

**Aus der Herzchirurgischen Klinik und Poliklinik der  
Ludwig-Maximilians-Universität München**

**Direktor: Prof. Dr. med. Bruno Reichart**

**Pharmakokinetik von Mycophenolatmofetil nach primärer  
orthotoper Herztransplantation – Entwicklung von  
Kurzalgorithmen zur therapeutischen  
Arzneimittelüberwachung**

Eine prospektive Studie zur Untersuchung der Pharmakokinetik von  
Mycophenolatmofetil nach primärer orthotoper Herztransplantation mit Tacrolimus  
als Begleitmedikation

**Dissertation**

**zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin an der Medizinischen Fakultät der  
Ludwig-Maximilians-Universität zu München**

vorgelegt von

Amir Khosrow Bigdeli

aus

Teheran

2010

**Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät  
der Universität München**

**Berichterstatter:** Prof. Dr. med. Bruno Reichart

**Mitberichterstatter:** Prof. Dr. med. Christopher Reithmann  
Prof. Dr. med. Helmut Kreppel

**Mitbetreuung durch den  
promovierten Mitarbeiter:** PD Dr. med. Ingo Kaczmarek

**Dekan:** Prof. Dr. med. Dr. h.c. Maximilian Reiser, FACR, FRCR

**Tag der mündlichen Prüfung:** 28.01.2010

*Gewidmet meinen Eltern in tiefster  
Dankbarkeit*

# Inhaltsverzeichnis

<b>1</b>	<b>Einleitung</b> .....	<b>6</b>
1.1	Geschichte der Herztransplantation.....	7
1.2	Mycophenolatmofetil.....	9
1.2.1	Einleitung.....	9
1.2.2	Vorbemerkung.....	10
1.2.3	Geschichte.....	10
1.2.4	Experimentelle Entwicklung.....	10
1.2.5	Struktur.....	11
1.2.6	Wirkungsmechanismus.....	12
1.2.7	Klinische Entwicklung und Therapie bei Organtransplantationen.....	18
1.2.7.1	Wirksamkeit.....	18
1.2.7.2	Verträglichkeit und Nebenwirkungen.....	22
1.2.8	Therapeutische Arzneimittelüberwachung.....	23
1.2.8.1	Vorbemerkung.....	23
1.2.8.2	Pharmakologische Eigenschaften der MPA.....	23
1.3	Fragestellung.....	26
<b>2</b>	<b>Patienten und Methoden</b> .....	<b>28</b>
2.1	Allgemeines.....	28
2.2	Patientenauswahl.....	28
2.3	Zeitpunkt der Messungen.....	29
2.4	Methodik.....	29
2.4.1	Methoden zur Messung der Mycophenolsäure im Plasma.....	29
2.4.1.1	Grundlage chromatographischer Analysemethoden.....	30
2.4.1.1.1	High performance liquid chromatography (HPLC).....	30
<b>3</b>	<b>Statistik</b> .....	<b>33</b>
<b>4</b>	<b>Ergebnisse</b> .....	<b>35</b>
<b>5</b>	<b>Diskussion</b> .....	<b>43</b>
5.1	Pharmakokinetische Eigenschaften der MPA.....	43
5.1.1	Kontroverse.....	43
5.1.2	Messung der 12-Stunden-MPA-Talblutspiegel.....	43
5.1.3	AUC-Untersuchungen.....	44
5.1.4	Korrelation von Talblutspiegel und AUC.....	45
<b>6</b>	<b>Zusammenfassung und Ausblick</b> .....	<b>47</b>

<b>7</b>	<b>Literaturverzeichnis .....</b>	<b>52</b>
<b>8</b>	<b>Abkürzungsverzeichnis .....</b>	<b>62</b>
<b>9</b>	<b>Lebenslauf .....</b>	<b>63</b>
<b>10</b>	<b>Danksagung.....</b>	<b>66</b>

# 1 Einleitung

Der Ersatz des erkrankten Organs durch eine Herztransplantation ist für viele Herzerkrankungen im Endstadium ein mittlerweile anerkanntes Behandlungsverfahren. Aber obwohl die Transplantationsmedizin große Fortschritte macht, ist der Langzeiterfolg dieser Behandlungsmethode von Infektionen, akuten Abstoßungsreaktionen des Transplantates sowie durch die spezifische Transplantatvaskulopathie (im Weiteren TVP genannt) limitiert. Das Immunsuppressivum Mycophenolatmofetil (im Weiteren MMF genannt) ist seit 1996 für die Nieren-, Herz- und Lebertransplantation zugelassen. Es ist mittlerweile ein wesentlicher Bestandteil der immunsuppressiven Basistherapie. In unserem Herztransplantationszentrum an der Universitätsklinik der Ludwig-Maximilians-Universität in München-Großhadern hat sich die Bestimmung der Talblutspiegel des Medikaments als Monitoring-Verfahren etabliert. Dabei wird der Spiegel des Medikaments im Blut in zwölfstündigen Abständen unmittelbar vor Gabe der nächsten Dosis bei zweimaliger oraler Gabe pro Tag bestimmt. Allerdings gibt es Hinweise aus der Literatur, dass diese Bestimmung, die zwölf Stunden nach Einnahme des Medikaments durchgeführt wird, sehr starke interindividuelle Schwankungen aufweist. So scheint es Patienten mit schneller und mit verzögerter Verstoffwechslung dieses Präparates zu geben [12, 14, 22, 40, 45, 64, 87].

Um den Bedarf dieses Immunsuppressivums exakt und individuell zu bestimmen, empfiehlt es sich die Verstoffwechslung von MMF in mehreren aufeinander folgenden Spiegelmessungen zu bestimmen. Hieraus kann dann die Exposition des Patienten anhand eines Integrals, der sogenannten „area under the curve“ (im Weiteren AUC genannt), errechnet werden.

Es gibt mehrere Studien, die eine Korrelation zwischen der Inzidenz von akuten Abstoßungsreaktionen und der Gesamtexposition von MMF (gemessen als AUC) belegen [22, 29, 50, 77, 112]. Die in unserem Zentrum übliche Bestimmung der Talblutspiegel lässt im Gegensatz zur AUC-Messung aber nur eine begrenzte Aussage über die Gesamtexposition zu und scheint daher hinsichtlich der Prophylaxe akuter Abstoßungen unterlegen zu sein.

Diese Arbeit beschäftigt sich im Folgenden mit der Pharmakokinetik von MMF nach primärer orthotoper Herztransplantation mit Tacrolimus (im Weiteren Tac genannt) als Begleitimmunsuppressivum. Es soll untersucht werden, ob Patienten, die bisher aufgrund hoher bzw. niedriger oder normaler Talblutspiegel eine niedrige bzw. hohe oder normale MMF-Dosierung erhalten, eine ausreichende MMF-Exposition aufweisen. Aus diesen Ergebnissen soll sodann ein Algorithmus berechnet werden, der es ermöglicht, anhand weniger Messungen eine Annäherung an die tatsächliche MMF-AUC zu berechnen, um in Zukunft die immunsuppressive Behandlung herztransplanteder Patienten zu verbessern.

Für die Patienten besteht der Nutzen der Ergebnisse der AUC-Untersuchungen in der Möglichkeit einer exakteren Dosisanpassung, als dies bisher der Fall ist. Unser längerfristiges Ziel ist eine Reduzierung sowohl von akuten Abstoßungen als auch von Infektionen.

## 1.1 Geschichte der Herztransplantation

Am 3. Dezember 1967 begann in der humanen Transplantationschirurgie ein neues Betätigungsfeld: Die Herztransplantation. An diesem Tag gelang dem Chirurgen Christiaan Neethling Barnard und seinem dreißigköpfigen Team am Groote-Schuur-Krankenhaus in Kapstadt die erste erfolgreiche Herztransplantation am Menschen [8]. Allerdings war dies bei weitem nicht der erste Versuch, ein Herz zu verpflanzen, denn schon viel früher wurden im Tierexperiment Herztransplantationen durchgeführt. So verpflanzten Guthrie und Carell bereits im Jahre 1905 Gliedmaßen und sogar ganze Organe an der Universität von Chicago. Bei der ersten dokumentierten Herztransplantation eines Hundes entnahm Carrel das Herz eines kleineren Hundes und verpflanzte es in den Hals eines Größeren. Bedauerlicherweise hörte das Herz

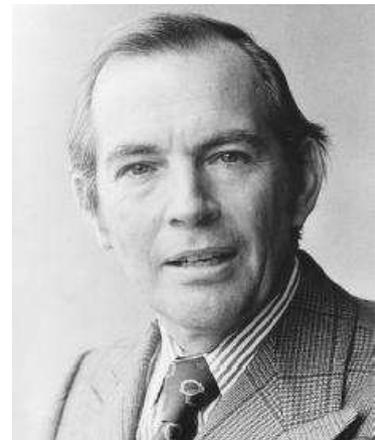
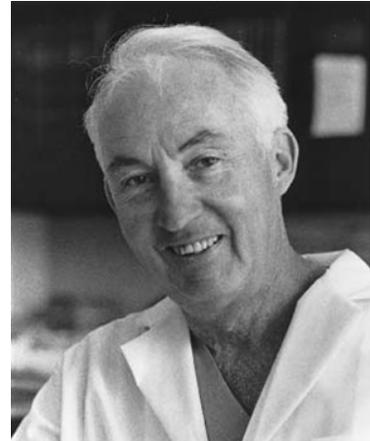


Abbildung 1: Christiaan Neethling Barnard

nach einer Schlagdauer von etwa zwei Stunden auf zu schlagen, da das Blut in den Herzhöhlen gerann, denn Heparin und die damit verbundene Blutgerinnung sollte erst ein Jahrzehnt später entdeckt werden [17]. Im Jahre 1933 beschäftigten sich Mann, Priestly, und Markowitz mit der Herztransplantation. Indem sie die Technik von Carrel und Guthrie vereinfachten, entwickelten sie das noch heute für immunologische Fragestellungen verwendete Modell des perfundierten, aber nicht arbeitenden Herzen. Die transplantierten Herzen dieser Arbeitsgruppen schlugen bis zu acht Tage. Die folgenden histologischen Untersuchungen des Myokards ergaben eine starke Anhäufung von Leukozyten, woraus die Untersucher folgerten, dass der Herzstillstand nicht auf chirurgisch-technische Fehler zurückzuführen ist, sondern vielmehr auf einen bis dahin noch unbekanntem Faktor, welcher das Überleben von Organen bzw. Geweben in fremden Körpern verhindert [58]. Am Ende der 50er Jahre angelangt, begann eine neue Ära der experimentellen Herztransplantation. So wurden Herzen zum ersten Mal nicht mehr heterotop, sondern orthotop verpflanzt. Zudem wurde die Zeit der Explantation und Implantation durch die verwendete Herz-Lungen-Maschine überbrückt [82]. 1958 veröffentlichten Webb, Howard und Neely ihre Versuche. Hierbei kühlten sie die Organe, welche sie in einem Nährmedium aufbewahrten, auf vier

Grad Celsius ab, da sie beobachtet hatten, dass die Organe dadurch selbst nach mehr als sechs Stunden noch funktionstüchtig waren [108].

Im selben Jahr publizierte die Arbeitsgruppe um Goldberg, Bergmann und Akman ihre Ergebnisse einer vereinfachten Implantation des Herzens. Dabei vereinigten sie mit direkter Naht die beiden linken Vorhöfe miteinander, wodurch die bis dahin benötigten vier Einzelanastomosen für die Lungenvenen entfielen [31]. Ein Jahr darauf berichteten Cass und Brock über eine weitere Vereinfachung der Implantationstechnik. Hierbei reduzierten sie die Zahl der benötigten Anastomosen auf vier, indem sie beide Vorhöfe miteinander verbanden, eine Methode die bis heute praktiziert wird [18]. Obwohl alle bisher erwähnten Arbeiten gedanklich richtig waren, blieben sie in der Praxis erfolglos. Als im Jahre 1960 Richard Lower und Norman Shumway aus der Stanford-Universität die ersten Langzeitergebnisse gelangen, avancierte ihre Studie zum



2: Norman Ernest

Meilenstein für die orthotope Herztransplantation [57]. Auf der Suche nach neuen myokardprotektiven Methoden erfand Shumway die lokale Herzhypothermie, wobei er auf das ischämische Herz ständig eiskalte Kochsalzlösung aufbrachte. Des Weiteren verkürzte er die Ischämiezeit erheblich, indem er allogene verpflanzte, weil man somit mehr Gewebe zum Nähen hatte. Weiterhin entscheidend waren seine Geschicklichkeit, die gute Myokardprotektion sowie die Genauigkeit und Geschwindigkeit mit der Shumway nähte. Somit betrug die Ischämiezeit seiner acht transplantierten Hundeherzen im Durchschnitt nur eine Stunde. Von den acht transplantierten Hunden lebten sechs bis zu 21 Tage. Aufgrund der histologischen Untersuchungen, welche eine Infiltration mit Leukozyten zeigten, kamen Lower und Shumway zu dem Schluss, dass das verpflanzte Organ unter der Voraussetzung einer effektiven Immunsuppression des Empfängers ausreichend funktionieren würde [94]. 1965 berichtete Kondo aus der Arbeitsgruppe von Kantrowitz aus Brooklyn von einer Versuchsreihe orthotoper Herztransplantationen, die mit Hilfe der tiefen Ganzkörper-Hypothermie an jungen Hunden durchgeführt wurde. Von den 37 transplantierten Tieren lebten zwölf länger als zwei Wochen, ein Hund überlebte sogar 213 Tage. Da keine immunsuppressiven Medikamente verabreicht wurden, führten die Untersucher den Erfolg auf die noch nicht vollständig ausgereifte Immunkompetenz der Jungtiere zurück [49]. Schließlich wurde die immer deutlicher werdende Limitierung der Herztransplantation aufgrund der Immunbarriere durch die Einführung von 6-Mercaptopurin, welches aus der experimentellen Nierentransplantation stammte, durch die Bostoner Ärzte Schwartz und Dameshek gebrochen [84]. 1959 entdeckten die beiden Wissenschaftler Hitchings und Elion das für die Transplantationsmedizin sehr wichtige Immunsuppressivum Azathioprin (im

Weiteren Aza genannt). Dieses war als erstes Medikament in der Lage, das Immunsystem potent zu unterdrücken und ermöglichte somit überhaupt erst Transplantationen mit Aussicht auf einen gewissen Langzeiterfolg [23, 24]. Als Erste berichteten Lower, Dong und Shumway im Jahre 1965 von ihren Erfahrungen mit der Anwendung von Cortison in Kombination mit 6-Mercaptopurin bzw. Aza. Die behandelten Hunde überlebten bis zu 250 Tage [56]. Mit dieser Arbeit war die Grundlage für die erste Herztransplantation am Menschen geschaffen. Wie erwähnt gelang es dem kapstädtischen Team um Christiaan Neethling Barnard am 2. Dezember 1967 als Erstes. Ende Dezember folgte die Transplantation von Kantrowitz [42]. Shumway, dem der eigentliche Ruhm zu gönnen gewesen wäre, führte seine erste Herztransplantation im Januar 1968 durch [93]. Im selben Jahr führte Cabrol die erste europäische Herztransplantation in Paris durch [15]. Die erste Herztransplantation in Deutschland wurde 1969 von Sebening, Klinner und Zenker in München durchgeführt [95].

## **1.2 Mycophenolatmofetil**

### **1.2.1 Einleitung**

Die Entwicklung von MMF hat seinen Ursprung in der Unzufriedenheit der Transplantationsmediziner mit dem bis dahin erfolgreich eingesetzten Aza, einer Vertreterin der de-novo-Purinsynthese-hemmenden Substanzen. Aufgrund der sehr schmalen therapeutischen Breite waren die Ärzte gezwungen das Medikament in geringen Dosen zu verabreichen, um schwerwiegende Nebenwirkungen wie vor allem die Knochenmarksdepression zu verhindern, sodass nicht immer ein ausreichend hoher immunsuppressiver Index erzielt werden konnte. So begann man Anfang der 1980er Jahre alternativ nach ähnlichen Substanzen mit einem breiteren therapeutischen Fenster und einem geringeren Nebenwirkungsprofil zu suchen. In der Ciclosporin-Ära war man auf der Suche nach einem Medikament, das man anstelle von Aza mit Ciclosporin (im Weiteren CsA genannt) kombinieren konnte, um im Sinne einer Kombinationstherapie einen starken immunsuppressiven Effekt bei gleichzeitig geringem Nebenwirkungsprofil zu erzielen. Mit dieser Absicht begann man mit der Erprobung der de-novo-Purinsynthese-hemmenden Substanzen MMF, Mizoribin und etwas später dem magensaftresistenten Mycophenolat-Natrium [53]. Da diese Medikamente die Inosin-5'-Monophosphat-Dehydrogenase (im Weiteren IMPDH genannt), ein Schlüsselenzym der Purinsynthese hemmen, bezeichnet man sie auch als IMPDH-Hemmer. Durch die Hemmung der Purinsynthese kommt es dabei zur Blockade der DNA-Synthese, da das Purin als wichtiger Nukleotidbaustein fehlt [4]. Somit entwickelte sich vor allem MMF in der Ära der Calcineurin-hemmenden immunsuppressiven Medikamente (CsA und Tac) zu einem führenden Medikament.

### **1.2.2 Vorbemerkung**

MMF ist als Produkt der Firma Hoffmann-La Roche unter dem Handelsnamen Cellcept® erhältlich. 1996 wurde MMF zunächst für die Nierentransplantation, später auch für die Herz- und Lebertransplantation zugelassen. MMF ist ein Vorstufenmedikament. Es ist das Morpholinoäthylester der Mycophenolsäure (im Weiteren MPA genannt), der eigentlichen Wirksubstanz [53].

### **1.2.3 Geschichte**

Bereits 1896 wurde die MPA, der eigentliche Wirkstoff von MMF aus Maisbrühekulturen isoliert [32]. Ende der 1960er entdeckte man die Eigenschaft der Substanz, das Wachstum von Krebszellen durch die Hemmung der IMPDH zu unterdrücken [28]. Da die Bioverfügbarkeit der MPA aber zu wünschen übrig ließ, machten sich die Forscher Allison und Eugui an die Entwicklung seines Morpholinoäthylesters, um es als Vorstufenmedikament eines immunsuppressiven Präparats einsetzen zu können [3]. Ihre Motivation zur Entwicklung einer neuen immunsuppressiven Substanz beruhte auf der Tatsache, dass CsA erstens nephrotoxisch wirkte, und zweitens 40% der transplantierten Patienten trotz der CsA-Therapie Abstoßungskrisen aufwiesen. Deshalb suchten Allison und Eugui nach einer Substanz mit einer reversiblen zytostatischen Wirkung, d. h. die selektive Hemmung des Wachstums von Lymphozyten. Des Weiteren sollte die Substanz weder nephrotoxische, hepatotoxische, mutagene oder andere limitierende Eigenschaften aufweisen. So begannen die beiden Forscher mit der Suche nach einem metabolischen Reaktionsweg, dessen Hemmung selektiv B- und T-Lymphozyten beeinflussen sollte. Ihre Suche führte sie schließlich zur IMPDH, das Zielenzym, welches durch die MPA gehemmt werden sollte [3]. Kurz danach untersuchte die Arbeitsgruppe um Randall Morris in Stanford als Erste die immunsuppressive Wirkung von MMF [68]. Der weitere Werdegang der Substanz ist stark von dem Namen Hans Werner Sollinger geprägt. So haben wir die Entwicklung von MMF als Immunsuppressivum bis zur Registrierung hauptsächlich ihm zu verdanken [100].

### **1.2.4 Experimentelle Entwicklung**

Im Jahr 1989 berichtete die Arbeitsgruppe um Randall Morris in Stanford als Erste über die Anwendung von MMF in der experimentellen Organtransplantation. Dabei untersuchten sie die Wirkung von MMF am Modell der heterotopen allogenen Herztransplantation bei der Lewis-Ratte [68]. Hierbei konnten sie eine Verlängerung der mittleren Überlebenszeit der Transplantate von sechs bis zu 200 Tagen zeigen. Des Weiteren machten sie die Beobachtung, dass man eine bereits ablaufende Abstoßungsreaktion durch die Gabe von

MMF aufhalten konnte [69]. Weitere Versuche an herztransplantierten Ratten und nicht-humanen Primaten (Cynomolgus-Affen) der selben Arbeitsgruppe konnten zeigen, dass MMF nicht nur in der Lage ist, die Überlebenszeit der Transplantate zu verlängern, sondern auch die Entwicklung der TVP in Form der Koronarsklerose zu bremsen vermag [70]. Die entscheidenden experimentellen Ergebnisse, welche die Grundlage für die spätere Planung und Durchführung klinischer Studien bildeten, wurden jedoch am Modell der experimentellen allogenen Nierentransplantation am Hund von der Arbeitsgruppe um Hans Werner Sollinger erarbeitet [78 - 80]. Dabei wurde MMF zunächst in Form einer Monotherapie in hoher Dosis verabreicht. Diese Monotherapie erwies sich als zu toxisch, was sich in schweren gastrointestinalen Komplikationen in Form von schweren hämorrhagischen Gastritiden und Enteritiden äußerte [80]. In folgenden Untersuchungen kam nun eine Kombinationstherapie aus niedrig dosiertem MMF, geringen Dosen von CsA und Methylprednisolon zur Anwendung. Dabei stellte man einen Anstieg der mittleren Transplantatüberlebenszeit von 122 Tagen im Gegensatz zu acht Tagen bei den Kontrolltieren fest [80]. Bei einer weiteren Versuchsgruppe verabreichte man Hunden mit einer akuten Abstoßung der allogenen transplantierten Niere MMF als „Rettungsmedikament“. Hierbei konnte man bei 14 von 16 Tieren nach dreimaliger Gabe hoher MMF-Dosen eine vollständige Rückbildung der Abstoßungskrise beobachten [78]. Der nächste Schritt in der Entwicklung von MMF bestand in seiner Anwendung auf dem Gebiet der Xenotransplantation. So konnte die Substanz am Modell der Verpflanzung xenogener Herztransplantate von Cynomolgus-Affen auf Paviane überzeugen: Die mittlere Transplantatüberlebenszeit betrug bei der Kombinationstherapie von MMF mit CsA und Prednisolon 296 Tage, wobei sowohl die Inzidenz von akuten Abstoßungsreaktionen als auch die Ausbildung der TVP deutlich verringert werden konnte [73]. Das chronische Transplantatversagen ist multifaktoriell bedingt. Im Mittelpunkt steht die Proliferation glatter Muskelzellen, verursacht durch wiederholte Läsionen des Endothels [53]. Tatsächlich gibt es experimentelle Hinweise auf einen verzögernden Effekt von MMF auf die Entwicklung der TVP. So fand man in Versuchen am Modell der Herztransplantation bei der Ratte und bei Primaten heraus, dass die TVP durch MMF im Vergleich zur Behandlung mit CsA oder Tac sowohl seltener auftrat als auch geringer ausgeprägt war [47, 70]. Letztendlich lässt sich folgern, dass MMF nicht nur in der Lage ist akute spezifische immunologische Ereignisse zu unterdrücken, sondern auch die Entwicklung der chronischen TVP zu verlangsamen vermag.

### 1.2.5 Struktur

MMF ( $C_{23}H_{31}NO_7$ ; Molekulargewicht 433,50 Dalton) ist der biologisch inaktive Morpholino-Ethylester der aktiven Wirksubstanz MPA. Das Ziel der Entwicklung von MMF bestand darin, die pharmakokinetischen Eigenschaften von MPA zu verbessern [4]. Der korrekte chemische

Name lautet 2-(4-morpholino)ethyl-(E)-6-(1,3-dihydro-4-hydroxy-6-methoxy-7-methyl-3-oxo-5-isobenzofuranyl)-4-methyl-4-hexenoat. Die chemischen Strukturen von MMF, MPA und MPAG mit den Interkonversions- und Exkretionsorten zeigt die Abbildung 3.

