitet waren. Die Lymphozytenausgangswerte der Patienten vor Gabe von Bendamustin waren jedoch in dieser Studie nicht ausgewiesen.

Das lymphozytopenische Potential von Bendamustin ist in Phase II- und III-Studien weit weniger systematisch untersucht worden. Unter jeweils kontinuierlicher alleiniger Gabe von Bendamustin finden Knauf et al. (2007) an 153 chemotherapienaiven CLL-Patienten Lymphozytopenien der Toxizitätsgrade 3 und 4 in ca. 5% der Patienten und beschreiben Kath et al. (2001) an 23 CLL-Patienten, die zu 57% einen chemotherapienaiven Vorzustand aufwiesen, eine mit fortschreitender Behandlungsdauer kontinuierliche Abnahme der Lymphozytenzahl, welche mit dem Auftreten von Infektionen korrelierte. Bremer (2002) berichtet unter ebenfalls kontinuierlicher alleiniger Therapie mit Bendamustin an 46 chemotherapeutisch vorbehandelten Patienten mit niedrig malignem Non-Hodgkin-Lymphom von einer ca. 60%igen Depression von CD 4⁺ und CD 8⁺ Lymphozyten und NK-Zellen bereits nach 2wöchiger Therapie mit anschließender langsamer Regenerierungstendenz, die jedoch, wie schon wiederholt gezeigt, nicht vom Auftreten opportunistischer Infektionen begleitet war.

In vorliegenden Untersuchungen über den Einfluss von Bendamustin auf die Zahl der Thrombozyten im peripheren Blut ist zunächst festzuhalten, dass Patienten mit eingeschränkter Leberfunktion (HCC-Gruppe) eine gesichert niedrigere Zahl an Thrombozyten vor Gabe von Bendamustin aufweisen als Patienten mit einer der Norm entsprechenden Leberfunktion (Kontrollgruppe). Taiwanesische Arbeitsgruppen konnten einen engen korrelativen Zusammenhang zwischen Thrombozytopenie und pathologischen Fibrosescores und Ultraschallscores für Leberparenchymerkrankungen aufzeigen und propagieren eine Thrombozytopenie mit einem cut off von 150 000 Zellen/mm³ als validen

Surrogatparameter für eine Leberzirrhose und für Individuen mit hohem Erkrankungsrisiko für ein hepatozelluläres Karzinom (Lu et al. 2006 und 2008). Als Ursache für eine Thrombozytopenie bei Leberzirrhose sollte eine verminderte hepatische Bildung von Thrombopoetin, als dem entscheidendem Cytokin für die Produktion von Thrombozyten, und eine verstärkte Sequestrierung von Thrombozyten in der bei Leberzirrhose vergrößerten Milz verantwortlich gemacht werden (Giannini et al. 2002, Rios et al. 2005).

Bezogen auf den von Lu et al. (2006 und 2008) ausgewiesenen cut off von 150 000 Zellen/mm³ starten in der Gruppe der Kontrollpatienten ein Patient grenzwertig (147 000 Zellen/mm³), in der Gruppe der HCC-Patienten hingegen 6 Patienten (77 000 bis 144 000 Zellen/mm³) eindeutig unterhalb dieses cut off in die Untersuchungen. 4 dieser 6 Patienten der HCC-Gruppen starten hierbei nach den NCI/NIH-Kriterien mit einer Grad 1-Toxizität in die Untersuchungen.

Nach Gabe von Bendamustin wird im Verhalten der Thrombozyten ein Reaktionsmuster gefunden, das weitestgehend dem der Leukozyten und neutrophilen Granulozyten entspricht.

Wie für Leukozyten werden in der Gruppe der Kontrollpatienten mit Ausnahme lediglich einer Grad 1-Reaktion keine Toxizitätsreaktionen gefunden, jedoch fallen die Thrombozyten mit zunehmender Beobachtungsdauer trendmäßig kontinuierlich und liegt der Wert in der 4. Beobachtungswoche gesichert unterhalb der Ausgangslage.

Demgegenüber führt die Gabe von Bendamustin an HCC-Patienten, in gleicher Weise wie für das Verhalten der Leukozyten gezeigt, zu stärkeren Depressionen der Thrombozyten. Das wird belegt durch Zunahmen der Toxizitätsreaktionen gegenüber den Ausgangsbefunden in Form von Grad 1-bzw. 2- Reaktionen an 10 Patienten und einer Grad 3- Reaktion an einem Patienten, durch gesicherte Abnahmen der Thrombozytenwerte gegenüber dem Ausgangsbefund und durch eine im direkten Gruppenvergleich stärkere Thrombozytendepression in der HCC-Gruppe, jeweils über die gesamte vierwöchige Beobachtungsperiode nachweisbar.

