

**Bestimmung pharmakokinetischer Parameter für Ciclosporin –
Mikroemulsion und Mycophenolatmofetil bei pädiatrischen Patienten in
der Spätphase nach Nierentransplantation**

DISSERTATION

zur Erlangung des akademischen Grades

doctor medicinae (Dr. med.)

vorgelegt dem Rat der Medizinischen Fakultät
der Friedrich- Schiller- Universität Jena

von

Sebastian Ullrich

geboren am 26.05.1981 in Rostock

Gutachter:

1. Prof. Dr. J. Misselwitz
2. PD Dr. T. Steiner
3. Prof. Dr. B. Tönshoff

Tag der öffentlichen Verteidigung: 5.12.2005/ 1.11.2006

Abkürzungsverzeichnis

α - TCR	α - T- Zell- Rezeptor
APC	Antigen präsentierende Zelle
AUC	Fläche unter der Konzentrations- Zeit- Kurve (area under the curve)
C ₀	Blutspiegelkonzentration vor Medikamenteneinnahme
C ₁	Blutspiegelkonzentration eine Stunde nach Medikamenteneinnahme
C ₂	Blutspiegelkonzentration zwei Stunden nach Medikamenteneinnahme
C ₃	Blutspiegelkonzentration drei Stunden nach Medikamenteneinnahme
C ₄	Blutspiegelkonzentration vier Stunden nach Medikamenteneinnahme
C ₆	Blutspiegelkonzentration sechs Stunden nach Medikamenteneinnahme
C _{max}	Maximalblutspiegelkonzentration
CN	Calcineurin
CyA	Ciclosporin A
EDTA	Ethylene Diamine Tetra- Acetate
FPIA	Fluoreszenzpolarisations- Immunoassay
FSGN	Fokal sklerosierende Glomerulonephritis
G6PDH	Glucose- 6- Phosphat- Dehydrogenase
G6PDH	Glucose- 6- Phosphatdehydrogenase
GFR	Glomeruläre Filtrationsrate
IgA	Immunglobulin A
IMPDH	Inosin- Monophosphat- Dehydrogenase
KOF	Körperoberfläche
MHC	Major histocompatibility complex
MMF	Mycophenolatmofetil
MPS	2- Morpholinoethylester der Mycophenolsäure
NAD	Nicotinamidadenindinucleotid
OD 620 nm	Extinktion bei 620nm
p	Wahrscheinlichkeit
Pat.	Patient
r	Maßkorrelationskoeffizient
r ²	Bestimmtheitsmaß
RR diast	Diastolischer Blutdruck
RR sys	Systolischer Blutdruck
SD	Standardabweichung
T _{max}	Zeit (h) bis zum Erreichen der maximalen Konzentration
Tx	Transplantation

Inhaltsverzeichnis

Seite

1. Zusammenfassung	1
2. Einleitung	3
2.1 Nierentransplantation	3
2.2 Mechanismen der Transplantatabstoßung	4
2.3 Formen der Abstoßung und Symptomatik	4
2.4 Ciclosporin A	5
2.5 Mycophenolatmofetil (MMF)	8
2.6 Glucocorticoide	9
2.7 Tacrolimus	10
2.8 Antikörper und Fusionsmoleküle	10
2.9 Gegenwärtige Protokolle der Immunsuppressiva	10
2.10 Drug Monitoring	11
3. Zielstellung der Arbeit	14
4. Patienten und Methoden	15
4.1 Patienten	15
4.2 Methoden	19
4.2.1 Materialgewinnung	19
4.2.2 Bestimmung der Ciclosporin- Blutkonzentration	19
4.2.3 Bestimmung der Mycophenolat- Blutkonzentration	19
4.2.4 Bestimmung der Calcineurin- Phosphatase- Aktivität	20
4.2.5 Auswertung der Messergebnisse	24

5. Ergebnisse	26
5.1 Ciclosporin A	26
<i>5.1.1 Ciclosporin: Profil 1</i>	<i>26</i>
<i>5.1.2 Ciclosporin: Profil 2</i>	<i>32</i>
<i>5.1.3 Vergleich des ersten und zweiten Profils</i>	<i>38</i>
5.2 Mycophenolatmofetil (MMF)	40
<i>5.2.1 Mycophenolatmofetil: Profil 1</i>	<i>40</i>
<i>5.2.2 Mycophenolatmofetil: Profil 2</i>	<i>45</i>
<i>5.2.3 Vergleich des ersten und zweiten Profils</i>	<i>50</i>
5.3 Calcineurin- Phosphatase- Aktivität	52
<i>5.3.1 Calcineurin- Aktivität: Profil 1</i>	<i>52</i>
<i>5.3.2 Calcineurin- Aktivität: Profil 2</i>	<i>54</i>
6. Diskussion	57
7. Schlussfolgerungen und Ausblick	67
Literaturverzeichnis	68
Anhang	76

1. Zusammenfassung

Die Blutkonzentration zwei Stunden nach Applikation (C_2) von Ciclosporin-Mikroemulsion hat sich bei erwachsenen Nierentransplantatempfängern im Rahmen der immunsuppressiven Therapie als sensitiver Einzelmesswert zur Abschätzung der Ciclosporin-Exposition erwiesen. Von Kindern existieren derzeit wenige Daten nach Nierentransplantation.

Primäres Ziel der Arbeit war die Evaluierung der C_2 - Spiegel und eines pharmakokinetischen Kurzprofils für Ciclosporin-Mikroemulsion und Mycophenolatmofetil bei Kindern in der Spätphase nach Nierentransplantation, welche eine Kombinationstherapie aus Ciclosporin-Mikroemulsion und Mycophenolatmofetil mit oder ohne Prednisolon erhielten und eine stabile Nierenfunktion aufwiesen (Kreatinin-Konzentration $< 225 \mu\text{mol/l}$). Das Hauptziel stellte dabei die Beantwortung der Frage dar, zu welchem Zeitpunkt die Immunsuppressiva-Konzentration die beste Regression mit der Fläche unter der Konzentrations-Zeit-Kurve (AUC) zeigt und damit als Einzelzeitmesspunkt den höchsten prädiktiven Wert für die Berechnung der AUC liefert.

Das sekundäre Ziel bestand in der Evaluierung der Calcineurin-Phosphatase-Aktivität in den ersten sechs Stunden nach der CyA-Gabe als Parameter der Calcineurin-Inhibition.

In einer prospektiven Pharmakokinetik-Studie wurden bei 13 Kindern (Alter bei der Transplantation $13,6 \pm 3,7$ Jahre), bei denen die Transplantation zum Zeitpunkt des ersten Profils $41,9 \pm 28,2$ Monate zurücklag, AUC-Profile durchgeführt. Aus den Ciclosporin- und Mycophenolatmofetil-Blutkonzentrationen wurden zweimalig im Abstand von 8 Wochen die Flächen unter den Konzentrations-Zeit-Kurven während den ersten vier (AUC_{0-4}) bzw. sechs (AUC_{0-6}) Stunden nach der Medikamenteneinnahme ermittelt. Für die pharmakokinetische Untersuchung wurden den Patienten unmittelbar vor (C_0) und 1 (C_1), 2 (C_2), 3 (C_3), 4 (C_4) und 6 (C_6) Stunden nach Einnahme der Immunsuppressiva jeweils 5 ml venöses Blut entnommen.

Die mittlere Serum-Kreatinin-Konzentration betrug im ersten Profil $119 \pm 36 \mu\text{mol/l}$ und im zweiten Profil $127 \pm 41 \mu\text{mol/l}$ ($p=0,41$), die mittlere glomeruläre Filtrationsrate (GFR) nach Schwartz lag bei $78,6 \pm 14,5$ vs. $76,7 \pm 18,6 \text{ ml/min/1,73m}^2$ ($p=0,61$) und die mittlere CyA-Dosis bei $142 \pm 31,7$ vs. $137 \pm 32,3 \text{ mg/m}^2/\text{d}$ ($p=0,09$). Die AUC_{0-6} betrug im ersten Profil $2794 \pm 780,3 \text{ ng}\cdot\text{h/ml}$ und im zweiten Profil $2829 \pm 668,8 \text{ ng}\cdot\text{h/ml}$ ($p=0,95$).

Die C_2 -Spiegel lagen bei $731 \pm 255,1 \text{ ng/ml}$ vs. $773 \pm 233,6$ ($p=0,68$). C_2 zeigte in einer linearen Regressionsanalyse die beste Übereinstimmung mit der AUC_{0-6} ($r^2=0,72$; $p<$

0,001 vs. $r^2 = 0,89$; $p < 0,001$). Die C_0 - Spiegel zeigten dagegen wesentlich schlechtere Regressionen ($r^2 = 0,53$; $p = 0,005$ vs. $r^2 = 0,32$; $p = 0,057$).

Die AUC_{0-6} von Mycophenolatmofetil lag im ersten Profil bei $46,5 \pm 14,3$ und im zweiten Profil bei $49,4 \pm 14,3 \mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{ml}$.

Die Calcineurin- Aktivität zu den entsprechenden Zeitpunkten C_0 bis C_6 zeigte in beiden Profilen eine Stunde nach Medikamenteneinnahme die geringste Aktivität. Dabei wurde insgesamt eine geringere Inhibition des Enzyms nachgewiesen als in vergleichbaren Untersuchungen anderer Autoren.

Die Blutkonzentration zwei Stunden nach Medikamenteneinnahme (C_2) ist als Einzelmesswert für ein verbessertes Monitoring der Ciclosporin- Therapie langzeitnientransplantierter pädiatrischer Patienten besonders gut geeignet. Für Kinder gibt es bislang keinen Konsens hinsichtlich empfohlener C_2 - Konzentrationen für Ciclosporin A.

Eine Empfehlung für einen Algorithmus zur Erfassung der MMF- Exposition anhand eines Einzelmesswertes ist aufgrund der eigenen und in der Literatur angegebenen ungenügenden und widersprüchlichen Korrelationen mit der Fläche unter der Konzentrations- Zeit- Kurve nicht möglich. Eine mögliche Lösung dieses Problems bietet die Durchführung eines Kurzprofils, das auf einer Blutabnahme vor MMF- Gabe, sowie 30 min und 2 Stunden nach MMF- Gabe basiert.

2. Einleitung

2.1 Nierentransplantation

Die erste Nierentransplantation wurde 1954 in Boston unter der Leitung von Joseph Murray durchgeführt. In Deutschland werden in 18 pädiatrisch- nephrologischen Zentren jährlich über 80 Nierentransplantationen bei Kindern durchgeführt. Bei ca. 20 % der Kinder wird eine Lebendspende durch einen Elternteil realisiert, was bei der Nierentransplantation aufgrund der Haploididentität von großem Vorteil ist. Die besondere Bedeutung der erfolgreichen Nierentransplantation ist zum einen in einer weitgehend normalen körperlichen und geistigen Entwicklung des Kindes zu sehen. Darüber hinaus wird durch den Wegfall von zeitaufwändigen Nierenersatzverfahren (Dialyse) eine bessere Integration des Kindes in sein soziales Umfeld möglich.

Die bei Kindern zugrundeliegenden Erkrankungen unterscheiden sich maßgeblich von denen Erwachsener (Ganschow et al. 2003a). Bei Erwachsenen stellt vornehmlich die diabetische Nephropathie eine Indikation zur Nierentransplantation dar. Bei Kindern führen zu zwei Drittel angeborene Anomalien der Nieren und Harnwege und hereditäre Nephropathien zur Nierentransplantation. In statistischen Auswertungen über die Häufigkeit der chronischen Niereninsuffizienz im Kindesalter zeigte sich in einem Drittel aller Fälle die Diagnose „Pyelonephritis“ (Misselwitz 1986). Bei der Mehrzahl dieser Kinder lagen als Grunderkrankungen angeborene Harntraktanomalien (Obstruktionen, beidseitiger Reflux) vor.

Komplikationen bestehen zum einen in den verschiedenen Formen der Abstoßungsreaktionen und zum anderen in unerwünschten Wirkungen der Immunsuppression. Die immuntherapeutische Kontrolle der Abstoßungen stellt eine Grundvoraussetzung für den Erfolg einer Transplantation dar, wobei sich der behandelnde Arzt zwischen den Polen akute und chronische Abstoßung einerseits, Überimmunsuppression, Toxizität, Infektion und Posttransplantations- Tumoren andererseits bewegt.

2.2 Mechanismen der Transplantatabstoßung

Antigen- präsentierende Zellen (APC) des Transplantatempfängers oder des Spenders wandern in die T- Zellen- Regionen der sekundären lymphatischen Organe. Nach Bindung des Antigens an den T- Zell- Rezeptor kommt es zur Aktivierung der T- Zelle, welche drei Signalketten in Gang setzt: Calcium- Calcineurin, Mitogen- aktiviertes Protein (MAP) und die Protein- Kinase C. Diese Signalketten resultieren unter anderem in der Expression von Interleukin- 2. Die T- Zellen infiltrieren das Transplantat und verursachen typische Rejektionsläsionen wie eine Tubulitis und in weiter fortgeschrittenen Fällen eine endotheliale Arteriitis (Halloran 2004).

Antikörper können ebenfalls für eine Transplantatabstoßung verantwortlich sein, ohne dass T- Zellen neu aktiviert werden müssen. Eine besondere Rolle spielen dabei die hyperakute und akzelerierte Rejektion über präformierte Antikörper gegen HLA- Antigene (Histokompatibilitätsantigene), welche vor einer T- Zell- Aktivierung zum Transplantatuntergang führen können. Unter dem HLA- System versteht man das für die Immunabwehr wichtige Regulationssystem des Menschen, das erstmals an weißen Blutkörperchen anhand der von ihnen kodierten Oberflächen- Antigene (HLA- Antigene) entdeckt wurde. Diese Formen der Rejektion sind aufgrund der besseren Gewebstypisierung und Antikörper- Testung vor der Transplantation selten geworden (Ganschow et al. 2003b).

2.3 Formen der Abstoßung und Symptomatik

Es können die akute bzw. vaskuläre Abstoßungsreaktion und die chronische Abstoßungsreaktion unterschieden werden. Die akute T- Zell- vermittelte Transplantatabstoßung ist heute dank spezifischer Immunsuppression auch im Kindesalter zu einem zunehmend selteneren Ereignis geworden (Ganschow et al. 2003c). Die Mehrzahl der akuten Abstoßungen tritt in den ersten 4 Wochen nach der Transplantation auf. Eine Rejektion zeigt sich häufig erst in Folgeerscheinungen der mangelnden Organfunktion, die sich in einer eingeschränkten Urinproduktion, Bluthochdruck, Urämie und Ödemen äußert. Daher sind regelmäßige Kontrollen von Funktions- und Schädigungsparametern wie Kreatinin, GOT (Glutamat- Oxalacetat- Transaminase), GPT (Glutamat- Pyruvat- Transaminase), Herzechographie und häufig eine bioptische

Sicherung der Verdachtsdiagnose notwendig. Die Banff Klassifikation, welche auf den Kriterien Tubulitis und Arteriitis basiert, erlaubt eine Einteilung der Abstoßungsreaktionen in histologische Schweregrade (Baltzan und George 1999). Die Rejektionen werden in Antikörper vermittelte Rejektionen wie die hyperakute und die akzeleriert akute Rejektion, in die Borderline- Rejektion (=verdächtig auf Rejektion), in akute Rejektionen und in die verschiedenen Stadien der chronischen bzw. sklerosierenden Nephropathie eingeteilt.

Die durch präformierte zytotoxische Antikörper vermittelte hyperakute bis akzelerierte Rejektion erfordert einen früheren Kontakt des Empfängers mit spenderspezifischen Antigenen, z.B. während der Schwangerschaft, nach Bluttransfusionen oder nach vorangegangener Transplantation. Das Erkennen der Spender- Antigene auf dem Gefäßendothel des Transplantats führt zur vaskulären Schädigung mit Organverlust innerhalb von 48 Stunden.

Der frühere Terminus „chronische Abstoßung“ ist durch „chronische Transplantatdysfunktion“ ersetzt worden. Die Mechanismen dieses Funktionsverlustes sind bislang nicht eindeutig geklärt. Gerade im Kindesalter, mit der bedeutend längeren Rest-Lebensspanne, stellt eine stabile Transplantatfunktion eine Grundvoraussetzung dar, um wiederholte Retransplantationen zu vermeiden. Daher muss eine gute initiale Transplantatfunktion, Toxizitätsvermeidung von Calcineurin- Inhibitoren und die Vermeidung von sekundären Risikofaktoren wie Hypertonie, Adipositas und Infektionen gewährleistet werden. Hauptsymptome der chronischen Abstoßung nach Nierentransplantation sind progredienter Kreatininanstieg über Monate, Proteinurie und arterieller Hypertonus.

2.4 Ciclosporin A

Die Geschichte des Ciclosporin A begann mit der Entnahme von Bodenproben durch Mitarbeiter der Firma „Sandoz“ in der Hardanger Vidda in Norwegen. Aus diesen Proben wuchs ein Pilz: *Tolypocladium inflatum* Gams. Aus diesem Pilz wurde im Jahr 1971 Ciclosporin isoliert. Die Substanz zeigte in ersten Untersuchungen im Januar 1972 im Labor von Jean Borel in Basel immunsuppressive Wirksamkeit: Die Bildung hämagglutinierender Antikörper bei immunisierten Mäusen wurde signifikant gehemmt, nicht aber die Proliferation von Mastzellen. In anderen Experimenten an der Ratte wurden später erhöhte Harnstoffwerte gefunden. Somit stand bereits damals fest: Die Substanz hat

immunsuppressive, aber keine antiproliferativen Eigenschaften (wie z.B. Azathioprin) und ist möglicherweise für eine reduzierte Nierenfunktion mit verantwortlich (Land 2001a).

In Abb. 1 wird die immunsuppressive Wirkung des Ciclosporins schematisch dargestellt.