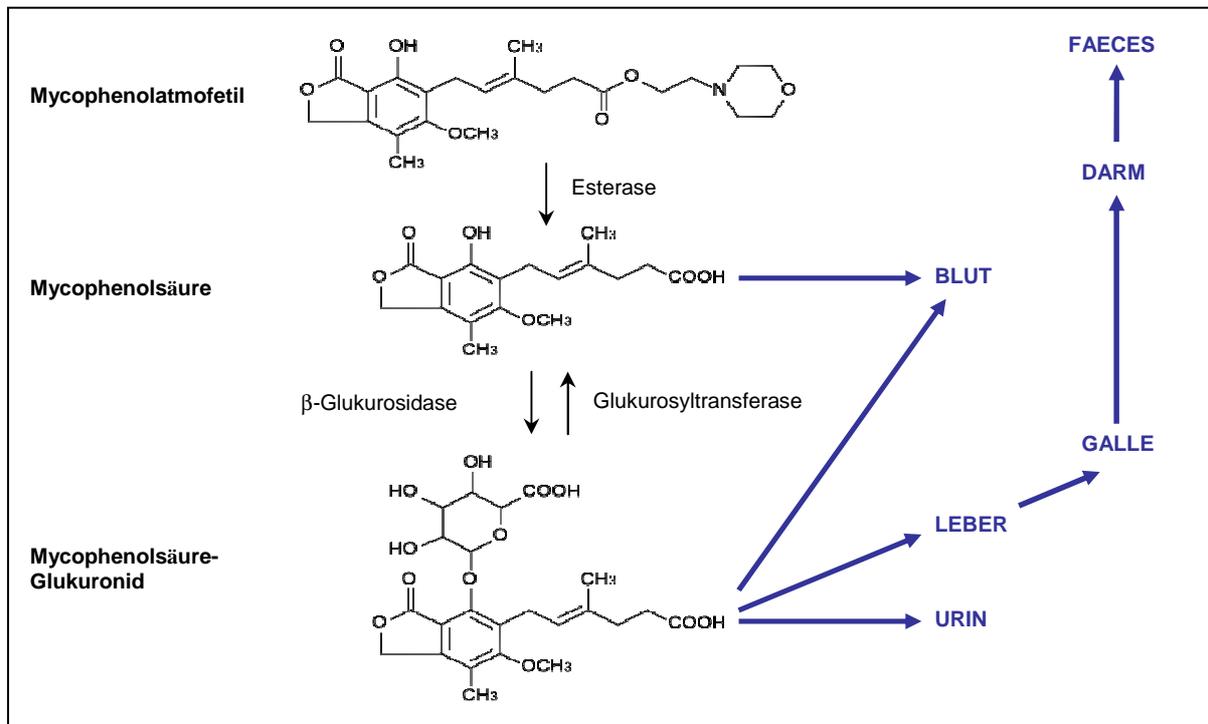


Abbildung 3: Chemische Strukturen von MMF, MPA und MPAG mit Interkonversions- und Exkretionsorten [3].

### 1.2.6 Wirkungsmechanismus

Die Wirkung der MPA beruht auf verschiedenen Mechanismen, die im Folgenden kurz erläutert werden sollen:

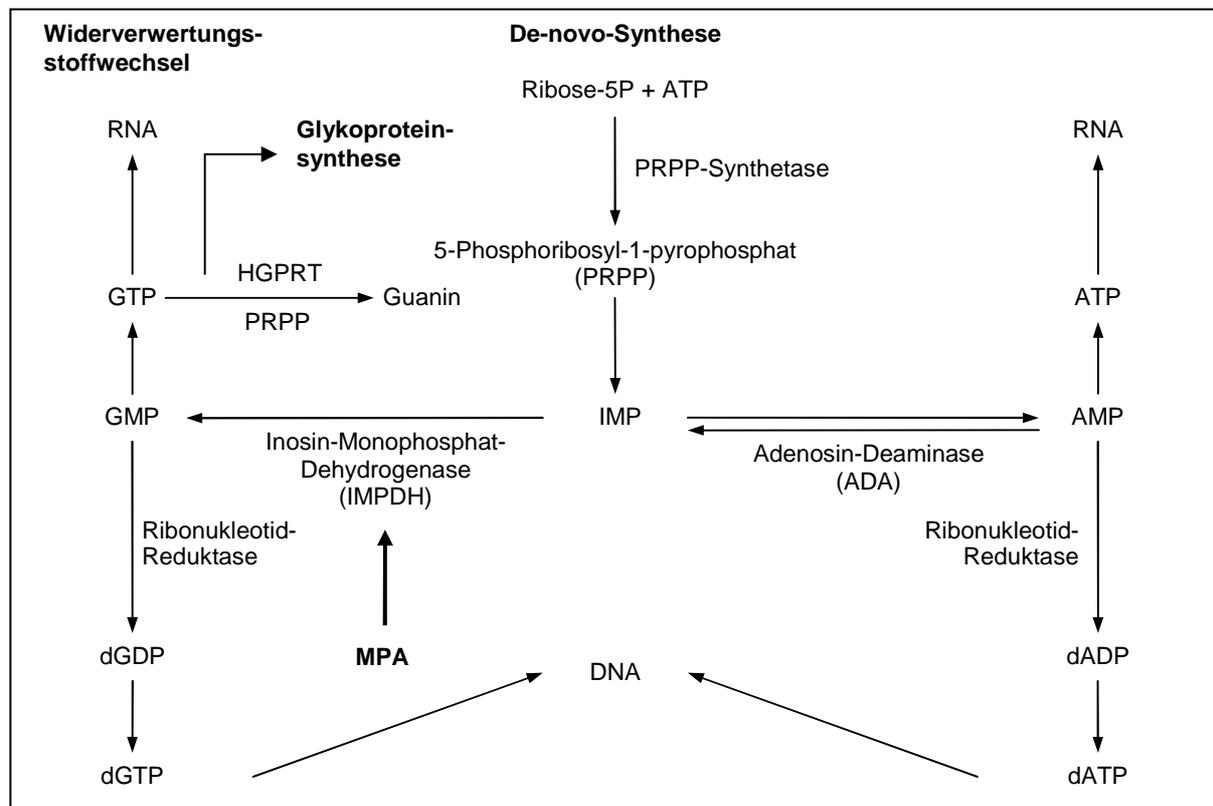
#### a) Mögliche hemmende Wirkung von MMF auf die Proliferation vaskulärer glatter Muskelzellen und Fibroblasten:

Man konnte in In-vitro-Versuchen eine Hemmung der Proliferation kultivierter humaner und tierischer glatter Muskelzellen und Fibroblasten nachweisen, indem man MMF in klinisch üblichen Konzentrationen verwendete [6, 33]. Diese Beobachtung wurde durch experimentelle Modelle des chronischen Transplantatversagens bestätigt. MMF erwies sich dabei am Modell der heterogenen allogenen Herztransplantation bei der Ratte im Vergleich zu CsA oder Tac als wirksamere Substanz im Hinblick auf die Unterdrückung der proliferativen koronaren Angiopathie [34, 59, 67]. Am Modell der allogenen Aorta-transplantation bei der Ratte und am Modell der xenogenen Herztransplantation bei nicht-humanen Primaten machte man ähnliche Beobachtungen.

**b) Hemmung der Proliferation von Lymphozyten, Hemmung des Purinstoffwechsels der Lymphozyten sowie Hemmung der De-novo-Purinsynthese:**

Die immunsuppressive Wirkung von MMF geht von der MPA als der eigentlichen Wirksubstanz aus. Der wichtigste Angriffspunkt der MPA ist die Hemmung der IMPDH, ein Schlüsselenzym der Purin-Biosynthese, welches für die Synthese der Nucleotidbausteine unentbehrlich ist. Durch die Hemmung der Purin-Biosynthese kommt es zur Blockierung der DNA- und RNA-Synthese und somit zur Behinderung der Mitose, was schließlich zur Hemmung der Proliferation der T- und B-Lymphozyten führt [5, 6].

Die Herstellung von Nucleotiden, die als Einzelbausteine für die DNA- und RNA-Synthese dienen, kann wie in Abbildung 4 dargestellt auf zwei verschiedenen Stoffwechselwegen erfolgen:



**Abbildung 4: Bildung von Purinbausteinen über die De-novo-Synthese und über den Wiederverwertungsstoffwechsel. IMP nimmt eine Schlüsselrolle ein. Die IMPDH katalysiert die Synthese von GMP, GTP und dGTP. Diese Nucleotide sind für die DNA- und RNA-Synthese in T- und B-Lymphozyten unverzichtbar. Die IMPDH wird von der MPA gehemmt. Die PRPP und die Ribonucleotidreduktase sind die beiden Enzyme, welche die Purinbiosynthese limitieren. Ihre Regulation erfolgt auf allosterische Weise durch Nucleotide. So werden sie durch GMP, GDP, GTP, dGDP und dGTP aktiviert, und von AMP, ADP und dATP gehemmt [53].**

1. *Bei der De-novo-Purinbiosynthese werden Nucleotide aus einfachen Stoffwechselprodukten neu gebildet:*

Dabei stammt das Produkt, der Fünf-Kohlenstoff-Zucker, welches an einen Phosphatrest gebunden ist, aus dem 5-Phosphoribosyl-1-Pyrophosphat (im Weiteren PRPP genannt), das im Pentosephosphat-Zyklus aus Ribose-5-Phosphat und ATP gebildet wird. Der Purinring wird in mehreren Schritten aufgebaut, wobei der erste von der Glutamin-PRPP-Aminotransferase katalysiert wird [3, 6].

2. *Der Wiederverwertungsstoffwechsel stellt die zweite Möglichkeit der Synthese von Nucleotiden dar:*

Hierbei verläuft die Synthese über bereits vorgefertigte Purin- und Pyrimidinbasen, die wiederverwendet werden. Allerdings funktioniert der Wiederverwertungsstoffwechsel nur, wenn ausreichend Thymidin und Hypoxanthin vorhanden sind. Für die Reaktion, welche von der Hypoxanthin-Guanin-Phosphoribosyl-Transferase (im Weiteren HGPRT genannt) katalysiert wird, wird ebenfalls PRPP benötigt. Deshalb ist die ausreichende Synthese von PRPP für beide Reaktionswege von großer Bedeutung. Viel interessanter und wichtiger ist jedoch, dass zwar ruhende Lymphozyten und andere sich rasch teilende Zellen in der Lage sind, den Wiederverwertungsstoffwechsel zu benutzen, aktivierte T- und B-Lymphozyten aber bei der Synthese ihrer Nucleotidbausteine fast ausschließlich auf die De-novo-Purinbiosynthese angewiesen sind. Entscheidend für das Verständnis der Nucleotidsynthese ist also die Tatsache, dass die Aktivitäten der Schlüsselenzyme, welche die Umsatzrate limitieren, also die PRPP-Synthetase und die Ribonucleotid-Reduktase von den Nucleotiden selbst allosterisch reguliert werden, z. B. durch die Endprodukthemmung [6]. Unterstützt wird diese Hypothese von Experimenten, in denen man herausfand, dass die PRPP-Synthetase in menschlichen Lymphozyten durch die Adenosinnucleotide AMP, ADP und ATP gehemmt werden, durch die Guanosinnucleotide GMP, GDP und GTP aber aktiviert werden. Daraus folgt, dass sowohl ein Überschuss an Adenosinnucleotiden als auch ein Mangel an Guanosinnucleotiden den PRPP-Pool verringern kann - andererseits aber sowohl ein Überschuss an dATP als auch ein Mangel an dGTP die Aktivität der Ribonucleotidreduktase hemmen kann [30]. Diese gerade erwähnten Vorgänge verringern also den Bestand der Substrate, welche für die Aktivität der DNA-Polymerase unbedingt notwendig sind.

Die hier gewonnenen zwei wichtigen Hypothesen sind noch einmal zusammengefasst:

- a) Adäquate Konzentrationen von Guanosin- und Desoxyguanosinnukleotiden (GMP, GDP, GTP, dGDP und dGTP) sind für die DNA- und RNA-Synthese und des damit verbundenen Funktionieren proliferativer Prozesse in Lymphozyten notwendig.
- b) Der Überschuss von Adenosin- und Desoxyadenosinnukleotiden (AMP, ADP, ATP, dADP und d ATP) führt zur Hemmung der Proliferation von Zellen.

Am Scheidepunkt der Purinnukleotidbiosynthese steht das Stoffwechselbaustein IMP. Es kann entweder zu AMP umgewandelt werden, was zur Hemmung der Zellproliferation führt, oder aber zu GMP konvertieren. Letzteres führt zur Aktivierung der Proliferation. Hierbei sind die beiden Enzyme Adenosin-Desaminase (im Weiteren ADA genannt) und IMPDH verantwortlich für die Erhöhung der Konzentration der Guanosinnukleotide zu Ungunsten der Adenosinnukleotiden in den Zellen [3]. So bildet die erhöhte Aktivität der IMPDH neben hohen Konzentrationen von Guanosin- und Adenosinnukleotiden die Grundlage für die Expansion und Proliferation der T- und B-Lymphozyten (siehe Abbildung 5) [53].

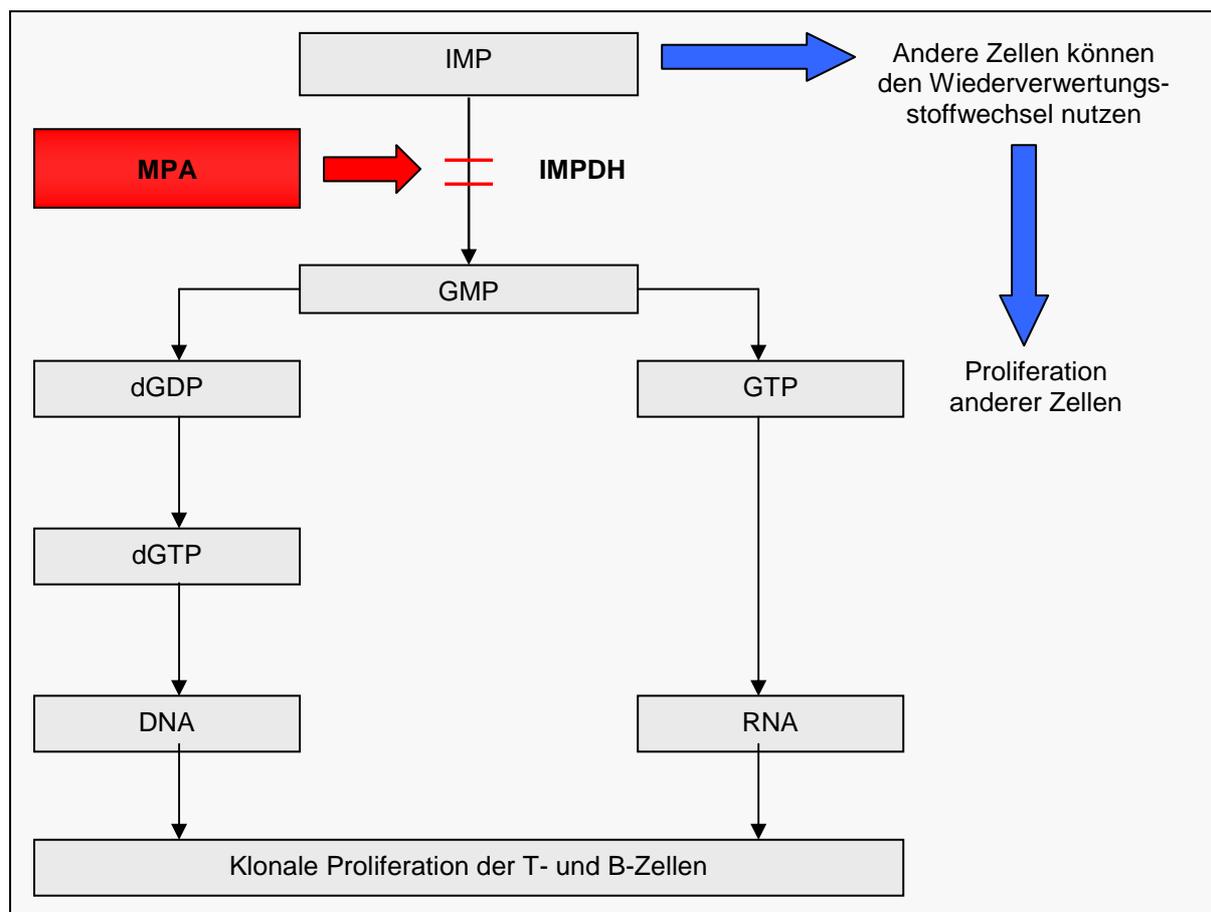


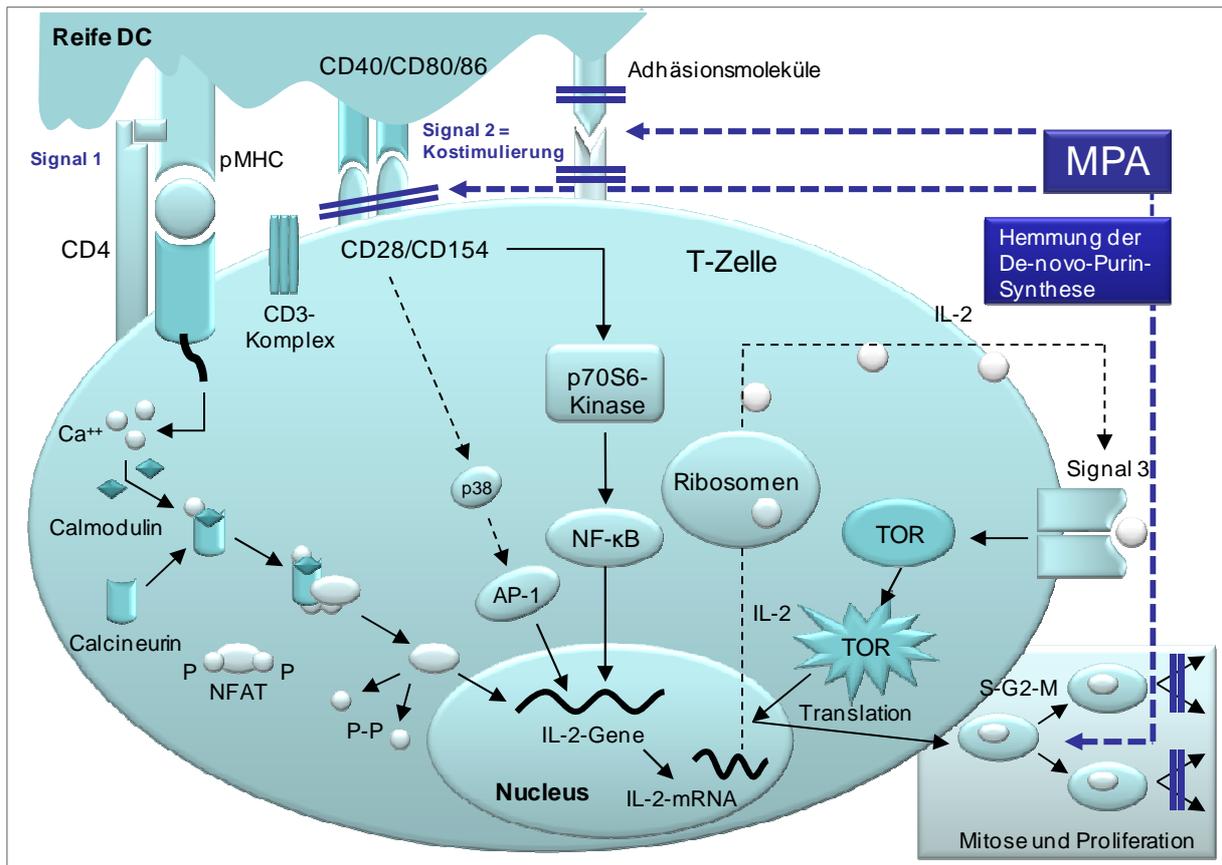
Abbildung 5: Hemmung der klonalen Proliferation der T- und B-Lymphozyten durch die Hemmung der IMPDH durch die MPA [53].

Die Tatsache, dass die IMPDH in größeren Mengen in der Milz und im Thymus als in anderen Geweben vorkommt, untermauert ihre Bedeutung für die Funktion der T- und B-Lymphozyten [39]. Aus allen diesen Beobachtungen und Zusammenhängen folgerten Allison und Eugui, dass sich die selektive Hemmung der IMPDH durch die MPA als zytostatischer Effekt auf die Lymphozyten und weniger auf andere Zellen auswirken könnte [3]. Die Forscher vermuteten aufgrund der großen Bedeutung der Guanosin- und Desoxyguanosinnukleotide als Aktivatoren der PRPP-Synthetase und der Ribonukleotid-Reduktase, dass die Abnahme an GMP und somit auch an GTP und dGTP durch eine MPA-vermittelte Hemmung der IMPDH über einen hohen antiproliferativen Effekt verfügen müsste. Weiterhin folgerten sie, dass dieser antiproliferative Effekt selektiv auf die Lymphozyten wirken müsste, weil diese ganz besonders im Gegensatz zu anderen sich rasch teilenden Zellen von der De-novo-Purinsynthese abhängig sind [3]. Die Forscher Sintchak und Nimmesgern waren es dann, die anhand ihrer Versuche den Mechanismus der Hemmung der IMPDH durch die MPA entschlüsselten. Hierbei wird die IMPDH durch die MPA nicht-kompetitiv gehemmt, indem sie mit dem Komplex „IMPDH-kovalent-gebunden-an-XMP“ interagiert [96].

Des Weiteren führt die MPA zur Hemmung der zentralen Phase der Alloimmunantwort bzw. bevorzugt zur Hemmung der Lymphozytenproliferation. Hierbei vermag die MPA über drei verschiedene Reaktionswege die Aktivierung, Zellteilung und Proliferation von T-Lymphozyten am afferenten Schenkel der Immunantwort zu hemmen (siehe Abbildung 6):

1. Hemmung der Expression von kostimulierenden Molekülen CD28, CD154 (Hemmung der Aktivierung).
2. Hemmung der Expression von Adhäsionsmolekülen, welche an der Formierung der immunologischen Synapse beteiligt sind (Hemmung der Aktivierung).
3. Hemmung der De-novo-Purinsynthese (Hemmung der Zellteilung).

Verglichen mit anderen immunsuppressiven Substanzen greift die MPA also erst spät im Zellzyklus der Lymphozyten ein. Hierbei ist der Lymphozyt bereit zur Teilung, aber es fehlt ihm an den für die Purinsynthese notwendigen Substraten. Dies führt schließlich zur Zytostase [53]. Die Beobachtung der Arbeitsgruppe um Allison und Eugui, dass die MPA und ihre Ester nicht nur in der Lage sind, die Proliferation der T-Lymphozyten, sondern auch die der B-Lymphozyten zu hemmen, ist im Hinblick auf die durch Alloantikörper vermittelten Ereignisse nach Organtransplantation sehr wichtig [25, 57]. In vivo kann die primäre, aber nicht die sekundäre humorale Immunabwehr durch MMF gehemmt werden. Für alle erwähnten antiproliferativen Eigenschaften von MMF liegt die Hauptursache in der ausgeprägten Hemmung der DNA-Synthese in Lymphozyten, herbeigeführt durch die Hemmung der IMPDH durch die MPA und den folgenden Mangel an dGTP [3].



**Abbildung 6: Hemmung der Aktivierung, Zellteilung und Proliferation von T-Lymphozyten am afferenten Schenkel der Immunantwort durch die MPA über drei Reaktionswege: I) Hemmung der Expression kostimulierender Moleküle (CD28, CD154); II) Hemmung der Expression von Adhäsionsmolekülen, welche an der Formierung der immunologischen Synapse beteiligt sind; III) Hemmung der De-novo-Purinsynthese [53].**

Es gibt neuere Erkenntnisse, die darauf hinweisen, dass der immunsuppressive Effekt von MMF nicht nur auf seine zytostatischen Eigenschaften, welche die Zellteilungsvorgänge in der zentralen Phase der Alloimmunantwort beeinflussen, beruht. Zur Diskussion stehen weitere Angriffspunkte wie die Herunterregulierung bzw. Hemmung molekularer Prozesse am afferenten Schenkel der Alloimmunantwort, und zwar in der Initialphase der Alloerkennung und -aktivierung im Zuge der Interaktion von Antigen-präsentierenden dendritischen Zellen einerseits und T-Lymphozyten andererseits.

Diese laufen auf drei molekularen Ebenen ab [53]:

1. Interaktion des Allopeptid/MHC-Komplexes auf der dendritischen Zelle mit dem T-Zell-Rezeptor auf der T-Zelle.
2. Interaktion von kostimulierenden Molekülen.
3. Interaktion von Adhäsionsmolekülen auf beiden Zelltypen.

## **1.2.7 Klinische Entwicklung und Therapie bei Organtransplantationen**

### **1.2.7.1 Wirksamkeit**

Am Transplantationszentrum in Madison, Wisconsin begann die klinische Entwicklung von MMF, da hier am meisten Erfahrung in experimentellen Tierversuchen mit der Substanz gesammelt worden war. Da das ursprüngliche Konzept, MMF als alleiniges Immunsuppressivum zu entwickeln, an seinen ausgeprägten gastrointestinalen Nebenwirkungen bei den Versuchen mit Hunden gescheitert war, entschloss sich die Arbeitsgruppe um Hans Sollinger das Medikament als zusätzliches Immunsuppressivum in einer Kombinationstherapie mit CsA und Kortikosteroiden in angemessenen und ungefährlichen Dosen zu erproben. Ziel und Inhalt der Studie war die Demonstration einer stärkeren immunsuppressiven Wirksamkeit der Kombinationstherapie von MMF und CsA im Vergleich zu einer Therapie mit Aza und CsA gemessen an der effizienten Reduktion akuter Abstoßungskrisen [53]. Die ersten klinischen Phase-I-Studien in Madison wurden bei nierentransplantierten Patienten mit der Absicht der Dosisfindung durchgeführt. Dabei wurde früh die Abhängigkeit der Wirksamkeit und der Nebenwirkungen von der Dosis bemerkt. Schließlich stellte sich die Tagesdosis von 2 bis 3 Gramm als Bereich mit einer zufriedenstellenden Wirksamkeit und guter Verträglichkeit heraus [98, 21]. Aus diesen Erfahrungen erwuchs eine multizentrische klinische Pilotstudie in den USA, in der MMF als „Rettungsmedikament“ bei nierentransplantierten Patienten zum Einsatz kam. Dabei verabreichte man 75 Patienten mit steroidresistenter oder sogar OKT3-resistenter, histologisch gesicherter Abstoßungskrise täglich 2 bis 3 Gramm MMF zusätzlich zur Basistherapie mit CsA und Steroiden. Bei 69% der Patienten konnte damit eine drohende Transplantatabstoßung abgewendet werden [97]. Eine weitere Pilotstudie mehrerer Zentren verglich die Antiabstoßungstherapie von MMF mit der einer hochdosierten Steroidbehandlung bei 150 nierentransplantierten Patienten. Auch hier konnte MMF die Abstoßungsrate wirksam eindämmen [102]. In diesen ersten Studien beobachtete man gastrointestinale Beschwerden und Leukopenien als dominierende Nebenwirkungen.