Ebenfalls in Analogie zum Verhalten der Leukozyten stellt die bendamustininduzierte Thrombozytopenie eine Reaktion verzögerten Typs dar mit Nadirwerten nach 3-4 Wochen und werden schwere Grad 3- und 4-Thrombozytopenien in beiden Patientengruppen nicht beobachtet. Das Reaktionsverhalten des verzögerten Typs ist bereits in der Diskussion leukozytopenischer und neutropenischer Bendamustineffekte näher erörtert worden. Das Nichtauftreten schwerer Grad 3 / 4-Thrombozytopenien in vorliegender Untersuchung steht in gutem Übereinklang mit dem Nichtauftreten von Grad 3 / 4-Thrombozytopenien an Patienten mit soliden Tumoren im Rahmen von Phase I-Untersuchungen und vergleichbarer

Bendamustindosierung (Schöffski et al. 2000 a+b), als auch in guter Übereinstimmung mit der berichteten geringen Häufigkeit (0-6%) von Grad 3 / 4-Thrombozytopenien an Patienten mit soliden Tumoren im Rahmen von Phase II-Studien (Reichmann et al. 2007, Höffken et al. 1998, Schmittel et al. 2007). Andererseits werden in Phase I-Studien an Patienten mit soliden Tumoren unter hohen, über 1-4 Tage verabreichten kumulativen Gesamtdosen von Bendamsutin zwischen 280 und 360 mg/m² Grad 4-Thrombozytopenien von zum Teil dosislimitierendem Charakter 3-4 Wochen nach Gabe des bifunktionellen Alkylans beschrieben (Preiss et al. 1998, Rasschaert et al. 2007 a+b). An Chemotherapievorbehandelten als auch an Chemotherapie-naiven Patienten mit Non-Hodgkin-Lymphomen, chronisch lymphatischer Leukämie und multiplem Myelom werden unter mehrzyklischer Gabe von Bendamustin Grad 3- und 4-Thrombozytopenien in einer Häufigkeit von 9-25% beschrieben (Kahl et al. 2007, Friedberg et al. 2008, Knauf et al. 2007, Pönisch et al. 2006).

Im gleichen methodischen Herangehen wie für den Vergleich von klinischen Toxizitätsreaktionen zwischen den Patientengruppen wurde auch für das hämatologische Toxizitätsverhalten von Bendamustin ein semiquantitatives Analyseverfahren in Anwendung gebracht (siehe Ergebnisse Pkt. 4.3.3., Tab. 30). Eine getrennte Erfassung der Summenscores für die Perioden 0-2 und 0-4 Wochen nach Verabreichung von Bendamustin wurde aus dem Grunde vorgenommen, mögliche, durch das Fortschreiten der Grunderkrankung, insbesondere in der HCC-Gruppe, bedingte Verschlechterungen in der Befundlage der einzelnen Parameter dahingehend weitestgehend zu eliminieren, dass vordergründig auf die kurze post-Bendamustinphase von 2 Wochen orientiert wird. Andererseits reduziert diese Orientierung auf die ersten beiden Wochen nach Gabe von Bendamustin etwas die Schärfe des Nachweises stärkerer bendamustininduzierter Toxizitätsreaktionen in der Gruppe der HCC-Patienten, da die in dieser Gruppe gesichert stärkeren Depressionen der Leukozyten, neutrophilen Granulozyten und Thrombozyten ihre Nadirwerte erst 3-4 Wochen nach Gabe von Bendamustin aufweisen.

Im Ergebnisteil der vorliegenden Untersuchungen war gezeigt worden, dass sowohl für den Zeitraum 0-2 Wochen als auch für den Zeitraum 0-4 Wochen Patienten der HCC-Gruppe höhere Score-Werte für hämatologische Parameter als Patienten der Kontrollgruppe aufwiesen.

Somit wird auch unter Zugrundelegung von Toxizitätskriterien nach NCI/NIH im semiquantitativen Herangehen, wie vorab in der direkten Messung eines jeden erfassten hämatologischen Parameters, gezeigt, dass Bendamustin an Patienten mit mittelgradig

eingeschränkter Leberfunktion eine höhere Hämatotoxizität entfaltet als an Patienten mit einer der Norm entsprechenden Leberfunktion.

Dosiskalkulation

Ausgehend vom aufgezeigten reduzierten metabolischen Umsatz und von Zeichen der eingeschränkten Elimination von Bendamustin an Patienten mit mittelgradig eingeschränkter Leberfunktion, die begleitet sind von einer gesichert stärkeren Hämatotoxizität des bifunktionellen Alkylans an dieser Patientenklientel, resultiert die Notwendigkeit der Erörterung einer Dosisadaptierung von Bendamustin unter diesen Bedingungen. Hierbei stehen Sicherheitsaspekte der therapierten Patienten im Vordergrund, andererseits ist bei den angezeigten Maßnahmen einer Dosisreduktion auch das Auftreten einer Unterdosierung, das heißt, eine nicht vertretbare Reduzierung der tumorstatistischen Wirksamkeit im Einsatz des Tumorthapeutikums zu vermeiden. Auch gilt es, den geeigneten Leberfunktionsparameter für anstehende Dosiskalkulationen zu wählen, zumal einheitliche Richtlinien hierzu nicht bestehen (Donelli et al. 1998). In ganz überwiegender Zahl von Studien in der wissenschaftlichen Literatur werden bis gegenwärtig, wie auch in vorliegender Untersuchung vorgenommen, Dosisorientierungen für Tumorstatika, deren Elimination unter Bedingungen eingeschränkter Leberfunktion reduziert ist und deren Einsatz folglich mit dem verstärkten Auftreten von Toxizitätsreaktionen einhergeht, auf der Basis der Höhe des Serumbilirubin-Spiegels vorgenommen. Das Ausmaß der Reduzierung der Dosis eines diesbezüglichen Tumorchemotherapeutikums in Abhängigkeit von der Höhe des Serumbilirubin-Spiegels folgt hierbei nach wie vor einem weitestgehend empirisch praktizierten Vorgehen (Donelli et al. 1998, King und Perry 2001, Eklund et al. 2005). Nach diesem Vorgehen werden an Patienten mit mittelgradiger Einschränkung der Leberfunktion, die wie in vorliegender Untersuchung mit dem Auftreten erhöhter Gesamtbilirubin-Spiegel im Serum von bis zu 3 mg/dl (51 µmol/l) definiert wird (Doroshov et al. 2003, Eklund et al. 2005), Dosisreduzierungen der Tumorstatika Doxorubicin, Daunorubicin, Etoposid, Vinblastin, Vincristin, Vinorelbin, Gemcitabin, Sorafenib und Paclitaxel um 20-50 % und die Nichtgabe von Docetaxel empfohlen (King und Perry 2001, Eklund et al. 2005, Field und Michael 2008).