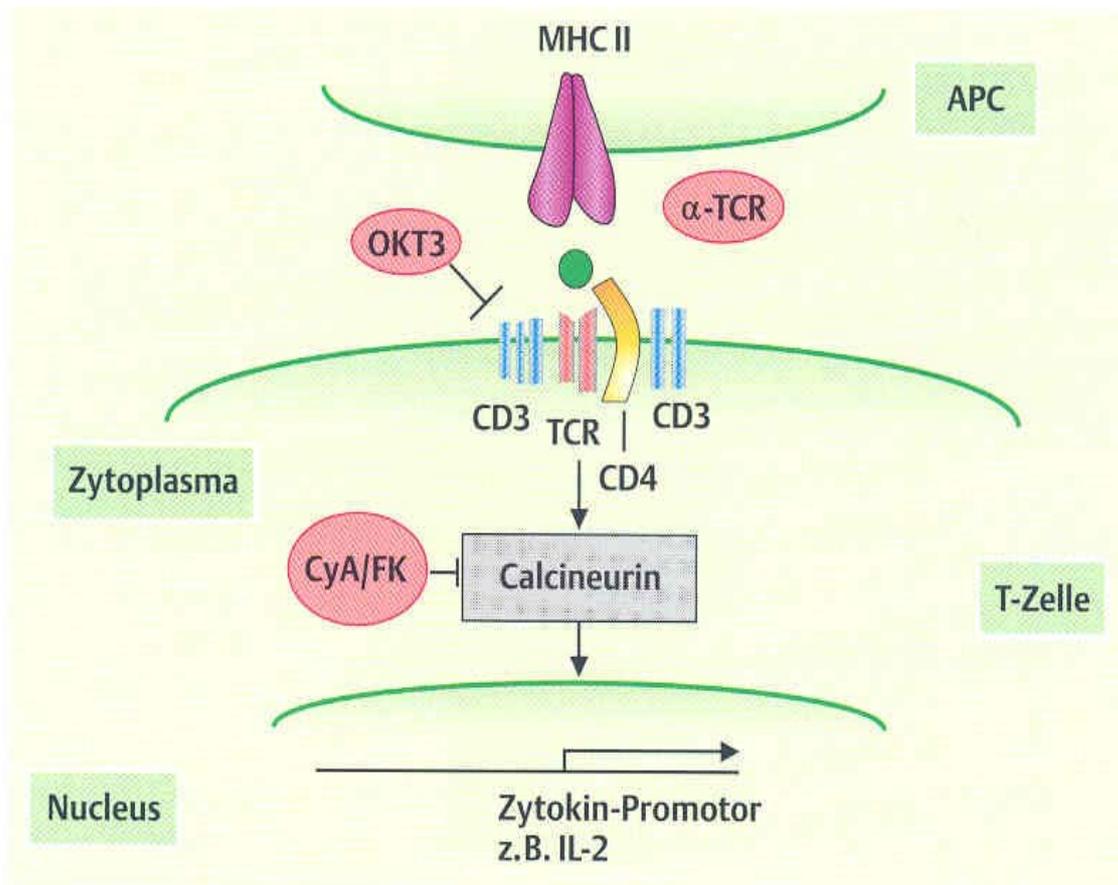


Abb. 1: Mechanismus der Signalübertragung in T- Lymphozyten (Land 2001b)

Die Antigen- präsentierende Zelle (APC) trägt auf ihrer Oberfläche MHC- Proteine (major histocompatibility complex), welche den Hauptkomplex im HLA- System des Menschen darstellen (siehe Abb. 1). Nachdem die APC der T- Zelle das Antigen präsentiert hat und es zur Bindung an den T- Zell- Rezeptor gekommen ist, ist die Aggregation des T- Zellrezeptors (α - TCR) mit dem CD4- Molekül erforderlich. Das akzessorische CD4- Molekül stabilisiert die TCR- MHC- Wechselwirkung, verlängert den Kontakt zwischen beiden Partnern und ermöglicht den CD3- Polypeptidmolekülen Signale zu übermitteln. Dies führt zur Tyrosin- Phosphorylierung des CD- Komplexes, welche die Assoziation mit den zytosolischen Tyrosinkinase auslöst. Über zum Teil noch nicht genau aufgeklärte Zwischenstufen kommt es zu einer Aktivierung der Phospholipase C- γ . Dies hat eine

Erhöhung der intrazellulären Calcium- Konzentration durch Inositol- Trisphosphat zur Folge (Löffler und Petrides 1998).

Ciclosporin greift in den Aktivierungsprozess von T- Lymphozyten ein. Die entscheidende Rolle spielt dabei Calcineurin (Clipstone und Crabtree 1992, Batiuk et al. 1997). Calcineurin (CN) ist eine Serin- Threonin- Phosphatase, die aus einer katalytischen Untereinheit A und einer regulatorischen Untereinheit B besteht. Die Phosphatase ist normalerweise inaktiv, weil ihre autoinhibitorische Domäne den aktiven Teil blockiert. Ein Anstieg des zytosolischen Calciums verändert die regulatorische Untereinheit und verursacht die Bindung von Calmodulin an die katalytische Untereinheit A, welche den aktiven Anteil freigibt. Aus der Aktivierung von CN resultiert eine Desphosphorylierung und Aktivierung von verschiedenen Transkriptionsfaktoren (Loh et al. 1996, Luo et al. 1996a, Luo et al. 1996b, Beals et al. 1997). Diese Faktoren regulieren die Transkription von T- Lymphozyten- aktivierenden Genen, einschließlich zahlreicher Zytokine (Interleukin- 2, Interferon- γ , Granulozyten- Makrophagen- Kolonie- stimulierender Faktor, Interleukin- 4, Interleukin- 3, Tumornekrosefaktor- α , Membranproteine wie CD 40L) (Su et al. 1994, Rao et al. 1995, Fuleihan et al. 1994) und FasL in T- und natürlichen Killerzellen (Krönke et al. 1984, Elliot et al. 1984). Ciclosporin A, ein hydrophobes zyklisches Peptid von 11 Aminosäuren, verhindert die Transkription von diesen Genen und damit die T- Zell- Aktivierung (Krönke et al. 1984, Elliot et al. 1984, Schreiber und Crabtree 1992).

Ciclosporin A stellt ein sog. „prodrug“ dar, d.h. es muss erst an die Isomerase Cyclophilin binden, um in die eigentlich wirksame Substanz umgewandelt zu werden. Diese geht mit Calcineurin einen Komplex ein, woraus eine nicht- kompetitive Hemmung der Calcineurin- Phosphatase resultiert (Clipstone und Crabtree 1992, Liu et al. 1991). Ciclosporin kann daher nicht mehr von seinem Bindungsplatz durch einen anderen Bindungspartner verdrängt werden. Folge ist die Hemmung der T- Zell- Aktivierung und - Proliferation.

Zu den häufigsten Nebenwirkungen von Ciclosporin A gehören Nephrotoxizität, Hyperlipidämie, Hypertrichose und Hypomagnesiämie (Lucan et al. 2004). Hinsichtlich der Nephrotoxizität unterscheidet man die akute und die chronische Nephrotoxizität. Die akute Form geht als Folge einer Vasokonstriktion der afferenten Arteriolen aufgrund zu hoher CyA- Spiegel mit einem Abfall der glomerulären Filtrationsrate sowie mit einer renal- tubulären Dysfunktion einher. Die chronische Nephrotoxizität resultiert in einer irreversiblen Nephrosklerose und kann zum Organversagen führen. Einflüsse von

Ciclosporin auf die glatte Muskulatur und damit auf die Gefäßspannung können eine arterielle Hypertonie induzieren. Weitere unerwünschte Wirkungen stellen die Gingivahyperplasie, bei erhöhter Wirkstoff- Exposition die Neurotoxizität, in seltenen Fällen eine diabetische Stoffwechsellage und die Beeinflussung des Knochenstoffwechsels infolge einer verminderten Vitamin- D- und Kalzium- Resorption im Darm dar (Land 2001d). Es wurde über eine erhöhte Inzidenz von Malignomen, insbesondere Hauttumoren unter höherer Ciclosporindosierung berichtet (Dantal et al. 1998).

2.5 Mycophenolatmofetil (MMF)

Mycophenolatmofetil ist zugelassen für die Prophylaxe von Abstoßungsreaktionen bei Empfängern allogener Nieren- und Herztransplantate und wird derzeit auf die Eignung zur Prophylaxe von Abstoßungsreaktionen bei Empfängern anderer Organe geprüft. Das Medikament sollte in Kombination mit Ciclosporin und Corticosteroiden gegeben werden (European Mycophenolate Mofetil Cooperative Study Group 1995, Sollinger 1995, Kobashigawa et al. 1998).

MMF ist der 2- Morpholinoethylester der Mycophenolsäure (MPS) und wurde als Beimedikation entwickelt, welche die Bioverfügbarkeit von MPS, dem aktiven Immunsuppressivum, verbessern sollte. In vivo wird MMF zu MPS hydrolysiert, einem potenten und selektiven de- novo- Purinsyntheseinhibitor, der eine reversible, nicht-kompetitive Inhibition der Inosin- Monophosphat- Dehydrogenase (IMPDH) bewirkt. MPS bewirkt eine selektive Verminderung der Guaninnucleotide und blockiert sowohl die T- als auch die B- Lymphozytenproliferation. Diese IMPDH- Hemmung führt zu einer Unterdrückung stärkerer Immunreaktionen (Allison et al. 1993, Wu 1994, Shaw et al. 1998, Bullingham et al. 1998). In der Leber erfolgt die Glucuronisierung zum MPS- Glucuronid (MPSG). In den klinisch eingesetzten Dosierungen sind MPS und MPS- Glucuronid zu jeweils 97 % bzw. 82 % an Albumin gebunden. Mehrere Medikamente, die unter Umständen gleichzeitig verabreicht werden, wie Ciclosporin, Prednisolon und Tacrolimus, hatten keine Auswirkung auf die Bindung von MPS an menschliches Plasmaprotein (Nowak et al. 1995).

MMF in Kombination mit Ciclosporin und Corticosteroiden hat zu einer Senkung der akuten Abstoßungen bei erwachsenen und pädiatrischen Nierentransplantatempfängern

während der ersten 6 bis 12 Monate nach Transplantation um 50 % im Vergleich zu Azathioprin geführt. In einer Arbeit von Jungraithmayr et al. wird die Rejektionsrate nach einem Jahr unter MMF- bzw. Azathioprin- Therapie mit 38 vs. 59 % angegeben und nach drei Jahren mit 46 vs. 61 % (Jungraithmayr et al. 2003).

Zu den häufigsten unerwünschten Wirkungen von Mycophenolatmofetil zählen bei pädiatrischen Nierentransplantatempfängern Leukopenie, Anämie, Infektionen und gastrointestinale Symptome wie Übelkeit und Diarrhöe (Tönshoff et al. 2004).

2.6 Glucocorticoide

Corticosteroide werden bereits seit 1954 bei Nierentransplantationen als Immunsuppressiva verwendet.

Steroide wirken immunsuppressiv aufgrund der Hemmung der Gen- Transkription in Makrophagen und T- Lymphozyten über intrazelluläre Rezeptoren, die mittels Hitzeschockproteinen in den Zellkern transportiert werden und ein Glucocorticoid-sensibles Element (GRE) der Zytokin- Gene inhibieren (Ganschow et al. 2003d). Steroide wirken synergistisch mit Ciclosporin auf die Zytokin- Transkription und können daher in geringer Dosis die Wirkung dieser Medikamente deutlich verstärken. Glucocorticoide führen in der Langzeittherapie zu erheblichen Nebenwirkungen und Folgeerkrankungen. Das bekannte Cushing- Syndrom kann ab einer interindividuell schwankenden Schwelle von 7,5 mg Prednisolon auftreten. Von besonderer Bedeutung ist die Gefahr einer Osteoporose, die durch Auflösung der mesenchymalen Knochenmatrix und teilweise durch die Vitamin- D- antagonistische Wirkung sowie durch Hemmung der Knochenneubildung infolge Unterdrückung der Expression des Prokollagen- I- Gens entstehen kann. Die katabolen Eigenschaften der Steroide können zu Atrophien von Muskulatur und Haut führen, bei Kindern treten Wachstumsstörungen auf. Eine alternierende Steroidgabe scheint ein besseres Wachstum der Kinder nach der Transplantation bei gleichzeitiger Prävention akuter Abstoßungen zu ermöglichen (Broyer et al. 1992). In einer kürzlich erschienenen Arbeit wird über den erfolgreichen Steroidentzug bei 20 nierentransplantierten Kindern berichtet (Höcker et al. 2004). Dabei zeigte sich ein signifikant verbessertes Wachstum der Kinder gegenüber der Kontrollgruppe, welche weiterhin Steroide eingenommen hat.

2.7 Tacrolimus (FK 506)

Unter Tacrolimus bzw. FK 506 versteht man ein Makrolidantibiotikum, welches aus *Streptomyces tsukubaensis* hergestellt wird. Die Wirkung besteht wie bei Ciclosporin A in einer Hemmung der Calcineurin- Phosphatase (siehe Abb. 1). Im Gegensatz zu Ciclosporin A wird über weniger Nebenwirkungen berichtet (Halloran 2004).

2.8 Antikörper und Fusionsmoleküle

OKT 3 ist ein monoklonaler Antikörper der Klasse IgG2a, der durch die Immunisierung von Mäusen mit humanen T- Lymphozyten und anschließender Fusion der CD3-spezifischen B- Lymphozyten mit murinen Myelomzellen erzeugt wird (Neumayer et al. 2001). OKT 3 ist gegen den CD3- Rezeptor- Komplex der T- Zellen gerichtet und inhibiert unspezifisch alle T- Zellen (siehe Abb. 1). Zu den ausgeprägten Nebenwirkungen gehören anaphylaktische Reaktionen sowie das „capillary leak-“, oder „first dose-“, Syndrom, worunter man ein klinisches Bild mit Fieber, Myalgien, Übelkeit, Erbrechen, Durchfall und Schüttelfrost zusammenfasst. Aufgrund der zahlreichen Nebenwirkungen bleibt dieses Immunsuppressivum Patienten mit therapieresistenten Rejektionen vorbehalten.

Aus Tierseren werden Anti- Thymozyten- (ATG) und Anti- Lymphozyten- Globuline (ALG) gewonnen.

Die molekularbiologische Technik der Molekülfusion führte zu einer neuen Klasse immunmodulatorischer Proteine. Gegenwärtig stehen mit Basiliximab und Daclizumab Substanzen zur Verfügung, die zur Blockade des IL- 2 α - Rezeptors (CD25) führen und die T- Zell- Aktivierung inhibieren.

2.9 Gegenwärtige Protokolle der Immunsuppressiva

Derzeit stellt eine immunsuppressive Behandlung nach Transplantation eine Kombinationstherapie dar. Die konventionelle Behandlung sieht eine Basis-Immunsuppression vor bestehend aus einer hoch dosierten Gabe von Ciclosporin A, Mycophenolatmofetil und Prednisolon und nach schrittweiser Reduktion der Steroiddosis aus einer Erhaltungs- Immunsuppression. Halloran hat in einer kürzlich erschienenen

Arbeit ein Protokoll angegeben, das eine Induktionstherapie aus Anti- CD25- Antikörpern oder Antithymozyten- Antikörpern vorsieht, in der Frühphase nach Transplantation einen Calcineurin- Inhibitor, Mycophenolatmofetil und Prednisolon, welches nach der Transplantatadaptation reduziert werden kann (Halloran 2004). Andere Protokolle sehen zur Erhaltungstherapie Steroide in Kombination mit Azathioprin oder Mycophenolatmofetil und Ciclosporin oder Tacrolimus vor. Kürzlich sind Kombinationen mit Rapamycin, einem Makrolidantibiotikum, hinzugekommen, das zusätzlich oder im Austausch für entweder Mycophenolatmofetil oder Ciclosporin eingesetzt wird.

2.10 Drug Monitoring

Eine medikamentöse immunsuppressive Therapie nach einer Nierentransplantation ist unerlässlich für die Prophylaxe von Abstoßungsreaktionen. Eines der Hauptprobleme bestand viele Jahre darin, nach der Organtransplantation eine adäquate Immunsuppression zu erreichen. Angesichts der zahlreichen und breiten Nebenwirkungen der Immunsuppressiva stellt es eine besondere Herausforderung für den behandelnden Arzt dar, das richtige Maß zwischen einem wirksamen Schutz vor Rejektionen und den negativen Auswirkungen der immunsuppressiven Medikamente zu finden. Entscheidend ist dabei, die immunsuppressive Therapie mit Ciclosporin anhand von Absorptionsprofilen und individueller Pharmakokinetik, dem Drug- Monitoring, zu optimieren. Das Verteilungsvolumen von Ciclosporin bei Kindern entspricht dem von Erwachsenen. Kinder weisen jedoch einen aktiveren Stoffwechsel auf, so dass sie Medikamente rascher metabolisieren. Um eine vergleichbare Immunsuppression wie beim Erwachsenen zu erreichen, benötigt ein Kind wesentlich höhere Dosierungen der Immunsuppressiva. Somit können Dosierungen, die im Erwachsenenbereich erhoben wurden, nur eingeschränkt auf Kinder übertragen werden können. Empfehlungen für das Monitoring und Dosierungen müssen daher auf pädiatrischen Studien basieren. Die beste Bezugsgröße für die therapeutischen Standarddosen im Kindesalter stellt nicht die Einteilung in verschiedene Altersgruppen oder die Dosierung nach Körpergewicht, sondern der Bezug auf die Körperoberfläche in m^2 dar (Hoyer 2000).

Aufgrund des engen therapeutischen Bereichs von Ciclosporin A ist es unerlässlich, die Ciclosporin- Konzentration im Blut zu bestimmen und anhand von diesem Spiegel die Dosierung einzustellen. Bisher erfolgte die Dosierung ausschließlich nach Talspiegel (C_0 -

Konzentration), d.h. 12 Stunden nach der letzten Einnahme. Das entscheidende Maß zur Abschätzung der Ciclosporin- Exposition stellt jedoch die Fläche unter der Konzentrations-Zeitkurve ($AUC = \text{area under the curve}$) dar (Land 2001c). Die ersten grundlegenden Studien mit dem Ziel der Entwicklung eines angemessenen Monitoring- Verfahrens wurden von Lindholm und Kahan sowie Kahan et al. durchgeführt (Lindholm und Kahan 1993, Kahan et al. 1996). Die Berechnung der Fläche unter der Konzentrations- Zeitkurve von Ciclosporin über ein 12- Stunden- Intervall nach der Medikamenteneinnahme (AUC_{0-12}) bot einen präziseren prädiktiven Wert für akute Abstoßungen als andere Parameter, einschließlich C_0 (Lindholm und Kahan 1993). Ein Hindernis für die Akzeptanz dieses Vorgehens stellte die klinische Praktikabilität dar. Ein pharmakokinetisches Profil bei einem Patienten, der alle 12 Stunden Ciclosporin einnehmen muss, bedeutet eine Blutabnahme 12 Stunden nach der letzten Einnahme für die Bestimmung des Talspiegels und mehrmalige stündliche Blutabnahmen. Aus diesem Grund gibt es jetzt das Bestreben, den prädiktiven Wert von kürzeren Profilen zu überprüfen. Kelles et al. konstatierten in einer Arbeit die enge Korrelation der AUC_{0-6} mit der AUC_{0-12} (Kelles et al. 1999). Pharmakokinetischen und pharmakodynamischen Daten zufolge stellt die Resorptionsphase- die ersten 4 Stunden nach Dosisverabreichung (siehe Abb.2)- den Zeitraum der höchsten Ciclosporin- Exposition und der höchsten individuellen Schwankungen dar (Levy 2001).