In den ersten klinischen Studien auf dem Gebiet der Herzchirurgie wurde das Medikament CsA-behandelten Patienten bei lebensbedrohlichen therapieresistenten Abstoßungskrisen statt Aza verabreicht. Bei 75% erreichte man eine Konversion, wobei keine schwerwiegenden Nebenwirkungen auftraten [46].

Diese erfolgreichen ersten klinischen Studien bildeten die Grundlage für die Konzipierung großer internationaler, prospektiver, randomisierter Doppelblindstudien. Drei solcher Studien wurden zuerst bei nierentransplantierten Patienten durchgeführt. Dabei wurden die Ergebnisse aus den früheren klinischen Studien bestätigt, wodurch einer schnellen Zulassung des Medikaments auf dem Gebiet der Nierentransplantation nichts mehr im Wege

stand. Die amerikanische klinische Prüfung erfolgte an 499 nierentransplantierten Patienten. Dabei wurde allen Patienten initial CsA und Steroide als Dauermedikation verabreicht. Sie erhielten zusätzlich vorübergehend einen polyklonalen Anti-T-Zell-Antikörper. Als nächstes wurden die Patienten unter drei Therapiemodalitäten randomisiert [99]:

1. Aza-Therapie
2. MMF-Gabe in der Dosis von 2 Gramm täglich
3. MMF-Gabe in der Dosis von 3 Gramm täglich

Der primäre Endpunkt der Studie war das Ereignis eines Therapieversagens („Wirksamkeitsversagens“), welches sich zusammensetzte aus:

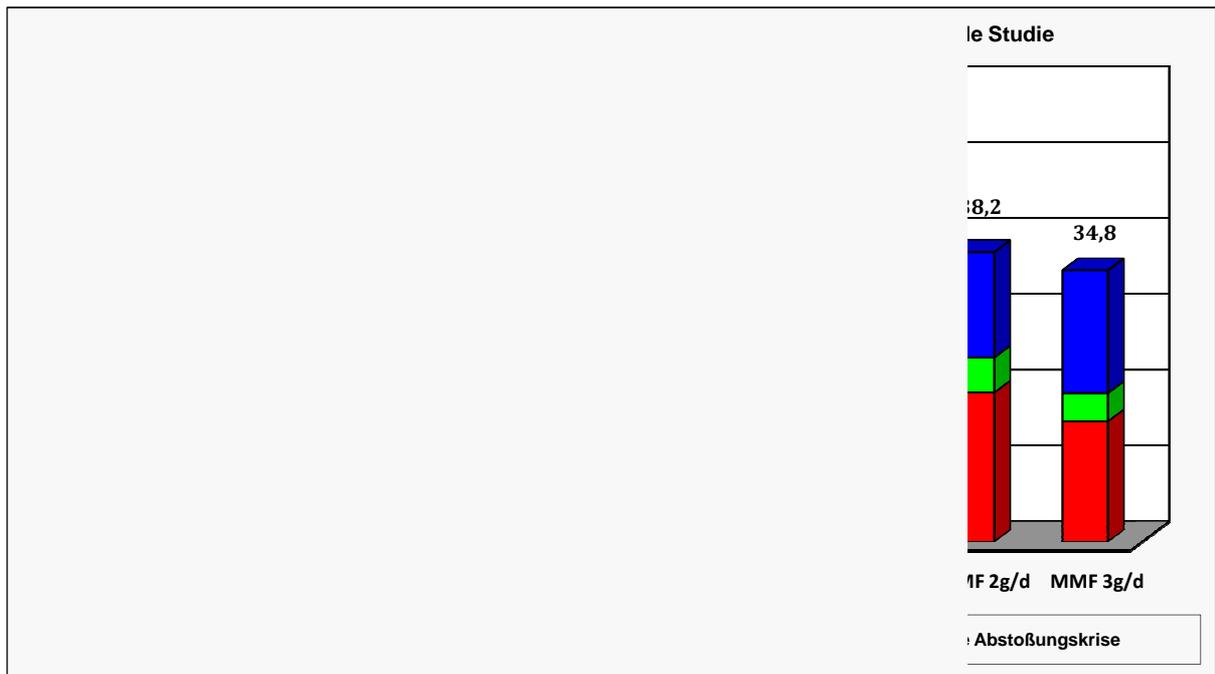
1. Inzidenz akuter Abstoßungskrisen
2. Todesfälle von Patienten
3. Transplantatverlust
4. Sonstige Ursachen eines Therapieversagens

Das Ergebnis war zufriedenstellend, denn Abstoßungskrisen bzw. Therapieversagen waren in der Gruppe der Patienten, die mit MMF behandelt wurden, signifikant reduziert. Hierbei lag die Inzidenz akuter Abstoßungskrisen bei 20% (2 Gramm Tagesdosis) bzw. 18% (3 Gramm Tagesdosis) verglichen mit der Aza-behandelten Vergleichsgruppe, bei der die Inzidenz akuter Abstoßungskrisen bei 38% lag (siehe Abbildung 7). Allerdings wurde bei den MMF-behandelten Patienten ein erhöhtes Auftreten von Diarrhöen, CMV-Infektionen und Leukopenien beobachtet [99]. Der Unterschied der europäischen klinischen Prüfung, die an 491 nierentransplantierten Patienten vorgenommen wurde, bestand in der Induktionstherapie, wobei man hierbei auf die Gabe eines Anti-T-Zell-Antikörpers verzichtete. Alle Patienten erhielten CsA und Steroide als Dauertherapie. Des Weiteren erfolgte die Testung nicht gegen Aza, sondern gegen ein Plazebo. Die Randomisierung erfolgte ebenfalls nach drei Therapiemodalitäten:

1. MMF-Gabe in der Dosis von 2 Gramm täglich
2. MMF-Gabe in der Dosis von 3 Gramm täglich
3. Plazebo-Gabe

Auch hier konnte die Inzidenz von akuten Abstoßungskrisen und Therapieversagen verringert werden, denn histologisch gesicherte Abstoßungsepisoden erlitten nur 17% (2 Gramm Tagesdosis) bzw. 14% (3 Gramm Tagesdosis) der MMF-behandelten Patienten im Vergleich zu 46% bei den plazebobehandelten Patienten (siehe Abbildung 5) [26].

Die umfangreichste klinische Prüfung von MMF erfolgt in einer trikontinentalen Studie an nierentransplantierten Patienten, an der sich 21 Transplantationszentren aus Europa, Australien und Kanada beteiligten. Man verzichtete auch hier auf die initiale Verabreichung eines T-Zell-Antikörpers. MMF wurde sodann in zwei verschiedenen Dosen (2 und 3 Gramm



1 [26, 103].

Tagesdosis) im Rahmen eines Dreimedikamentenprotokolls gegen Aza getestet. Den Studienendpunkt stellte wiederum die histologisch gesicherte akute Abstoßungskrise bzw. das Therapieversagen („Wirksamkeitsversagen“) aus einem anderen Grund dar. Das Ergebnis der Studie war wie erwartet ähnlich der Ergebnisse der vorangegangenen Studien, denn die Inzidenz der akuten Abstoßungskrisen fiel bei der MMF-Therapie mit 20% (2 Gramm Tagesdosis) bzw. 30% (3 Gramm Tagesdosis) im Vergleich zu 36% unter der Aza-Therapie signifikant niedriger aus [103]. Allerdings spiegelten die 3-Jahres-Ergebnisse der Studie unter der Erhaltungstherapie mit CsA, MMF und Steroiden im Vergleich zur Therapie mit CsA, Aza und Steroiden keine signifikant verbesserten Überlebenszeiten wieder [62]. Der Versuch die Ergebnisse aus diesen drei Studien zu poolen enthüllte ebenfalls interessante Erkenntnisse. Bei 1493 Nierentransplantierten betrug dabei die 1-Jahres-Überlebensrate 90% bei der 2 g/d-MMF-Gruppe, 89% bei der 3 g/d-MMF-Gruppe, und 88% bei der gepoolten Placebo- und Aza-Gruppe. Die Transplantatverlustrate aufgrund einer Abstoßung betrug in der gepoolten Placebo- und Aza-Gruppe 6%, und war somit signifikant höher als in der 2 g/d-MMF-Gruppe mit 4% bzw. in der 3 g/d-MMF-Gruppe mit 3% (siehe Tabelle 1) [36].

Zusammenfassend kann man sagen, dass MMF in der Kombination mit CsA und Steroiden im Vergleich zur Therapie mit CsA, Aza und Steroiden bei nierentransplantierten Patienten einen klinisch nachweisbaren stärkeren immunsuppressiven Effekt besitzt. Die Indikation von MMF ist immer dann gegeben, wenn ein hoher immunsuppressiver Index gefragt ist, z. B. bei immunologischen Risikopatienten, denen eine Nierentransplantation bevorsteht, oder nach Herz- und Lebertransplantation [53].

	<b>Plazebo- und Azathioprin-Gruppen</b>	<b>2-g/d-MMF- Gruppen</b>	<b>3-g/d-MMF- Gruppen</b>
1-Jahres-Transplantatüberleben	88%	90%	89%
Transplantatverlustrate auf dem Boden einer akuten Abstoßung	6%	3%	4%

**Tabelle 1: Gepoolte Daten der drei Zulassungsstudien mit MMF bei insgesamt 1493 nierentransplantierten Patienten unter CsA/Steroid-Therapie [36].**

Demgegenüber steht der Preis der stärkeren Immunsuppression in Form von opportunistischen Infektionen oder malignen Erkrankungen. Die klinische Erprobung von MMF auf dem Gebiet der Herztransplantation erfolgte durch eine internationale prospektive randomisierte Studie, an der 28 Zentren teilnahmen. Dabei wurden insgesamt 650 Patienten entweder mit CsA, MMF und Steroiden oder mit CsA, Aza und Steroiden behandelt. Dabei konnte unter der MMF-Therapie sowohl die 1-Jahres-Mortalität nach Transplantation von 11% auf 6% als auch die Inzidenz von akuten Abstoßungskrisen in den ersten sechs Monaten nach Transplantation von 74% auf 66% signifikant reduziert werden. Allerdings erkrankten die mit MMF behandelten Patienten häufiger an opportunistischen Infektionen und gastrointestinalen Erkrankungen [48]. Die Kombination von MMF mit CsA und Steroiden ist bereits weltweit an vielen Zentren bei den verschiedenen Formen der Organtransplantation eingesetzt worden. Die Anwendung von MMF ist dabei einerseits indiziert, wenn man sich die Steigerung des immunsuppressiven Index als Ziel setzt, und andererseits, wenn man die Einsparung bzw. das Absetzen von Steroiden und/oder CNI-Substanzen erzielen möchte. In monozentrischen Studien mit dem Ziel der Erhöhung des immunsuppressiven Index sind in den vergangenen Jahren die auf MMF basierenden Kombinationsprotokolle dominierend. Dabei wird MMF statt Aza in Kombination mit einem CNI-Medikament verabreicht, um akute Abstoßungskrisen wirksam zu vermeiden [53]. In unserem Herztransplantationszentrum an der Universitätsklinik der Ludwig-Maximilians-Universität in München-Großhadern verwenden wir in diesem Sinne seit Jahren erfolgreich MMF in Kombination mit Tac [63]. Das Präparat wird aber auch dann eingesetzt, wenn man Steroide oder CNI-Substanzen einsparen, absetzen oder erst gar nicht verabreichen möchte. Das Ziel dieses Therapiekonzeptes ist die Vermeidung von Steroid- und Nephrotoxizität und bei einer Langzeittherapie eventuell auch die Vermeidung von Atherogenität und Fibrogenität.

Auf dem Gebiet der Herztransplantation konnten Langzeituntersuchungen an herztransplantierten Patienten durch die Analyse von Daten aus dem gemeinsamen amerikanischen Herz-/Herz-Lungen-Transplantations- und UNOS-Thoraxregister

(ISHLT/UNOS-Thoracic Registry) zeigen, dass eine MMF-Therapie, anstatt der Aza-Behandlung zusätzlich zur CNI-Basistherapie das Überleben der Patienten und ihrer Transplantate signifikant verlängerte [38, 43].

### **1.2.7.2 Verträglichkeit und Nebenwirkungen**

Gastrointestinale Beschwerden wie Oberbauchschmerzen, Übelkeit, Erbrechen und Diarrhöen sind die am häufigsten beobachteten Nebenwirkungen von MMF bei Patienten. Leider ist die Entstehung dieser Unverträglichkeitsreaktionen nicht vollständig aufgeklärt. Zur Diskussion stehen unspezifische Mechanismen, die über gastrointestinale Infektionen ablaufen sollen, verursacht durch die Immunsuppression von MMF [10]. Als viel wahrscheinlicher wird aber ein direkter toxischer Effekt von MMF auf die Darmwand angenommen, denn man kennt aus zahlreichen experimentellen Studien die Toxizität von MMF auf den Gastrointestinaltrakt [53]. Beispielsweise führte bei Hunden eine tägliche orale MMF-Dosis von 60 Milligramm pro Kilogramm Körpergewicht zu schweren hämorrhagischen, erosiv-nekrotisierenden Gastroenteritiden. Bei Mäusen wurde die Hemmung der Proliferation basaler Epithelzellen durch hohe MMF-Dosen nachgewiesen [6].

Wenn man von der Hemmung der De-novo-Purinsynthese ausgeht, erscheint es durchaus möglich, dass nicht nur Lymphozyten, sondern auch andere Zellen wie die Enterozyten betroffen sein können. Tatsächlich beruhen 50% des Stoffwechsels von Enterozyten auf der De-novo-Purinsynthese [4, 5]. So erscheint es durchaus möglich, dass die gastrointestinalen Nebenwirkungen von MMF auf diese Weise entstehen, z. B. durch eine anhaltende Hemmung der IMPDH in Kombination mit dem Zusammenbruch des intrazellulären nutritiven Stoffwechsels in Enterozyten [53].

Des Weiteren sind hämatologische Erkrankungen wie Thrombozytopenien, Leukopenien bzw. Panzytopenien ebenfalls typische Nebenwirkungen von MMF. Meistens treten diese aber nur in Verbindung mit anderen knochenmarkdepressiven Medikamenten auf. Glücklicherweise sind die beschriebenen Nebenwirkungen aber meistens mild und können sehr gut durch eine Änderung der Dosis beherrscht werden. Deshalb ist ein völliges Absetzen des Medikaments nur sehr selten indiziert, und wenn doch, dann wegen therapieresistenten Diarrhöen. Das Auftreten von opportunistischen Infektionen ist nur im Rahmen von Kombinationstherapien mit anderen Präparaten beschrieben worden, weshalb eine sichere Zuschreibung dieser Nebenwirkung zu MMF nicht möglich ist [53]. In der folgenden Tabelle sind die in den großen internationalen Studien aufgetretenen Nebenwirkungen von MMF dargestellt.

<b>Organsystem</b>	<b>Nebenwirkungen</b>
Gastrointestinaltrakt	Bauchschmerzen, Übelkeit, Erbrechen, Diarrhö, Candidose
Nieren und Urogenitaltrakt	Harnwegsinfektion
Blut- und Lymphsystem	Thrombozytopenie, Leukopenie, Anämie
Haut- und Anhangsgebilde	Herpes zoster, Herpes simplex
Körper allgemein	Sepsis

**Tabelle 2: Wahrscheinliche oder möglicherweise mit MMF verbundene Nebenwirkungen, die bei Patienten im Rahmen von Herz-, Nieren-, oder Lebertransplantation in einer Kombinationstherapie mit CsA und Kortikosteroiden beschrieben wurden und mit einer Inzidenz von mindestens 10% vorkamen [53].**

## **1.2.8 Therapeutische Arzneimittelüberwachung**

### **1.2.8.1 Vorbemerkung**

Im Rahmen der großen Zulassungsstudien von MMF wurden seine pharmakokinetischen Eigenschaften ganz im Gegensatz zu den CNI-Substanzen zunächst nicht berücksichtigt, obwohl man sich bereits der Wichtigkeit einer therapeutischen Medikamenten-Überwachung (engl. TDM = therapeutic drug monitoring) für den erfolgreichen Einsatz von immunsuppressiven Medikamenten bewusst war. So verabreichte man den Studienpatienten das Medikament in fixen Dosen von 2 oder 3 Gramm täglich. Der Grund für den Verzicht auf blutspiegeladaptierte Dosierungen des Medikaments waren möglicherweise das Fehlen optimaler kommerziell verfügbarer Analysemethoden oder aber auch die Tatsache, dass das regelmäßige Medikamenten-Monitoring eine Erhöhung der Behandlungskosten zur Folge hätte. In vielen Zentren ist das regelmäßige Medikamenten-Monitoring der IMPDH-hemmenden Medikamente auch heute noch keine anerkannte Routine, jedoch sprechen immer mehr Daten aus klinischen Studien für den Sinn einer therapeutischen Medikamenten-Überwachung [53].

### **1.2.8.2 Pharmakologische Eigenschaften der MPA**

MMF ist der Morpholinoäthylester der MPA mit der Summenformel  $C_{23}H_{31}NO_7$  bei einem Molekulargewicht von 433,50 Dalton. Die Wasserlöslichkeit des weißen oder weißlich-kristallinen Pulvers beträgt 43 µg/ml bei einem pH-Wert von 7,4. Man kann die Substanz in vier verschiedenen Formen verabreichen: Kapseln zu 250 Milligramm, Tabletten zu 500 Milligramm, als Pulver Herstellung einer Infusionslösung und ebenfalls als Pulver zur Herstellung einer Suspension für die orale Verabreichung [53]. Abbildung 8 zeigt eine schematische Darstellung der verschiedenen Absorptionswege der MPA.

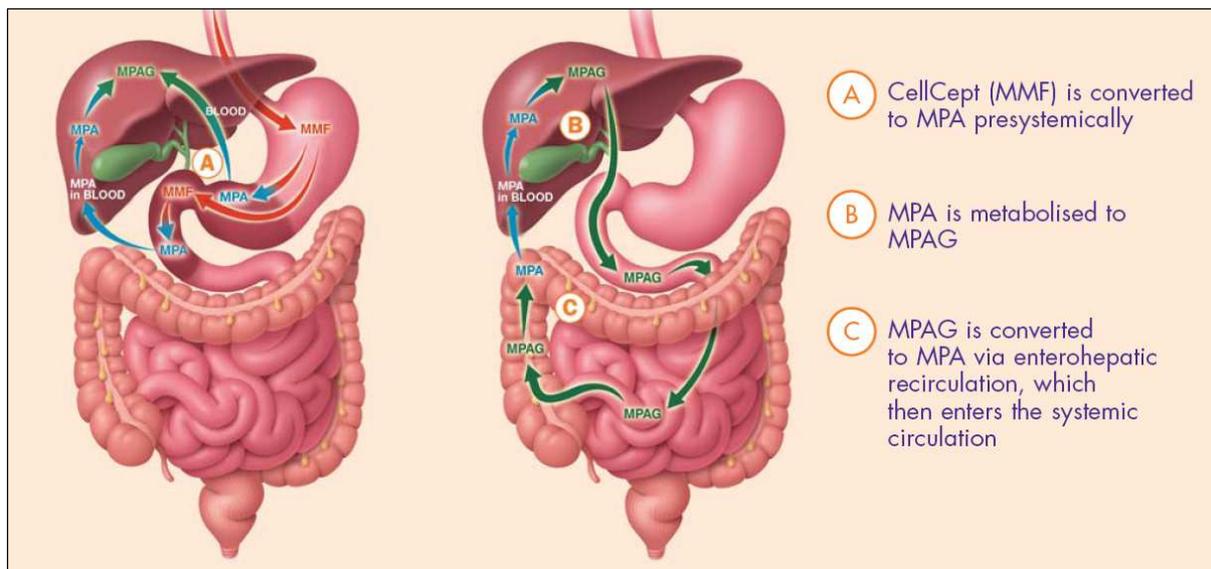


Abbildung 8: Schematische Darstellung der verschiedenen Absorptionswege der MPA [2].

#### a) Resorption:

MMF wird nach oraler Gabe als „Prodrug“ innerhalb einer Stunde nahezu vollständig resorbiert. Es wird durch die präsystemische Metabolisierung, z. B. in der Leber, schnell und vollständig zum aktiven und eigentlich immunsuppressiv wirksamen Metaboliten MPA umgewandelt. Hierbei besteht eine ungefähre Proportionalität zwischen dem erreichten Blutspiegel und der verabreichten Dosis. Die Bioverfügbarkeit von MMF beträgt 94% [13, 87].

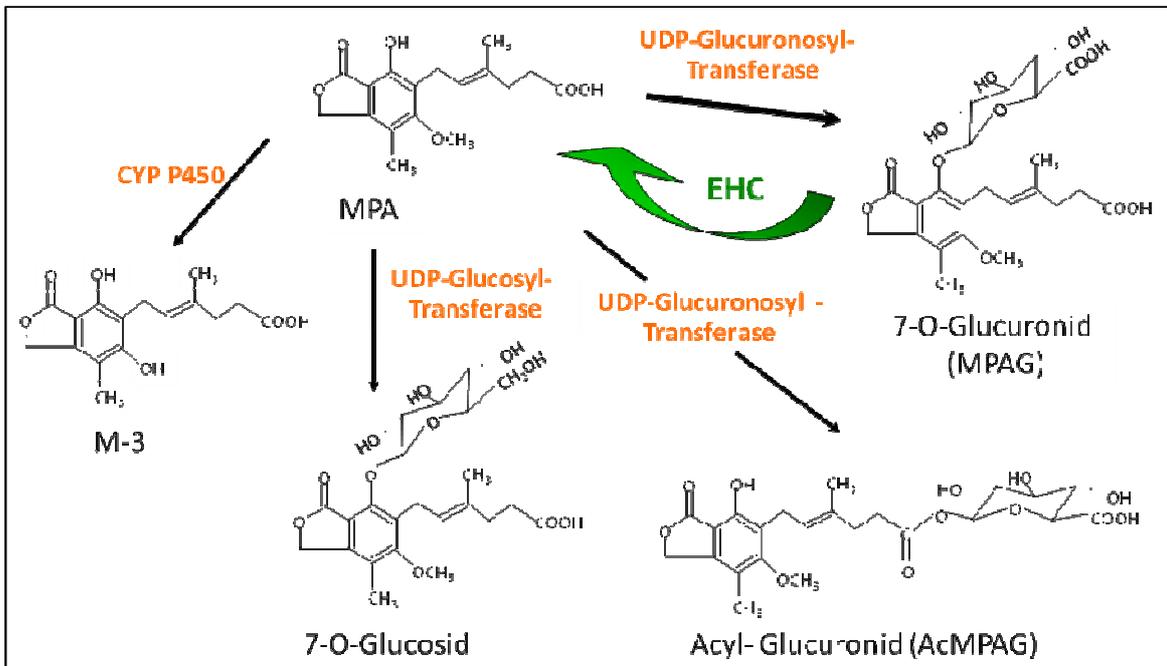
#### b) Verteilung:

MMF wird innerhalb von zwei Stunden nach dem Erreichen der maximalen Blutspiegelkonzentration umverteilt. Anhand von Isotopenuntersuchungen wurde gezeigt, dass sich die Substanz stark in Magen, Darm, Leber und Nieren anreichert. Diese sind an der Resorption, Verstoffwechslung und Elimination in erheblichem Maße beteiligt. Hohe Konzentrationen finden sich aber auch in den Organen des lymphatischen Systems wie Milz, Thymus und Knochenmark. Eine geringe Konzentration findet man dagegen im Gehirn [53].