Unter Berücksichtigung dieses Herangehens in der Dosiswahl relevanter Tumorstatika bei eingeschränkter Leberfunktion im wissenschaftlichen Schrifttum und auf der Basis der in vorliegender Untersuchung erhobenen Daten zur Pharmakokinetik und zum Toxizitätsverhalten von Bendamsutin, werden an Patienten mit mittelgradig eingeschränkter Leberfunktion Dosisreduktionen für den Einsatz von Bendamusitn von 15-20 % bei

Bilirubinspiegel oberhalb des oberen Normlimits bis 2 mg/dl (34 µmol/l) und von bis zu 40 % bei Bilirubinspiegeln von oberhalb 2 mg/dl bis 3 mg/dl empfohlen. Eine Gabe von Bendamustin bei Bilirubinspiegeln von oberhalb 3 mg/dl kann aufgrund fehlender Datenlage bislang nicht befürwortet werden.

6. Zusammenfassung und Schlussfolgerungen

Das Ziel der vorliegenden Arbeit bestand in der erstmaligen Erhebung der Kinetik von Bendamustin und seinen wirksamen Metaboliten im Plasma und des Toxizitätsprofils des bifunktionellen Alkylans unter Bedingungen eingeschränkter Leberfunktion.

Die Untersuchungen wurden an 12 Patienten (5 Männer, 7 Frauen) mit soliden Tumoren und normaler Leberfunktion und 13 Patienten (11 Männer, 2 Frauen) mit fortgeschrittenem hepatozellulärem Karzinom und mittelgradig eingeschränkter Leberfunktion geführt. Alle Patienten befanden sich zum Zeitpunkt des Studienstarts nach gegenwärtigem Erkenntnisstand in einem austerapierten Zustand. Während die Patienten mit unbeeinträchtigter Leberfunktion in den Leberfunktionsparametern ASAT, ALAT, γ -GT und Gesamtbilirubin sämtlich Normverhalten aufwiesen, werden diese Parameter mit wenigen Ausnahmen an Patienten mit mittelgradig eingeschränkter Leberfunktion sämtlich beträchtlich oberhalb des oberen Normlimits gefunden und liegen im Mittel mehr als 8fach (ASAT, γ -GT) bzw. 2,5fach (ALAT, Bilirubin) höher als an Patienten mit der Norm entsprechenden Leberfunktion. Alle Patienten mit eingeschränkter Leberfunktion befanden sich im Child-Pugh Stadium A oder B. Eine an 10 dieser 13 Patienten geführte bioptische Untersuchung der Leber bestätigte das Vorliegen einer Leberzirrhose. Patienten im Child-Pugh Stadium C und/oder mit Gesamtbilirubinwerten oberhalb von $51 \mu\text{mol/l}$ wurden nicht in die Untersuchungen einbezogen.

Alle Patienten wiesen eine der Norm entsprechende Nierenfunktion auf. In den weiteren erhobenen Daten Alter, body-mass-index und Karnofsky-Index unterschieden sich die Patienten beider Gruppen nicht.

Bendamustin wurde zu Dosen von 120 mg/m^2 Bendamustinhydrochlorid an zwei aufeinanderfolgenden Tagen (Patienten mit eingeschränkter Leberfunktion der Nummern 1-5 erhielten am Tag 2 der Gabe eine auf 80 mg/m^2 reduzierte Dosis) in Form einer 30minütigen kontinuierlichen intravenösen Infusion verabreicht. Es erfolgte die Bestimmung von Bendamustin, seiner wirksamen Phase I-Metaboliten γ -Hydroxy-bendamustin und N-Desmethyl-bendamustin und die von Monohydroxy-bendamustin im Plasma in HPLC-Technik am Tag 1 der Gabe von Bendamustin, die Ermittlung einschlägiger pharmakokinetischer Parameter in kompartmentfreier Analyse und die Erhebung der Toxizitätsreaktionen von Bendamustin im wöchentlichen Intervall bis zum Ablauf von 4 Wochen nach Gabe von Bendamustin nach NCI/NIH-Toxizitätskriterien der Version 3.0.