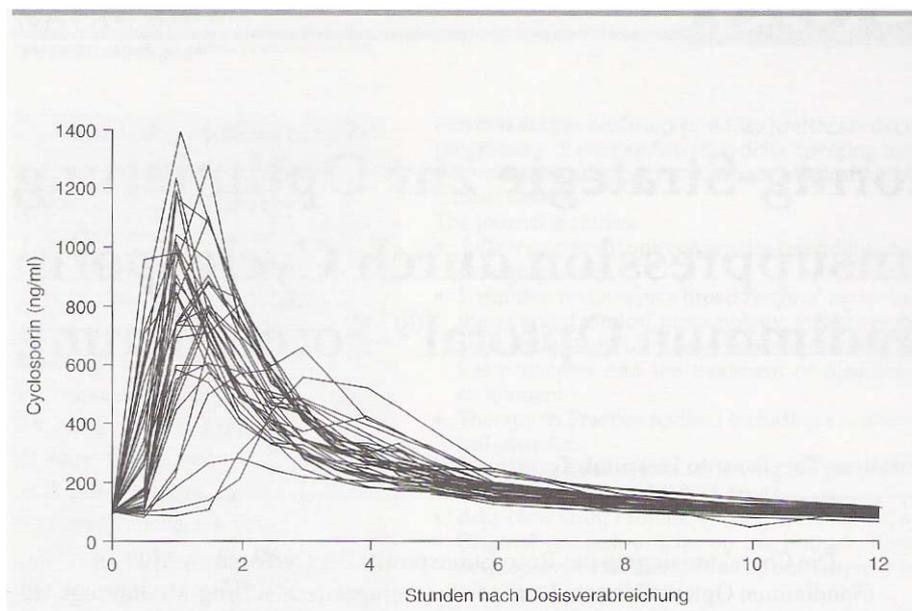


Abb. 2: Ciclosporin- Blutkonzentrationen über die Zeit nach Gabe als Mikroemulsion bei Erwachsenen (Levy et al. 2001)

Die AUC_{0-4} liefert nützliche Anhaltspunkte für die Effektivität der Immunsuppression, weil in den ersten 4 Stunden nach Medikamenteneinnahme das Maximum der Calcineurininhibition und Interleukin-2-Transkriptionshemmung erreicht wird (Nashan et al. 2003). Als Maß für die Ciclosporin-Exposition wurde in der vorliegenden Arbeit die AUC während der ersten 6 Stunden nach der Medikamenteneinnahme (AUC_{0-6}) gewählt, da auch Probanden mit einer langsameren Medikamentenresorption in die Betrachtungen einbezogen werden sollten. Als Routinemethode zur Therapieüberwachung ist jedoch die Bestimmung der AUC_{0-6} bzw. AUC_{0-4} weder praktikabel noch kostenmäßig zu vertreten, noch sind dem Patienten die zahlreichen Blutabnahmen zumutbar. Über lange Zeit galt der Talspiegel (C_0) als Kompromiss zur Überwachung und Einstellung der Ciclosporin-Dosierung. Ein Problem war in der Tatsache zu sehen, dass die Talblutspiegel nicht mit der AUC_{0-4} bzw. AUC_{0-12} als Extrapolation der tatsächlichen Wirksamkeit korrelierten. Zur Lösung dieses Problems versuchte man die AUC_{0-4} dahingehend zu verkürzen, dass man Einzelmessungen innerhalb der ersten vier Stunden durchführte und diese mit der AUC_{0-4} korrelierte, um die höchste Regression mit einer einzelnen Variable nachzuweisen. Die Ciclosporin-Konzentration 2 Stunden nach Einnahme des Immunsuppressivums hat sich in mehreren Studien gegenüber C_0 als aussagekräftigere Variable für die individuelle Abschätzung der Ciclosporin-Exposition erwiesen. Das eröffnet die Chance, rascher als bisher eine Unter- oder Überdosierung zu erkennen und damit den möglichen Folgen gegenzusteuern. Der C_2 -Wert stellt eine zuverlässige Bezugsgröße für die Dosisoptimierung dar, da er eine hohe Regression ($r^2 = 0,81$ bis $0,89$) mit der AUC_{0-4} aufgewiesen hat und damit eine bessere Vorhersage der klinischen Wirksamkeit und Verträglichkeit ermöglicht (Nashan et al. 2003). C_0 zeigte dagegen nur Regressionen zwischen $r^2 = 0,03$ und $0,64$. Die Entwicklung eines therapeutischen Drug-Monitorings ermöglichte die Anpassung der immunsuppressiven Behandlung bei Erwachsenen. So wurden für erwachsene Transplantatempfänger besonders in der Frühphase nach Transplantation mehrere verkürzte Formeln angegeben, nach welchen die AUC berechnet werden konnte (Amante und Kahan 1996). Sehr wenige Untersuchungen haben sich jedoch mit dem C_2 -Monitoring bei erwachsenen Patienten in der stabilen Phase nach Nierentransplantation befasst (Di Paolo et al. 2004). Für die therapeutischen C_2 -Zielwerte bei Kindern, unter denen akute Abstoßungen bei möglichst geringen Nebenwirkungen vermieden werden können, und ein entsprechendes Monitoring pädiatrischer Patienten existieren derzeit keine ausreichenden Publikationen (Hoyer und Vester 2004).

3. Zielstellung der Arbeit

Primäres Ziel der Arbeit war die Evaluierung der C_2 - Spiegel und eines pharmakokinetischen Kurzprofils (AUC_{0-6} bzw. AUC_{0-4}) für Ciclosporin- Mikroemulsion und Mycophenolatmofetil bei Kindern in der Spätphase nach Nierentransplantation, welche eine Kombinationstherapie aus Ciclosporin- Mikroemulsion und Mycophenolatmofetil mit oder ohne Prednisolon erhielten und eine stabile Nierenfunktion aufwiesen (Kreatinin-Konzentration $< 225 \mu\text{mol/l}$). Das Hauptziel stellte dabei die Beantwortung der Frage dar, zu welchem Zeitpunkt die Immunsuppressiva- Konzentration die beste Regression mit der Fläche unter der Konzentrations- Zeit- Kurve (AUC) zeigt und damit den höchsten prädiktiven Wert für die AUC liefert.

Das sekundäre Ziel bildete die Evaluierung der Calcineurin- Phosphatase- Aktivität in den ersten sechs Stunden nach der CyA- Gabe als Parameter der Calcineurin- Inhibition.

4. Patienten und Methoden

4.1 Patienten

In die Untersuchung einbezogen wurden 13 Patienten des Arbeitsbereiches Nephrologie der Kinderklinik der Friedrich- Schiller- Universität Jena.

Folgende Einschlusskriterien mussten für die Teilnahme an der Studie erfüllt werden:

Die Patienten haben Ciclosporin- Mikroemulsion und Mycophenolatmofetil mit oder ohne Prednisolon eingenommen, waren Einzelorganempfänger mit erstem Transplantat und stabiler Nierenfunktion (kein progredienter Anstieg der Serum- Kreatinin- Konzentration $> 225 \mu\text{mol/l}$). Weitere Einschlusskriterien stellten ein stabiler Gesundheitszustand, keine akuten Infektionen oder gastrointestinale Erkrankungen dar. Zudem musste eine Phase stabiler Talspiegel für Ciclosporin und Mycophenolatmofetil von mindestens 8 Wochen vorliegen. Die Patienten bzw. deren Eltern wurden vor Studienbeginn schriftlich und mündlich über Wesen und Tragweite der geplanten Untersuchung, insbesondere über den möglichen Nutzen für ihre Gesundheit und eventuelle Risiken, aufgeklärt und haben ihre Einwilligung gegeben.

Ausschlusskriterien waren Mehrorgantransplantationen oder mehr als eine Nierentransplantation, gastrointestinale Erkrankungen zum Zeitpunkt der Untersuchung sowie nicht nüchterne Patienten.

Von jedem Patienten wurden jeweils zwei Profile im Abstand von 8 Wochen durchgeführt, um zu zeigen, dass sich in der Spätphase nach Nierentransplantation nur eine geringe intraindividuelle Variabilität zwischen Profil 1 und Profil 2 ergibt. Bei einer Patientin wurde nur ein Profil durchgeführt, da sie im Verlauf der Studie auf ein anderes Immunsuppressivum umgestellt worden war.

Tab. 1 zeigt die Alters- und Geschlechtsverteilung der Patienten. An dem ersten Profil haben 13 Patienten teilgenommen. Das mittlere Alter lag dabei bei $17,1 \pm 3,9$ Jahren. Unter den Patienten waren 9 männlich und 4 weiblich. Das mittlere Alter bei der Transplantation betrug $13,6 \pm 3,7$ Jahre. Die Nierentransplantation war bei diesen Patienten vor $41,9 \pm 28,2$ Monaten durchgeführt worden. Bei 11 Patienten lag die Transplantation mehr als 6 Monate zurück. Ein Patient wurde mit in die Untersuchung einbezogen, dessen Transplantation zum Zeitpunkt des ersten Profils 3 Monate zurücklag, da er eine stabile Nierenfunktion aufgewiesen hat. Bei einem anderen Patienten, der ebenfalls eine stabile Nierenfunktion

zeigte, waren seit der Transplantation 5 Monate vergangen. An dem zweiten Profil haben 12 Probanden teilgenommen. Dies muss bei der Betrachtung des jeweiligen Medians bzw. Mittelwerts der aufgeführten Parameter berücksichtigt werden.

Tab. 1: Alters- und Geschlechtsverteilung

	Profil 1		Profil 2	
n	13		12	
Geschlecht (männlich/weiblich)	9/4		9/3	
	Median (min-max)	Mittelwert ± SD	Median (min-max)	Mittelwert ± SD
Alter (Jahre)	17,8 (7,6- 21,3)	17,10 ± 3,87	18,5 (7,8- 21,5)	17,82 ± 4,01
Alter bei Tx (Jahre)	14,3 (5,6-19,8)	13,60 ± 3,65	14,3 (5,6-19,8)	13,60 ± 3,65
Zeit nach Tx (Monate)	42 (3- 105)	41,9 ± 28,2	40 (5-107)	42,2 ± 28,4

Tab. 2 gibt einen Überblick über Gewicht (kg), Größe (cm) und Körperoberfläche (m²).

Tab. 2: Gewicht, Größe und KOF

	Profil 1		Profil 2	
	Median (min-max)	Mittelwert ± SD	Median (min-max)	Mittelwert ± SD
Gewicht (kg)	70,9 (29,0-90,8)	62,4 ± 18,9	70 (29,5-88)	65,5 ± 16,9
Größe (cm)	159 (121,6-184,4)	160,8 ± 17,9	165 (122,7-184,4)	165,9 ± 12,9
KOF (m ²)	1,8 (1,0-2,1)	1,66 ± 0,34	1,8 (1,0-2,1)	1,72 ± 0,28

Im ersten Profil betrug die mittlere Kreatinin- Konzentration 105 (64-184) µmol/l, im zweiten Profil 112 (85-217) µmol/l (p=0,41), welche damit über dem Normbereich bei nichttransplantierten Personen von 53 bis 110 µmol/l lag (Tab. 3). Die mittlere glomeruläre Filtrationsrate nach Schwartz betrug im ersten Profil 71,4 (59,8-110,6) ml/min/1,73m², im zweiten Profil 72,8 (52,7-115,2) ml/min/1,73m² (p= 0,61).

Tab. 3: Kreatinin, GFR und Blutdruck

	Profil 1		Profil 2	
	Median (min-max)	Mittelwert ± SD	Median (min-max)	Mittelwert ± SD
Kreatinin (µmol/l)	105 (64-184)	119 ± 36	112 (85-217)	127 ± 41
GFR (ml/min/1,73m ²)	71,4 (59,8-110,6)	78,6 ± 14,5	72,8 (52,7-115,2)	76,7 ± 18,6
RR syst (mmHg)	121 (105-140)	122 ± 12	124 (101-133)	122 ± 9
RR diast (mmHg)	70 (55-84)	70 ± 8	76 (62-92)	75 ± 9

Tab. 4 gibt einen Überblick über wichtige Laborparameter. Außerhalb der Norm lagen im ersten Profil neben der Kreatinin- Konzentration die mittlere Erythrozyten- Konzentration, die mittlere Hämoglobin- Konzentration, die mittlere Harnsäure- Konzentration und die mittlere Calcium- Konzentration.

Im zweiten Profil lagen wiederum die mittlere Kreatinin- Konzentration, die mittlere Erythrozyten- Konzentration, die mittlere Hämoglobin- Konzentration und die mittlere Harnsäure- Konzentration außerhalb der Norm. Zudem wies auch die mittlere Harnstoff- Konzentration leicht erhöhte Werte auf. Die übrigen in Tab. 4 aufgeführten Parameter lagen im Normbereich.

Signifikante Unterschiede zwischen dem ersten und dem zweiten Profil gab es bei den Parametern Gewicht ($p= 0,027$), Größe ($p= 0,015$), Leukozyten ($p= 0,007$) und Hämoglobin ($p= 0,004$).

Bei allen anderen Parametern konnten keine signifikanten Unterschiede zwischen dem ersten und dem zweiten Profil ermittelt werden.

Tab. 4: Laborparameter

Parameter	Einheit	Mittelwert Profil 1	SD	Mittelwert Profil 2	SD	Normbereich
pH		7,40	0,03	7,40	0,03	7,32-7,42
Blutzucker	mmol/l	5,6	0,96	5,5	0,99	3,1- < 6,1
Erythrozyten	Tpt/l	3,9	0,4	3,9	0,4	4,5-5,9
Leukozyten	Gpt/l	6,4	1,2	5,3	0,7	4,4-11,3
Hämoglobin	mmol/l	7,0	0,8	6,8	0,7	7,6-10,9
Hämatokrit	%	35	3,4	34	3,7	35-48
Thrombozyten	Gpt/l	247	77	242	65	177-379
Harnstoff	mmol/l	7,9	2,0	9,1	3,1	3,6-8,9
Harnsäure	umol/l	454	101	468	127	140-420
Natrium	mmol/l	139	3	138	3	136-145
Kalium	mmol/l	4,8	0,4	4,9	0,3	3,6-5,1
Calcium	mmol/l	2,58	0,11	2,55	0,08	2,1-2,55
Phosphat	mmol/l	1,26	0,15	1,32	0,23	0,8-1,43
Magnesium	mmol/l	0,8	0,1	0,8	0,1	0,4-1,0
Triglyceride	mmol/l	1,33	0,5	1,58	0,77	0,35-2,30
Cholesterin	mmol/l	4,5	1,1	4,5	1,1	3,1-5,2
HDL	mmol/l	1,30	0,36	1,30	0,43	1,15-1,40
LDL	mmol/l	2,47	0,56	2,40	0,71	< 3,9
ALAT	umol/l*s	0,17	0,06	0,15	0,07	0,08-0,37
ASAT	umol/l*s	0,25	0,09	0,24	0,04	0,08-0,30
Bilirubin	umol/l	10,1	4,1	10,4	3,6	< 17

Als Grunderkrankungen (siehe Tab. 5) lagen bei 5 Patienten Urethralklappen und bei 3 Patienten eine juvenile Nephronophthise vor. Bei zwei Patientinnen hatte eine Refluxnephropathie zu der Niereninsuffizienz geführt, wobei bei einer Patientin zusätzlich ein hämolytisch urämisches Syndrom vorlag. Weitere Grunderkrankungen stellten eine rapid progressive Glomerulonephritis, eine IgA- Nephropathie, eine fokal sklerosierende Glomerulonephritis und eine beidseitige Nierenhypoplasie dar.

Tab. 5: Renale Grunderkrankung

Patient	Krankheit
L.C.	Urethralklappen
F.M.	Hämolytisch urämisches Syndrom, Refluxnephropathie
H.J.	Refluxnephropathie
F.S.	Urethralklappen
L.M.	Juvenile Nephronophthise
G.N.	Urethralklappen
L.R.	Rapid progressive Glomerulonephritis
B.S.	IgA- Nephropathie
T.M.	Nierenhypoplasie beidseits
B.T.	Juvenile Nephronophthise
K.M.	Juvenile Nephronophthise
H.M.	Urethralklappen
A.C.	Fokal-sklerosierende Glomerulonephritis

Bei einem der 13 Patienten war eine Lebendspende durchgeführt worden. Bei 4 Patienten traten Rejektionen auf, von denen 2 durch Cytomegalievirus- Infektion getriggert wurden.

Tab. 32 und 33 im Anhang zeigen die Begleitmedikation für jeden einzelnen Patienten. insichtlich der Begleitmedikation gab es zwischen Profil 1 und Profil 2 keine wesentlichen Unterschiede.

Als Vergleichspersonen für die Bestimmung der Aktivität der Calcineurin- Phosphatase dienten 8 gesunde Probanden (5 männlich; 3 weiblich) im Alter zwischen 8 und 20 Jahren ($15,9 \pm 3,7$ Jahre).

Die Untersuchung wurde in Übereinstimmung mit der Deklaration von Helsinki in der aktuellen Fassung von 1996 durchgeführt. Die Teilnahme der Patienten an der Untersuchung war freiwillig; die Zustimmung konnte jederzeit, ohne Angabe von Gründen und ohne Nachteile für die weitere medizinische Versorgung, zurückgezogen werden. Der Untersuchungsplan wurde vor Studienbeginn der Ethikkommission der Friedrich- Schiller- Universität Jena zur Begutachtung vorgelegt und bewilligt.