#### c) Metabolismus:

Das Enzym UDP-Glukuronosyltransferase katalysiert im Organismus die Metabolisierung von MPA zum pharmakologisch inaktiven Mycophenolsäure-Glucuronid (engl. MPAG = mycophenolic acid glucuronid, siehe Abbildung 9). Diese Umwandlung findet hauptsächlich im Magen-Darm-Trakt und in der Leber statt, wobei möglicherweise auch die Nieren beteiligt sind [53]. Für die Pharmakokinetik ist weiterhin die Tatsache, dass die MPA im enterohepatischen Kreislauf (engl. EHC = enterohepatic (re-)circulation) zirkuliert, sehr wichtig. Zunächst wird das in der Leber gebildete MPAG durch die

Gallengangsepithelien in die Galle transportiert. Über die Galle gelangt die Substanz nun in den Intestinaltrakt. Hier wird die MPAG durch das Enzym Glukuronidase, welche von den ansässigen Bakterien gebildet wird, wieder in die aktive Form MPA konvertiert. Die MPA gelangt nun wieder in den Blutkreislauf und verursacht einen zweiten Anstieg sechs bis zwölf Stunden nach Einnahme [53].



isiert, hauptsächlich zu  
.cyl-Verbindungen sind  
einige MPA-assozierte

#### d) Elimination:

Die Elimination bzw. Exkretion von MPAG erfolgt zu 85% im Urin, der Rest wird mit dem Stuhl ausgeschieden [53].

#### e) Interaktionen mit Medikamenten:

Für MMF sind Wechselwirkungen mit anderen Medikamenten beschrieben worden (siehe Tabelle 3). Colestyramin und Antazida vermindern die Resorption von MPA, was eine supprimierte MPA-Exposition zur Folge hat. Metronidazol unterdrückt die Zirkulation im EHC infolge der Hemmung der bakteriellen Glukuronidase und bewirkt somit ebenfalls eine Suppression der MPA-Exposition. Die MPA-Exposition wird auch durch die zusätzliche Gabe von CsA verringert. Man nimmt an, dass CsA den Transport von MPAG von den Hepatozyten in die Galle hemmt und somit den EHC behindert. Die gleichzeitige Gabe von Tac und Sir hingegen hat offenbar keinen Einfluss auf die Pharmakokinetik von MMF. Für die klinische Praxis der immunsuppressiven Kombinationstherapie folgt daraus, dass die MMF-Dosen in Kombination mit Tac oder Sir geringer sein können als bei einer gleichzeitigen Therapie mit CsA [53]. Diese Tatsache wurde in einer klinischen Studie an

nierentransplantierten Patienten bestätigt, wobei sich herausstellte, dass die MMF-Tagesdosis von 1,5 Gramm in einer Kombinationstherapie mit Tac oder Sir die gleiche MPA-Exposition erreichte wie unter einer Kombinationstherapie mit CsA mit der Tagesdosis von 2 Gramm [66].

Medikament	Interaktionen bei gleichzeitiger Verabreichung
Aluminium- oder magnesiumhaltige Antazida	Rückgang der Absorption von MMF
Colestyramin	Nach Verabreichung einer Einzeldosis von 1,5 g MMF an gesunde Patienten, die 4 Tage lang mit 3 × täglich 4 g Colestyramin vorbehandelt worden waren, ging die MPA-AUC um 40% zurück
Metronidazol	Verringerung der MPA-AUC
Ciclosporin	Verschiedene Studien haben gezeigt, dass CsA die MPA-AUC um 19-38% verringert
Tacrolimus	Keine Interaktionen bekannt
Sirolimus	Keine Interaktionen bekannt
Aciclovir	Beobachtung höherer Plasmakonzentrationen von MPAG
Ganciclovir	Erhöhung der Plasmakonzentrationen von MPAG und Ganciclovir, da beide um die renale tubuläre Sekretion konkurrieren. Eine veränderte Pharmakokinetik von MPA konnte nicht nachgewiesen werden.

**Tabelle 3: Medikamenten-Interaktionen mit MMF, die in Studien beobachtet wurden [53].**

### 1.3 Fragestellung

An unserem Zentrum ist das Immunsuppressivum MMF mittlerweile ein wesentlicher Bestandteil der immunsuppressiven Basistherapie bei Patienten nach orthotoper Herztransplantation.

Es gibt mehrere Studien, die eine Korrelation zwischen der Inzidenz von akuten Abstoßungsreaktionen und der Gesamtexposition von MPA, gemessen als AUC, belegen. Diese Studien wurden mit festen Dosierungen von MMF durchgeführt [22, 29, 64, 77, 112]. Die in unserem Zentrum übliche Bestimmung der Talblutspiegel, die zwölf Stunden nach Einnahme des Medikaments durchgeführt wird, lässt im Gegensatz zur AUC-Messung nur eine begrenzte Aussage über die Gesamtexposition zu und scheint hinsichtlich der Prophylaxe akuter Abstoßungsreaktionen unterlegen zu sein.

Im Rahmen dieser Arbeit soll untersucht werden, ob Patienten, die bisher aufgrund hoher bzw. niedriger oder normaler Talblutspiegel eine niedrige bzw. hohe oder normale MMF-Dosierung erhalten, eine ausreichende MPA-Exposition aufweisen. Aus diesen Ergebnissen soll sodann ein Algorithmus berechnet werden, der es ermöglicht, anhand weniger Messungen eine Annäherung an die tatsächliche MPA-AUC zu berechnen, um in Zukunft die Behandlung herztransplantierte Patienten zu verbessern.

Für die Patienten besteht der Nutzen der Ergebnisse der AUC-Untersuchungen in der Möglichkeit einer exakteren Dosisanpassung, als dies bisher der Fall ist. Dadurch wird eine Reduzierung sowohl von akuten Abstoßungen als auch von Infektionen angestrebt.

## **2 Patienten und Methoden**

### **2.1 Allgemeines**

Bei der Studie handelte es sich um eine kontrollierte, offene prospektive Studie. Die zu untersuchenden Patienten rekrutierten sich aus den herztransplantierten Patienten, die sich in unserer regelmäßigen Nachsorge befinden. Die Mehrzahl dieser Patienten nimmt regelmäßig MMF als Basisimmunsuppressivum. Fester Bestandteil der Nachsorge sind jährlich durchzuführende Screening-Untersuchungen. Im Rahmen dieser stationären Aufenthalte wurden die Messungen durchgeführt.

Das Einverständnis zur Teilnahme an der Studie liegt von allen Patienten vor. Die Zustimmung zum Studienvorhaben wurde von der Ethikkommission erteilt.

### **2.2 Patientenauswahl**

Über einen Rekrutierungszeitraum von 18 Monaten wurden insgesamt 30 Patienten in die Studie aufgenommen. Dabei wurden ein Patient wegen fehlender Blutproben und ein weiterer wegen vertauschten Proben von der Studie ausgeschlossen.

#### a) Einschlusskriterien:

- Patienten  $\geq 18$  Jahre bei Z. n. Herztransplantation, die sich in regelmäßigen Abständen in unsere Nachsorge begeben.
- Patienten, die ihr schriftliches Einverständnis zur Studienteilnahme gegeben haben.
- Patienten, die mindestens ein Jahr nach Herztransplantation zur Routinenachsorgeuntersuchung einbestellt wurden.
- Patienten, die als zusätzliches Immunsuppressivum Tac einnehmen.

#### b) Ausschlusskriterien:

- Patienten mit signifikant erhöhten Entzündungsparametern (CRP  $> 1$ mg/dl) oder nachgewiesenen Infektionen.
- Patienten die an anderen Studien teilnehmen bzw. An Arzneimittelprüfungen teilgenommen haben, die weniger als 28 Tage mit Beginn dieser Studie zurückliegen.
- Patienten mit bestehender Diarrhö oder Erbrechen.
- Patienten, die mit Kortikosteroiden behandelt werden.
- Patienten mit fortgeschrittener Niereninsuffizienz (Glomeruläre Filtrationsrate  $< 40$ ml/min).

## 2.3 Zeitpunkt der Messungen

Im Rahmen der jährlichen Nachsorge erhielten die Patienten eine Venenverweilkanüle und eine Routineblutentnahme mit Medikamentenspiegelbestimmung. Im Rahmen der Studie wurden zu bestimmten Zeitpunkten zusätzliche Medikamentenspiegelkontrollen durchgeführt. Insgesamt wurde an zehn definierten Zeitpunkten je 2 Milliliter Probenblut entnommen, wobei die erste Probe Bestandteil der Routine nach Herztransplantation ist. Die Beobachtungsdauer betrug pro Patient zwölf Stunden.

Die Zeitpunkte der Messungen im Einzelnen:

1. Predose, unmittelbar vor Einnahme der halben Tagesdosis von MMF
2. Messung 30 Minuten nach Einnahme
3. Messung 60 Minuten nach Einnahme
4. Messung 2 Stunden nach Einnahme
5. Messung 3 Stunden nach Einnahme
6. Messung 4 Stunden nach Einnahme
7. Messung 6 Stunden nach Einnahme
8. Messung 8 Stunden nach Einnahme
9. Messung 10 Stunden nach Einnahme
10. Messung 12 Stunden nach Einnahme

## 2.4 Methodik

### 2.4.1 Methoden zur Messung der Mycophenolsäure im Plasma

Für die Bestimmung der MPA-Plasmakonzentration stehen spezifische und verlässliche HPLC-Methoden (engl. HPLC = high performance liquid chromatography) und ein homogener Immunoassay (engl. EMIT= enzyme-multiplied immunoassay technique) zur Verfügung. Zusätzlich wurde für die gleichzeitige Bestimmung der Säure und ihrer Metaboliten eine weitere spezielle Methode, ein „reversed-phase“ HPLC-Verfahren entwickelt [53]. Der automatisch durchführbare EMIT-Test verwendet einen gegen MPA gerichteten Antikörper. Seine Vorteile liegen in der einfachen Handhabung, in der täglichen Routine sowie in der schnellen Lieferung der Ergebnisse. Im Vergleich zur HPLC misst man aber mit dem EMIT-Test höhere MPA-Konzentrationen, wahrscheinlich wegen der Kreuzreaktionen mit Glukuronid-Konzentrationen oder anderen Metaboliten [9, 83, 92]. Aus diesem Grund entschieden wir uns für die HPLC zur die Bestimmung der MPA-Plasmakonzentration.

### 2.4.1.1 Grundlage chromatographischer Analysemethoden

Chromatographische Analysemethoden wie die HPLC beruhen auf der Separation von konstituierenden Einzelsubstanzen eines Untersuchungsmaterials durch unterschiedliche Adsorption an definierten Oberflächen und deren folgende spezifische Detektion. Dabei wird die flüssige oder gasförmige mobile Phase, welche die Probe aufnimmt über eine in einer Säule fixierte stationäre Phase geleitet. Je nach Intensität der Wechselwirkung zwischen Analyt, mobiler und stationärer Phase verlassen dann die Einzelstoffe der Probe die Trennsäule (Elution), wobei sich für jeden Einzelstoff eine charakteristische zeitliche Sequenz ergibt. Im Chromatogramm, in dem die Zeit auf der x-Achse gegen das Detektionssignal auf der y-Achse aufgetragen ist, ergibt jeder sauber getrennte Einzelstoff einen Peak. Um nun die Quantität eines Einzelstoffes zu messen kann man entweder die Fläche unter seinem Peak oder die Höhe des Peaks messen und diese mit Kalibrationsmethoden in Beziehung setzen. Allerdings muss vor der chromatographischen Analyse eine analytspezifische Probenvorbereitung durchgeführt werden, um interferierende Matrixbestandteile (Proteine u. a.) abzureichern und den Zielanalyten aufzureichern [105].

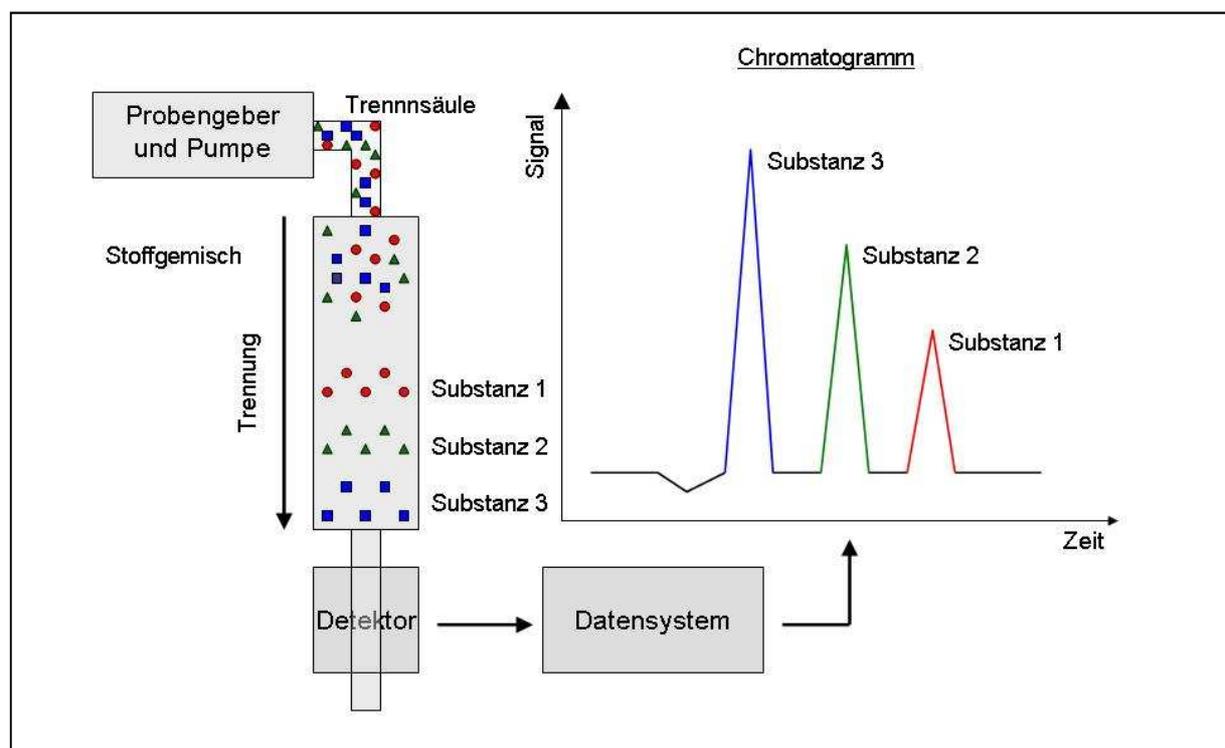


Abbildung 10: Grundprinzip der Chromatographie.

#### 2.4.1.1.1 High performance liquid chromatography (HPLC)

Bei der HPLC besteht die mobile Phase aus wässriger Pufferlösung und organischem Lösungsmittel. Die stationäre Phase wird von der Oberfläche sehr dicht gepackter Partikel in

einer Stahlkartusche gebildet (häufig Kohlenwasserstoffketten an Silica-Partikeln). Nun wird die mobile Phase mit einer Flussrate von etwa 1 Milliliter pro Minute unter hohem Druck (50 bis 150 bar) durch die gefüllten Trennsäulen-Kartuschen gepumpt. Ein Autosampler, der von einer Chromatographiesoftware gesteuert wird, steuert die Probenaufgabe, so dass mehrere Analysenläufe automatisiert ablaufen können. Dabei wird ein Teil der Probe (10 bis 100 Mikroliter) mittels eines speziellen Schaltventils im Autosampler in den Hochdruck-Flüssigkeitsstrom eingebracht und der Trennsäule zugeführt. Bei der Trennung wird der Druck des Flüssigkeitsstroms kontinuierlich abgebaut und der getrennte Stoff strömt aus der Säule um zum Detektor geleitet zu werden. Dabei eluieren lipophile Substanzen früher, da sie eine intensivere Wechselwirkung mit der stationären Phase eingehen [105].

a) Detektion:

Es gibt drei unterschiedliche Methoden zur Detektion der eluierenden Substanz:

1. UV-VIS-Detektion:

Hierbei werden unterschiedliche Stoffe anhand ihrer unterschiedlichen Absorptionsmaxima bei bestimmten Wellenlängen mit Hilfe von Transmissionsphotometern, die im ultravioletten bis in den sichtbaren Wellenlängenbereich des Lichtes arbeiten, erkannt. Die einzige Voraussetzung für die Erkennung einer Substanz ist dabei das Vorhandensein UV-aktiver Doppelbindungen.

2. Fluoreszenzdetektion:

Bei dieser Methode wird monochromatisches Licht einer bestimmten Wellenlänge in die Messzelle eingestrahlt und gegebenenfalls Licht einer unterschiedlichen, längeren Wellenlänge emittiert, welches sodann detektiert wird. Fluoreszenz kann nur bei Molekülen mit konjugierten Doppelbindungen auftreten.

3. Elektrochemische Detektion:

Grundlage der elektrochemischen Detektion ist ein spezifisches Redoxpotential des Zielanalyten. Dabei wird in der Messzelle eine Spannung angelegt. Kommt es nun zur Reduktion oder Oxidation eines Stoffes, so kann ein Strom als Messsignal abgeleitet werden.

Jedes der beschriebenen Detektionsprinzipien erfordert bestimmte molekulare Charakteristika der jeweiligen Zielanalyte, weshalb sie nicht universell einsetzbar sind. Während die Spezifität der UV-Detektion vor allem im niedrigen Wellenlängenbereich mit

typischen Nachweisgrenzen im Bereich von Milligramm/Liter relativ gering ist, haben sowohl die Fluoreszenz- als auch die elektrochemische Detektion eine hohe Empfindlichkeit im Bereich von pg/l. Allerdings muss für alle Detektionsprinzipien eine vollständige chromatographische Abtrennung der in der Probe vorkommenden endogenen und exogenen Substanzen von der jeweiligen Zielsubstanz erfolgen, da die Stoffspezifitäten erheblich begrenzt sind [105].

b) Vorbereitung der Probe:

Die Probenvorbereitung dient zur Trennung von makromolekularen matrixbestandteilen (Proteine) aus der Probe, um ein Verstopfen der HPLC-Trennsäule durch diese zu verhindern. Die einfachste Methode stellt die Proteinfällung mit organischen Lösungsmitteln oder starken Säuren dar, denen eine hochtourige Zentrifugation mit anschließendem Gewinn des klaren Überstandes folgt. Eine weitere Möglichkeit besteht in der Flüssigphasenextraktion, wobei der Probe ein organisches Lösungsmittel, das sich nicht mit der wässrigen Phase der Probe mischt, zugegeben wird. In der durch Schütteln gebildeten Emulsion sind nun lipophile Substanzen im Lösungsmittel angereichert. Als nächstes folgt die Entfernung des Lösungsmittels durch Zentrifugation, welches nun durch Evaporisierung getrocknet wird und in eine geringe Menge einer mobilen Phase aufgenommen wird. Durch die Aufkonzentrierung der Zielanalyte ist es durch diese Art der Probenvorbereitung möglich, die Empfindlichkeit der Methode zu steigern. Die weitaus am häufigsten durchgeführte Methode zur Probenvorbereitung besteht in der Festphasen-Extraktion. Das Prinzip ist eine getrennte Vorchromatographie mit Einweg-Kartuschen, wobei das biologische Material (Serum oder Urin) auf die Kartuschen aufgetragen wird. Nun binden die Zielanalyten an die stationäre Phase dieser Vorbereitungssäule und die hydrophile Matrix wird mit der wässrigen Phase ausgewaschen. Anschließend wird das Matrix-abgereicherte Extrakt mit einer geringen Menge eines Lösungsmittels der HPLC-Apparatur zugeführt. Auch bei dieser Methode können die Zielanalyten aufkonzentriert werden [105].

### 3 Statistik

Die AUC wird in der Regel durch die trapezoidale Annäherung mittels eines kompletten Datensatzes von Konzentrationsmessungen berechnet. Das Prinzip der "limited sampling strategy" (im Weiteren LSS genannt) beruht auf der Ermittlung des AUC-Wertes aus einer Teilmenge der Zeitpunkte (Kombination verschiedener Konzentrationsmessungen). Im Folgenden werden wir die Ausdrücke "gemessene AUC" und "vorhergesagte AUC" verwenden. Während die „gemessene AUC“ aus dem gesamten Datensatz (jeweils 10 Konzentrationsmessungen pro Patient) berechnet wurde, berechnete sich die „vorhergesagte AUC“ aus einer Teilmenge der Zeitpunkte (Kombination verschiedener Konzentrationsmessungen). Der komplexe Zeitverlauf von Arzneimittelkonzentrationen lässt darauf schließen, dass das „Vorhersagemodell“ pharmakokinetische Prozesse der Medikamenten-Interaktionen berücksichtigen muss, für die zumindest derzeit leider keine spezifischen und verlässlichen mathematischen Modelle existieren. Näherungsweise wird dabei ein linearisiertes Verfahren eingesetzt. Dabei bevorzugen wir die Verwendung homogener Modelle der Form  $AUC = \beta_1 c_1 + \dots + \beta_n c_n$  (ohne Konstante), weil sie den relativen Vorhersagefehler über den gesamten Messbereich gleichmäßig verteilen, während nicht-homogene Modelle dazu neigen, höhere relative Vorhersagefehler für kleinere Werte zu liefern. Die letzteren Modelle haben die Form  $AUC = X$  (Schnittpunkt, Konstante)  $+ \beta_1 c_1 + \dots + \beta_n c_n$ , wobei  $\beta_1, \dots, \beta_n$  die Regressionskoeffizienten sind,  $n$  der nominale Wert für den Zeitpunkt der Probe ist, und  $c_1, \dots, c_n$  die gemessenen Konzentrationswerte zu den Zeitpunkten 1 bis  $n$  sind. Die verschiedenen LSS-Vorhersagemodelle berechneten sich aus verschiedenen Konzentrationsmessungen zu unterschiedlichen Zeitpunkten. Zur Berechnung wurde die „Case Resampling Bootstrap Methode“ verwendet [20]. Dabei wurden aus den 28 pharmakokinetischen Profilen 1000 Zufallsstichproben (mit Zurücklegen) gezogen und die LSS-Modelle berechnet. Für jede Zufallsstichprobe wurden die linearen Regressionskoeffizienten berechnet. Die Modell-Koeffizienten wurden aus dem Mittelwert der jeweiligen Koeffizienten aus den Zufallsstichproben festgelegt. Anschließend erfolgte eine Gewichtung der Modelle nach ihrer Korrelation zwischen vorhergesagter und berechneter AUC, sowie nach statistischen Parametern wie absolute und relative Vorhersagefehler. Absolute Vorhersagefehler wurden aus der Differenz zwischen vorhergesagter AUC und berechneter AUC hergeleitet. Die relativen Vorhersagefehler wurden nach folgender Formel berechnet:

$$\text{Relativer Vorhersagefehler} = \frac{\text{vorhergesagte AUC} - \text{gemessene AUC}}{\text{gemessene AUC}}$$

Nun wurden die Ergebnisse der obigen Methode mit der einfachen linearen Regression und der Kreuzvalidierungs-Methode, wie bei Pawinski et al. [75] beschrieben, verglichen. Hierbei waren die Korrelationskoeffizienten der entsprechenden Vorhersagemodelle annähernd identisch für alle drei Modelle. Wie erwartet erwiesen sich die durchschnittlichen Vorhersagefehler, welche mit der linearen Regressionsmethode ermittelt wurden als zu optimistisch, wohingegen jedoch eine gute Übereinstimmung durch die beiden anderen Methoden erzielt werden konnte. Letztendlich wählten wir die „Case resampling bootstrap“ Methode, weil sie eine robuste und gut charakterisierte Methode darstellt, die einen effizienten Gebrauch der vorhandenen Daten ermöglicht. Darüber hinaus wurde die Übereinstimmung zwischen der „gemessenen AUC“ und „vorhergesagter AUC“ mit der Methode nach Bland und Altman überprüft [11].

## 4 Ergebnisse

Die MPA-AUC<sub>0-12h</sub> ist das beste Maß für die MPA-Exposition. Da aber die Bestimmung der MPA-AUC<sub>0-12h</sub> für die klinische Routine unpraktisch ist, sollte im Rahmen dieser Studie aus den Ergebnissen von insgesamt 28 ermittelten MPA-AUC<sub>0-12h</sub> (eine pro Patient) ein Algorithmus berechnet werden, der es ermöglicht, alternativ anhand weniger Messungen eine aussagekräftige Annäherung an die tatsächliche MPA-AUC<sub>0-12h</sub> zu erzielen.

In der Studiengruppe betrug die durchschnittliche tägliche MMF-Dosis 1750 Milligramm mit einer Variation zwischen 500 und 4000 Milligramm pro Tag. Der durchschnittliche Predose-Spiegel von MMF betrug  $2,0 \pm 1,2$  µg/ml. Die durchschnittliche Tac-Dosis variierte zwischen 2 und 8 Milligramm, im Mittel 4 Milligramm pro Tag. Der durchschnittliche Tacrolimus Predose-Spiegel betrug  $11,4 \pm 4,9$  ng/ml. Die MPA-AUC<sub>0-12h</sub> reichte von 12,2 bis 79,8 mg × h/l mit einem Durchschnittswert von  $42,0 \pm 18,3$  mg × h/l. Dabei war die AUC normal verteilt. Die Dosis-normierte AUC (an 1000 mg MMF Tagesdosis) betrug  $45,0 \pm 22,1$  mg × h/l mit einer Spanne von 8,1 – 87,9 mg × h/l.

Die Abbildung 11 zeigt eine Zusammenfassung der durchschnittlichen Konzentrationen ( $\pm$  SD) der MPA im Plasma zu den verschiedenen Zeitpunkten.