Die Elimination von Bendamustin aus Plasma wird an Patienten mit mittelgradig eingeschränkter Leberfunktion im Vergleich zu Patienten mit der Norm entsprechender Leberfunktion verzögert gefunden, mit gesichert längerer Eliminationshalbwertszeit und tendenziell, zu über 50% reduzierter totaler Körperclearance (304 vs. 639 ml/min). Die Bildung der beiden Phase I-Metabolite γ -Hydroxy-bendamustin und N-Desmethyl-bendamustin wird an Patienten mit mittelgradig eingeschränkter Leberfunktion im Vergleich zu Patienten mit normaler Leberfunktion verzögert und zu einem geringeren Ausmaß gefunden, wie die jeweils längeren t_{\max} -Werte und niedrigeren c_{\max} -Werte belegen. Für die Entfaltung der Toxizitätsreaktionen nach Gabe von Bendamustin sind diese leberfunktionsabhängigen Unterschiede in der Kinetik für beide Metabolite jedoch von untergeordneter Bedeutung, da unter Bezug auf das c_{\max} -und AUC-Verhalten ihr Anteil im Plasma gegenüber Bendamustin maximal 5% (γ -Hydroxy-bendamustin) und 1% (N-Desmethyl-bendamustin) beträgt und sie über eine aus der wissenschaftlichen Literatur bekannte, gegenüber Bendamustin lediglich gleichgroße (γ -Hydroxy-bendamustin) bzw. 10fach niedrigere (N-Desmethyl-bendamustin) Zytotoxizität verfügen. Die Kinetik des nichtenzymatisch, physikochemisch gebildeten Metaboliten Monohydroxy-bendamustin im Plasma wird erwartungsgemäß nicht unterschiedlich in beiden Patientengruppen gefunden.

Die klinische Verträglichkeit des geprüften Bendamustinregimes erwies sich als sehr gut mit dem völligen Fehlen von Grad 4-Toxizitäten und dem Auftreten von insgesamt nur drei, für jeweils lediglich eine Woche nachweisbaren Grad 3-Toxizitäten (Mundtrockenheit, Übelkeit/Erbrechen, Fieber) an drei unterschiedlichen Patienten während des gesamten Studienzeitraumes. In abnehmender Häufigkeit wurden in beiden Patientengruppen Mundtrockenheit zu 62-75%, Übelkeit/Erbrechen zu 54-58% und Schmeckstörungen zu 23-25% beobachtet. Opportunistische Infektionen traten nicht auf. Das insgesamt milde klinische Toxizitätsgeschehen nach Gabe von Bendamustin wurde nicht unterschiedlich zwischen beiden Patientengruppen gefunden.

Das Verhalten der Leberfunktionsparameter wird nach Gabe von Bendamustin an Patienten mit normaler Leberfunktion, ausgenommen Patient Nr. 5, nicht verändert gefunden. Die mit zunehmender Studiendauer an dieser Patientin nachweisbare kontinuierliche Verschlechterung der Leberfunktion ist eher als Folge der simultan nachgewiesenen Größenzunahme des Primärtumors (Gallenblasenkarzinom) als als Folge der Gabe von Bendamustin zu interpretieren. An Patienten mit mittelgradig eingeschränkter Leberfunktion

(HCC-Gruppe) ist ebenfalls kein Einfluss von Bendamustin auf die vier erhobenen Parameter nachweisbar. Die lediglich vereinzelt und ausnahmslos leichten Zunahmen der Werte ASAT, ALAT und γ -GT am Ende der vierwöchigen Studiendauer sollten am ehesten als Zeichen des Fortschreitens der Grunderkrankung gelten. Hierfür sprechen auch die bei allen 13 Patienten der HCC-Gruppe nachweisbaren geringen und interindividuell sehr wenig variierenden Zunahmen der Bilirubinwerte in der 4. Woche gegenüber dem Ausgangsbefund. Die Daten sprechen zudem in ihrer Gesamtheit für ein nicht bestehendes hepatotoxisches Potential von Bendamustin.

Die primär als hepatische Syntheseparameter bewertbaren Funktionsparameter PTT und Quick werden an Patienten beider Gruppen nicht nachweislich durch Bendamustin verändert gefunden.

Eine auf der Grundlage der erhobenen Daten zu Serumkreatinin nicht gänzlich auszuschließende sehr milde Beeinträchtigung der Nierenfunktion durch die Gabe von Bendamustin ist, wenn überhaupt vorhanden, nicht unterschiedlich in Abhängigkeit von der Leberfunktion gegeben.

Die Gabe von Bendamustin führt zu keiner nachweislichen Änderung des Hämoglobingehaltes an Patienten mit normaler Leberfunktion, hingegen zu einer leichten, jedoch gesicherten Abnahme mit zunehmender Studiendauer an Patienten mit mittelgradig eingeschränkter Leberfunktion.

Bei normalen Ausgangswerten für Leukozyten und neutrophilen Granulozyten in beiden Patientengruppen wird nach Gabe von Bendamsutin eine Depression beider Zellarten vom verzögerten Typ mit Nadirwerten nach 3-4 Wochen beobachtet, die jeweils gesichert stärker an Patienten mit mittelgradig eingeschränkter Leberfunktion als an Patienten mit unbeeinträchtigter Leberfunktion ausgeprägt ist. Grad 3 oder 4-Toxizitätsreaktionen werden für beide Zellarten zu keinem Zeitpunkt an beiden Patientengruppen beobachtet.