4.2 Methoden

4.2.1 Materialgewinnung

Die Patienten kamen nüchtern zur Blutuntersuchung, die 12 Stunden nach der letzten Einnahme der Immunsuppressiva zu erfolgen hatte. Am Abend vor der Untersuchung sollte die letzte Einnahme des Ciclosporins und des Mycophenolatmofetils zeitgleich erfolgen. Vor der Medikamenteneinnahme erfolgte eine Blutabnahme für die Bestimmung der weiteren Laborparameter (Tab. 4). Für die pharmakokinetische Untersuchung wurden den Patienten unmittelbar vor (C_0) und 1 (C_1), 2 (C_2), 3 (C_3), 4 (C_4) und 6 (C_6) Stunden nach Einnahme der Immunsuppressiva jeweils 5 ml venöses Blut entnommen. Die Entnahme erfolgte über eine Flexüle, die über die Dauer des Untersuchungszeitraumes liegen blieb, um mehrfache Venenpunktionen zu vermeiden. Es wurden pro Blutentnahme jeweils 2 EDTA- Monovetten à 2,5 ml benötigt, 2,5 ml für die Bestimmung der CyA- und der MMF- Konzentration und 2,5 ml für die Bestimmung der Calcineurin- Aktivität. Beide Monovetten wurden sofort nach jeder Abnahme ins Labor gebracht und weiterverarbeitet.

4.2.2 Bestimmung der Ciclosporin- Konzentration

Die Bestimmung der Ciclosporin- Blutkonzentration im EDTA- Vollblut erfolgte durch das Analysensystem AxSYM der Fa. Abbott GmbH, einem Fluoreszenzpolarisations-Immunoassay (FPIA).

4.2.3 Bestimmung der Mycophenolat- Konzentration

Die Mycophenolat- Konzentration im Plasma wurde mittels Emit[®]- 2000- Mycophenolsäure- Test an dem Gerät Cobas mira bestimmt.

Für die Bestimmung der MPS- Konzentration sind im wesentlichen drei Reagenzien notwendig:

1. Antikörpereagenz: Es enthält monoklonale Antikörper der Maus, welche auf Mycophenolsäure reagieren und Nicotinamidadenindinucleotid (NAD).

2. Enzymreagenz: Mycophenolsäure, welche mit Glucose- 6- Phosphatdehydrogenase (G6PDH) markiert ist. G6PDH ist nur im ungebundenen Zustand aktiv und wandelt das oxidierte NAD in NADH um und bewirkt dadurch eine Veränderung der kinetischen Absorbanz, die sich im Spektralphotometer messen lässt.
3. Patientenplasma, dessen MPS- Konzentration bestimmt werden soll.

Der Test basiert auf der Konkurrenz um MPS- Antikörper- Bindungsstellen. MPS im Plasma des Patienten konkurriert mit der MPS in dem Enzymreagenz. Je höher die MPS- Konzentration im Plasma des Patienten ist, desto mehr Antikörper- Bindungsstellen werden dadurch besetzt. Somit wird weniger markiertes MPS an die Bindungsstellen gebunden und die G6PDH wandelt mehr NAD in NADH um. Die MPS- Konzentration des Patientenplasmas ist somit proportional zu der NADH- Bildung.

4.2.4 Bestimmung der Calcineurin- Aktivität

Separation der Leukozyten aus dem Vollblut

Zur Separation der Leukozyten aus dem Vollblut wurde LeucoSep® der Firma Greiner Bio- One verwendet.

LeucoSep® besteht aus 3 Komponenten: Röhrchen, Filterscheibe und Trennlösung. Als Trennlösung diente Ficoll- Isopaque- Lösung der Firma Pharmacia. Ein Tris- Saline- Puffer fungierte als Waschlösung.

Die Ficoll- Isopaque- Lösung wurde auf Zimmertemperatur erwärmt, gleichzeitig vor Licht geschützt. Den Röhrchen wurden jeweils 3 ml Ficoll- Isopaque Lösung zugegeben. Anschließend wurden die Röhrchen 1 min bei 1000 g zentrifugiert. Die Ficoll- Isopaque- Lösung befand sich danach unterhalb der Filterscheibe. Nunmehr erfolgte die Zugabe von 2,5 ml EDTA Vollblut des jeweiligen Patienten. Um die Zellen schonend zu behandeln, erfolgte eine Zentrifugation von 15 min bei nur 800 g. Aufgrund dieser kurzen Zentrifugationszeit sollten die Zellen im Vergleich zu herkömmlichen Methoden weniger geschädigt werden. Nach der Zentrifugation ergab sich von oben nach unten folgende Schichtung: Plasma- Leukozyten- Ficoll-Isopaque- Filterscheibe- Ficoll- Isopaque- Erythrozyten. Das Plasma wurde als oberste Schicht mit einer Pipette entnommen und verworfen. Die Leukozyten konnten anschließend mit Hilfe einer Pasteur-Pipette aus dem LeucoSep®- Röhrchen transferiert werden. Die Leukozyten wurden in 10 ml

phosphatgepufferter Salzlösung resuspendiert. Es folgte eine weitere Zentrifugation für 10 min bei 250 g und Raumtemperatur. Der Überstand wurde verworfen und die Leukozyten mit 5 ml phosphatgepufferter Salzlösung resuspendiert und für weitere 10 min bei 250 g zentrifugiert. Der Überstand wurde erneut verworfen und das Pellet mit 1 ml Puffer resuspendiert. Anschließend erfolgte an dem Gerät KX 21 die maschinelle Messung der Leukozytenkonzentration (Gpt/l) in der Probe. Nach diesem Schritt wurden 4 ml Puffer hinzugegeben, bei 250 g für 10 min zentrifugiert, der Überstand entnommen und nur die Leukozyten ohne Puffer bei -70°C eingefroren.

Die Vorgehensweise bei dieser Arbeit entsprach im Wesentlichen der Anleitung der BIOMOL[®] Research Laboratories, Inc. für den BIOMOL GREEN[™] CELLULAR CALCINEURIN ASSAY KIT PLUS AK- 816.

Bestimmung der Calcineurin- Phosphatase- Aktivität

Die Bestimmung der Calcineurin-Phosphatase- Aktivität beruht auf der photometrischen Messung der Extinktionen bei 620 nm des Phosphatrests, welcher von einem synthetisch hergestellten Peptid durch die Calcineurin- Phosphatase abgespalten wird.

Bei dem verwendeten Testkit konnte die Bearbeitung einzelner Arbeitsschritte zu unterschiedlichen Zeitpunkten erfolgen, so wurde am ersten Tag die Vorbereitung der Proben und die Entfernung des freien Phosphats vorgenommen, anschließend wurden die gereinigten Proben eingefroren. Die eigentliche Bestimmung der Calcineurin- Aktivität wurde am zweiten Tag durchgeführt.

Zur Vorbereitung der Proben wurden folgende Chemikalien und Chemikaliengemische verwendet:

- Lyse- Puffer [KI-135] (50 nM Tris, pH 7,5, 0,1 nM EDTA, 0,1 EDTA, 1 mM DTT, 0,2 % NP-40)
- Protease- Inhibitor [KI-103]
- Desalting Resin [KI-100] (P6 DG Desalting Resin, ein Entsalzungsreagenz)

Der erste Schritt bestand in der Lyse der Leukozyten. Zunächst wurde in 10 ml Lyse-Puffer eine Tablette eines Protease- Inhibitors gegeben. Die den Proben- Pellets hinzugegebene Puffermenge wurde in Anlehnung an die Studie von Halloran et al. (1999) berechnet, in deren Untersuchung $1,5 \times 10^6$ Zellen in 100 μ l Puffer lysiert wurden. Da sich die Anzahl der separierten Leukozyten in den Proben unterschieden hat, wurde durch Zugabe der gemäß der Leukozytenzahl berechneten Puffermenge die gleiche Leukozyten-Konzentration in den Proben erzielt. Nach kurzem Vortexen wurde das Extrakt in Eppendorf- Gefäße pipettiert und bei 9500 g für 45 min bei 4°C zentrifugiert. Während dieser Zentrifugation setzten sich Zellwandreste am Boden der Gefäße ab, der Überstand, welcher die Bestandteile des Zytoplasmas und somit auch Calcineurin beinhaltete, wurde entnommen und in Eppendorf- Gefäße pipettiert. Im folgenden Schritt erfolgte die Entfernung des freien Phosphats aus der Probe, da bei der photometrischen Messung nur die Phosphatmenge gemessen werden sollte, welche durch die Phosphatase Calcineurin von dem später zugegebenen synthetisch hergestellten Peptid [PI- 160] abgespalten wurde. Dazu wurde der Extrakt der Proben durch eine Säule mit Entsalzungsreagenz hindurch bei 800 g und 4°C für 5 min zentrifugiert. Die Proben wurden erneut bei -70°C eingefroren.

Am zweiten Tag wurde die Bestimmung der Calcineurin- Phosphatase- Aktivität durchgeführt.

Für die Messungen wurden folgende Chemikalien und Chemikaliengemische verwendet:

- Calmodulin [SE101-9090]
- Versuchspuffer [KI-128] (zweifach konzentriert) (100 mM Tris, pH 7,5, 200 mM NaCl, 12 mM MgCl₂, 1 mM DTT, 0,05 % NP-40)
- Substrat [PI-160] (RII Phosphopeptid, Asp-Leu-Asp-Val-Pro-Ile-Pro-Gly-Arg-Phe-Asp-Arg-Val-pSer-Val-Ala-Ala-Glu)
- dH₂O (destilliertes Wasser)
- Positivkontrolle [SE163-9090]
- Biomol Green Reagenz [AK111-9090]
- Phosphat Standard [KI-132]

Alle Versuchsbestandteile, außer dem Biomol Green Reagenz wurden in ein Eisbad gelegt. Calmodulin, welches eine entscheidende Rolle bei der Aktivierung der Calcineurin-Phosphatase spielt, wurde im Verhältnis 1:50 dem Versuchspuffer hinzugegeben. RII-

Phosphopeptid [PI- 160], von welchem ein Phosphatrest abgespalten werden sollte, wurde durch Zugabe von dH₂O in einer Konzentration von 0,75 mM vorbereitet. Für die Erstellung einer Phosphat- Standardkurve (photometrisch gemessene optische Dichte versus Phosphatmenge) wurde eine schrittweise Verdünnung des Phosphat Standard [KI- 132], dessen Ausgangsstoffmenge 4 nmol betrug, mit dem Versuchspuffer durchgeführt. Zusätzlich zu den entsprechenden Patientenproben wurde parallel eine positive Kontrolle durchgeführt.

Zunächst wurden 10 µl destilliertes Wasser in die entsprechenden Kavitäten der Mikrotiterplatte pipettiert. Anschließend wurden 25 µl Versuchspuffer hinzugegeben. Zu jeder Probe wurden 10 µl Substrat [PI- 160], von dem Calcineurin das Phosphat abspaltet, pipettiert. Nach einer 10 minütigen Inkubation bei 30°C wurde der Calcineurin- Assay durch Zugabe der vorbereiteten Patientenproben bzw. der Positivkontrolle gestartet und bei 30°C für 30 Minuten inkubiert. Während dieser Inkubationszeit fand die Abspaltung des Phosphats durch die Calcineurin- Phosphatase statt. Zum Nachweis des abgespaltenen Phosphats wurden nach der Inkubation 100 µl Biomol Green Reagenz Ak 111-9090 in alle Kavitäten einschließlich der Phosphat- Standard- Kurven gegeben.

Nach 25 min konnten die Extinktionen in dem Mikrotiterplatten- Lesegerät bei 620 nm gemessen werden.

Datenanalyse

Die bei 620 nm gemessenen Extinktionen (OD 620 nm) wurden gegen die entsprechenden Phosphatkonzentrationen (Phosphat- Standardkurve) aufgetragen.

Es wurde eine Regressionsgerade eingezeichnet und aus dem Anstieg und dem Schnittpunkt mit der y- Achse die Geradengleichung errechnet.

Anhand dieser Gleichung konnte die Stoffmenge des freien Phosphats (nmol) berechnet werden:

$$\text{Phosphat} = (\text{OD } 620 \text{ nm} - \text{Schnittpunkt}) / \text{Anstieg}$$

4.2.5 Auswertung der Messergebnisse

Die Fläche unter der Konzentrations- Zeit- Kurve (AUC_{0-6}) von Ciclosporin und Mycophenolatmofetil wurde anhand der Trapez- Regel berechnet.

$$AUC_{0-1} = (T_1 - T_0) \times (C_0 + C_1) / 2$$

T = Zeitpunkt der Blutabnahme

C = Konzentration der Immunsuppressiva zu den entsprechenden Zeitpunkten

Die AUC_{0-6} bzw. AUC_{0-4} wurde durch die Summe der einzelnen Flächen ermittelt (Trapez- AUC).

Demgegenüber steht die, durch Einsetzen der Einzelzeitmesswerte in eine Regressionsgleichung, berechnete AUC_{0-6} bzw. AUC_{0-4} .

Die Berechnung der Körperoberfläche erfolgte nach der Formel von DuBois und DuBois (1916):

$$KOF = \sqrt{(\text{Körperlänge} \times \text{Körpergewicht} / 3600)} \text{ (m}^2\text{)}$$

Die Kreatinin- Clearance wurde nach der Formel von Schwartz berechnet (Schwartz et al. 1987).

$$\text{Kreatinin- Clearance} = \text{Körperlänge (cm)} \times k / \text{Serum- Kreatinin } (\mu\text{mol/l})$$

Die Variable k ist abhängig von Alter und Geschlecht. Sie beträgt für Neugeborene mit zu niedrigem Geburtsgewicht bis 1 Jahr 29, für normalgewichtige Neugeborene bis 1 Jahr 40 und für Kinder zwischen 2 und 12 Jahren 48. Bei Mädchen zwischen 13 und 21 Jahren wird ein k von 48 eingefügt und bei Jungen dieser Altersgruppe ein k von 62.

Statistik

Die statistische Datenanalyse erfolgte mit Hilfe des Programms SPSS (Version 11.5).

Zur Ermittlung der interindividuellen Variabilität diente der Variationskoeffizient, welcher auf unterschiedlichem Niveau dimensionslos ist und sich aus dem Verhältnis der Standardabweichung zum Mittelwert berechnet. Ergebnisse wurden auf dem Niveau von $p= 0,05$ als signifikant angesehen. Zur Anwendung kamen der t- Test für gepaarte Stichproben, um signifikante Unterschiede zwischen den einzelnen Profilen nachzuweisen sowie der t- Test für unabhängige Stichproben, um signifikante Unterschiede zwischen Patienten und Kontrollprobanden zu ermitteln. Normalverteilung der Werte wurde mit dem Kolmogorov- Smirnov- Test geprüft. Die Ermittlung der Regression sowohl zwischen den Einzelkonzentrationen und der AUC_{0-6} als auch der AUC_{0-4} sowie das Erstellen der Regressionsgleichungen wurde durch eine lineare Regressionsanalyse vorgenommen. Die Korrelationskoeffizienten wurden nach Pearson berechnet.

5. Ergebnisse

5.1 Ciclosporin A

5.1.1 Ciclosporin: Profil 1

Tab. 6 zeigt die CyA- Konzentrationen des ersten Profils für C_0 , C_1 , C_2 , C_3 , C_4 , C_6 , C_{\max} und die Ciclosporin- Tagesdosis (mg/kg und mg/m² Körperoberfläche). Der höchste Variationskoeffizient wurde bei C_1 ermittelt, woraus ersichtlich wird, dass die größte interindividuelle Variabilität in der ersten Stunde nach Medikamenteneinnahme aufgetreten ist. Der Median der Ciclosporinkonzentrationen vor Einnahme der immunsuppressiven Medikamente betrug 107 ng/ml, eine Stunde nach Medikamenteneinnahme 698 ng/ml und zwei Stunden nach Einnahme 685 ng/ml. Bei 4 Patienten wurden C_2 - Blutkonzentrationen über 800 ng/ml erreicht. Sechs Stunden nach Medikamenteneinnahme war die Konzentration auf 219 ng/ml gesunken, lag damit aber noch über der Ciclosporin- Konzentration vor der Einnahme. Im ersten Profil wurden Maximalkonzentrationen von 792 ng/ml gemessen. Die Zeit bis zum Erreichen der maximalen Ciclosporinkonzentration (T_{\max}) lag im Mittel bei $1,6 \pm 0,6$ Stunden. C_{\max} wurde während der ersten Stunde in 46% der Messungen erreicht, in der zweiten Stunde ebenfalls in 46% und in der dritten Stunde in 8% der Fälle. Die Ciclosporin- Tagesdosis betrug 3,9 mg/kg bzw. 125 mg/m² KOF.

Die individuelle Ciclosporin- Tagesdosis wird aus Tab. 34 (siehe Anhang) ersichtlich.

Tab. 6: CyA- Konzentrationen (ng/ml) und Tagesdosis (mg/kg bzw. mg/m² KOF)

	n	Median	Minimum	Maximum	Mittelwert	SD	Vk (%)
C_0 (ng/ml)	13	107	56	221	118	44,3	37,5
C_1 (ng/ml)	13	698	346	1427	761	341,1	44,8
C_2 (ng/ml)	13	685	341	1150	731	255,1	34,9
C_3 (ng/ml)	13	482	270	730	477	129,2	27,1
C_4 (ng/ml)	13	349	194	654	349	123,3	35,3
C_6 (ng/ml)	13	219	168	500	241	82,4	34,2
C_{\max} (ng/ml)	13	792	540	1427	864	282,4	32,7
Dosis (mg/kg)	13	3,9	2,7	6,2	4,0	1,2	30,0
Dosis (mg/m ²)	13	125	105	200	142	31,7	22,3

In Abb. 3 sind die Mittelwerte und Standardabweichungen der CyA- Konzentrationen des ersten Profils abgetragen.