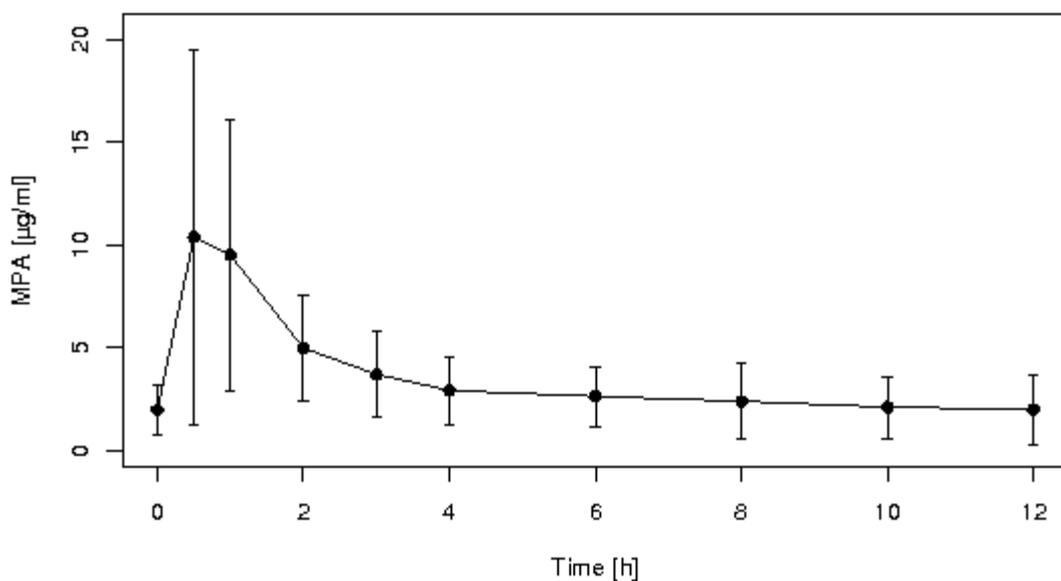


Abbildung 11: Verlauf der Konzentrationskurve von MPA mit den durchschnittlichen Konzentration  $\pm$  SD aus 28 pharmakokinetischen Profilen.

Dabei betrug die durchschnittliche „Predose“ MPA-Konzentration ( $C_{0h}$ )  $2,0 \pm 1,2$  µg/ml und die durchschnittliche „Postdose“ MPA-Konzentration ( $C_{12h}$ )  $2,0 \pm 1,7$  µg/ml. Es bestand nur eine schwache Korrelation zwischen der MPA-AUC<sub>0-12h</sub> und der „Predose“ MPA-Konzentration ( $C_{0h}$ ;  $r^2 = 0,14$ ;  $p < 0,05$ ). Allerdings korrelierte die MPA-AUC<sub>0-12h</sub> signifikant mit der „Postdose“ MPA-Konzentration ( $C_{12h}$ ;  $p < 0,01$ ;  $r^2 = 0,25$ ).

Als nächstes wurden alle errechneten pharmakokinetischen Profile gepoolt und analysiert, um die höchsten Korrelationen zwischen der MPA-AUC<sub>0-12h</sub> und den einzelnen Konzentrationen zu den verschiedenen Zeitpunkten zu finden. Dabei korrelierte C<sub>1h</sub> am stärksten mit der MPA-AUC<sub>0-12h</sub> ( $r^2 = 0,57$ ; Relativer Vorhersagefehler  $14,6 \pm 46,1\%$ ), gefolgt von C<sub>0,5h</sub> ( $r^2 = 0,56$ ; Relativer Vorhersagefehler  $28,5 \pm 43,1\%$ ; Modell 2 in Tabelle 5) und C<sub>8h</sub> ( $r^2 = 0,53$ ; Relativer Vorhersagefehler  $22,0 \pm 36,8\%$ ; Modell 3 in Tabelle 5). Des Weiteren korrelierten alle anderen MPA-Konzentrationen besser mit der MPA-AUC<sub>0-12h</sub> als C<sub>0h</sub> ( $r^2 = 0,14$ ; Relativer Vorhersagefehler  $9,7 \pm 79,1\%$ ) wie die Tabelle 4 zeigt.

Messzeitpunkte (h)	Vorhersagemodell	Relativer Vorhersagefehler $\pm$ SD	$r^2$
0	$17,59 \times C_{0h}$	$-0,097 \pm 0,791$	$0,14^*$
0.5	$3,08 \times C_{0,5h}$	$-0,285 \pm 0,431$	$0,56^*$
1	$3,74 \times C_{1h}$	$-0,146 \pm 0,461$	$0,57^*$
2	$7,61 \times C_{2h}$	$-0,060 \pm 0,395$	$0,26^*$
3	$9,65 \times C_{3h}$	$-0,105 \pm 0,515$	$0,17^*$
4	$12,75 \times C_{4h}$	$-0,105 \pm 0,399$	$0,37^*$
6	$14,48 \times C_{6h}$	$-0,092 \pm 0,380$	$0,48^*$
8	$14,55 \times C_{8h}$	$-0,220 \pm 0,368$	$0,53^*$
10	$16,31 \times C_{10h}$	$-0,189 \pm 0,486$	$0,39^*$
12	$15,60 \times C_{12h}$	$-0,273 \pm 0,445$	$0,25^*$

\*P < 0.05

\*\*P < 0.01

Tabelle 4: Durchschnittliche MPA-Plasmakonzentrationen ( $\pm$ SD) zu den verschiedenen Messzeitpunkten mit den entsprechenden Korrelationskoeffizienten ( $r^2$ ).

Die Abbildung 12 a-j zeigt die Korrelations-Diagramme der verschiedenen Einzelzeitpunkte. Im nächsten Schritt wurden alle MPA-Profile herangezogen, um LSS aus möglichen Kombinationen mit bis zu vier Messzeitpunkten zu ermitteln. Die resultierenden Modelle wurden nach der Anzahl der verwendeten Zeitpunkte, den Korrelationskoeffizienten ( $r^2$ ), und dem relativen Vorhersagefehler sortiert.

Die Tabelle 5 zeigt eine Auswahl der praktikabelsten Modelle mit bis zu vier verwendeten Zeitpunkten. Die Korrelations-Diagramme der praktikabelsten Modellen sind in der Abbildungen 13 a-j dargestellt.

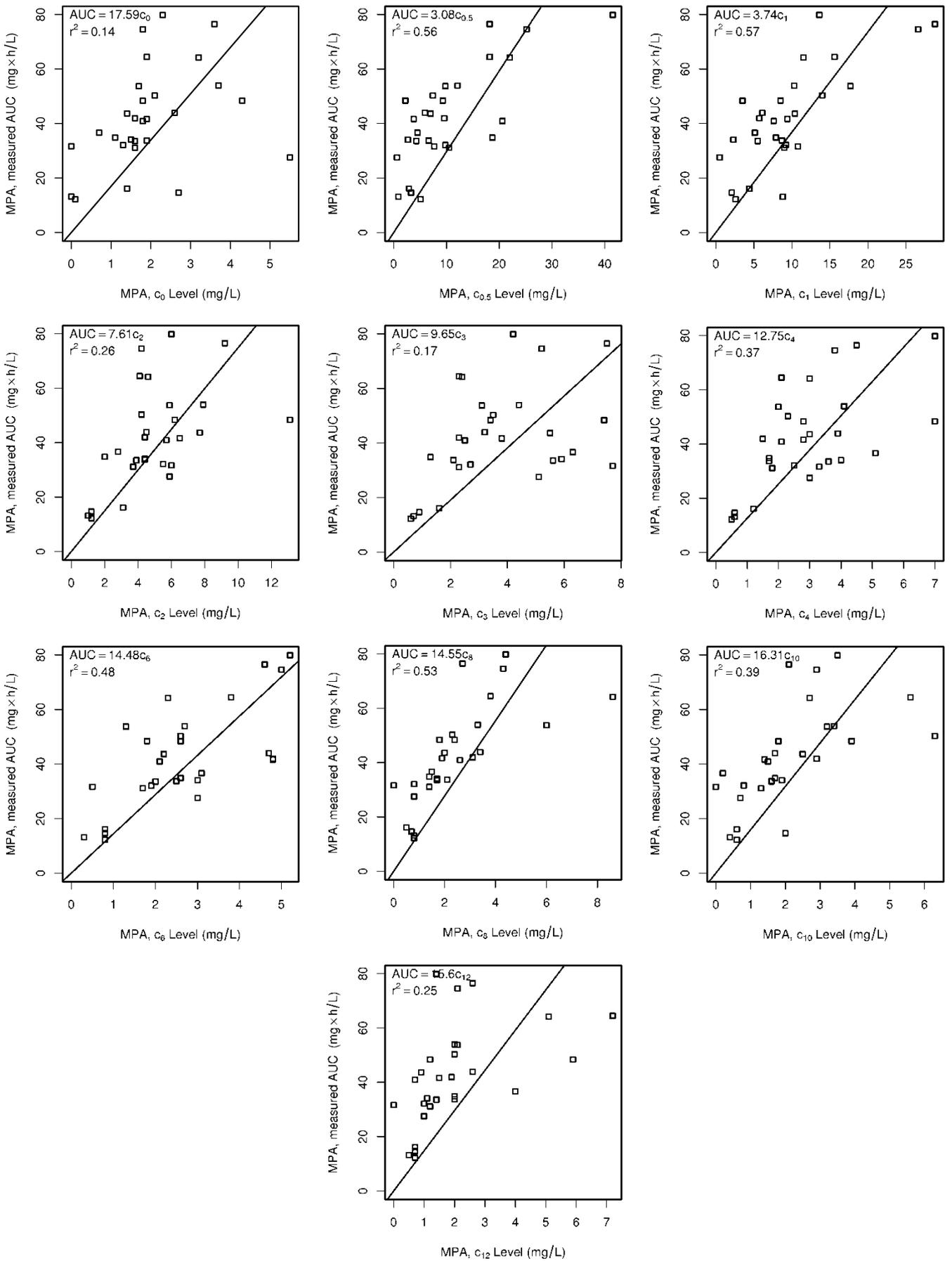


Abbildung 12 a-j: Korrelations-Diagramme und 1-Punkt-Vorhersagemodelle für die MPA-AUC.

Modell	Messzeitpunkte	Algorithmus	r <sup>2</sup>
<i>1-Punkt-Vorhersagemodelle</i>			
1	1	$3,74 \times C_{1h}$	0,57*
2	0,5	$3,08 \times C_{0,5h}$	0,56*
3	8	$14,55 \times C_{8h}$	0,53*
<i>2-Punkt-Vorhersagemodelle</i>			
4	1; 4	$2,16 \times C_{1h} + 7,00 \times C_{4h}$	0,80*
5	0,5; 2	$1,65 \times C_{0,5h} + 4,74 \times C_{2h}$	0,75*
6	0,5; 1	$1,26 \times C_{0,5h} + 2,51 \times C_{1h}$	0,71*
<i>3-Punkt-Vorhersagemodelle</i>			
7	1; 4; 8	$1,53 \times C_{1h} + 5,51 \times C_{4h} + 4,62 \times C_{8h}$	0,91*
8	0,5; 1; 2	$1,11 \times C_{0,5h} + 1,16 \times C_{1h} + 3,72 \times C_{2h}$	0,84*
9	0; 0,5; 1	$7,27 \times C_{0h} + 0,81 \times C_{0,5h} + 1,77 \times C_{1h}$	0,77*
<i>4-Punkt-Vorhersagemodelle</i>			
10	1; 4; 8; 10	$1,25 \times C_{1h} + 5,29 \times C_{4h} + 2,90 \times C_{8h} + 3,61 \times C_{10h}$	0,95*
11	1; 4; 6; 8	$1,33 \times C_{1h} + 3,99 \times C_{4h} + 3,23 \times C_{6h} + 3,81 \times C_{8h}$	0,94*
12	0; 0,5; 4	$3,37 \times C_{0h} + 0,97 \times C_{0,5h} + 1,20 \times C_{1h} + 4,58 \times C_{4h}$	0,90*
13	0; 0,5; 1; 2	$3,04 \times C_{0h} + 1 \times C_{0,5h} + 1,19 \times C_{1h} + 2,69 \times C_{2h}$	0,87*
<b>P &lt; 0,01</b>			

Tabelle 5: Auswahl der praktikabelsten Modelle mit bis zu vier verwendeten Zeitpunkten.

Wie erwartet herrscht eine allgemeine aber nicht strenge Beziehung zwischen der Anzahl der verwendeten Zeitpunkte und der Qualität des hervorgehenden Vorhersagemodells. Dabei korrelierten die MPA-Konzentrationen zu den verschiedenen Zeitpunkten stärker mit der MPA-AUC<sub>0-12h</sub> als die „Predose“ MPA-Konzentration (C<sub>0h</sub>). C<sub>1h</sub> korrelierte am stärksten mit der MPA-AUC<sub>0-12h</sub> (r<sup>2</sup> = 0,57; P < 0,001; Modell 1), gefolgt von C<sub>0,5h</sub> (r<sup>2</sup> = 0,56; P < 0,001; Modell 2), C<sub>8h</sub> (r<sup>2</sup> = 0,53; P < 0,001; Modell 3) und C<sub>6h</sub> (r<sup>2</sup> = 0,48; P < 0,001). Während das höchste erreichbare r<sup>2</sup> mit einer LSS basierend auf nur einem Zeitpunkt nur 0,57 beträgt (C<sub>1h</sub>), konnte mit zwei Zeitpunkten ein r<sup>2</sup> von 0,80 (C<sub>1h</sub> und C<sub>4h</sub>) und 0,91 mit drei (C<sub>1h</sub>, C<sub>4h</sub> und C<sub>8h</sub>) bzw. 0,96 mit vier Zeitpunkten (C<sub>1h</sub>, C<sub>4h</sub>, C<sub>8h</sub> und C<sub>10h</sub>) erreicht werden. Grundsätzlich kann die Auswahl der Messzeitpunkte einer LSS nach verschiedenen Kriterien getroffen werden. Dabei sind nicht nur die Qualität der Vorhersage wichtig, sondern ebenso andere Gesichtspunkte bezüglich der Anwendbarkeit von LSS. Daher wurde die Rangfolge der LSS nach den folgenden Kriterien aufgestellt:

1. Die Qualität des hervorgehenden Vorhersagemodells sollte so gut wie möglich sein.
2. Es ist erwünscht so wenig wie möglich Messzeitpunkte einzubeziehen.
3. Der letzte Messzeitpunkt sollte so früh wie möglich sein.

Aus diesen Gründen und Gründen der Impraktikabilität wurden Modelle mit geringer Vorhersagequalität und Modelle mit mehreren (mehr als vier) oder sehr späten Zeitpunkten nicht berücksichtigt.

Wie bereits erwähnt ist das beste 1-Punkt-Modell durch  $C_{1h}$  (Modell 1) charakterisiert, gefolgt von  $C_{0,5h}$  (Modell 2) und  $C_{8h}$  (Modell 3). Die entsprechenden Vorhersage-Modelle sind definiert durch folgende Algorithmen:  $AUC = 3,74 \times C_{1h}$  für Modell 1,  $AUC = 3,08 \times C_{0,5h}$  für Modell 2, und  $AUC = 14,55 \times C_{8h}$  für Modell 3.

Durch den Einschluss eines weiteren Probe-Zeitpunktes konnte ein  $r^2$  von 0,80 erreicht werden (Modell 4:  $C_{1h}$  und  $C_{4h}$ ; Relativer Vorhersagefehler  $1,6 \pm 25,7\%$ ). Das entsprechende Vorhersage-Modell ist definiert durch den Algorithmus:  $AUC = 2,16 \times C_{1h} + 7,00 \times C_{4h}$ . Modell 5 lieferte das beste 2-Punkt Modell, deren Abnahmezeitpunkte innerhalb der ersten zwei Stunden nach Medikamenteneinnahme lagen ( $C_{0,5h}$  und  $C_{2h}$ ;  $r^2 = 0,75$ ; Relativer Vorhersagefehler  $3,2 \pm 25,3\%$ ). Der entsprechende Algorithmus lautet:  $AUC = 1,65 \times C_{0,5h} + 4,74 \times C_{2h}$ . Wenn man nur Proben innerhalb der ersten Stunde nach Medikamenteneinnahme einschließen möchte, liefert Modell 6 die beste Annäherung für ein 2-Punkt Modell ( $C_{0,5h}$  und  $C_{1h}$ ;  $r^2 = 0,71$ ; Relativer Vorhersagefehler  $13,2 \pm 36,7\%$ ), definiert durch den Algorithmus  $AUC = 1,26 \times C_{0,5h} + 2,51 \times C_{1h}$ . Tabelle 5 und 6 zeigen ausführliche Daten über die jeweiligen Vorhersagemodelle.

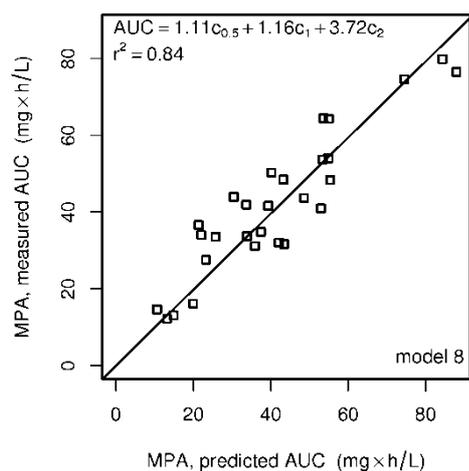
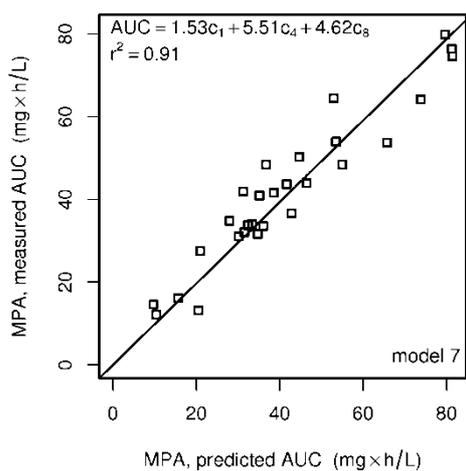
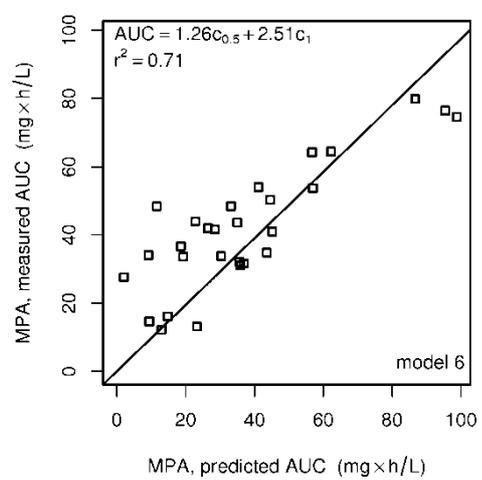
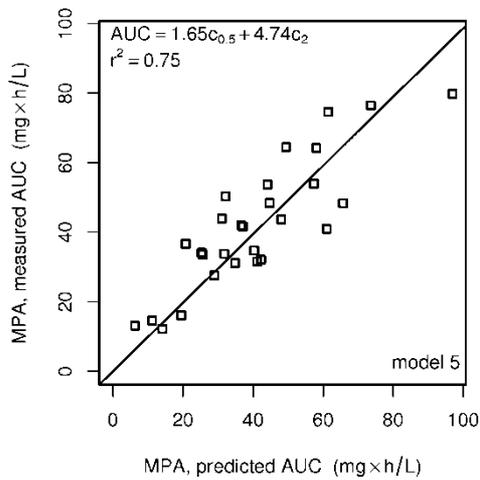
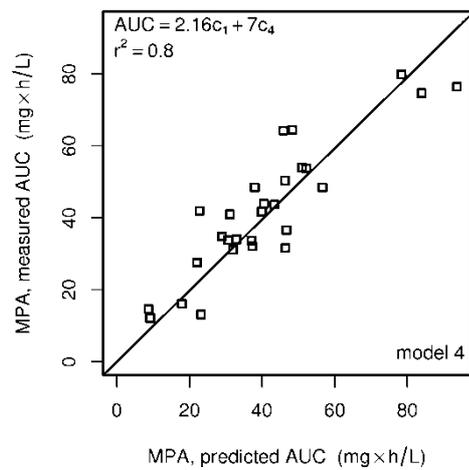
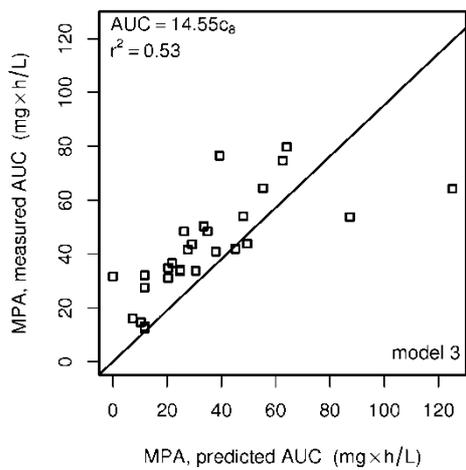
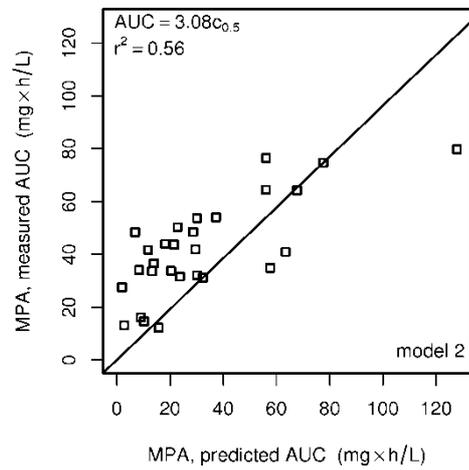
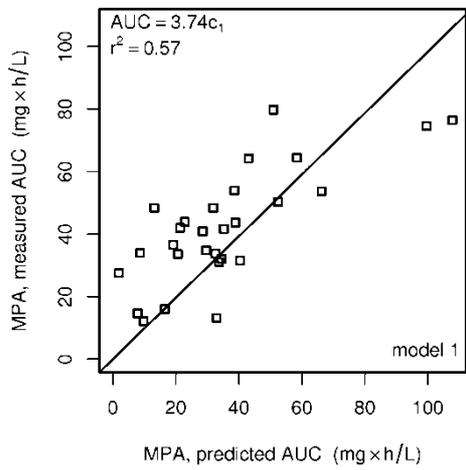
Die praktikabelste LSS mit drei Probe-Zeitpunkten war Modell 8, da die Zeitpunkte innerhalb der ersten zwei Stunden nach Medikamenteneinnahme lagen ( $C_{0,5h}$ ,  $C_{1h}$ , und  $C_{2h}$ ;  $r^2 = 0,84$ ; Relativer Vorhersagefehler  $1,7 \pm 20,8\%$ ). Die entsprechende Formel lautet:  $AUC = 1,11 \times C_{0,5h} + 1,16 \times C_{1h} + 3,72 \times C_{2h}$ . Modell 9 stellt ein ebenfalls interessantes Modell dar, da dessen Probezeitpunkte zu den Zeitpunkten 0, 30 Minuten und einer Stunde innerhalb der ersten Stunde nach der Medikamenteneinnahme lagen, womit die klinische Praktikabilität noch weiter verbessert werden könnte ( $C_{0h}$ ,  $C_{0,5h}$ , und  $C_{1h}$ ;  $r^2 = 0,77$ ; Relativer Vorhersagefehler  $1,5 \pm 35,1\%$ ; Modell 9). Das entsprechende Vorhersagemodell lautet:  $AUC = 7,27 \times C_{0h} + 0,81 \times C_{0,5h} + 1,77 \times C_{1h}$ . Die beste Abschätzung der MPA- $AUC_{0-12h}$  durch ein drei-Proben Modell lieferte jedoch Modell 7 mit einem  $r^2$  von 0,91, definiert durch Proben-Zeitpunkte nach einer Stunde, vier Stunden, und acht Stunden ( $C_{1h}$ ,  $C_{4h}$ , und  $C_{8h}$ ;  $r^2 = 0,91$ ; Relativer Vorhersagefehler  $1,7 \pm 18,0\%$ ; Modell 7). Die entsprechende Formel lautet:  $AUC = 1,53 \times C_{1h} + 5,51 \times C_{4h} + 4,62 \times C_{8h}$ . Leider ist dieses Modell wegen des späten letzten Proben-Zeitpunktes impraktikabel.