Ein im wesentlichen analoges Verhalten wird für Thrombozyten gefunden, mit niedrigsten, bendamustininduzierten Zellzahlen nach 3-4 Wochen und einer gesichert stärkeren Depression an Patienten mit eingeschränkter Leberfunktion im Vergleich zu Kontrollpatienten. Mit Ausnahme einer Grad 3-Toxizität an einem Patienten der HCC-Gruppe werden schwere Thrombozytopenien (Grad 3 / 4- Reaktionen) an Patienten beider Gruppen nicht beobachtet. Entsprechend der hepatischen Tumorgrunderkrankung starten Patienten mit HCC mit gesichert niedrigeren Thrombozytenwerten in die Untersuchungen als Patienten mit normaler Leberfunktion.

Von allen bendamustininduzierten erfassten hämatotoxischen Reaktionen ist jene auf die Zahl der Lymphozyten am stärksten ausgeprägt. Die Depression der Lymphozyten ist frühzeitig bereits nach 8 Tagen maximal ausgebildet, beläuft sich an diesem Messzeitpunkt an Patienten mit mittelgradig eingeschränkter Leberfunktion auf Abnahmen im Mittel um 80 % und ist in der 4 wöchigen Beobachtungsphase nach Gabe von Bendamustin an Patienten mit eingeschränkter Leberfunktion stärker ausgeprägt als an Patienten mit der der Norm entsprechenden Leberfunktion. Während bei nicht unterschiedlichen Ausgangswerten in beiden Patientengruppen an Patienten mit normaler Leberfunktion bei Nichtauftreten von Grad 4- Toxizitäten nur in zwei Fällen eine Grad 3- Toxizität beobachtet wird und die Lymphozytenwerte ab der 2. Woche wieder statistisch die Ausgangslage erreichen, weisen Patienten mit mittelgradig eingeschränkter Leberfunktion zu 85% (10 von 13 Patienten) zum Zeitpunkt der maximalen Depression Grad 3- bzw. -4-Toxizitäten und eine während der gesamten nachfolgenden Beobachtungszeit (Wochen 2-4) gesicherte Depressionen zu mehr als 50 % gegenüber der Ausgangslage auf.

Unter Berücksichtigung aller erhobenen hämatologischen Parameter wird in halbquantitativer Analyse eine gesichert stärkere bendamsutininduzierte Hämatotoxizität an Patienten mit mittelgradig eingeschränkter Leberfunktion im Vergleich zu Patienten mit nicht beeinträchtigter Leberfunktion gefunden.

Auf der Grundlage der erhobenen Daten zu Kinetik und Toxizitätsprofil von Bendamustin in Abhängigkeit von der Leberfunktion wird an Patienten mit mittelgradig eingeschränkter Leberfunktion im Ausmaß von Serumbilirubinerhöhungen bis zu 3 mg/dl (51µmol/l) eine schrittweise Reduzierung der Dosis von Bendamustin um bis zu 40 % empfohlen. Eine Gabe von Bendamustin bei Bilirubinwerten oberhalb von 3 mg/dl ist aufgrund fehlender Datenlage bislang nicht angezeigt.

Literaturverzeichnis

Anger G, Hesse P et al. Klinischer Erfahrungsbericht über die Anwendung des neuen Zytostatikums 3393. Zschr Inn Med **23**, 242-247 (1968).

Anger G, Hesse P et al. Behandlung des multiplen Myeloms mit einem neuen Zytostatikum. Dtsch Med Wschr **48**, 2495-2500 (1969).

Anger G, Fink R et al. Vergleichsuntersuchungen zwischen Cytostasan and Cyclophosphamid bei der chronischen Lymphadenose, dem Plasmozytom, der Lymphogranulomatose und dem Bronchialkarzinom. Dt Gesund-Wesen **30**, 1280-1285 (1975).

Bezek S, Scasnar V et al. Hepatobiliary elimination of bendamustine in rats. Pharmazie **46**, 810-811 (1991).

Bezek S, Kukan M et al. Selective Uptake of the Anticancer Drug Bendamustine by Liver and Kidney Tissues Following its Intravenous Administration to Mice. Meth Find Exp Clin Pharmacol **18**, 117-122 (1996).

Blumel S, Goodrich A et al. Bendamustine: A Novel Cytotoxic Agent for Hematologic Malignancies. Clinical Journal of Oncology Nursing **12**, 799-806 (2008).

Blumenstengel K, Ruffert K et al. Bendamustine vs. Melphalan in the primary treatment of multiple myeloma (MM). A randomized prospective study. J Cancer Res Clin Oncol **124**, 68 (1998)

Bremer K. High rates of long-lasting remissions after 5-day bendamustine chemotherapy cycles in pre-treated low-grade non-Hodgkin's-lymphomas. J Cancer Res Oncol **128**, 603-609 (2002).

Cheson BD, Rummel MJ. Bendamustine: Rebirth of an Old Drug. J Clin Oncol **27**, 1492-1502 (2009).

Colvin M and Chabner BA. Alkylating Agents. Chapter 11 in Cancer Chemotherapy, BA Chabner and JM Collins. J.B. Lippincott Company Philadelphia (1990).

Colvin M. Alkylating agents and platinum antitumor compounds. Chapter 48 in: Holland & Frei, Cancer Medicine 6. DW Kufe, RE Pollack, RR Weichselbaum, RC Bast, TS Gansler, JF Holland, E Frei (Ed), BC Decker, Hamilton (Ontario) 2003.

Donelli MG, Zucchetti M et al. Pharmacokinetics of Anticancer Agents in Patients with Impaired Liver Function. *Eur J Cancer* **34**, 33- 46 (1998).