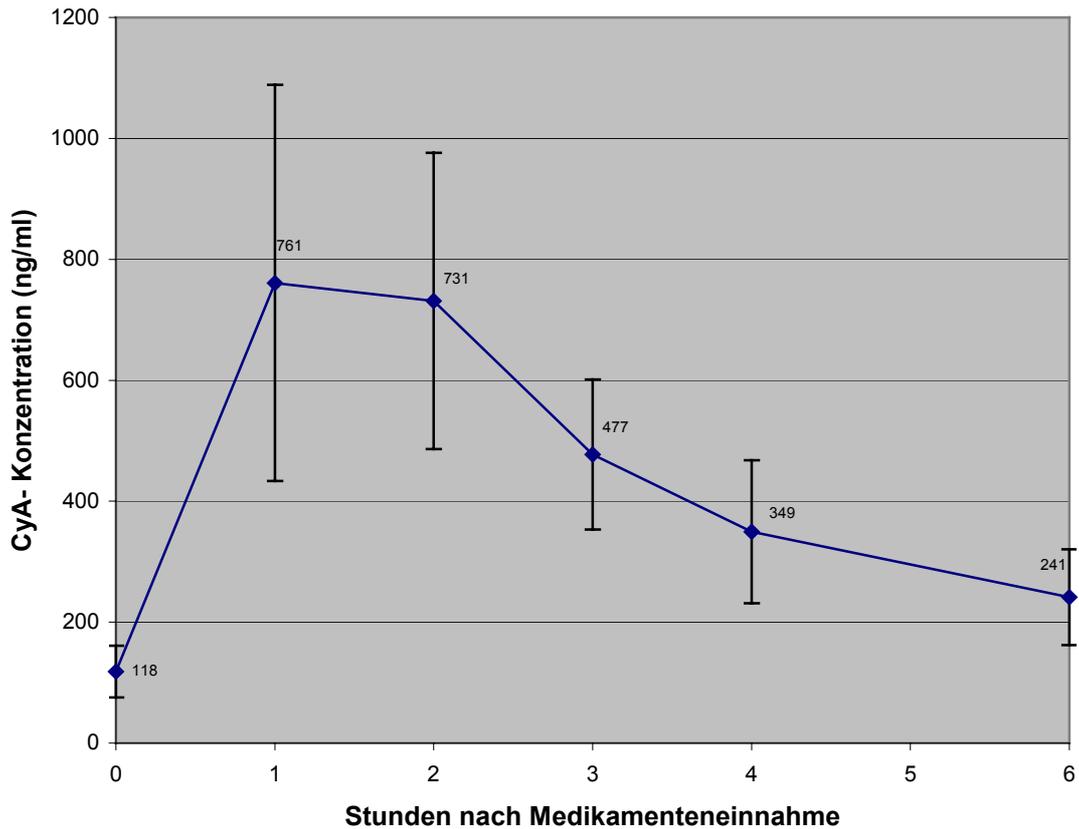


Abb. 3: Mittelwerte und SD der CyA- Konzentrationen (ng/ml): Profil 1

Der Mittelwert der Ciclosporin- Konzentrationen betrug für C_0 $118 \pm 44,3$ ng/ml. Eine Stunde nach Medikamenteneinnahme wurde eine Konzentration von $761 \pm 341,1$ ng/ml gemessen. Die C_2 - Konzentration betrug $731 \pm 255,1$ ng/ml.

Abb. 4 zeigt die Ciclosporin- Konzentrationen der einzelnen Patienten zu den Zeitpunkten C_0 - C_6 . Es wird deutlich, dass die größte interindividuelle Variabilität zum Zeitpunkt C_1 , somit innerhalb der ersten 4 Stunden aufgetreten ist.

Die Werte der individuellen Ciclosporin- Konzentrationen sind in Tab. 35 (siehe Anhang) ersichtlich.

Bei einem Patienten (G.N.) zeigte sich ein relativ langsamer Anstieg der Ciclosporin- Konzentration. Die maximale Konzentration wurde erst drei Stunden nach Medikamenteneinnahme gemessen.

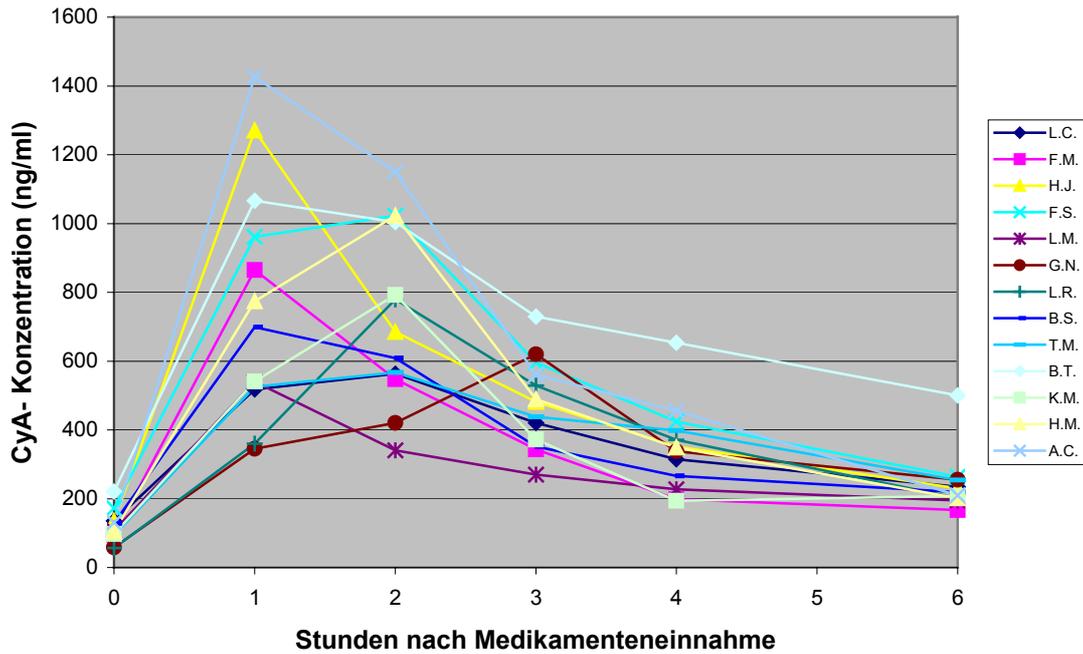


Abb. 4: Individuelle Ciclosporin- Konzentrationen (ng/ml): Profil 1

In Tab. 7 sind die Flächen unter den Konzentrations- Zeit- Kurven bis 6 Stunden bzw. bis 4 Stunden nach Einnahme des CyA dargestellt (AUC_{0-6} bzw. AUC_{0-4}).

Tab. 7: AUC_{0-6} und AUC_{0-4} (ng*h/ml)

AUC (ng*h/ml)	Median	Minimum	Maximum	Mittelwert	SD
AUC_{0-6}	2429	1739	4391	2794	780,3
AUC_{0-4}	1882	1317	3431	2203	642,6

Im folgenden Teil der Arbeit wurden die Regressionen der jeweiligen Ciclosporin-Konzentration mit der AUC durchgeführt, um diejenige Konzentration zu ermitteln, welche die höchste Regression besitzt und damit als einzelne Variable die beste Bezugsgröße hinsichtlich der CyA- Exposition darstellt.

Die Abb. 5 bis 10 zeigen die Streudiagramme und das Bestimmtheitsmaß der Regressionen der einzelnen Ciclosporinkonzentrationen C_0 , C_1 , C_2 , C_3 , C_4 und C_6 mit der Trapez- AUC_{0-6} des ersten Profils. R-Qu. steht dabei für das Bestimmtheitsmaß r^2 .

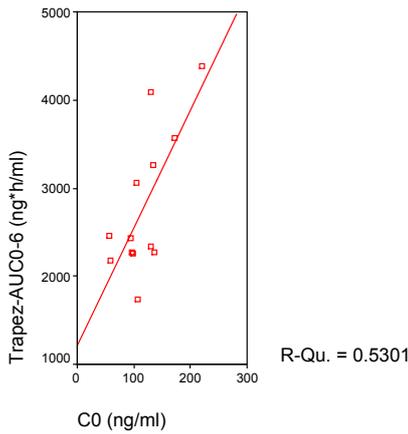


Abb. 5: Regression C_0 mit AUC_{0-6}

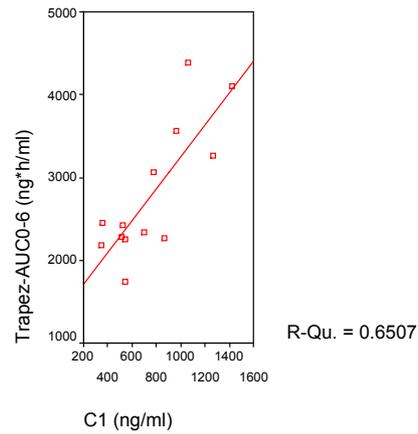


Abb. 6: Regression C_1 mit AUC_{0-6}

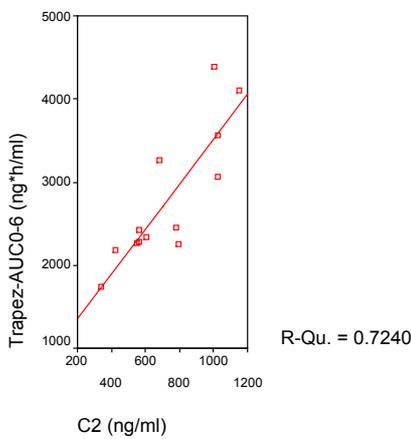


Abb. 7: Regression C_2 mit AUC_{0-6}

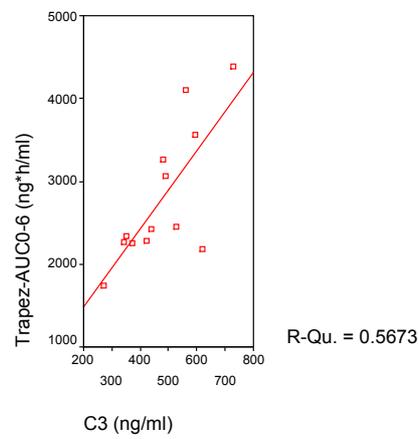


Abb. 8: Regression C_3 mit AUC_{0-6}

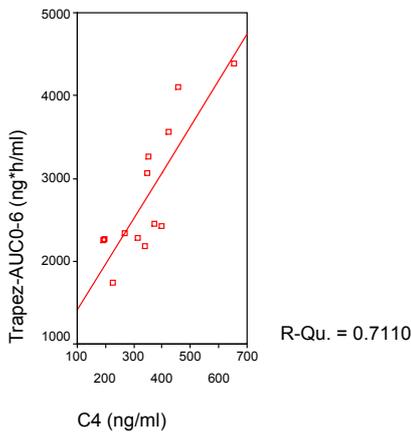


Abb. 9: Regression C_4 mit AUC_{0-6}

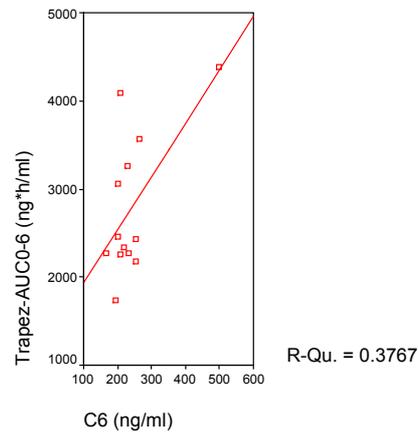


Abb. 10: Regression C_6 mit AUC_{0-6}

Die r^2 der Abb. 5- 10 sind identisch mit denen in Tabelle 8, da in beiden Fällen die Regression der Einzelvariablen C_0 bis C_6 mit der AUC_{0-6} dargestellt sind.

Tab. 8 zeigt zusätzlich die Regressionsgleichungen für die Berechnung der AUC_{0-6} anhand der einzelnen Variablen C_0 , C_1 , C_2 , C_3 , C_4 und C_6 bzw. zwei oder drei Variablen. Diese Regressionsgleichungen sollen dazu dienen, die AUC möglichst genau berechnen zu

können, ohne ein komplettes Profil durchführen zu müssen und die AUC anhand der Trapez- Formel zu berechnen. Je mehr Variablen in die Regressionsgleichung eingeschlossen werden, desto höher liegt folglich die Regression mit der AUC_{0-6} . Dies muss hinsichtlich der klinischen Praktikabilität diskutiert werden.

Als einzelne Variable zeigte dabei C_2 mit einem Bestimmtheitsmaß von 0,72 ($p < 0,001$) die beste Regression mit der Trapez- AUC_{0-6} . Somit konnte anhand der Gleichung $AUC = 813,5 + 2,709 \times C_2$ die AUC_{0-6} (ng*h/ml) berechnet werden. Die auf diese Weise berechnete AUC_{0-6} zeigte mit derjenigen AUC_{0-6} , welche nach der Trapez- Formel berechnet wurde, eine Regression von $r^2 = 0,72$. Die Regressionen der einzelnen Variablen C_0 , C_1 , C_3 , C_4 und C_6 waren ebenfalls signifikant, besaßen aber niedrigere r^2 als die einzelne Konzentration C_2 .

Tab. 8: AUC_{0-6} Regressionsgleichungen

Variable (ng/ml)	Regressionsgleichung (ng*h/ml)	r^2
C_0	$AUC = 1215 + 13,34 \times C_0$	0,53
C_1	$AUC = 1332 + 1,920 \times C_1$	0,65
C_2	$AUC = 813,5 + 2,709 \times C_2$	0,72
C_3	$AUC = 534,3 + 4,735 \times C_3$	0,57
C_4	$AUC = 853,1 + 5,554 \times C_4$	0,71
C_6	$AUC = 1332 + 6,052 \times C_6$	0,38
C_2, C_0	$AUC = 401,2 + 2,068 \times C_2 + 7,449 \times C_0$	0,85
C_2, C_1	$AUC = 650,8 + 1,812 \times C_2 + 1,075 \times C_1$	0,85
C_2, C_4	$AUC = 349,2 + 1,712 \times C_2 + 3,415 \times C_4$	0,9
C_2, C_4, C_1	$AUC = 243,1 + 1,000 \times C_2 + 3,137 \times C_4 + 0,951 \times C_1$	0,99

Abb. 11 zeigt die Regression der berechneten AUC_{0-6} anhand der einzelnen Variable C_2 mit der AUC_{0-6} nach der Trapezoidmethode während des ersten Profils.

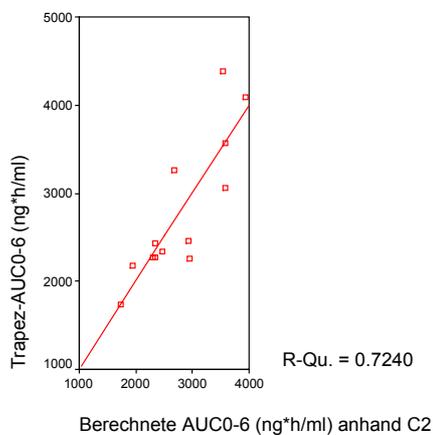


Abb. 11: Regression zwischen der berechneten AUC_{0-6} anhand C_2 und der Trapez- AUC_{0-6}

Tab. 9 zeigt die Regressionsgleichungen für die Berechnung der AUC_{0-4} . Analog zu den Regressionsgleichungen für die Berechnung der AUC_{0-6} lag die höchste Regression mit der Trapez- AUC_{0-4} bei der einzelnen Variablen C_2 . Die AUC_{0-4} (ng*h/ml) kann anhand der Gleichung $AUC = 508,9 + 2,317 \times C_2$ mit einer Regression von $r^2 = 0,78$ berechnet werden.

Tab. 9: AUC_{0-4} Regressionsgleichungen

Variable (ng/ml)	Regressionsgleichung (ng*h/ml)	r^2
C_0	$AUC = 990,9 + 10,25 \times C_0$	0,46
C_1	$AUC = 905,5 + 1,705 \times C_1$	0,76
C_2	$AUC = 508,9 + 2,317 \times C_2$	0,78
C_3	$AUC = 554,6 + 3,455 \times C_3$	0,45
C_4	$AUC = 805,0 + 4,002 \times C_4$	0,55
C_6	$AUC = 1282 + 3,815 \times C_6$	0,22
C_2, C_0	$AUC = 241,8 + 1,902 \times C_2 + 4,823 \times C_0$	0,86
C_2, C_1	$AUC = 354,2 + 1,465 \times C_2 + 1,022 \times C_1$	0,95

Während des ersten Profils zeigten sich keine signifikanten Korrelationen zwischen der Ciclosporin- Konzentration und der Kreatinin- Konzentration.

In Tab. 10 wird ersichtlich, dass sich während des ersten Profils signifikante positive Korrelationen sowohl zwischen der Ciclosporin- Konzentration nach 4 Stunden als auch zwischen der AUC_{0-6} und der applizierten Ciclosporin- Tagesdosis in mg/m^2 KOF zeigten.

Tab. 10: Korrelation der CyA- Tagesdosis mit $C_0 - C_6$ (ng/ml), AUC_{0-6} (ng*h/ml)

	Dosis (mg/kg)		Dosis (mg/m^2 KOF)	
	r	p	r	p
C_0 (ng/ml)	0,01	0,98	0,16	0,59
C_1 (ng/ml)	0,49	0,09	0,35	0,24
C_2 (ng/ml)	0,48	0,1	0,51	0,07
C_3 (ng/ml)	0,29	0,35	0,5	0,09
C_4 (ng/ml)	0,33	0,28	0,57	0,04
C_6 (ng/ml)	0,04	0,9	0,37	0,21
AUC_{0-6} (ng*h/ml)	0,48	0,1	0,56	0,05

Tab. 11: Korrelation der Ciclosporin- Konzentration (ng/ml) mit der Zeit nach Tx in Monaten

	r	p
C ₀ (ng/ml)	-0,63	0,02
C ₁ (ng/ml)	-0,61	0,03
C ₂ (ng/ml)	-0,74	0,004
C ₃ (ng/ml)	-0,41	0,17
C ₄ (ng/ml)	-0,42	0,16
C ₆ (ng/ml)	-0,34	0,26

Tab. 11 veranschaulicht, dass während des ersten Profils signifikante negative Korrelationen zwischen der Ciclosporin-Konzentration C₀, C₁ und C₂ mit der Zeit nach der Nierentransplantation in Monaten nachgewiesen werden konnten. Das bedeutet, dass die Ciclosporin- Konzentration abnahm, je länger die Transplantation zurücklag.

5.2.2 Ciclosporin: Profil 2

Tab. 12 zeigt die CyA- Konzentrationen und die Ciclosporin- Tagesdosis (mg/kg bzw. mg/m² KOF). Der höchste Variationskoeffizient wurde mit 34,4 % bei C₃ ermittelt, woraus ersichtlich wird, dass im zweiten Profil die größte interindividuelle Variabilität in der dritten Stunde nach Medikamenteneinnahme aufgetreten ist, während sie im ersten Profil in der ersten Stunde aufgetreten war. Der Median der Ciclosporin- Konzentrationen lag unmittelbar vor der Einnahme (C₀) der Immunsuppressiva bei 121 ng/ml. Eine Stunde nach der Einnahme (C₁) war die Konzentration im Blut auf 820 ng/ml angestiegen. Zwei Stunden nach der Einnahme (C₂) war bereits ein leichter Rückgang auf 749 ng/ml zu verzeichnen. Bei 3 von 4 Patienten, deren C₂- Blutkonzentrationen bereits im ersten Profil über 800 ng/ml lagen, wurden auch im zweiten Profil Werte über 800 ng/ml erreicht. Im zweiten Profil wurden Maximalwerte der Ciclosporinkonzentration zwischen 442 und 1192 ng/ml erreicht. Im Gegensatz zum ersten Profil, in dem die maximale CyA-Konzentration nach 1,6 Stunden erreicht wurde, war im zweiten Profil die höchste Konzentration bereits nach 1,3 ± 0,5 Stunden erreicht. C_{max} wurde in der ersten Stunde in 67% der Messungen erreicht und in der zweiten Stunde in 33%. Der Median der CyA-Tagesdosen betrug 3,7 mg/kg bzw. 122 mg/m² Körperoberfläche.