Des Weiteren fanden wir einige interessante LSS mit vier Probe-Zeitpunkten, wobei das höchste  $r^2$  das Modell 10 mit Proben nach einer, vier, acht, und zehn Stunden aufwies ( $C_{1h}$ ,  $C_{4h}$ ,  $C_{8h}$  und  $C_{10h}$ ;  $r^2 = 0,96$ ; Relativer Vorhersagefehler  $0,7 \pm 12,3\%$ ; Modell 10). Die entsprechende Formel lautet:  $AUC = 1,25 \times C_{1h} + 5,29 \times C_{4h} + 2,90 \times C_{8h} + 3,61 \times C_{10h}$ . Modell 11 lieferte das nächstbeste vier-Punkte Modell ( $C_{1h}$ ,  $C_{4h}$ ,  $C_{6h}$  und  $C_{8h}$ ;  $r^2 = 0,94$ ; Relativer Vorhersagefehler  $0,9 \pm 13,1\%$ ) mit der entsprechenden Formel:  $AUC = 1,33 \times C_{1h}$

+  $3,99 \times C_{4h} + 3,23 \times C_{6h} + 3,81 \times C_{8h}$ . Ein ebenfalls interessantes 4-Punkte Modell wurde mit Proben zum Zeitpunkt 0, nach 30 Minuten, einer und vier Stunden erreicht ( $C_{0h}$ ,  $C_{0,5h}$ ,  $C_{1h}$  und  $C_{4h}$ ;  $r^2 = 0,90$ ; Relativer Vorhersagefehler  $1,2 \pm 15,3\%$ ; Modell 12). Die zugehörige Formel lautet:  $AUC = 3,93 \times C_{0h} + 0,70 \times C_{0,5h} + 1,43 \times C_{1h} + 4,58 \times C_{4h}$ . Die praktikabelste LSS mit vier Probe-Zeitpunkten lieferte jedoch Modell 13, da die dazugehörigen Probezeitpunkte mit den Zeitpunkten 0, 30 Minuten, einer und zwei Stunden innerhalb der ersten zwei Stunden nach Medikamenteneinnahme lagen. Dabei konnte immerhin noch ein  $r^2$  von 0,87 erreicht werden ( $C_{0h}$ ,  $C_{0,5h}$ ,  $C_{1h}$  und  $C_{2h}$ ;  $r^2 = 0,87$ ; Relativer Vorhersagefehler  $0,6 \pm 18,9\%$ ). Die dazugehörige Formel zur Vorhersage der MPA- $AUC_{0-12h}$  lautet:  $AUC = 3,37 \times C_{0h} + 0,97 \times C_{0,5h} + 1,20 \times C_{1h} + 2,70 \times C_{2h}$ . Tabelle 5 zeigt ausführliche Einzelheiten der verschiedenen Modelle und Tabelle 6 gibt eine Zusammenfassung der Vorhersagefehler der verschiedenen LSS.

Modell	Messzeitpunkte (h)	n	Vorhersagefehler			
			Relativer $\pm$ SD	Im Vergleich zur Gesamt-AUC		
				>15%	$\pm$ 15%	<15%
1	1	28	-0,146 $\pm$ 0,461	5	7	15
2	0.5	28	-0,285 $\pm$ 0,431	4	5	18
3	8	28	-0,220 $\pm$ 0,368	2	7	18
4	1, 4	28	-0,016 $\pm$ 0,257	6	12	9
5	0.5, 2	28	-0,032 $\pm$ 0,253	8	10	9
6	0.5, 1	28	-0,132 $\pm$ 0,367	5	11	11
7	1, 4, 8	28	-0,017 $\pm$ 0,180	3	18	6
8	0.5,1,2	28	-0,017 $\pm$ 0,208	6	13	8
9	0, 0.5, 1	28	-0,015 $\pm$ 0,351	6	12	9
10	1, 4, 8, 10	28	-0,007 $\pm$ 0,123	2	21	4
11	1, 4, 6, 8	28	-0,009 $\pm$ 0,131	3	22	2
12	0, 0.5, 1, 4	28	0,012 $\pm$ 0,153	5	19	3
13	0, 0.5, 1, 2	28	0,006 $\pm$ 0,189	8	13	6

Tabelle 6: Vorhersagefehler für die LSS.



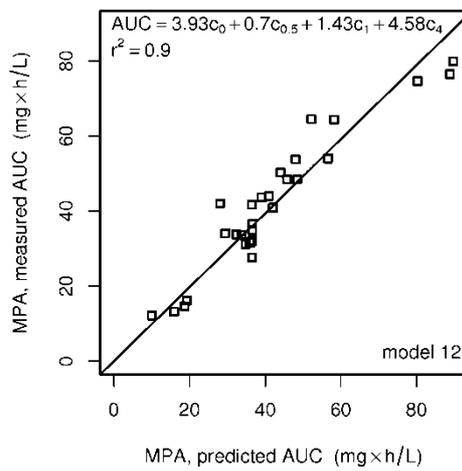
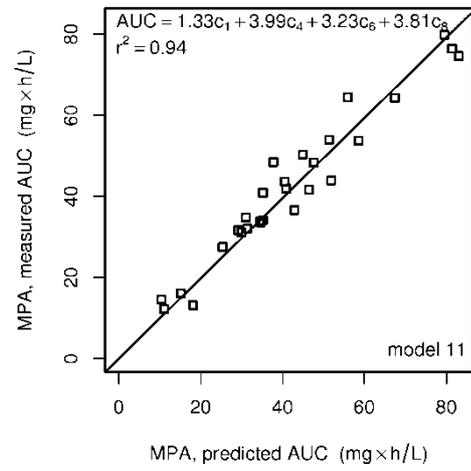
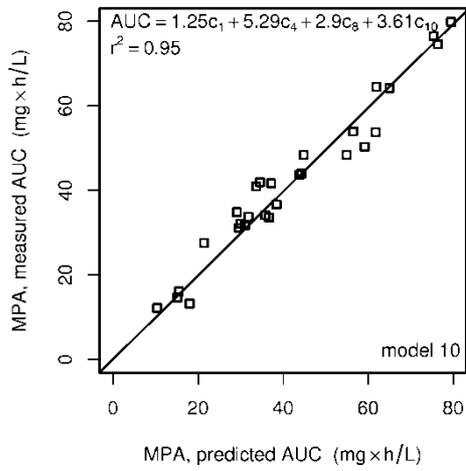
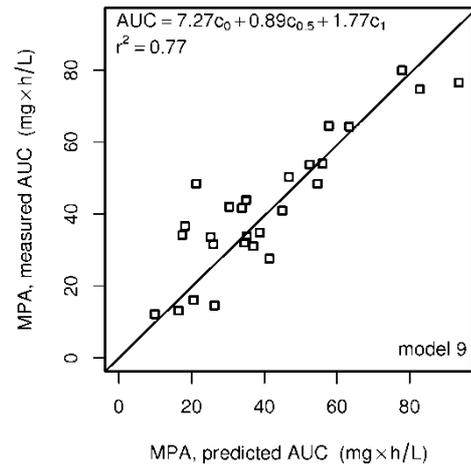
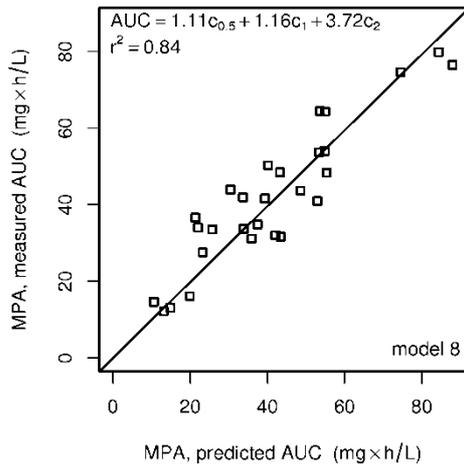


Abbildung 13 a-m: Korrelations-Analysen und LSS Vorhersagemodelle für die MPA-AUC aus 1-4 Konzentrations-Punkten.

## 5 Diskussion

### 5.1 Pharmakokinetische Eigenschaften der MPA

#### 5.1.1 Kontroverse

Wie bereits dargestellt wurden die pharmakokinetischen Eigenschaften von MMF in den großen Zulassungsstudien im Gegensatz zu den CNI-Substanzen zunächst nicht berücksichtigt, obwohl man sich bereits der Wichtigkeit einer therapeutischen Medikamenten-Überwachung für den erfolgreichen Einsatz von immunsuppressiven Medikamenten bewusst war. So verabreichte man den Studienpatienten das Medikament in fixen Dosen von zwei oder drei Gramm täglich. Der Grund für den Verzicht auf blutspiegeladaptierte Dosierungen des Medikaments waren möglicherweise das Fehlen optimaler kommerziell verfügbarer Analysemethoden oder aber auch die Tatsache, dass das regelmäßige Medikamenten-Monitoring eine Erhöhung der Behandlungskosten zur Folge hätte. In vielen Zentren ist das regelmäßige Medikamenten-Monitoring der IMPDH-hemmenden Medikamente auch heute noch keine anerkannte Routine, und auch wenn immer mehr Daten aus klinischen Studien für die therapeutische Medikamenten-Überwachung sprechen, herrscht weiterhin Unklarheit ob eine therapeutische Medikamenten-Überwachung der MPA mittels Bestimmung von Talspiegeln ( $C_{0h}$ ), der MPA- $AUC_{0-12h}$ , oder durch LSS erfolgen sollte.

Bis heute wurden viele Untersuchungen zur Pharmakokinetik der MPA an nieren-, leber-, herz-, sowie knochenmarkstransplantierten Patienten mit dem Ergebnis außerordentlich breiter intra- und interindividuellen Schwankungen der MPA-Exposition durchgeführt. Dabei wurde die MPA-Exposition entweder mittels Talblutspiegel ( $C_{0h}$ ) oder MPA- $AUC_{0-12h}$  ermittelt [12, 22, 40, 45, 64, 74, 87, 110].

#### 5.1.2 Messung der 12-Stunden-MPA-Talblutspiegel

Bei der Arzneimittel-Überwachung der MMF-Therapie transplantierten Patienten haben sich die Erfahrungen aus der ursprünglichen therapeutischen Überwachung von CsA durchgesetzt. Dabei wird der Talblutspiegel in 12-stündigen Abständen unmittelbar vor Gabe der nächsten Dosis bei zweimaliger oraler Gabe pro Tag bestimmt [53]. Bezüglich der Talblutspiegel wurde zunächst auf dem Gebiet der Nierentransplantation im Rahmen klinischer Studien ein therapeutisches Fenster zwischen 2  $\mu\text{g/ml}$  und 6  $\mu\text{g/ml}$  definiert. Innerhalb dieses Fensters traten mit einer Einstellung der MMF-Tagesdosis zwischen 500 Milligramm und vier Gramm nur selten akute Abstoßungskrisen oder schwere gastrointestinale Nebenwirkungen auf [14, 51, 52, 87]. An unserem Zentrum machten Bruno Meiser und Mitarbeiter ähnliche Erfahrungen in pharmakokinetischen Studien an herztransplantierten Patienten, die mit einer Kombinationstherapie aus MMF und Tac

behandelt wurden. Dabei konnten sie zeigen, dass bei 12-Stunden-Talspiegeln über 3 µg/ml die Inzidenz akuter Abstoßungskrisen deutlich abnahm, während bei Talblutspiegeln über 5 µg/ml das Auftreten gastrointestinaler Beschwerden zunahm [64]. Allerdings sind die bisher veröffentlichten Angaben über 12-Stunden-MPA-Talblutspiegel bei organ-transplantierten Patienten unter MMF-Behandlung mit Definition eines therapeutischen Fensters nur empirisch ermittelt worden. Leider sind sie nicht das Ergebnis von wissenschaftlich kontrollierten

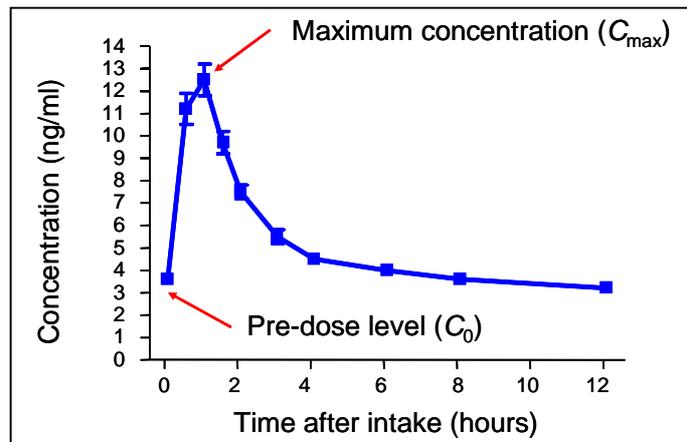


Abbildung 14: Pharmakokinetisches Profil von MMF.

pharmakokinetischen Studien und obwohl sie orientierende Hinweise für die Einstellung der MMF-Behandlung liefern, reichen sie leider nicht für eine exakte Dosierung des Medikaments im Sinne einer strikten therapeutischen Medikamenten-Überwachung aus. Dies gilt zumindest für die unmittelbare postoperative Phase, wo es gilt, eine individuelle optimale Dosierung bei der Medikamenteneinstellung zu finden. In dieser Hinsicht sind ausführliche AUC-Bestimmungen ein probateres Mittel, weil sie einen verlässlichen Aufschluss über die individuelle Medikamentenexposition geben, wie im Folgenden besprochen werden soll.

### 5.1.3 AUC-Untersuchungen

Auf dem Gebiet der Herz-, Nieren-, Leber- und Knochenmarktransplantation wurden bereits mehrere pharmakokinetische MPA-Studien mit AUC-Untersuchungen durchgeführt [71, 74, 85, 86, 89, 90, 106, 112]. Diese Studien bestätigten die große Variabilität in der Exposition des Präparates. Die Gründe für die enorme Variabilität sind beispielsweise die unterschiedliche MPA-Pharmakokinetik in der unmittelbaren und späteren postoperativen Phase, Funktionsstörungen der Leber und der Nieren, sowie Medikamenten-Interaktionen [53]. Im Jahr 2001 wurde im Rahmen einer Roundtable-Diskussion in München von Experten auf dem Gebiet der therapeutischen Arzneimittel-Überwachung empfohlen, nach einer mittleren Ziel-MPA-AUC zwischen 30 und 60 µg × h/ml zu streben. Dabei hat die MMF-AUC-Kurve über zwölf Stunden einen typischen Verlauf. Nach einer halben bis einer Stunde wird die initiale maximale Konzentration der MPA erreicht. Darauf folgt nach sechs bis acht Stunden ein zweiter „Peak“, welcher wahrscheinlich auf die Zirkulation im enterohepatischen Kreislauf zurückzuführen ist [85].

### 5.1.4 Korrelation von Talblutspiegel und AUC

Es dauerte nicht lang, bis man feststellte, dass die  $C_{0h}$ - bzw.  $C_{12h}$ -Werte kaum mit der MPA- $AUC_{0-12h}$  korrelieren [35, 72, 101, 106]. Hingegen stellten Untersuchungen der Abteilung für Transplantationschirurgie der Ludwig-Maximilians-Universität in München eine Korrelation des  $C_{6h}$ -Wertes mit der AUC bei Nierentransplantierten fest [37]. Des Weiteren fand Shaw et al. heraus, dass Werte in den ersten zwei Stunden nach Einnahme von MMF (Blutentnahme vor, 20 Minuten und zwei Stunden nach Verabreichung) eine gute Korrelation zur Gesamt-AUC aufweisen [85]. Auch

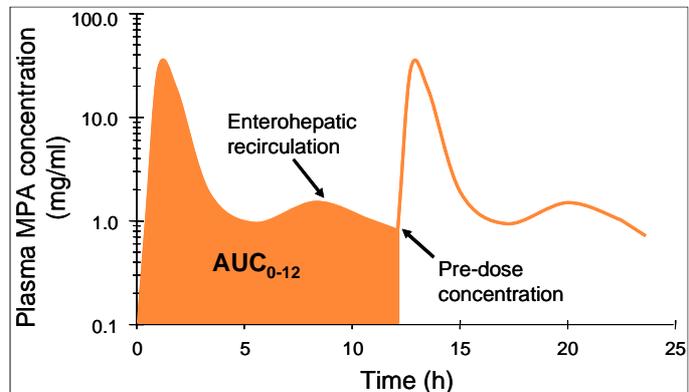


Abbildung 15: Schematische Darstellung der MPA- $AUC_{0-12h}$  von Patienten, die ein "steady state" nach oraler Verabreichung von MMF erreicht haben [2].

sind sich die Experten mittlerweile einig, dass die MPA- $AUC_{0-12h}$  am verlässlichsten das Risiko einer akuten Abstoßungskrise ( $AUC$ -Werte  $< 30 \mu\text{g} \times \text{h/ml}$ ) oder das Auftreten hämatologischer Nebenwirkungen ( $AUC$ -Werte  $> 60 \mu\text{g} \times \text{h/ml}$ ) vorhersagen können [22, 35, 72, 74, 86, 87, 101, 103, 106]. Da nur eine geringe Korrelation zwischen dem Talspiegel ( $C_{0h}$ ) und der MPA- $AUC_{0-12h}$  besteht, wurden LSS zur Abschätzung der MPA- $AUC_{0-12h}$  vielerseits untersucht, vor allem auf dem Gebiet der Nierentransplantation. Hierbei berichtete Le Meur et al., dass die therapeutische Überwachung der MPA das Risiko von Behandlungsfehlern und akuten Abstoßungen von nierentransplantierten Patienten zwölf Monate nach der Transplantation vermindern kann und dies ohne Beeinflussung des Nebenwirkungsprofils [55]. Ihr Bayes'scher Algorithmus basierte auf einer Studie an 44 nierentransplantierten Patienten, deren immunsuppressive Therapie aus MMF und CsA mit oder ohne Steroiden bestand [81]. In der Herztransplantation jedoch ist die Erfahrung mit LSS begrenzt, vor allem wenn MMF mit Tac kombiniert wird.

Gegenwärtig werden in unserer Klinik Dosis-Anpassungen von MMF anhand der Bestimmung der Talblutspiegel ( $C_{0h}$ ) und der Nebenwirkungen durchgeführt. Es existieren keine Richtlinien und Empfehlungen, deshalb reduzieren wir das immunsuppressive Medikament mit den gravierenderen unerwünschten Langzeitnebenwirkungen, in unserem Fall Tac. Eine vorrangegangene Untersuchung unserer Gruppe hinsichtlich verschiedener immunsuppressiver Kombinationstherapien zeigte vorteilhafte Langzeiteffekte von MMF auf die Entwicklung bzw. Verhinderung der TVP [41]. Deshalb halten wir MMF auch als Erhaltungsdosis in dem empfohlenen Bereich. Die Analyse unserer Studiengruppe zeigte eine durchschnittliche MPA- $AUC_{0-12h}$  von  $42 \mu\text{g} \times \text{h/ml}$ , welche erstaunlicherweise gut im

empfohlenen Zielbereich für das erste Jahr nach Herztransplantation von 30 - 60  $\mu\text{g} \times \text{h/ml}$  liegt. Das Ergebnis steht für eine allgemein gute durchschnittliche MPA-Exposition, wenn man die Talblutspiegel ( $C_{0h}$ ) für die therapeutische Arzneimittelüberwachung heranzieht. Man sollte jedoch ebenfalls bedenken, dass die  $\text{MPA-AUC}_{0-12h}$  in der Studiengruppe zwischen 12,2 und 79,8  $\mu\text{g} \times \text{h/ml}$  variierte. Dies bedeutet, dass es sowohl Patienten mit einer zu hohen als auch Patienten mit einer zu niedrigen MPA-Exposition gibt, wenn man die Talblutspiegel als Instrument der Dosisanpassung von MMF verwendet. Deshalb sind wir der Meinung, dass die Individualisierung der Immunsuppression mit Hilfe von LSS dringend notwendig ist.

Das erste Ziel der Studie bestand darin, MPA-Talblutspiegel zum Zeitpunkt Null ( $C_{0h}$ ) mit den Konzentrationen innerhalb der ersten 12 Stunden nach Medikamentengabe ( $C_{0,5h} - C_{12h}$ ) bei Langzeit-Herztransplantierten (> 1 Jahr nach Transplantation) unter der Langzeittherapie mit MMF und Tac zu vergleichen. Bei der Untersuchung entschieden wir uns für Langzeit-Herztransplantierte, weil in der Frühphase nach Herztransplantation die Verwendung von Steroiden, prophylaktischer Antibiosen und multiple Medikamentenänderungen mit der Pharmakokinetik von MMF zu interagieren vermag.

Als wir die MPA-Plasmakonzentration zum Zeitpunkt Null ( $C_{0h}$ ), also vor der Medikamenteneinnahme, mit MPA-Plasmakonzentrationen nach 30 Minuten, eins, zwei, drei, vier, sechs, acht, zehn, und zwölf Stunden ( $C_{0,5-12h}$ ) verglichen, fanden wir heraus, dass jede MPA-Konzentration, die nach der Medikamenteneinnahme gemessen wurde, einen besseren Vorhersagewert für die  $\text{MPA-AUC}_{0-12h}$  hatte als  $C_{0h}$ . Den optimalsten Zeitpunkt lieferte  $C_{1h}$ , gefolgt von  $C_{0,5h}$  und  $C_{8h}$ . Die Tabelle 4 zeigt ausführliche Einzelheiten. Dieses Ergebnis stimmt zum Teil mit den Beobachtungen von Mardigyan et al. überein. Sie konnten zeigen, dass bei Langzeit-Herztransplantierten, deren Immunsuppression aus MMF und Tac bestand, vor allem die Plasmakonzentrationen  $C_{2h}$ ,  $C_{4h}$ ,  $C_{6h}$ , und  $C_{8h}$  besser mit der  $\text{MPA-AUC}_{0-12h}$  korrelierten als  $C_{0h}$  [61]. Allerdings lieferte hier  $C_{8h}$  die beste Korrelation mit der  $\text{MPA-AUC}_{0-12h}$ . Baraldo et al. konnte zeigen, dass bei herztransplantierten Patienten, die mit MMF, CsA und Prednison behandelt wurden, alle gemessenen MPA-Plasmakonzentrationen ( $C_{0,5h}$ ,  $C_{1,25h}$ ,  $C_{2h}$ ,  $C_{4h}$ ,  $C_{6h}$ , und  $C_{8h}$ ) außer  $C_{12h}$  die  $\text{MPA-AUC}_{0-12h}$  besser vorhersagen konnten als  $C_{0h}$  [7]. In dieser Studie zeigte  $C_{2h}$  die beste Korrelation mit der  $\text{MPA-AUC}_{0-12h}$ . Bei nierentransplantierten Kindern, deren immunsuppressives Therapieschema aus MMF und entweder CsA oder Tac bestand, fanden Filler et al. heraus, dass  $C_{1,5h}$ ,  $C_{2h}$ ,  $C_{3h}$ , und  $C_{6h}$  am besten mit der  $\text{MPA-AUC}_{0-12h}$  korrelierten. Weiterhin hatte  $C_{12h}$  einen besseren Vorhersagewert für die  $\text{MPA-AUC}_{0-12h}$  als  $C_{0h}$  und  $C_{2h}$ . Hier zeigte  $C_{12h}$  die beste Korrelation mit der  $\text{MPA-AUC}_{0-12h}$  [27]. Im Gegensatz dazu fand Pawinski et al. heraus, dass bei erwachsenen nierentransplantierten Patienten, die mit MMF und Tac behandelt wurden,  $C_{0h}$  besser mit der  $\text{MPA-AUC}_{0-12h}$  korrelierte, als  $C_{0,5h}$ ,  $C_{1h}$ ,  $C_{2h}$ ,  $C_{3h}$ , oder  $C_{4h}$ . Hierbei stellten nur

$C_{6h}$ ,  $C_{8h}$ ,  $C_{9h}$ ,  $C_{10h}$ ,  $C_{11h}$ , und  $C_{12h}$  bessere Vertreter für die  $MPA-AUC_{0-12h}$  dar, als  $C_{0h}$ . In dieser Studie erwies sich  $C_{8h}$  als optimalster Zeitpunkt [75]. Eine weitere Studie an nierentransplantierten Kindern mit der Kombinationstherapie aus MMF, CsA und Prednison, zeigte dass nur  $C_{0,5h}$  und  $C_{12h}$  schlechter als  $C_{0h}$  mit der  $MPA-AUC_{0-12h}$  korrelierten. Aber auch hier zeigte  $C_{8h}$  die höchste Korrelation mit der  $MPA-AUC_{0-12h}$  [109]. Bei erwachsenen lebertransplantierten Patienten unter MMF- und Tac-Therapie fanden Mardigyan et al. heraus, dass alle einzelnen MPA-Plasmakonzentrationen außer  $C_{0,5h}$  eine höhere Korrelation mit der  $MPA-AUC_{0-12h}$  aufwiesen. Auch hier korrelierte  $C_{8h}$  am besten mit der  $MPA-AUC_{0-12h}$  [61]. Möglicherweise ist die außergewöhnlich oft festgestellte hohe Korrelation von  $C_{8h}$  mit der  $MPA-AUC_{0-12h}$  auf den zweiten Peak im Verlauf der MPA-Plasmakonzentrationskurve als Zeichen des enterohepatischen Kreislaufes zurückzuführen. Diese Beobachtung könnte eine wichtige Rolle bei der Konzipierung von LSS spielen.

Es herrscht eine Diskrepanz zwischen all den aufgeführten Beobachtungen, welche möglicherweise folgenden Tatsachen zuzuschreiben sind:

1. Die erheblichen inter- und intraindividuellen Schwankungen der pharmakokinetischen Eigenschaften transplantierte Patienten und
2. Die Beeinflussung pharmakokinetischer Eigenschaften von MMF durch vielerlei Faktoren wie z. B. das transplantierte Organ, das Alter des Patienten, die vergangene Zeit nach der Transplantation, die verwendete Analyseverfahren, und natürlich das immunsuppressive Kombinationspräparat.