Doroshow JH, Synold TW et al. Pharmacology of Oxaliplatin in Solid Tumor Patients with Hepatic Dysfunction: A Preliminary Report of the National Cancer Institute Organ Dysfunction Working Group. *Seminars in Oncology* **30**, 14-19 (2003).

Eklund JW, Trifilio S et al. Chemotherapy Dosing in the Setting of Liver Dysfunction. *Oncology* **19**, 1057-1063 (2005).

Fachinformation Ribomustin® (Mundipharma). April 2009.

Fachinformation Treanda. Highlights of Prescribing Information. Cephalon (USA), 2008.

Field KM and Michael M. Part II: Liver function in oncology: towards safer chemotherapy use. *Lancet Oncol* **9**, 1181-1189 (2008).

Friedberg JW, Cohen P et al. Bendamustine in Patients with Rituximab-Refractory Indolent and Transformed Non-Hodgkin's Lymphoma: Results from a Phase II Multicenter, Single-Agent Study. *J Clin Oncol* **26**, 204-210 (2008).

Hartmann JT, Mayer F et al. Bendamustine Hydrochloride in Patients with Refractory Soft Tissue Sarcoma. A Noncomparative Multicenter Phase 2 Study of the German Sarcoma Group (AIO-001). *Cancer* **110**, 861-866 (2007).

Giannini E, Borro P et al. Serum thrombopoietin levels are linked to liver function in untreated patients with hepatitis C virus-related chronic hepatitis. *Journal of Hepatology* **37**, 572-577 (2002).

Haase D, Preiss R et al. Untersuchungen zur Plasmaeiweißbindung von Bendamustin und Ambazon. *Z Klin Med* **45**, 1267-1271 (1990).

Heider A and Niederle N. Efficacy and toxicity of bendamustine in patients with relapsed low-grade non-Hodgkin's lymphomas. *Anti-Cancer Drugs* **12**, 725-729 (2001).

Herold M, Schulze A. Bendamustine, vincristine and prednisone (BOP) versus cyclophosphamide, vincristine and prednisone (COP) in advanced indolent non-Hodgkin's lymphoma and mantle cell lymphoma: results of a randomized phase III trial (OSHO 19). *J Cancer Res Clin Oncol* **132**, 105-112 (2006).

Hesse G. Zur chemisch-analytischen Charakterisierung von IMET 3393. *Zbl Pharm* **110**, 1087-1098 (1971).

Höffken K, Merkle Kh. et al. Bendamustine as salvage treatment in patients with advanced progressive breast cancer: a phase II study. *J Cancer Res Oncol* **124**, 627-632 (1998).

Hummel M, Buchheidt D et al. Recurrent chemotherapy-induced tumor lysis syndrome (TLC) with renal failure in a patient with chronic lymphocytic leukemia-successful treatment and prevention of TLS with low-dose rasburicase. *Eur J Haematol* **75**, 518-521 (2005).

Hussar DA. New drugs: Ciclesonide, certolizumab pegol, and bendamustine hydrochloride. *Journal of the American Pharmacists Association* **48:4**, 557-561 (2008).

Kahl B, Bartlett NL et al. Bendamustin Is Safe and Effective in Patients with Rituximab-Refractory, Indolent B-Cell Non-Hodgkin Lymphoma. *Blood* **110**, 1351 (2007).

Kalaycio M. Bendamustine A New Look at an Old Drug. *Cancer* **115**, 473-479 (2009).

Kath R, Blumenstengel K et al. Bendamustine monotherapy in advanced and refractory chronic lymphocytic leukemia. *J Cancer Res Clin Oncol* **127**, 48-54 (2001).

Keating MJ, Bach C et al. Bendamustine. *Nature Reviews* **7**, 473-474 (2008).

King PD and Perry MC. Hepatotoxicity of Chemotherapy. *The Oncologist* **6**, 162-176 (2001).

Knauf W, Lissitchkov T et al. Bendamustine versus chlorambucil as first-line treatment in B cell chronic lymphocytic leukemia (B-CLL): Results of an International Phase III Study. *Blood* **110(11)**, 2043 (2007).

Knauf W. Bendamustine in the treatment of chronic lymphocytic leukemia. *Expert Rev. Anticancer Ther.* **9**, 165-174 (2009).

Konstantinov SM, Kostovski A et al. Cytotoxic efficacy of bendamustine in human leukemia and breast cancer cell lines. *J Cancer Res Clin Oncol* **128**, 271-278 (2002).

Köster W, Stamatis G et al. Carboplatin in Combination with Bendamustine in Previously Untreated Patients with Extensive-Stage Small Cell Lung Cancer. *Clin Drug Invest* **24**, 611-618 (2004).

Lau WY, Leung TW et al. Percutaneous local ablative therapy for hepatocellular carcinoma: a review and look into the future. *Ann Surg* **237**, 171-179 (2003).

Lau W-Y and Lai ECH. Hepatocellular Carcinoma: current management and recent advances. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int* **7**, 237-257 (2008).

Lau W-Y, Lai ECH et al. The current role of neoadjuvant/adjuvant/chemoprevention therapy in partial hepatectomy for hepatocellular carcinoma: a systematic review. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int* **8**, 124-133 (2009).