In Tab. 36 (siehe Anhang) wird die individuelle Ciclosporin- Dosierung der einzelnen Patienten ersichtlich.

Tab. 12: CyA- Konzentrationen (ng/ml) und Tagesdosis (mg/kg bzw. mg/m² KOF)

	n	Median	Minimum	Maximum	Mittelwert	SD	Vk (%)
C ₀ (ng/ml)	12	121	71	189	125	40,3	32,2
C ₁ (ng/ml)	12	820	442	1126	825	249,4	30,2
C ₂ (ng/ml)	12	749	388	1192	773	233,6	30,2
C ₃ (ng/ml)	12	424	204	776	459	157,7	34,4
C ₄ (ng/ml)	12	303	163	454	323	88,9	27,5
C ₆ (ng/ml)	12	208	159	380	226	62,7	27,7
C _{max} (ng/ml)	12	885	442	1192	902	241,7	26,8
Dosis (mg/kg)	12	3,7	2,6	6,2	3,9	1,1	28,2
Dosis (mg/m ²)	12	122	103	191	137	32,3	23,6

In Abb. 12 ist die Kurve der Mittelwerte der CyA- Konzentrationen und die Standardabweichung während des zweiten Profils dargestellt.

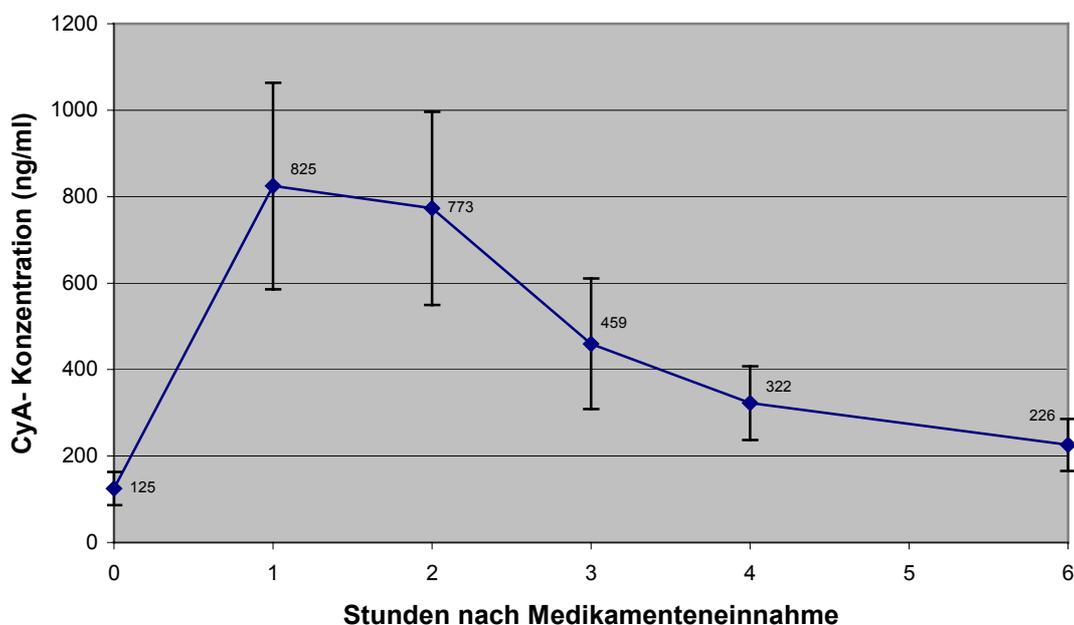


Abb. 12: Mittelwerte und SD der CyA- Konzentrationen (ng/ml): Profil 2

Unmittelbar vor Einnahme der Immunsuppressiva wurde eine Konzentration von im Mittel $125 \pm 25,3$ ng/ml gemessen. Die höchste Konzentration wurde bereits nach einer Stunde mit $825 \pm 249,4$ ng/ml erreicht. Die C₂- Konzentration zeigte gegenüber C₁ einen leichten Rückgang auf $773 \pm 233,6$ ng/ml und nach sechs Stunden lag die CyA- Konzentration bei $226 \pm 62,7$ ng/ml.

Abb. 13 zeigt die Kurve der individuellen Ciclosporin- Konzentrationen zu den entsprechenden Zeitpunkten nach der Medikamenteneinnahme.

Die Werte der individuellen CyA- Konzentrationen sind in der Tab. 37 (siehe Anhang) ersichtlich.

Die größte interindividuelle Variabilität ergab sich bei C₃, somit analog zum ersten Profil innerhalb der ersten vier Stunden nach der Einnahme.

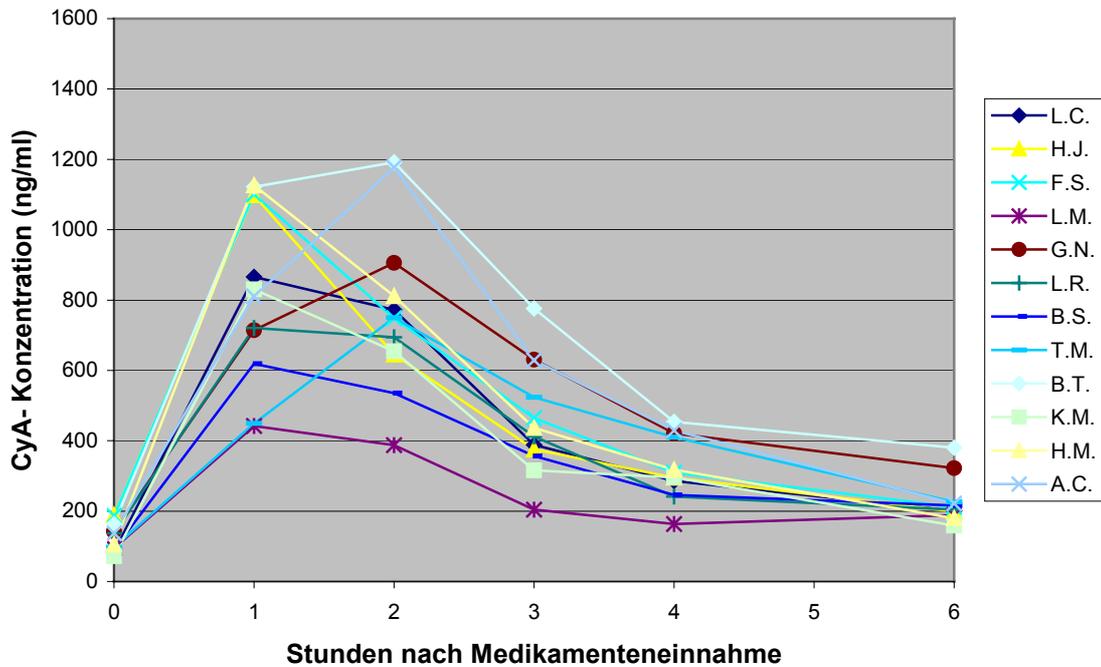


Abb. 13: Ciclosporin- Konzentrationen (ng/ml): Profil 2

Tab. 13 gibt einen Überblick über Median und Mittelwert der AUC₀₋₆ und AUC₀₋₄ während des zweiten Profils.

Tab. 13: AUC₀₋₆ und AUC₀₋₄ (ng*h/ml)

AUC (ng*h/ml)	Median	Minimum	Maximum	Mittelwert	SD
AUC ₀₋₆	2776	1515	4232	2829	668,8
AUC ₀₋₄	2286	1163	3398	2281	558,3

Die Abb. 14 bis 19 zeigen die Streudiagramme und das Bestimmtheitsmaß der Regressionen der einzelnen Ciclosporinkonzentration C_0 , C_1 , C_2 , C_3 , C_4 und C_6 mit der Trapez- AUC_{0-6} des zweiten Profils.

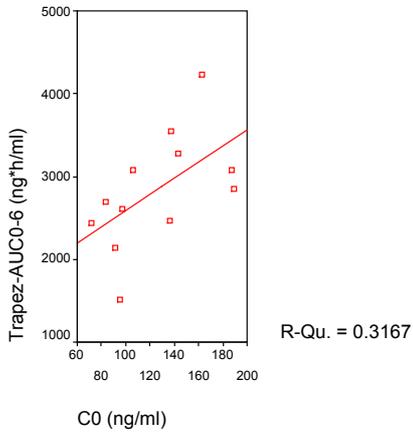


Abb. 14: Regression C_0 mit AUC_{0-6}

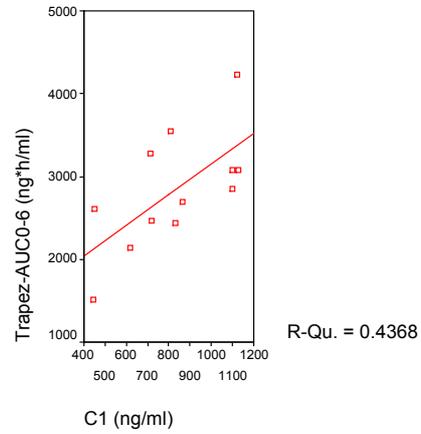


Abb. 15: Regression C_1 mit AUC_{0-6}

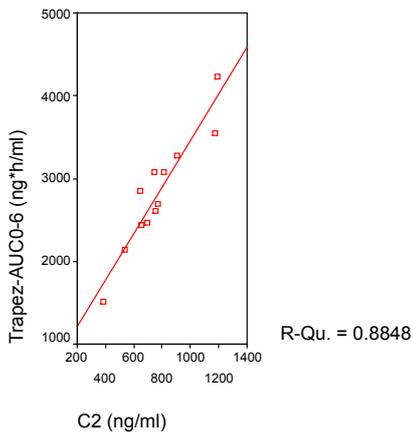


Abb. 16: Regression C_2 mit AUC_{0-6}

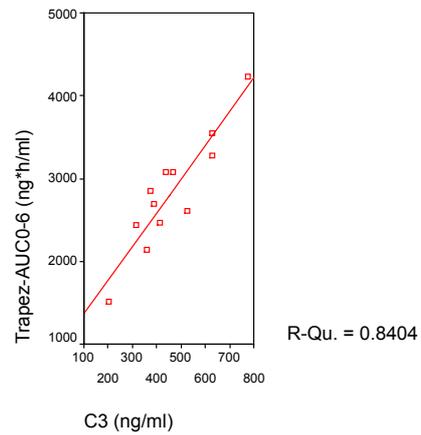


Abb. 17: Regression C_3 mit AUC_{0-6}

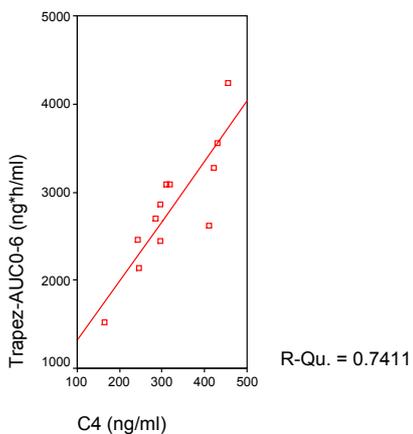


Abb. 18: Regression C_4 mit AUC_{0-6}

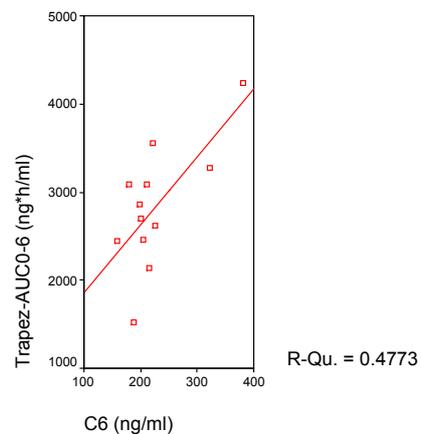


Abb. 19: Regression C_6 mit AUC_{0-6}

Tab. 14 zeigt die Regressionsgleichungen für die Berechnung der AUC_{0-6} anhand der einzelnen sowie zwei oder drei Variablen.

Als einzelne Variable zeigte wie im ersten Profil C_2 die beste Regression ($r^2 = 0,89$; $p < 0,001$) mit der Trapez- AUC_{0-6} . Somit konnte die AUC_{0-6} (ng*h/ml) durch die Gleichung $AUC = 655,0 + 2,813 \times C_2$ berechnet werden. Die Regression der berechneten AUC_{0-6} mit der Trapez- AUC_{0-6} lag bei $r^2 = 0,89$.

Tab. 14: AUC_{0-6} Regressionsgleichungen

Variable (ng/ml)	Regressionsgleichung (ng*h/ml)	r^2
C_0	$AUC = 1608 + 9,765 \times C_0$	0,32
C_1	$AUC = 1302 + 1,851 \times C_1$	0,44
C_2	$AUC = 655,0 + 2,813 \times C_2$	0,89
C_3	$AUC = 963,4 + 4,060 \times C_3$	0,84
C_4	$AUC = 647,1 + 6,766 \times C_4$	0,74
C_6	$AUC = 1091 + 7,700 \times C_6$	0,48
C_2, C_0	$AUC = 335,9 + 2,539 \times C_2 + 4,249 \times C_0$	0,94
C_2, C_1	$AUC = 271,6 + 2,411 \times C_2 + 0,841 \times C_1$	0,96
C_2, C_1, C_3	$AUC = 250,6 + 0,804 \times C_2 + 1,015 \times C_1 + 2,437 \times C_3$	0,98

Abb. 20 zeigt die Regression der berechneten AUC_{0-6} anhand der Variablen C_2 mit der AUC_{0-6} nach der Trapezoidmethode während des zweiten Profils.

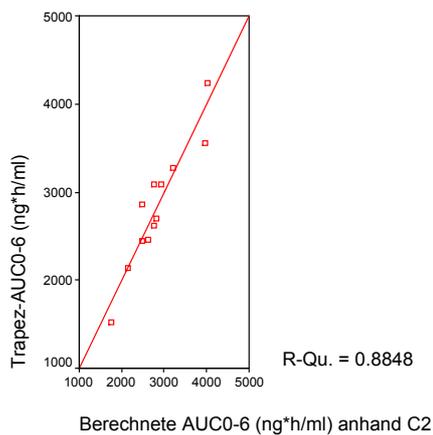


Abb. 20: Regression zwischen der berechneten AUC_{0-6} anhand C_2 und der Trapez- AUC_{0-6}

Analog zum ersten Profil konnte eine Regressionsgleichung ermittelt werden, mit der sich anhand der Variablen C_2 die AUC_{0-4} mit einem Bestimmtheitsmaß von $r^2 = 0,85$ berechnen ließ.

Tab. 15: AUC₀₋₄ Regressionsgleichungen

Variable (ng/ml)	Regressionsgleichung (ng*h/ml)	r ²
C ₀	AUC= 1230 + 8,408xC ₀	0,34
C ₁	AUC= 864,2 + 1,717xC ₁	0,54
C ₂	AUC= 500,6 + 2,303xC ₂	0,85
C ₃	AUC= 808,2 + 3,205xC ₃	0,75
C ₄	AUC= 575,3 + 5,289xC ₄	0,65
C ₆	AUC= 985,2 + 5,740xC ₆	0,38
C ₂ , C ₀	AUC= 203,4 + 2,048xC ₂ + 3,958xC ₀	0,92
C ₂ , C ₁	AUC= 71,72 + 1,854xC ₂ + 0,941xC ₁	0,98

Während des zweiten Profils konnte keine signifikante Korrelation zwischen der CyA-Konzentration und der Kreatinin- Konzentration ermittelt werden.

Während des zweiten Profils zeigte der C₂- Wert sowohl mit der Dosis in mg/kg als auch mit der Dosis in mg/m² signifikante positive Korrelationen (Tab. 16). Es ergaben sich auch signifikante Korrelationen zwischen der C₃- und der C₄- CyA- Konzentration und der AUC₀₋₆ mit der applizierten Tagesdosis in mg/m² KOF.

Tab. 16: Korrelation CyA- Tagesdosis mit C₀ – C₆ (ng/ml) und AUC₀₋₆ (ng*h/ml)

	Dosis (mg/kg)		Dosis (mg/m ² KOF)	
	r	p	r	p
C ₀ (ng/ml)	0,02	0,94	0,00	0,99
C ₁ (ng/ml)	0,15	0,65	0,13	0,68
C ₂ (ng/ml)	0,65	0,02	0,77	0,001
C ₃ (ng/ml)	0,53	0,08	0,70	0,01
C ₄ (ng/ml)	0,69	0,01	0,77	0,001
C ₆ (ng/ml)	0,14	0,67	0,39	0,21
AUC ₀₋₆ (ng*h/ml)	0,53	0,07	0,64	0,02

Tab. 17: Korrelation der Ciclosporin- Konzentration (ng/ml) mit der Zeit nach Tx in Monaten

	r	p
C ₀ (ng/ml)	-0,44	0,15
C ₁ (ng/ml)	-0,79	0,01
C ₂ (ng/ml)	-0,31	0,33
C ₃ (ng/ml)	-0,16	0,63
C ₄ (ng/ml)	-0,01	0,99
C ₆ (ng/ml)	-0,08	0,82

Während des zweiten Profils zeigte sich eine signifikante negative Korrelation zwischen der C₁- Konzentration und der Zeit nach der Tx in Monaten (Tab. 17).

5.1.3 Vergleich des ersten und zweiten Profils

Sowohl während des ersten als auch während des zweiten Profils zeigte sich die größte interindividuelle Variabilität während der ersten vier Stunden nach Einnahme der immunsuppressiven Medikamente (Tab. 18). Allerdings ergab sich im ersten Profil die größte Variabilität der Ciclosporin- Konzentrationen mit einem Variationskoeffizienten (Vk) von 44,8 bereits nach einer Stunde, während im zweiten Profil die CyA- Konzentrationen drei Stunden nach Einnahme die größte interindividuelle Variabilität (Vk= 34,4) aufgewiesen haben.