Beispielsweise konnten Filler und Kollegen an nierentransplantierten Kindern zeigen, dass die zusätzliche Verabreichung von CsA zu MMF die  $MPA-AUC_{0-12h}$  außerordentlich beeinflusste [27]. Diese Beobachtung könnte man der beschriebenen Beeinflussung der Pharmakokinetik von MMF durch CsA mittels Hemmung der biliären Exkretion von MPAG und der enterohepatischen Rezirkulation der MPA zuschreiben [75, 109]. Erwähnenswert ist der Versuch von Weber et al. den berechneten Algorithmus von Filler et al. bei nierentransplantierten Kindern, die mit MMF und Tac behandelt wurden, an die Daten aus der trikontinentalen MMF-Studie anzuwenden. [103]. Dabei wurde eine Abschwächung des Korrelationskoeffizienten beobachtet ( $r^2 = 0,32$ ; früher  $r^2 = 0,90$ ) [109]. Diese Abschwächung ist am ehesten auf die Verwendung von Tac statt CsA als Begleitmedikation zuzuschreiben [76, 85]. Es ist ebenfalls unklar, ob Beobachtungen und Erkenntnisse aus kürzlich nieren- oder herztransplantierten Patienten auf länger transplantierte Patienten übertragen werden können [48].

Ein weiterer beobachteter Trend besteht in der besseren Vorhersagekraft von  $C_{12h}$  gegenüber  $C_{0h}$  für die  $MPA-AUC_{0-12h}$ . Eigentlich sollte man erwarten, dass es keinen Unterschied bezüglich der Vorhersagekraft von  $C_{0h}$  und  $C_{12h}$  für die  $MPA-AUC_{0-12h}$  gäbe, da

in der klinischen Routine  $C_{0h}$  definiert wird als die Probe, welche zwölf Stunden nach der Einnahme der letzten Medikamentendosis bestimmt wurde. Da in dieser Studie  $C_{12h}$  ebenfalls zwölf Stunden nach Einnahme der Frühdosis bestimmt wurde, ist es umso erstaunlicher, dass die Werte für beide Parameter deutliche Unterschiede aufweisen. Die Antwort liegt darin, dass es in dieser Studie zwar standardisierte Bedingungen für  $C_{12h}$  herrschten, aber nicht für  $C_{0h}$ , da wir nicht versichern konnten, dass  $C_{0h}$  wegen Gründen der Compliance auch wirklich zwölf Stunden nach der Einnahme der Abenddosis gemessen wurde. Es gab für die Patienten keine strenge Anordnung, die nächtliche Dosis exakt zwölf Stunden nach der Morgendosis einzunehmen und Patienten eher dazu neigen die nächtliche Dosis nach dem Abendessen einzunehmen. Für  $C_{12h}$  allerdings herrschten standardisierte Bedingungen in der Studie. Unserer Meinung nach betont dieser Aspekt die Tatsache, dass  $C_{0h}$  trotz seiner klinischen Praktikabilität nicht für die therapeutische Arzneimittelüberwachung von MPA geeignet ist. Andererseits ist die konzentrationsabhängige Dosierung von MMF auf der Grundlage der therapeutischen Arzneimittelüberwachung der MPA durch die Messung der  $MPA-AUC_{0-12h}$ , welche die präziseste Beurteilung der MPA-Exposition darstellt, sehr aufwendig und teuer, und daher für die klinische Routine nur wenig geeignet. Unter Berücksichtigung dieser Punkte erscheint die Anwendung von LSS für die Klinik als eine praktikable Annäherung mit ausreichender Genauigkeit zur Abschätzung der  $MPA-AUC_{0-12h}$ .

In diesem Sinne stellte die Entwicklung von LSS mit einer besseren Vorhersagekraft als  $C_{0h}$  für die  $MPA-AUC_{0-12h}$  ein weiteres Ziel dieser Studie dar. Für jede LSS stellten wir einen Algorithmus zur Berechnung der  $MPA-AUC_{0-12h}$  auf (siehe Tabellen 4 und 5).

Wie bereits im Ergebnis-Teil erörtert, liefert das Modell 1 mit  $C_{1h}$  das beste 1-Punkt-Modell, gefolgt von  $C_{0,5h}$  und  $C_{8h}$ .

Durch den Einschluss eines weiteren Probe-Zeitpunktes konnte ein  $r^2$  von 0,80 erreicht werden (Modell 4:  $C_{1h}$  und  $C_{4h}$ ). Modell 5 lieferte das beste 2-Punkt Modell, deren Abnahmezeitpunkte innerhalb der ersten zwei Stunden nach Medikamenteneinnahme lagen ( $C_{0,5h}$  und  $C_{2h}$ ). Wenn man nur Proben innerhalb der ersten Stunde nach Medikamenteneinnahme einschließen möchte, liefert Modell 6 die beste Annäherung für ein 2-Punkt Modell ( $C_{0,5h}$  und  $C_{1h}$ ).

Die beste Abschätzung der  $MPA-AUC_{0-12h}$  durch ein 3-Punkte-Modell lieferte jedoch Modell 7, definiert durch Proben-Zeitpunkte nach einer Stunde, vier und acht Stunden ( $C_{1h}$ ,  $C_{4h}$ ,  $C_{8h}$ ). Unserer Ansicht nach ist dieses Modell allen anderen überlegen, weil der Einschluss von  $C_{8h}$  den zweiten Peak des pharmakokinetischen Profils der MPA als Ausdruck des enterohepatischen Kreislaufs verkörpert. Die praktikabelste LSS mit drei Probe-Zeitpunkten war Modell 8, da die Zeitpunkte innerhalb der ersten zwei Stunden nach

Medikamenteneinnahme lagen ( $C_{0,5h}$ ,  $C_{1h}$ , und  $C_{2h}$ ). Die Tabellen 4 und 5 zeigen ausführliche Daten über die jeweiligen Vorhersagemodelle.

Trotz unserer Bemühungen zur Optimierung der klinischen Einsetzbarkeit durch Minimierung der Anzahl der Proben-Zeitpunkte, sowie der Minimierung der Periode nach Medikamenteneinnahme, fanden wir einige interessante LSS mit vier Probe-Zeitpunkten. Obwohl das Modell 10 ( $C_{1h}$ ,  $C_{4h}$ ,  $C_{8h}$ , und  $C_{10h}$ ) am besten mit der  $MPA-AUC_{0-12h}$  korrelierte, ist es umständlich im klinischen Alltag weil der letzte Abnahmezeitpunkt zehn Stunden nach der Medikamenteneinnahme sehr spät erfolgt und somit für ambulante Patienten nicht geeignet ist. Auch hier begründet sich in unseren Augen die Überlegenheit der Modelle 10 und 11 durch den Einschluss später Probenzeitpunkte ( $C_{8h}$  und  $C_{10h}$ ), welche den zweiten Peak des pharmakokinetischen Profils der MPA als Ausdruck des enterohepatischen Kreislaufs verkörpern. Einige Autoren haben die Bedeutung von  $C_{6h}$  für LSS untersucht. Hier konnten Willis et al. zeigen, dass ein 4-Punkt Modell mit Probezeitpunkten nach 0, 1, 3, und 6 Stunden ein  $r^2$  von 0.84 erzielen konnte, während ein 5-Punkte Modell, dessen Probezeitpunkte innerhalb der ersten zwei Stunden nach Medikamenteneinnahme lagen, nur ein  $r^2$  von 0., 3 erzielte [111].

Die praktikabelste LSS mit vier Probe-Zeitpunkten lieferte jedoch Modell 13, da die dazugehörigen Probezeitpunkte mit den Zeitpunkten 0, 30 Minuten, einer und zwei Stunden innerhalb der ersten zwei Stunden nach Medikamenteneinnahme lagen, wobei noch ein  $r^2$  von 0,87 erreicht werden konnte ( $C_{0h}$ ,  $C_{0,5h}$ ,  $C_{1h}$  und  $C_{2h}$ ;  $r^2 = 0,87$ ). Tabelle 5 zeigt ausführliche Einzelheiten der verschiedenen Modelle und Tabelle 6 gibt eine Zusammenfassung der Vorhersagefehler der verschiedenen LSS.

## 6 Zusammenfassung und Ausblick

An unserem Herztransplantationszentrum ist das Immunsuppressivum MMF mittlerweile ein wesentlicher Bestandteil der immunsuppressiven Basistherapie bei Patienten nach Herztransplantation. Dabei hat sich die Bestimmung der Talblutspiegel der aktiven Wirksubstanz MPA als Monitoring-Verfahren etabliert. Allerdings belegen sowohl Hinweise aus der Literatur als auch eigene Erfahrungen, dass die Talblutspiegel-Bestimmung starke interindividuelle Schwankungen aufweist. So scheint es Patienten mit schneller und mit verzögerter Verstoffwechslung des Präparates zu geben. Des Weiteren existieren mehrere Studien, die eine Korrelation zwischen der Inzidenz von akuten Abstoßungsreaktionen und der Gesamtexposition von MMF belegen.

Um den Bedarf von MMF exakt und individuell zu bestimmen, empfiehlt es sich, die Verstoffwechslung von MMF in mehreren aufeinander folgenden Spiegelmessungen zu bestimmen. Hieraus kann dann die Exposition des Patienten anhand eines Integrals, der AUC errechnet werden.

Da die in unserem Zentrum übliche Talblutspiegel-Bestimmung im Gegensatz zur AUC-Messung nur eine begrenzte Aussage über die Gesamtexposition zulässt, scheint die Talblutspiegel-Bestimmung hinsichtlich der Prophylaxe akuter Abstoßungen unterlegen zu sein.

Diese Arbeit beschäftigte sich mit der Pharmakokinetik von MMF nach primärer orthotoper Herztransplantation mit Tac als Begleitimmunsuppressivum. Es sollte untersucht werden, ob Patienten, die bisher aufgrund hoher bzw. niedriger oder normaler Talblutspiegel eine niedrige bzw. hohe oder normale MMF-Dosierung erhielten, eine ausreichende MMF-Exposition aufwiesen. Aus den Ergebnissen sollten Algorithmen berechnet werden, die es ermöglichen, anhand weniger Messungen eine Annäherung an die tatsächliche MMF-AUC zu berechnen. Das Ziel bestand in der Verbesserung der immunsuppressiven Behandlung herztransplantierten Patienten in Form von exakteren Dosisanpassungen, als dies bisher der Fall ist. Unser längerfristiges Ziel ist eine Reduzierung sowohl von akuten Abstoßungen als auch von Infektionen.

Die Studie konnte bei Langzeit-Herztransplantierten zeigen, dass die  $MPA-AUC_{0-12h}$  besser durch Plasmakonzentrationen, die nach der Medikamenteneinnahme bestimmt wurden, vorhergesagt werden konnte, als mit der Bestimmung der Talblutspiegels. Es wurden LSS aus bis zu vier Zeitpunkten evaluiert, um die  $MPA-AUC_{0-12h}$  vorherzusagen. Betrachtet man die einzelnen Zeitpunkte, so stellt  $C_{1h}$  den genauesten Prädiktor für die  $MPA-AUC_{0-12h}$  dar.

Der Einsatz der Algorithmen zur Abschätzung der  $MPA-AUC_{0-12h}$ , die hauptsächlich auf LSS beruhen, und deren Zeitpunkte innerhalb der ersten zwei Stunden liegen, könnten dazu beitragen, die medikamentöse Therapie mit MMF mittels Individualisierung der Dosierung zu optimieren. Als praktikabelste LSS für die klinische Routine erwies sich das Modell 8, weil

einerseits die entsprechenden Proben-Zeitpunkte innerhalb der ersten zwei Stunden nach Medikamenteneinnahme liegen ( $C_{0,5h}$ ,  $C_{1h}$ , und  $C_{2h}$ ) und andererseits  $C_{0h}$ , welches sich als unzuverlässig erwiesen hat, ausschließt. Der zugehörige Algorithmus lautet:  $AUC = 1,11 \times C_{0,5h} + 1,16 \times C_{1h} + 3,72 \times C_{2h}$  mit einem  $r^2$  von 0,84. Nicht unwichtig ist auch die Tatsache, dass sich dieses Modell besonders im ambulanten Bereich wegen der frühen Zeitpunkte eignet.

Auch wenn in der internationalen Transplantationsgemeinschaft das letzte Wort noch nicht gesprochen ist, scheint der unschätzbare Wert der therapeutischen Arzneimittel-Überwachung zur Optimierung der MMF-vermittelten Immunsuppression auf der Hand zu liegen. Um die Transplantationsmediziner aber endgültig überzeugen zu können, und um die theoretisch mögliche Verbesserung der Behandlung mit diesem nebenwirkungsarmen Medikament genauer zu definieren, sind wohl noch weitere groß angelegte Studien mit großen Patientenzahlen notwendig.

## 7 Literaturverzeichnis

1. Allison AC, Almqvist SJ, Muller CD, Eugui EM. In vitro immunosuppressive effects of mycophenolic acid and an ester pro-drug, RS-61443. *Transplant Proc.* 1991; 23 (2 Suppl 2): 10-4.
2. Allison AC, Eugui EM. Immunosuppressive and other effects of mycophenolic acid and an ester prodrug, mycophenolate mofetil. *Immunol Rev.* 1993; 136: 5-28.
3. Allison AC, Eugui EM. Mycophenolate mofetil and its mechanisms of action. *Immunopharmacology.* 2000; 47 (2-3): 85-118.
4. Allison AC, Eugui EM. Mycophenolate mofetil, a rationally designed immunosuppressive drug. *Clin Transplant.* 1993; 7: 96-112.
5. Allison AC, Eugui EM. Preferential suppression of lymphocyte proliferation by mycophenolic acid and predicted long-term effects of mycophenolate mofetil in transplantation. *Transplant Proc.* 1994; 26 (6): 3205-10.
6. Allison AC, Eugui EM. Purine metabolism and immunosuppressive effects of mycophenolate mofetil (MMF). *Clin Transplant.* 1996; 10: 77-84.
7. Baraldo M, Isola M, Feruglio MT, Francesconi A, Franceschi L, Tursi V, Livi U, Furlanut M. Therapeutic mycophenolic acid monitoring by means of limited sampling strategy in orthotopic heart transplant patients. *Transplant Proc.* 2005; 37 (5): 2240-3.
8. Barnard CN. The operation. A human cardiac transplant: an interim report of a successful operation performed at Groote Schuur Hospital, Cape Town. *S Afr Med J.* 1967; 41 (48): 1271-4.
9. Beal JL, Jones CE, Taylor PJ, Tett SE. Evaluation of an immunoassay (EMIT) for mycophenolic acid in plasma from renal transplant recipients compared with a high-performance liquid chromatography assay. *Ther Drug Monit.* 1998; 20 (6): 685-90.
10. Behrend M. Adverse gastrointestinal effects of mycophenolate mofetil: aetiology, incidence and management. *Drug Saf.* 2001; 24 (9): 645-63.
11. Bland M, Altman DG. Statistical methods for assessing agreement between two methods of clinical measurement. *Lancet.* 1986; 1: 307-10.
12. Bornhäuser M, Schuler U, Pörksen G, Naumann R, Geissler G, Thiede C, Schwerdtfeger R, Ehninger G, Thiede HM. Mycophenolate mofetil and cyclosporine as graft-versus-host disease prophylaxis after allogeneic blood stem cell transplantation. *Transplantation.* 1999; 67 (4): 499-504.

13. Bullingham RE, Monroe S, Nicholls A, Hale M. Pharmacokinetics and bioavailability of mycophenolate mofetil in healthy subjects after single-dose oral and intravenous administration. *J Clin Pharmacol.* 1996; 36 (4): 315-24.
14. Bullingham RE, Nicholls AJ, Kamm BR. Clinical pharmacokinetics of mycophenolate mofetil. *Clin Pharmacokinet.* 1998; 34 (6): 429-55.
15. Cabrol C, Facquet J, Guiraudon G, Fabre JC, Cabrol A, Luciani J, Cappe MH, Berges JP, Dahan P, Milhaud A, Schwarzenberg L, Amiel JL, Jacobs C. Human cardiac transplantation. *Arch Mal Coeur Vaiss.* 1969; 62 (6): 829-37.
16. Calne RY. The rejection of renal homografts: Inhibition in dogs by 6-Mercaptopurine. *Nature.* 1959; 183: 1682-3.
17. Carrel A, Guthrie CC. The transplantation of veins and organs. *Am Med.* 1905; 10: 1101-2.
18. Cass MH, Brock R. Heart excision and replacement. *Guys Hosp Rep.* 1959; 108: 285-90.
19. Cohn RG, Mirkovich A, Dunlap B, Burton P, Chiu SH, Eugui E, Caulfield JP. Mycophenolic acid increases apoptosis, lysosomes and lipid droplets in human lymphoid and monocytic cell lines. *Transplantation.* 1999; 68 (3): 411-8.
20. Davison AC, Hinkley DV. Bootstrap methods and their application. Cambridge University Press. 1997.
21. Deierhoi MH, Sollinger HW, Diethelm AG, Belzer FO, Kauffman RS. One-year follow-up results of a phase I trial of mycophenolate mofetil (RS61443) in cadaveric renal transplantation. *Transplant Proc.* 1993; 25: 693-4.
22. DeNofrio D, Loh E, Kao A, Korecka M, Pickering FW, Craig KA, Shaw LM. Mycophenolic acid concentrations are associated with cardiac allograft rejection. *J Heart Lung Transplant.* 2000; 19 (11): 1071-6.
23. Elion GB, Hitchings GH. *The Chemistry and Biology of Purines.* Boston: Little, Brown and Co. 1957.
24. Elion GB. The purine path to chemotherapy. *Science.* 1989; 244 (4900): 41-7.
25. Eugui EM, Almquist SJ, Muller CD, Allison AC. Lymphocyte-selective cytostatic and immunosuppressive effects of mycophenolic acid in vitro: role of deoxyguanosine nucleotide depletion. *Scand J Immunol.* 1991; 33 (2): 161-73.

26. European Mycophenolate Mofetil Cooperative Study Group. Placebo-controlled study of mycophenolate mofetil combined with cyclosporine and corticosteroids for prevention of acute rejection. *Lancet*. 1995; 345 (8961): 1321-5.
27. Filler G, Mai I. Limited sampling strategy for mycophenolic acid area under the curve. *Ther Drug Monit*. 2000; 22 (2): 169-73.
28. Franklin TJ, Cook JM. The inhibition of nucleic acid synthesis by mycophenolic acid. *Biochem J*. 1969; 113(3): 515-24.
29. Gajarski RJ, Crowley DC, Zamberlan MC, Lake KD. Lack of correlation between MMF dose and MPA level in pediatric and young adult cardiac transplant patients: does the MPA level matter? *Am J Transplant*. 2004; 4 (9): 1495-500.
30. Garcia RC, Leoni P, Allison AC. Control of phosphoribosylpyrophosphate synthesis in human lymphocytes. *Biochem Biophys Res Commun*. 1977; 77 (3): 1067-73.
31. Goldberg M, Berman EF, Akman LC. Homologous transplantation of the canine heart. *J Int Coll Surg*. 1958; 30: 565-86.
32. Gosio B. Recherche batteriologiche e chimiche sulle alterazioni di Mais. *Riv D'Igiene Sanita Pub Ann*. 1896; 7: 825-68.
33. Gregory CR, Pratt RE, Huie P, Shorthouse R, Dzau VJ, Billingham ME, Morris RE. Effects of treatment with cyclosporine, FK 506, rapamycin, mycophenolic acid, or deoxyspergualin on vascular muscle proliferation in vitro and in vivo. *Transplant Proc*. 1993; 25: 770-1.
34. Gummert JF, Barten MJ, van Gelder T, Billingham ME, Morris RE. Pharmacodynamics of mycophenolic acid in heart allograft recipients: correlation of lymphocyte proliferation and activation with pharmacokinetics and graft histology. *Transplantation*. 2000; 70 (7): 1038-49.
35. Hale MD, Nicholls AJ, Bullingham RE, Hené R, Hoitsma A, Squifflet JP, Weimar W, Vanrenterghem Y, Van de Woude FJ, Verpooten GA. The pharmacokinetic-pharmacodynamic relationship for mycophenolate mofetil in renal transplantation. *Clin Pharmacol Ther*. 1998; 64 (6): 672-83.
36. Halloran P, Mathew T, Tomlanovich S, Groth C, Hooftman L, Barker C. Mycophenolate mofetil in renal allograft recipients: a pooled efficacy analysis of three randomized, double-blind, clinical studies in prevention of rejection. The International Mycophenolate Mofetil Renal Transplant Study Groups. *Transplantation*. 1997; 63 (1): 39-47.

37. Hoffmann J, Fertmann J, Arbogast H et al. MMF pharmacokinetics in patients with kidney Tx and kidney-pancreas-Tx: absorption profiling is superior to trough level monitoring. ESOT Congress 2003, abstract-book, No. 154.
38. Hosenpud JD, Bennett LE. Mycophenolate mofetil versus azathioprine in patients surviving the initial cardiac transplant hospitalization: an analysis of the Joint UNOS/ISHLT Thoracic Registry. *Transplantation*. 2001; 72 (10): 1662-5.
39. Hovi T, Allison AC, Allsop J. Rapid increase of phosphoribosyl pyrophosphate concentration after mitogenic stimulation of lymphocytes. *FEBS Lett*. 1975; 55 (1): 291-3.
40. Jain A, Venkataramanan R, Hamad IS, Zuckerman S, Zhang S, Lever J, Warty VS, Fung JJ. Pharmacokinetics of mycophenolic acid after mycophenolate mofetil administration in liver transplant patients treated with tacrolimus. *J Clin Pharmacol*. 2001; 41 (3): 268-76.
41. Kaczmarek I, Ertl B, Schmauss D, Sadoni S, Knez A, Daebritz S, Meiser B, Reichart B. Preventing cardiac allograft vasculopathy: long-term beneficial effects of mycophenolate mofetil. *J Heart Lung Transplant*. 2006; 25 (5): 550-6.
42. Kantrowitz A, Haller JD, Joos H, Cerruti MM, Carstensen HE. Transplantation of the heart in an infant and an adult. *Am J Cardiol*. 1968; 22 (6): 782-90.
43. Keogh A. Calcineurin inhibitors in heart transplantation. *J Heart Lung Transplant*. 2004; 23 (5 Suppl): S202-6.
44. Keunecke C, Rothenpieler U, Zanker B, Schneeberger H, Illner WD, Theodorakis J, Stangl M, Land W. Mycophenolate mofetil monotherapy: an example of a safe nephrotoxicity/atherogenicity-free immunosuppressive maintenance regimen in a selected group of kidney-transplanted patients. *Transplant Proc*. 2000; 32 (1A Suppl): 6S-8S.
45. Kiehl MG, Shipkova M, Basara N, Blau IW, Schütz E, Armstrong VW, Oellerich M, Fauser AA. Mycophenolate mofetil in stem cell transplant patients in relation to plasma level of active metabolite. *Clin Biochem*. 2000; 33 (3): 203-8.
46. Kirklin JK, Bourge RC, Naftel DC, Morrow WR, Deierhoi MH, Kauffman RS, White-Williams C, Nomberg RI, Holman WL, Smith DC Jr. Treatment of recurrent heart rejection with mycophenolate mofetil (RS-61443): initial clinical experience. *J Heart Lung Transplant*. 1994; 13 (3): 444-50.
47. Klupp J, van Gelder T, Dambrin C, Regieli JJ, Boeke K, Billingham ME, Morris RE. Sustained suppression of peripheral blood immune functions by treatment with

- mycophenolate mofetil correlates with reduced severity of cardiac allograft rejection. *J Heart Lung Transplant*. 2004; 23 (3): 334-51.
48. Kobashigawa J, Miller L, Renlund D, Mentzer R, Alderman E, Bourge R, Costanzo M, Eisen H, Dureau G, Ratkovec R, Hummel M, Ipe D, Johnson J, Keogh A, Mamelok R, Mancini D, Smart F, Valantine H. A randomized active-controlled trial of mycophenolate mofetil in heart transplant recipients. *Mycophenolate Mofetil Investigators. Transplantation*. 1998; 66 (4): 507-15.
  49. Kondo Y, Grädel FO, Chaptal PA, Meier W, Cottle HR, Kantrowitz A. Immediate and delayed orthotopic homotransplantation of the heart. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 1965; 50 (6): 781-9.
  50. Kuypers DR, Claes K, Evenepoel P, Maes B, Vanrenterghem Y. Clinical efficacy and toxicity profile of tacrolimus and mycophenolic acid in relation to combined long-term pharmacokinetics in de novo renal allograft recipients. *Clin Pharmacol Ther*. 2004; 75 (5): 434-47.
  51. Land W, Schneeberger H, Weiss M, Ege T, Stümpfig L. Mycophenolate mofetil monotherapy: an optimal, safe, and efficacious immunosuppressive maintenance regimen in kidney transplant patients. *Transplant Proc*. 2001; 33 (4 Suppl): 29S-35S.
  52. Land W. Mycophenolate mofetil monotherapy in patients who have had kidney transplants. *Transplantation*. 2003; 75 (12): 1725-34.
  53. Land WG. *Immunsuppressive Therapie: IMPDH-hemmende immunsuppressive Medikamente (Band 3)*. Georg Thieme Verlag. 2004: 65-122.
  54. Langmann LJ, LeGatt DF, Halloran PF et al. Pharmacodynamic assessment of mycophenolic acid induced immunosuppression in renal transplant recipients. *Transplantation*. 1996; 62 (5): 666-72.
  55. Le Meur Y, Büchler M, Thierry A, Yatscoff RW. Individualized mycophenolate mofetil dosing based on drug exposure significantly improves patient outcomes after renal transplantation. *Am J Transplant*. 2007; 7 (11): 2496-503.
  56. Lower RR, Dong E, Shumway NE. Long term survival of of cardiac homografts. *Surgery*. 1965; 58: 110.
  57. Lower RR, Shumway NE. Studies on the orthotopic homotransplantation of the canine heart. *Surg. Forum*. 1960; 11: 18.
  58. Mann FC, Priestly JT, Markowitz J, Yater WM. Transplantation of the intact mammalian heart. *Arch.Surg*. 1933; 26: 219.