Leong H and Bonk ME. Bendamustine for Chronic Lymphocytic Leukemia **34**, 73-76 (2009).

Leoni LM, Bailey B et al. Bendamustine Displays a Distinct Pattern of Cytotoxicity and Unique Mechanistic Features Compared with Other Alkylating Agents. *Clin Cancer Res* **14**, 309-317 (2008).

Lissitchkov T, Arnaudov G et al. Phase I/II study to evaluate dose limiting toxicity, maximum tolerated dose, and tolerability of bendamustine HCL in pre-treated patients with B-chronic lymphocytic leukemia (Binet stages B and C) requiring therapy. *J Cancer Res Clin Oncol* **132**, 99-104 (2006).

Llovet JM and Bruix J. Molecular Targeted Therapies in Hepatocellular Carcinoma. *Hepatology* **48**, 1312-1327 (2008).

Llovet JM, Di Bisceglie AM et al. Design and Endpoints of Clinical Trials in hepatocellular Carcinoma. *J Natl Cancer Inst* **100**, 698-711 (2008 a).

Llovet JM, Ricci S et al. Sorafenib in advanced hepatocellular Carcinoma. *N Engl J Med* **359**, 378-390 (2008 b).

Lu S, Wang J et al. Thrombocytopenia as a surrogate for cirrhosis and a marker for the identification of patients at high-risk for hepatocellular Carcinoma. *American Cancer Society* **10**, 2212-2222 (2006).

Lu S, Wang J et al. Community-based mass ultrasonographic screening of hepatocellular carcinoma among thrombocytopenic adults. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* **17**, 1813-1821 (2008).

Maddocks KJ and Lin TS. Update in management of chronic lymphocytic leukemia. *J Hematol Oncol* **2**, 1-26 (2009).

Nagai H and Sumino Y. Therapeutic strategy of advanced hepatocellular carcinoma by using combined intra-arterial chemotherapy. *Anti-Cancer Drug Discovery* **3**, 220-226 (2008).

Owen JS, Melhem M et al. Population pharmacokinetics of Bendamustine and metabolites in patients with indolent Non-Hodgkin's Lymphoma. *Pharmacol Ther* **83**, S54-55 (2008).

Ozegowski W und Krebs D. IMET 3393- ein neues Zytostatikum aus der Reihe der Benzimidazol-Loste. *Zbl Pharm* **110**, 1013-1019 (1971).

Pönisch W, Mitrou PS et al. Treatment of Bendamustine and Prednisone in patients with newly diagnosed multiple myeloma results in superior complete response rate prolonges time to treatment failure and improved quality of life compares to treatment with Melphalan and Prednisone-a randomized phase II study of OSHO. *J Cancer Res Clin Oncol* **132**, 205-212 (2006).

Plosker GL and Carter NJ. Bendamustine-A review of its use in the management of indolent Non-Hodgkin Lymphoma. *Drugs* **68**, 2645-2660 (2008).

Preiss R, Sohr R et al. Untersuchungen zur Pharmakokinetik von Bendamustin am Menschen. *Pharmazie* **40**, 782-784 (1985).

Preiss R, Matthias M et al. Pharmacological and clinical date of Bendamustine. *Cancer Congress* **17**, 1637-1640 (1998), Ed. Monduzzi – Bologna (Italy).

Preiss R, Matthias M et al. Pharmakokinetische Aspekte in der Tumorchemotherapie. Teil 1. *Z Klin Med* **44**, 125-129 (1989 a).

Preiss R, Matthias M et al. Pharmakokinetische Aspekte in der Tumorchemotherapie. Teil 2. *Z Klin Med.* **44**, 141-146 (1989 b).

Pugh RNH, Murray-Lyon IM et al. Transection oft the oesophagus for bleeding oesophageal varices. *Brit.J.Surg.* **60**, 646-649 (1973).

Rahn AN, Schilcher RB et al. Palliative Radiochemotherapie mit Bendamustin bei fortgeschrittenen Tumorrezidiven im HNO-Bereich. *Strahlenther Onkol* **177**, 189-194 (2001).

Rasschaert M, Schrijvers D et al. A phase I study of bendamustine hydrochloride administered once every 3 weeks in patients with solid tumors. *Anti-Cancer Drugs* **18**, 587-595 (2007 a).

Rasschaert M, Schrijvers D et al. A phase I study of bendamustine hydrochloride administered day 1 and 2 every 3 weeks in patients with solid tumors. *British Journal of Cancer* **96**, 1692-1698 (2007 b).

Reichmann U, Bokemeyer D et al. Salvage chemotherapy for metastatic breast cancer: results of a phase II study with bendamustine. *Annals of Oncology* **18**, 1981-1984 (2007).

Rios R, Sangro B et al. The Role of Thrombopoietin in the Thrombocytopenia of Patients with Liver Cirrhosis. *Am J Gastroenterol* **100**, 1311-1316 (2005).

Robinson KS, Williams ME. Phase II Multicenter Study of Bendamustine plus Rituximab in Patients with relapsed indolent B-Cell and Mantle Cell Non-Hodgkin's Lymphoma. *J Clin Oncol* **26**, 1-7 (2008).

Rummel MJ, Al-Batran SE et al. Bendamustine plus Rituximab is effective and has a favorable toxicity profile in the treatment of mantle cell and low-grade Non-Hodgkin's Lymphoma. *J Clin Oncol* **23**, 3383-3389 (2005).