Zwischen den maximalen CyA- Konzentrationen wurden keine signifikanten Unterschiede ermittelt ($p= 0,47$). Im Gegensatz zum ersten Profil ($T_{\max}= 1,6 \pm 0,6$ h) wurde im zweiten Profil die maximale CyA- Konzentration bereits nach $1,3 \pm 0,5$ h erreicht.

Hinsichtlich der Ciclosporin- Tagesdosis (mg/kg bzw. mg/m^2 KOF) gab es zwischen Profil 1 und Profil 2 (Tab. 18) keine signifikanten Unterschiede ($p= 0,19$ bzw. $p= 0,09$).

Tab. 18: CyA- Konzentration (ng/ml) und CyA- Tagesdosis (mg/kg, mg/m^2 KOF)

	Profil 1			Profil 2		
	Median (min-max)	Mittelwert \pm SD	Vk (%)	Median (min-max)	Mittelwert \pm SD	Vk (%)
C ₀ (ng/ml)	107 (56-221)	118 \pm 44,3	37,5	121 (71-189)	125 \pm 40,3	32,3
C ₁ (ng/ml)	698 (346-1427)	761 \pm 341,1	44,8	820 (442-1126)	825 \pm 249,4	30,2
C ₂ (ng/ml)	685 (341-1150)	731 \pm 255,1	34,9	749 (388-1192)	773 \pm 233,6	30,2
C ₃ (ng/ml)	482 (270-730)	477 \pm 129,2	27,1	424 (204-776)	459 \pm 157,7	34,4
C ₄ (ng/ml)	349 (194-654)	349 \pm 123,3	35,3	303 (163-454)	323 \pm 88,9	27,5
C ₆ (ng/ml)	219 (168-500)	241 \pm 82,4	34,2	208 (159-380)	226 \pm 62,7	27,7
C _{max} (ng/ml)	792 (540-1427)	864 \pm 282,4	32,7	885 (442-1192)	902 \pm 241,7	26,8
Dosis (mg/kg)	3,9 (2,7-6,2)	4,0 \pm 1,2	30,0	3,7 (2,6-6,2)	3,9 \pm 1,1	28,2
Dosis (mg/m^2)	125 (105-200)	142 \pm 31,7	22,3	122 (103-191)	137 \pm 32,3	23,6

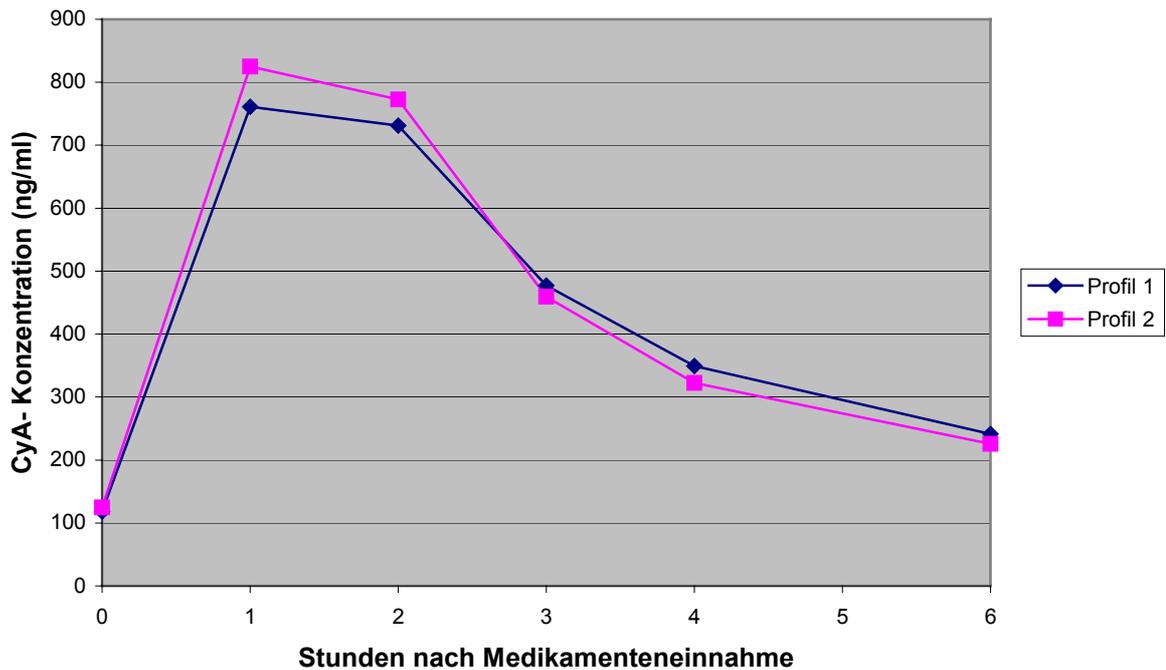


Abb. 21: Mittelwerte der CyA- Konzentrationen (ng/ml): Profil 1 und 2

Abb. 21 zeigt die Mittelwerte der CyA- Konzentration sowohl des ersten als auch des zweiten Profils. Es wird ersichtlich, dass die CyA- Konzentrationen zu den entsprechenden Zeitpunkten vor bzw. nach der Medikamenteneinnahme in beiden Profilen sehr nah zusammengelegen haben. Einen größeren, aber nicht signifikanten, Unterschied haben die Konzentrationen nach einer Stunde aufgewiesen ($p= 0,42$); so wurde in Profil 1 eine CyA- Konzentration von $761 \pm 341,1$ ng/ml gemessen, während in Profil 2 die Konzentration bei $825 \pm 249,4$ ng/ml lag.

In Tab. 19 wird ersichtlich, dass die Flächen unter den Konzentrations- Zeit- Kurven (AUC_{0-6} und AUC_{0-4}) in Profil 2 höhere Werte als in Profil 1 aufwiesen, es konnte aber kein signifikanter Unterschied zwischen beiden Profilen ermittelt werden ($p= 0,95$ bzw. $p= 0,66$).

Tab. 19: AUC_{0-6} und AUC_{0-4} (ng*h/ml)

AUC (ng*h/ml)	Profil 1		Profil 2	
	Median (min-max)	Mittelwert \pm SD	Median (min-max)	Mittelwert \pm SD
AUC_{0-6}	2429 (1739-4391)	$2794 \pm 780,3$	2776 (1515-4232)	$2829 \pm 668,8$
AUC_{0-4}	1882 (1317-3431)	$2203 \pm 642,6$	2286 (1163-3398)	$2281 \pm 558,3$

In einer linearen Regressionsanalyse zeigte sowohl Profil 1 als auch Profil 2 eine schlechte Regression zwischen C_0 und der AUC_{0-6} ($r^2= 0,53$; $p= 0,005$ vs. $r^2= 0,32$; $p= 0,057$). Demgegenüber konnte zwischen C_2 und der AUC_{0-6} im ersten Profil eine Regression von $r^2= 0,72$ ($p<0,001$) und im zweiten Profil von $r^2= 0,89$ ($p<0,001$) ermittelt werden.

Zu ähnlichen Ergebnissen hat auch die lineare Regressionsanalyse zwischen der Ciclosporin- Konzentration und der AUC_{0-4} geführt. Zwischen C_0 und der AUC_{0-4} wurde in Profil 1 eine Regression von $r^2= 0,46$ ($p= 0,011$) und in Profil 2 eine Regression von $r^2= 0,34$ ($p= 0,048$) ermittelt. Dagegen zeigte sich zwischen C_2 und der AUC_{0-4} eine Regression von $r^2= 0,78$ ($p<0,001$) in Profil 1 und eine Regression von $r^2= 0,85$ ($p<0,001$) in Profil 2.

In beiden Profilen konnte keine signifikante Korrelation zwischen der Ciclosporin- Konzentration und der Kreatinin- Konzentration ermittelt werden. Signifikante positive Korrelationen ergaben sich in beiden Profilen zwischen der applizierten CyA- Tagesdosis (mg/m^2 KOF) und der CyA- Konzentration zu verschiedenen Zeitpunkten. Weiterhin wurden in beiden Profilen auch signifikante positive Korrelationen zwischen der CyA- Dosis (mg/m^2 KOF) und der AUC_{0-6} ermittelt.

In beiden Profilen zeigten sich signifikante negative Korrelationen zwischen der Ciclosporin- Konzentration und der Zeit nach der Transplantation in Monaten.

5.2 Mycophenolatmofetil (MMF)

5.2.1 Mycophenolatmofetil: Profil 1

Tab. 20 zeigt die MMF- Konzentrationen für C_0 , C_1 , C_2 , C_3 , C_4 , C_6 , C_{max} und die Mycophenolatmofetil- Tagesdosis (mg/kg und mg/m^2 KOF). Der höchste Variationskoeffizient wurde mit 56,3 % bei C_2 ermittelt. Der Median der Mycophenolatmofetilkonzentrationen im Blut betrug vor Einnahme der Immunsuppressiva $2,2 \mu\text{g}/\text{ml}$, eine Stunde nach Medikamenteneinnahme $15,0 \mu\text{g}/\text{ml}$ und zwei Stunden nach Einnahme $9,6 \mu\text{g}/\text{ml}$. Der Median der maximalen MMF- Konzentrationen betrug $18,5 \mu\text{g}/\text{ml}$. Im ersten Profil wurde die maximale MMF- Konzentration im Mittel nach $1,1 \pm 0,3$

Stunden erreicht. Die Mycophenolat- Tagesdosis betrug 27,9 mg/kg bzw. 1053 mg/m² KOF.

Die individuelle Tagesdosis der einzelnen Patienten wird in Tab. 38 (siehe Anhang) ersichtlich.

Tab. 20: MMF- Konzentration (µg/ml) und Tagesdosis (mg/kg bzw. mg/m² KOF)

	n	Median	Minimum	Maximum	Mittelwert	SD	Vk (%)
C ₀ (µg/ml)	13	2,2	0,5	5,1	2,6	1,4	53,9
C ₁ (µg/ml)	13	15,0	10,5	27,8	17,5	5,8	33,1
C ₂ (µg/ml)	13	9,6	3,1	27,0	11,2	6,3	56,3
C ₃ (µg/ml)	13	6,0	1,9	14,6	6,4	3,4	53,1
C ₄ (µg/ml)	13	4,4	1,3	8,0	4,4	2,1	47,7
C ₆ (µg/ml)	13	3,6	0,5	6,5	3,6	1,7	47,2
C _{max} (µg/ml)	13	18,5	10,5	27,8	18,5	6,0	32,4
Dosis (mg/kg)	13	27,9	12,6	41,0	29,2	8,1	27,7
Dosis (mg/m ²)	13	1053	417	1429	1058	266	25,1

In Abb. 22 sind die Mittelwerte und die Standardabweichungen der Mycophenolatmofetilkonzentrationen des ersten Profils dargestellt.

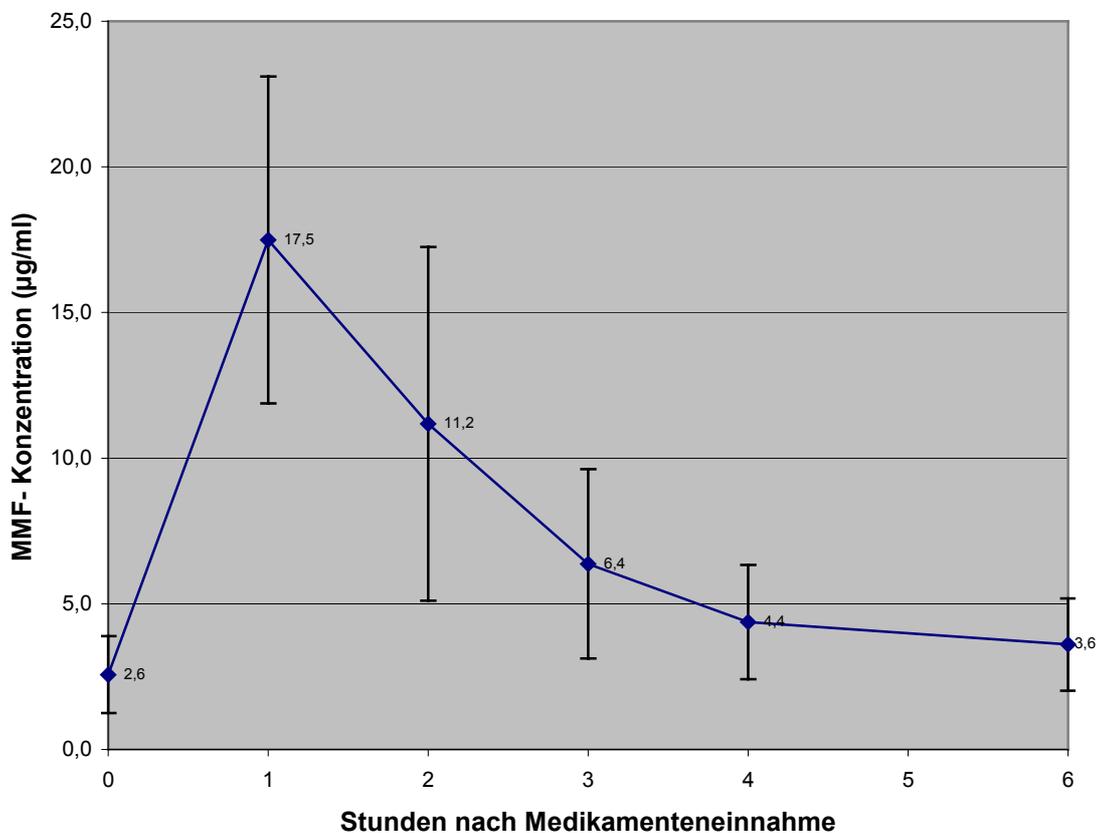


Abb. 22: Mittelwerte und SD der MMF- Konzentrationen (µg/ml): Profil 1

Der Mittelwert der Mycophenolatmofetil- Konzentrationen im Blut betrug für C_0 $2,6 \pm 1,4$ $\mu\text{g/ml}$ und für C_1 $17,5 \pm 5,8$ $\mu\text{g/ml}$. Die C_2 - Konzentration lag bei $11,2 \pm 6,3$ $\mu\text{g/ml}$ und C_6 bei $3,6 \pm 1,7$ $\mu\text{g/ml}$.

Abb. 23 zeigt die individuellen MMF- Konzentrationen der einzelnen Patienten während des ersten Profils. Die höchste interindividuelle Variabilität zeigte sich zwei Stunden nach MMF- Einnahme, somit vergleichbar zu Ciclosporin in den ersten vier Stunden nach der Medikamenteneinnahme.

Die Werte der individuellen MMF- Konzentrationen sind in Tab. 39 (siehe Anhang) ersichtlich.

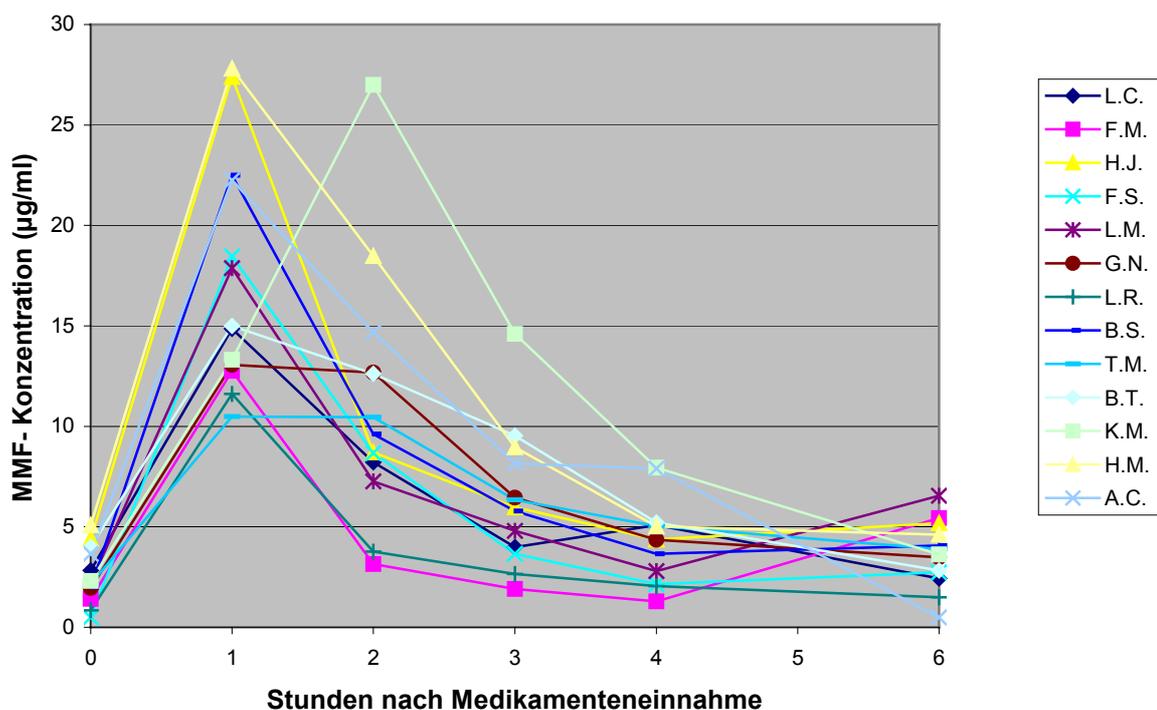


Abb. 23: Individuelle Mycophenolatmofetil- Konzentrationen ($\mu\text{g/ml}$): Profil 1

In Tab. 21 sind die AUC_{0-6} und die AUC_{0-4} dargestellt.

Tab. 21: AUC_{0-6} und AUC_{0-4} ($\mu\text{g}\cdot\text{h/ml}$)

AUC ($\mu\text{g}\cdot\text{h/ml}$)	Median	Minimum	Maximum	Mittelwert	SD
AUC_{0-6}	43,2	23,0	71,6	46,5	14,3
AUC_{0-4}	35,4	19,2	60,3	38,5	12,7

Die Abb. 24 bis 29 zeigen die Streudiagramme und das Bestimmtheitsmaß der Regressionen der einzelnen Mycophenolatmofetilkonzentrationen C_0 , C_1 , C_2 , C_3 , C_4 und C_6 mit der Trapez- AUC_{0-6} des ersten Profils.