59. Marcus E, Wong SNT, Luisada AA. Homologous heart grafts: Transplantation of the heart in dogs. *Surg.Forum.* 1951; 2: 212.
60. Mardigyan V, Giannetti N, Cecere R, Besner JG, Cantarovich M. Best single time points to predict the area-under-the-curve in long-term hearttransplant patients taking mycophenolate mofetil in combination with cyclosporine or tacrolimus. *J Heart Lung Transplant.* 2005; 24 (10): 1614-18.
61. Mardigyan V, Tchervenkov J, Metrakos P, Barkun J, Deschenes M, Cantarovich M. Best single time points as surrogates to the tacrolimus and mycophenolic acid area under the curve in adult liver transplant patients beyond 12 months of transplantation. *Clin Ther.* 2005; 27 (4): 463-69.
62. Mathew TH, for the Tricontinental Mycophenolate Mofetil Renal Transplantation Study Group. A blinded, long-term, randomized multicenter study of mycophenolate mofetil in cadaveric renal transplantation. *Transplantation.* 1998; 65 (11): 1450-4.
63. Meiser BM, Groetzner J, Kaczmarek I, Landwehr P, Müller M, Jung S, Überfuhr P, Fraunberger P, Stempfle HU, Weis M, Reichart B. Tacrolimus or cyclosporine: which is the better partner for mycophenolate mofetil in heart transplant recipients? *Transplantation.* 2004; 78 (4): 591-8.
64. Meiser BM, Pfeiffer M, Schmidt D, Reichenspurner H, Überfuhr P, Paulus D, von Scheidt W, Kreuzer E, Seidel D, Reichart B. Combination therapy with tacrolimus and mycophenolate mofetil following cardiac transplantation: importance of mycophenolic acid therapeutic drug monitoring. *J Heart Lung Transplant.* 1999; 18: 143–9.
65. Millan O, Oppenheimer O, Brunet M, Vilardell J, Rojo I, Vives J, Martorell J. Assessment of mycophenolic acid-induced immunosuppression: a new approach. *Clin Chem.* 2000; 46 (9): 1376-83.
66. Miller J, Mendez R, Pirsch JD, Jensik SC. Safety and efficacy of tacrolimus in combination with mycophenolate mofetil (MMF) in cadaveric renal transplant recipients. FK506/MMF Dose-Ranging Kidney Transplant Group. *Transplantation.* 2000; 69 (5): 875.
67. Morris RE, Hoyt AG, Murphy MP, Eugui EM, Allison AC. Mycophenolic acid morpholinetriethyl ester (RS-61443) is a new immunosuppressant that prevents and halts heart allograft rejection by selective inhibition of T- and B-cell purine synthesis. *Transplant Proc.* 1990;22 (4): 1659-62.
68. Morris RE, Hoyt EG, Wang J. Prolongation of rat heart allograft survival by RS 61443. *Surg Forum.* 1989; 40: 337.

69. Morris RE, Hoyt EG, Wang J. RS-61443 is a novel and specific inhibitor of T and B cell purine synthesis that induces transplant tolerance, reverses acute rejection, and prolongs xenograft survival. *J. Heart Transplant.* 1990; 9: 62.
70. Morris RE, Wang J, Blum JR, Flavin T, Murphy MP, Almquist SJ, Chu N, Tam YL, Kaloostian M, Allison AC, et al. Immunosuppressive effects of the morpholinoethyl ester of mycophenolic acid (RS-61443) in rat and nonhuman primate recipients in heart allografts. *Transplant Proc.* 1991; 23 (2 Suppl 2): 19-25.
71. Mourad M, Malaise J, Chaib Eddour D, De Meyer M, König J, Schepers R, Squifflet JP, Wallemacq P, et al. Correlation of mycophenolic acid pharmacokinetic parameters with side effects in kidney transplant patients treated with mycophenolate mofetil. *Clin Chem.* 2001; 47 (1): 88-94.
72. Nichols AJ. Opportunities for therapeutic monitoring of mycophenolate mofetil dose in renal transplantation suggested by the pharmacokinetic/pharmacodynamic relationship for mycophenolic acid and suppression of rejection. *Clin Biochem.* 1998; 31 (5): 329-33.
73. O'Hair DP, McManus RP, Komorowski R. Inhibition of chronic vascular rejection in primate cardiac xenografts using mycophenolate mofetil. *Ann Thorac Surg.* 1994; 58 (5): 1311-5.
74. Oellerich M, Shipkova M, Schutz E, Wieland E, Weber L, Tonshoff B, Armstrong VW. Pharmacokinetic and metabolic investigations of mycophenolic acid in pediatric renal transplant recipients: implications for therapeutic drug monitoring. German Study Group on Mycophenolate Mofetil Therapy in Pediatric Renal Transplant Recipients. *Ther Drug Monit.* 2000; 22 (1): 20-6.
75. Pawinski T, Hale M, Korecka M, Fitzsimmons WE, Shaw LM. Limited sampling strategy for the estimation of mycophenolic acid area under the curve in adult renal transplant patients treated with concomitant tacrolimus. *Clin Chem.* 2002; 48 (9): 1497-504.
76. Pawinski T, Saitoh H, Kobayashi M, Tadano K, Takahashi Y, Hirano T. Cyclosporin A, but not Tacrolimus, inhibits the biliary excretion of mycophenolic acid glucuronide possibly mediated by multidrug resistance-associated protein 2 in rats. *J Pharmacol Exp Ther.* 2004; 309 (3): 1029-35.
77. Pillans PI, Rigby RJ, Kubler P, Willis C, Salm P, Tett SE, Taylor PJ. A retrospective analysis of mycophenolic acid and cyclosporin concentrations with acute rejection in renal transplant recipients. *Clin Biochem.* 2001; 34(1): 77-81.

78. Platz KP, Bechstein WO, Eckhoff DE, Suzuki Y, Sollinger HW. RS-61443 reverses acute allograft rejection in dogs. *Surgery*. 1991; 110 (4): 736-40.
79. Platz KP, Eckhoff DE, Hullett DA, Sollinger HW. RS-61443 studies: review and proposal. *Transplant Proc*. 1991; 23 (2 Suppl 2): 33-5.
80. Platz KP, Sollinger HW, Hullett DA, Eckhoff DE, Eugui EM, Allison AC. RS-61443--a new, potent immunosuppressive agent. *Transplantat*. 1991; 51 (1): 27-31.
81. Premaud A, Le Meur Y, Debord J, Szelag JC, Rousseau A, Hoizey G, Toupance O, Marquet P. Maximum a posteriori bayesian estimation of mycophenolic acid pharmacokinetics in renal transplant recipients at different postgrafting periods. *Ther Drug Monit*. 2005; 27 (3): 354-61.
82. Reichart B. Herz- und Herz-Lungen-Transplantation. Verlag R. S. Schulz. 1987.
83. Schütz E, Shipkova M, Armstrong VW, Niedmann PD, Weber L, Tönshoff B, Pethig K, Wahlers T, Braun F, Ringe B, Oellerich M. Therapeutic drug monitoring of mycophenolic acid: comparison of HPLC and immunoassay reveals new MPA metabolites. *Transplant Proc*. 1998; 30 (4): 1185-7.
84. Schwartz R, Dameshek W. Drug induced immunological tolerance. *Nature*. 1959; 183 (4676): 1682-3.
85. Shaw LM, Holt DW, Öllerich M, Meiser B, van Gelder T. Current issues in therapeutic drug monitoring of mycophenolic acid: report of a roundtable discussion. *Ther Drug Monit*. 2001; 23 (4): 305-15.
86. Shaw LM, Korecka M, Aradhya S, Grossman R, Bayer L, Innes C, Cucciara A, Barker C, Naji A, Nicholls A, Brayman K. Mycophenolic acid area under the curve values in African American and Caucasian renal transplant patients are comparable. *J Clin Pharmacol*. 2000; 40 (6): 624–33.
87. Shaw LM, Korecka M, DeNofrio D, Brayman KL. Pharmacokinetic, pharmacodynamik, and outcome investigations as the basis for mycophenolic acid therapeutic drug monitoring in renal and heart transplant patients. *Clin Biochem*. 2001; 34 (1): 17-22.
88. Shaw LM, Mick R, Nowak I, Korecka M, Brayman KL. Pharmacokinetics of mycophenolic acid in renal transplant patients with delayed graft function. *J Clin Pharmacol*. 1998; 38 (3): 268-75.
89. Shaw LM, Pawinski T, Korecka M, Nawrocki A. Monitoring of mycophenolic acid in clinical transplantation. *Ther Drug Monit*. 2002; 24 (1): 68-73.

90. Shaw LM, Sollinger HW, Halloran P, Morris RE, Yatscoff RW, Ransom J, Tsina I, Keown P, Holt DW, Lieberman R, et al. Mycophenolate mofetil: a report of the consensus panel. *Ther Drug Monit.* 1995; 17 (6): 690-9.
91. Shipkova M, Armstrong VW, Wieland E, Niedmann PD, Schütz E, Brenner-Weiss G, Voihsel M, Braun F, Oellerich M. Identification of glucoside and carboxyl-linked glucuronide conjugates of mycophenolic acid in plasma of transplant recipients treated with mycophenolate mofetil. *Br J Pharmacol.* 1999; 126 (5): 1075-82.
92. Shipkova M, Niedmann PD, Armstrong VW, Schütz E, Wieland E, Shaw LM, Oellerich M. Simultaneous determination of mycophenolic acid and its glucuronide in human plasma using a simple high-performance liquid chromatography procedure. *Clin Chem.* 1998; 44 (7): 1481-8.
93. Shumway NE, Stinson EB, Dong E Jr. Cardiac homotransplantation in man. *Transplant Proc.* 1969; 1(2): 739-45.
94. Shumway NE. Cardiac Replacement in Perspective. *J Heart Transplant.* 1983; 3: 3-5.
95. Siewert JR. *Chirurgie.* Berlin; Heidelberg; New York: Springer-Verlag, 2001.
96. Sintchak MD, Nimmegern E. The structure of inosine 5'-monophosphate dehydrogenase and the design of novel inhibitors. *Immunopharmacology.* 2000; 47 (2-3): 163-84.
97. Sollinger HW, Deierhoi MH, Belzer FO, Diethelm AG, Kauffman RS. RS-61443 - phase I clinical and pilot rescue study. *Transplantation.* 1992; 53 (2): 428-32.
98. Sollinger HW, Eugui EM, Allison AC. RS-61443--mechanism of action, experimental and early clinical results. *Clin Transplant.* 1991; 5: 523-6.
99. Sollinger HW. Mycophenolate mofetil for the prevention of acute rejection in primary cadaveric renal allograft recipients. U.S. Renal Transplant Mycophenolate Study Group. *Transplantation.* 1995; 60 (3): 225-32.
100. Sollinger HW. From mice to man: the preclinical history of mycophenolat mofetil. *Clin. Transplantation.* 1996; 10 (1 Pt 2):85-92.
101. Takahashi K, Ochaii T, Uchida K, Yasumura T, Ishibashi M, Suzuki S, Otsubo O, Isono K, Takagi H, Oka T, et al. Pilot study of mycophenolate mofetil (RS-61443) in the prevention of acute rejection following renal transplantation in Japanese patients. *Transplant Proc.* 1995; 27 (1): 1421-4.
102. The Mycophenolate Mofetil Renal Refractory Rejection Study Group: Mycophenolate mofetil for the treatment of refractory, acute cellular renal transplant rejection. *Transplantation.* 1996; 61 (5): 722-9.

103. The Tricontinental Mycophenolate Mofetil Renal Transplantation Study Group. A blinded, randomized clinical trial of mycophenolate mofetil for the prevention of acute rejection in cadaveric renal transplantation. *Transplantation*. 1996; 61 (7): 1029-37.
104. Theodorakis J, Schneeberger H, Illner WD, Stangl M, Zanker B, Land W. Nephrotoxicity-free, mycophenolate mofetil-based induction/maintenance immunosuppression in elderly recipients of renal allografts from elderly cadaveric donors. *Transplant Proc*. 2000; 32 (1A Suppl): 9S-11S.
105. Thomas L. Labor und Diagnose. Indikation und Bewertung von Laborbefunden für die medizinische Diagnostik. TH-Books Verlagsgesellschaft mbH. 2005; 1957-1964.
106. Van Gelder T, Hilbrands LB, Vanrenterghem Y, Weimar W, de Fijter JW, Squifflet JP, Hené RJ, Verpooten GA, Navarro MT, Hale MD, Nicholls AJ. A randomized double-blind, multicenter plasma concentration controlled study of the safety and efficacy of oral mycophenolate mofetil for the prevention of acute rejection after kidney transplantation. *Transplantation*. 1999; 68 (2): 261-6.
107. Wang K, Zhang H, Li Y, Wei Q, Li H, Yang Y, Lu Y. Safety of mycophenolate mofetil versus azathioprine in renal transplantation: a systemic review. *Transplant Proc*. 2004; 36 (7): 2068-70.
108. Webb WR, Howard HS, Neely WA. Practical method of homologous cardiac transplantation. *J Thorac Surg*. 1959; 37: 361-9.
109. Weber LT, Hoecker B, Armstrong VW, Oellerich M, Tonshoff B. Validation of an abbreviated pharmacokinetic profile for the estimation of mycophenolic acid exposure in pediatric renal transplant recipients. *Ther Drug Monit*. 2006; 28 (5): 623-31.
110. Weber LT, Shipkova M, Lamersdorf T, Niedmann PD, Wiesel M, Mandelbaum A, Zimmerhackl LB, Schutz E, Mehls O, Oellerich M, Armstrong VW, Tonshoff B. Pharmacokinetics of mycophenolic acid (MPA) and determinants of MPA free fraction in pediatric and adult renal transplant recipients. German Study Group on Mycophenolate Mofetil Therapy in Pediatric Renal Transplant Recipients. *J Am Soc Nephrol*. 1998; 9 (8): 1511-20.
111. Willis C, Taylor PJ, Salm P, Tett SE, Pillans PI. Evaluation of limited sampling strategies for estimation of 12-hour mycophenolic acid area under the plasma concentration time-curve in adult renal transplant recipients. *Ther Drug Monit*. 2000; 22 (5): 549-54.
112. Yamani MH, Starling RC, Goormastic M, Van Lente F, Smedira N, McCarthy P, Young JB. The impact of routine mycophenolate mofetil drug monitoring on the treatment of cardiac allograft rejection. *Transplantation*. 2000; 69 (11): 2326-30.

## 8 Abkürzungsverzeichnis

ADA	Adenosin-Desaminase
ADP	Adenosindiphosphat
AMP	Adenosinmonophosphat
ASTS	Amerikanische Gesellschaft der Transplantationschirurgen
ATP	Adenosintriphosphat
AUC	Area under the curve
Aza	Azathioprin
CNI	Calcineurin-Inhibitor
CsA	Ciclosporin A
dGTP	Desoxyguanosintriphosphat
dGTP	Desoxyadenosintriphosphat
EHC	Engl.: Enterohepatic (re-)circulation
EMIT	Engl.: Enzyme-multiplied immunoassay technique
GDP	Guanosindiphosphat
GMP	Guanosinmonophosphat
GTP	Guanosintriphosphat
HGPRT	Hypoxanthin-Guanin-Phosphoribosyl-Transferase
HPLC	Engl.: High performance liquid chromatography
IMP	Inosinmonophosphat
IMPDH	Inosin-5'-Monophosphat-Dehydrogenase
LSS	Engl.: Limited sampling strategy
MMF	Mycophenolatmofetil
MPA	Mycophenolsäure
MPAG	Engl.: Mycophenolic acid glucuronid = glucuronidierte Mycophenolsäure
NO	Engl.: Nitric oxide/ Stickstoffmonoxid
PRPP	5-Phosphoribosyl-1-Pyrophosphat
Sir	Sirolimus
Tac	Tacrolimus
TDM	Engl.: Therapeutic drug monitoring = Therapeutische Arzneimittelüberwachung
TVP	Transplantatvaskulopathie

## 9 Lebenslauf

### **Persönliche Daten**

---

Name: Amir Khosrow Bigdeli  
Geboren am: 31.12.1980  
Geburtsort: Teheran  
Staatsangehörigkeit: deutsch

### **Berufliche Laufbahn**

---

Seit 09/2008 Assistenzarzt in der herzchirurgischen Klinik und Poliklinik, Klinikum Großhadern, LMU München, Direktor: Prof. Dr. med. Bruno Reichart

### **Schulbildung**

---

1987 - 2000 Grundschule und Gymnasium in München  
Mai 2000 Allgemeine Hochschulreife

### **Studium**

---

10/00 - 03/01 Studium der Chemie an der Ludwig-Maximilians-Universität München  
05/2001 Beginn des Studiums der Humanmedizin an der Ludwig-Maximilians-Universität München  
08/2003 Ablegen der Ärztlichen Vorprüfung  
07/2008 Approbation

### **Praktisches Jahr**

---

12/06 - 04/07 Hand-, Plastische-, und Viszeralchirurgie, Chirurgische Klinik und Poliklinik, Klinikum Großhadern, LMU München, Direktor: Prof. Dr. Dr. h.c. mult. Karl-Walter Jauch  
03/07 - 05/07 Medizinische Klinik und Poliklinik I, Klinikum Großhadern, LMU München, Direktor: Prof. Dr. med. Gerhard Steinbeck  
05/07 - 07/07 Medizinische Klinik und Poliklinik II, Klinikum Großhadern, LMU München, Direktor: Prof. Dr. med. Burkhard Göke  
08/07 - 12/07 Klinik für Anästhesiologie, Klinikum Großhadern, LMU München, Direktor: Prof. Dr. med. Bernhard Zwissler

### **Famulaturen**

---

02 - 04/2004 Herzchirurgische Klinik und Poliklinik, Klinikum Großhadern, LMU München, Direktor: Prof. Dr. med. Bruno Reichart  
03 - 04/2005 Herzchirurgische Klinik und Poliklinik, Transplantationsambulanz, Klinikum Großhadern, LMU München, Direktor: Prof. Dr. med. Bruno Reichart  
08 - 09/2005 Klinik für Anästhesiologie, Klinikum Großhadern, LMU München, Direktor: Prof. Dr. Dr. h.c. mult. Klaus Peter

### **Zusätzliche berufliche Erfahrungen**

---

08/04 - 02/05 Studentische Hilfskraft, FGK Clinical Research GmbH, Frauenhoferstr.17, 82152 Planegg

02/05 - 12/06 Studentische Hilfskraft, Herzchirurgische Klinik & Poliklinik, Marchioninstr.15, 81377 München

Seit 08/07 Studentische Hilfskraft, Medical Future GmbH, Aufkirchnerstr. 5, 82335 Berg

### Publikationen

1. Schmauss D, Kaczmarek I, Tenderich G, Groetzner J, Deutsch MA, Schulz U, Wahlers T, Koerfer R, **Bigdeli AK**, Reichart B. Einfluss des Spender-Serumnatriumspiegels in der Herztransplantation - Erfahrungen einer multizentrischen Studie. Zeitschrift für Herz-,Thorax- und Gefäßschirurgie; 2006; 20 (5): 189-94.
2. **Bigdeli AK**, Beiras-Fernandez A, Kaczmarek I, Sadoni S, Brenner P, Schmoeckel M, Nikolaou K, Reichart B. Successful pulmonary thromboendarterectomy for right atrial thrombosis in a heart transplant recipient: a case report. Exp Clin Transplant. 2007; 5 (1): 621-23.
3. Kaczmarek I\*, **Bigdeli AK\***, Vogeser M, Mueller T, Beiras-Fernandez A, Kaczmarek P, Schmoeckel M, Meiser BM, Reichart B. Defining algorithms for efficient therapeutic drug monitoring of mycophenolate mofetil in heart transplant recipients. Ther Drug Monit. 2008; 30 (4): 419-27.  
  
\*Kaczmarek I and Bigdeli AK contributed equally to this work.
4. Schmauss D, Kaczmarek I, Beiras-Fernandez A, **Bigdeli AK**, Eifert S, Christ F, Reichart B, Vicol C. Tentacles: a novel device for exposing the heart for the insertion of left apical assist device cannulae. Heart Surg Forum. 2009; 12 (2): 116-8.
5. Kofler S, Deutsch MA, **Bigdeli AK**, Shvets N, Vogeser M, Mueller T, Meiser B, Steinbeck B, Brenner P, Reichart B, Kaczmarek I. Proton pump inhibitor co-medication reduces mycophenolate acid drug exposure in heart transplant recipients. J Heart Lung Transplant. 2009; 28 (6): 605-11.
6. 1: Kofler S, Shvets N, **Bigdeli AK**, König MA, Kaczmarek P, Deutsch MA, Vogeser M, Steinbeck G, Reichart B, Kaczmarek I. Proton pump inhibitors reduce mycophenolate exposure in heart transplant recipients-a prospective case-controlled study. Am J Transplant. 2009; 9 (7): 1650-6. Epub 2009 Jun 10.
7. Sodian R, Schmauss D, Schmitz C, **Bigdeli A**, Haeberle S, Schmoeckel M, Markert M, Lueth T, Freudenthal F, Reichart B, Kozlik-Feldmann R. 3-dimensional printing of models to create custom-made devices for coil embolization of an anastomotic leak after aortic arch replacement. Ann Thorac Surg. 2009; 88 (3): 974-8.
8. Deutsch MA, Kauke T, Sadoni S, Kofler S, Schmauss D, **Bigdeli AK**, Weiss M, Reichart B, Kaczmarek I. Luminex-based virtual crossmatching facilitates combined third-time cardiac and de novo renal transplantation in a sensitized

patient with sustained antibody-mediated cardiac allograft rejection. *Pediatr Transplant.* 2009. Epub ahead of print.

9. 4: Kofler S, **Bigdeli AK**, Kaczmarek I, Kellerer D, Müller T, Schmoeckel M, Steinbeck G, Uberfuhr P, Reichart B, Meiser B. Long-term outcomes after 1000 heart transplantations in six different eras of innovation in a single center. *Transpl Int.* 2009; 22 (12): 1140-50.

#### **Buchbeiträge**

---

1. **Bigdeli AK**, Kaczmarek I, Messmer K, Jähne J, Neuhaus P. Was gibt es Neues in der Herztransplantation? in: Was gibt es Neues in der Chirurgie? Jahresband 2008.
2. Schmauss D, Kaczmarek I, **Bigdeli AK**, Messmer K, Jähne J, Neuhaus P. Was gibt es Neues in der Herztransplantation? in: Was gibt es Neues in der Chirurgie? Jahresband 2009.

## 10 Danksagung

An dieser Stelle möchte ich mich bei allen Menschen bedanken, die mich während der Erstellung der Dissertation unterstützten und somit zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben. Mein Dank gebührt meinem Doktorvater Herrn Prof. Dr. med. Bruno Reichart, der es ermöglichte, an seinem Institut diese Arbeit durchzuführen. Insbesondere aber gilt mein Dank meinem sehr geschätzten Betreuer und Mentor Dr. Ingo Kaczmarek für die Überlassung des Themas und der exzellenten Betreuung. Zudem möchte ich mich bei Herrn Dr. Michael Vogeser für die laborchemische Bearbeitung der Proben und bei Herrn Dr. Thomas Müller für die Mithilfe bei der statistischen Auswertung bedanken. Selbstverständlich bedanke ich mich bei den herztransplantierten Patienten der herzchirurgischen Abteilung des Klinikums Großhadern für Ihre Geduld und Bereitschaft zur Mitarbeit. Bedanken möchte ich mich darüber hinaus auch bei allen anderen Mitarbeitern der herzchirurgischen Transplantationsambulanz des Klinikum München-Großhadern. Der grösste Dank aber geht an meine Eltern, die mir das Studium erst ermöglichten und mich jederzeit unterstützten.