Rummel MJ, von Gruenhagen U et al. Bendamustine plus rituximab versus CHOP plus rituximab in the first-line treatment of patients with indolent and mantle-cell lymphomas: The first interim results of a randomized phase III study of the Stil (Study Group Indolent Lymphomas, Germany). *Blood* **110**, 120a (abstr 385) (2007).

Scasnar V, Bezek S et al. Stability studies of ¹⁴C-Cytostasan solutions and its extraction using dicarbolyde of cobalt. *Pharmazie* **43**, 176-178 (1988).

Schmidt-Hieber M, Schmittel A et al. A phase II study of bendamustine chemotherapy as second-line treatment in metastatic uveal melanoma. *Melanoma Res* **14**, 439-442 (2004).

Schmittel A, Knödler M et al. Phase II trial of second-line bendamustine chemotherapy in relapsed small cell lung cancer patients. *Lung Cancer* **55**, 109-113 (2007).

Schnabel R, Jungst W et al. Vergleichende Untersuchungen über die zytostatische Wirkung des neuen N-Lost-Derivats IMET 3393 und Endoxan an drei experimentellen Mäusetumoren. *Acta biol med german* **19**, 543-558 (1967).

Schöffski P, Hagedorn T et al. Repeated administration of short infusions of bendamustine: a phase I study in patients with advanced progressive solid tumors. *J Cancer Res Clin Oncol* **126**, 41-47 (2000 a).

Schöffski P, Seeland et al. Weekly administration of bendamustine: A phase I study in patients with advanced progressive solid tumors. *Annals of Oncology* **11**, 729-734 (2000b).

Schoppmeyer K, Kreth F et al. A pilot study of bendamustine in advanced bile duct cancer. *Anti-Cancer Drugs* **18**, 679-702 (2007).

Schwänen C, Hecker T. In vitro evaluation of bendamustine induced apoptosis in B-chronic lymphocytic leukemia. *Leukemia* **16**, 2096-2105 (2002).

Strumberg D, Harstrick A et al. Bendamustine hydrochloride activity against doxorubicin-resistant human breast carcinoma cell lines. *Anti-Cancer Drugs* **7**, 415-421 (1996).

Teichert J, Sohr R et al. Synthesis and Characterization of some new Phase II Metabolites of the Alkylator Bendamustine and their Identification in Human Bile, Urine, and Plasma from Patients with Cholangiocarcinoma. *Drug Metab Dispos* **33**, 984-992 (2005).

Teichert J, Baumann F et al. Characterization of two Phase I Metabolites of Bendamustine in human liver microsomes and in cancer patients treated with bendamustine hydrochloride. *Cancer Chemother Pharmacol* **59**, 759-770 (2007).

Teichert J, Sohr R et al. Identification and Quantitation of the N-Acetyl-L- Cysteine S-Conjugates of Bendamustine and its Sulfoxides in Human Bile after Administration of Bendamustine Hydrochloride. *Drug Metab Dispos* **37**, 292-301 (2009).

Werner W, Letsch G et al. Hydrolyseprodukte des Cancerostaticums Bendamustin. *Pharmazie* **42**, 272-273 (1987).

Werner W, Letsch G et al. Synthese eines potentiellen Metaboliten des Kanzerostatikums Bendamustin. *Pharmazie* **46**, 113-114 (1991).

Wiedmann M, Zeh J et al. Bendamustine-A new approach to the treatment of advanced hepatocellular carcinoma. *J Chemother* **20**, 112-118 (2008).

Yau T, Chan P et al. Evolution of systemic therapy of advanced hepatocellular carcinoma. *World J Gastroenterol*. **14**, 6437-6441 (2008).

Danksagung

Ich danke Herrn Prof. Dr. med. habil I. Roots für die Überlassung des Themas und die stets gewährte Hilfe bei der Erstellung der Arbeit.

Mein besonderer Dank gilt auch den Mitarbeitern des Instituts für Klinische Pharmakologie der Medizinischen Fakultät der Universität Leipzig Herrn Dr. rer. nat. J. Teichert für die großzügige Unterstützung in den kinetischen Messungen und Frau Regine Heinker für Hilfeleistungen in der Messprobenvorbereitung.

Erklärung über die eigenständige Abfassung der Arbeit

Hiermit erkläre ich, dass ich die vorliegende Arbeit selbständig und ohne unzulässige Hilfe oder Benutzung anderer als der angegebenen Hilfsmittel angefertigt habe. Ich versichere, dass Dritte von mir weder unmittelbar noch mittelbar geldwerte Leistungen für Arbeiten erhalten haben, die im Zusammenhang mit dem Inhalt der vorgelegten Dissertation stehen, und dass die vorgelegte Arbeit weder im Inland noch im Ausland in gleicher oder ähnlicher Form einer anderen Prüfungsbehörde zum Zweck einer Promotion oder eines anderen Prüfungsverfahrens vorgelegt wurde. Alles aus anderen Quellen und von anderen Personen übernommene Material, das in der Arbeit verwendet wurde oder auf das direkt Bezug genommen wird, wurde als solches kenntlich gemacht. Insbesondere wurden alle Personen genannt, die direkt an der Entstehung der vorliegenden Arbeit beteiligt waren.

Berlin, den

Susanne Preiß

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

Berlin, den

Susanne Preiß