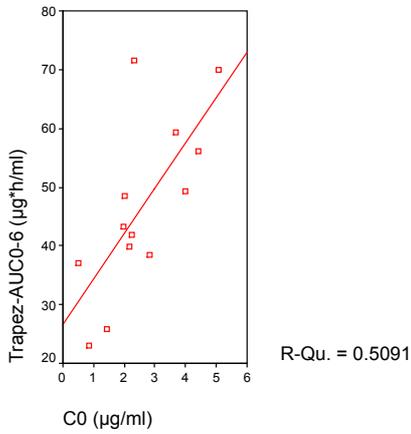


Abb. 24: Regression C_0 mit AUC_{0-6}

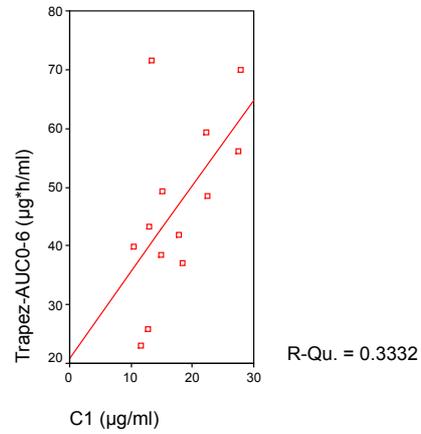


Abb. 25: Regression C_1 mit AUC_{0-6}

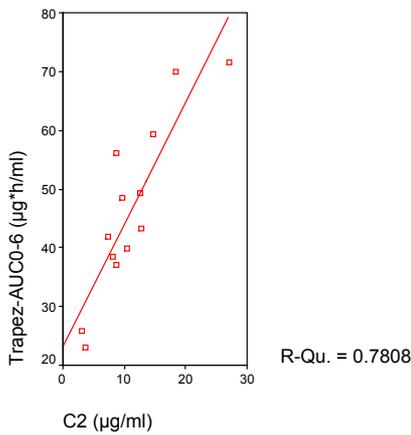


Abb. 26: Regression C_2 mit AUC_{0-6}

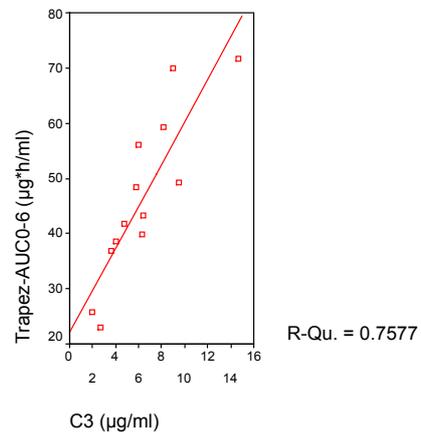


Abb. 27: Regression C_3 mit AUC_{0-6}

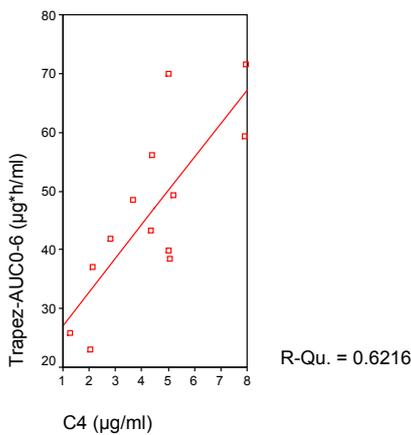


Abb. 28: Regression C_4 mit AUC_{0-6}

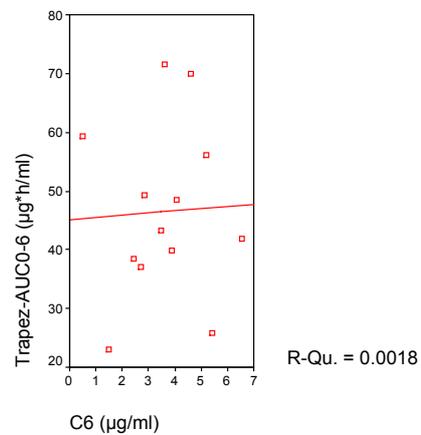


Abb. 29: Regression C_6 mit AUC_{0-6}

Tab. 22 zeigt die Regressionsgleichungen für die Berechnung der AUC_{0-6} mittels der einzelnen Variablen sowie anhand von zwei oder drei Variablen. Als einzelne Variable zeigte dabei C_2 mit einem Bestimmtheitsmaß von $r^2 = 0,78$ ($p < 0,001$) die beste Regression mit der Trapez- AUC_{0-6} . Mit Ausnahme der Variable C_6 ($p = 0,89$) waren alle einzelnen Variablen signifikant. Anhand der Regressionsgleichung $AUC = 23,21 + 2,79 \times C_2$ lässt sich somit die AUC_{0-6} ($\mu\text{g} \cdot \text{h}/\text{ml}$) bei einer Regression mit der Trapez- AUC_{0-6} von $r^2 = 0,89$ berechnen. Bei der Kombination von den beiden Variablen C_2 und C_0 bzw. C_2 und C_1 konnte eine bessere Regression mit einem Bestimmtheitsmaß von 0,92 bzw. 0,97 ermittelt werden.

Tab. 22: AUC_{0-6} Regressionsgleichungen

Variable ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	Regressionsgleichung ($\mu\text{g} \cdot \text{h}/\text{ml}$)	r^2
C_0	$AUC = 26,55 + 7,742 \times C_0$	0,51
C_1	$AUC = 20,74 + 1,469 \times C_1$	0,33
C_2	$AUC = 23,21 + 2,79 \times C_2$	0,78
C_3	$AUC = 22,07 + 3,826 \times C_3$	0,76
C_4	$AUC = 21,37 + 5,732 \times C_4$	0,62
C_6	$AUC = 45,07 + 0,383 \times C_6$	0,02
C_2, C_0	$AUC = 16,2 + 1,669 \times C_2 + 4,517 \times C_0$	0,92
C_2, C_1	$AUC = 5,484 + 1,905 \times C_2 + 1,124 \times C_1$	0,97
C_2, C_1, C_0	$AUC = 6,760 + 1,768 \times C_2 + 0,848 \times C_1 + 1,987 \times C_0$	0,99

Abb. 30 zeigt die Regression der berechneten AUC_{0-6} anhand der einzelnen Variable C_2 und der AUC_{0-6} nach der Trapezoidmethode.

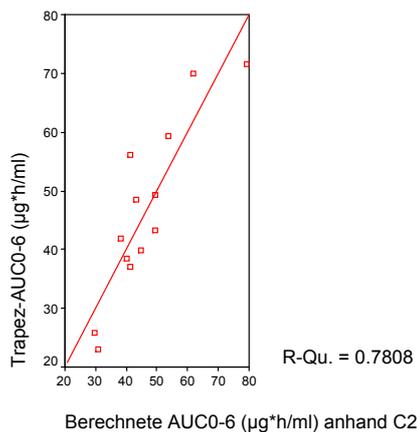


Abb. 30: Regression zwischen der berechneten AUC_{0-6} anhand C_2 und der Trapez- AUC_{0-6}

Tab. 23 zeigt die Regressionsgleichungen für die Berechnung der AUC_{0-4} . Es wird ersichtlich, dass die höchste Regression ($r^2= 0,77$) mit der Trapez- AUC_{0-4} bei Einschluss der Variable C_2 erzielt wurde.

Im ersten Profil zeigte sich eine signifikante positive Korrelation sowohl zwischen der MMF- Tagesdosis (mg/kg) mit der AUC_{0-6} ($r= 0,60$; $p= 0,03$) als auch mit der AUC_{0-4} ($r= 0,61$; $p= 0,03$). Darüber hinaus ergab sich eine signifikante Korrelation zwischen der Tagesdosis (mg/kg) und der MMF- Konzentration nach vier Stunden (C_4) ($r= 0,59$; $p= 0,03$).

Tab. 23: AUC_{0-4} Regressionsgleichungen

Variable ($\mu\text{g/ml}$)	Regressionsgleichung ($\mu\text{g}\cdot\text{h/ml}$)	r^2
C0	$AUC= 20,97 + 6,825 \times C0$	0,50
C1	$AUC= 14,69 + 1,362 \times C1$	0,36
C2	$AUC= 17,89 + 1,845 \times C2$	0,77
C3	$AUC= 17,02 + 3,372 \times C3$	0,74
C4	$AUC= 16,45 + 5,044 \times C4$	0,60
C6	$AUC= 39,09 - 0,161 \times C6$	0,00
C2, C0	$AUC= 11,75 + 3,954 \times C2 + 1,485 \times C0$	0,91
C2, C1	$AUC= 1,23 + 1,681 \times C2 + 1,057 \times C1$	0,99

5.2.2 Mycophenolatmofetil: Profil 2

Tab. 24 zeigt die MMF- Konzentrationen für das zweite Profil von Mycophenolatmofetil für C_0 , C_1 , C_2 , C_3 , C_4 , C_6 , C_{max} und die MMF- Tagesdosis (mg/kg und mg/m^2 KOF). Der höchste Variationskoeffizient wurde mit 56,8 % bei C_6 ermittelt. Der Median der C_0 - Konzentration betrug 2,5 $\mu\text{g/ml}$ und der Median nach einer Stunde 15,8 $\mu\text{g/ml}$. Die C_2 - Konzentration von MMF im Blut lag bei 11,3 $\mu\text{g/ml}$. Der Median der maximalen MMF- Konzentrationen lag bei 15,8 $\mu\text{g/ml}$. Die Zeit bis zum Erreichen der maximalen MMF- Konzentration lag im Mittel bei $1,2 \pm 0,4$ Stunden. Die Mycophenolat- Tagesdosis betrug 26,2 mg/kg bzw. 1015 mg/m^2 KOF.

Die individuelle Tagesdosis für jeden einzelnen Patienten wird in Tab. 40 (siehe Anhang) ersichtlich.

Tab. 24: MMF- Konzentration ($\mu\text{g/ml}$) und Tagesdosis (mg/kg bzw. mg/m^2 KOF)

	n	Median	Minimum	Maximum	Mittelwert	SD	Vk (%)
C_0 ($\mu\text{g/ml}$)	12	2,5	0,5	4,4	2,6	1,4	53,8
C_1 ($\mu\text{g/ml}$)	12	15,8	5,9	39,8	19,3	10,4	53,9
C_2 ($\mu\text{g/ml}$)	12	11,3	6,0	16,8	10,8	3,2	29,6
C_3 ($\mu\text{g/ml}$)	12	6,7	4,1	13,9	7,2	2,6	36,1
C_4 ($\mu\text{g/ml}$)	12	4,9	2,7	6,9	4,7	1,3	27,7
C_6 ($\mu\text{g/ml}$)	12	3,4	1,4	7,5	3,7	2,1	56,8
C_{max} ($\mu\text{g/ml}$)	12	15,8	8,6	39,8	20,0	9,7	48,5
Dosis (mg/kg)	12	26,2	14,8	41,9	28,6	9,0	31,5
Dosis (mg/m^2)	12	1015	538	1402	944	304	32,2

Abb. 31 zeigt die Mittelwerte und die Standardabweichungen der Mycophenolatmofetil-Konzentrationen.

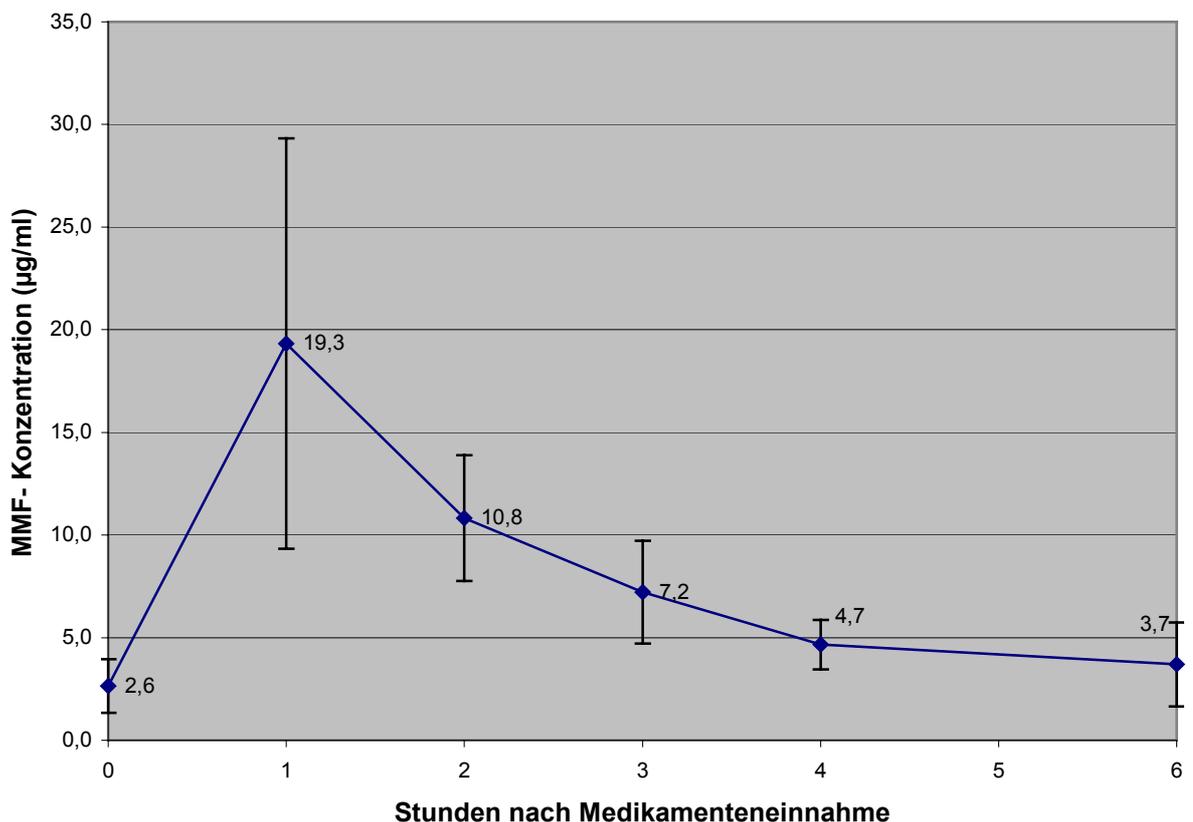


Abb. 31: Mittelwerte der MMF- Konzentrationen ($\mu\text{g/ml}$): Profil 2

Unmittelbar vor Einnahme der immunsuppressiven Medikamente (C_0) betrug die MMF-Konzentration im Blut $2,6 \pm 1,4 \mu\text{g/ml}$. Nach einer Stunde (C_1) war ein Anstieg der Konzentration auf $19,3 \pm 10,4 \mu\text{g/ml}$ zu verzeichnen. Bereits zwei Stunden nach der Einnahme (C_2) zeigte sich ein Rückgang der Blutkonzentration auf $10,8 \pm 3,2 \mu\text{g/ml}$. Sechs

Stunden nach Einnahme (C_6) wurde noch eine Konzentration von $3,7 \pm 2,1 \mu\text{g/ml}$ gemessen, welche damit noch über dem anfänglichen Talspiegel des Profils lag.

Abb. 32 gibt einen Überblick über die Kurven der individuellen MMF- Konzentrationen zu den entsprechenden Zeitpunkten nach Medikamenteneinnahme. Die dazugehörigen MMF- Konzentrationen der einzelnen Patienten sind in Tab. 41 (siehe Anhang) ersichtlich.

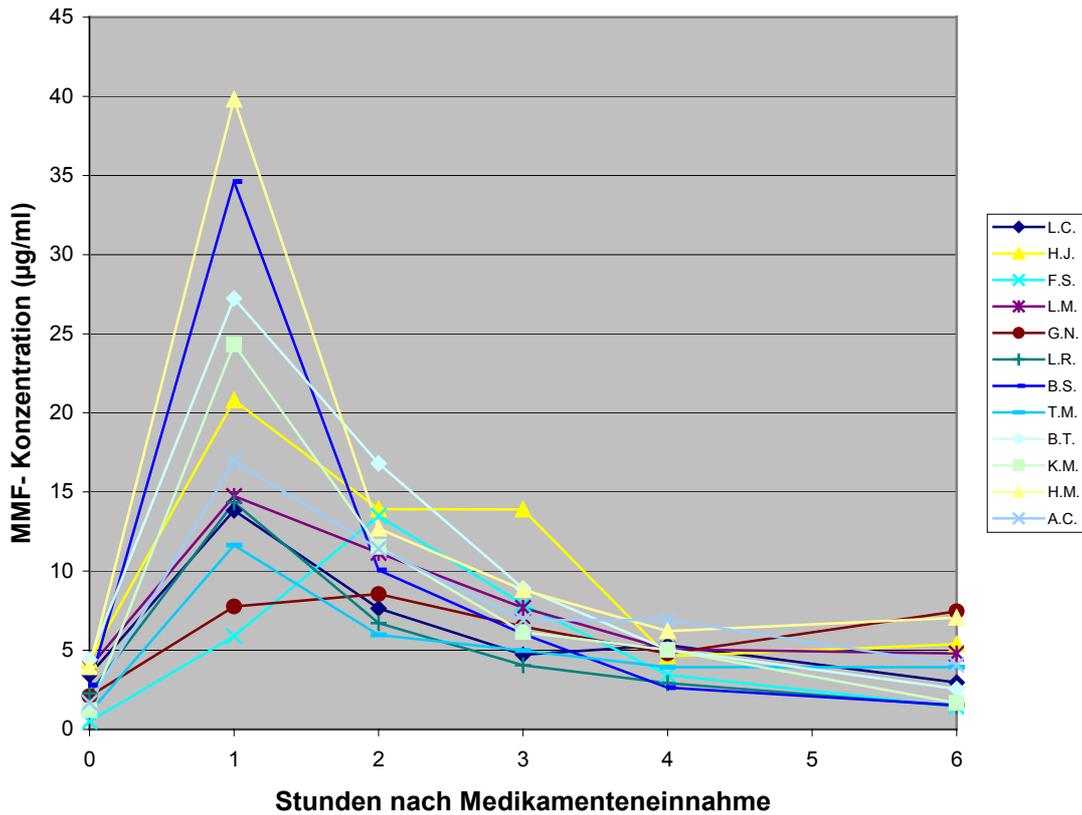


Abb. 32: Individuelle Mycophenolat- Konzentrationen ($\mu\text{g/ml}$): Profil 2

Der Median der AUC_{0-6} lag im zweiten Profil bei $49,2 \mu\text{g}\cdot\text{h/ml}$. Die AUC_{0-4} betrug in diesem Profil $38,8 \mu\text{g}\cdot\text{h/ml}$ (siehe Tab. 25).

Tab. 25: AUC_{0-6} und AUC_{0-4} ($\mu\text{g}\cdot\text{h/ml}$)

AUC ($\mu\text{g}\cdot\text{h/ml}$)	Median	Minimum	Maximum	Mittelwert	SD
AUC_{0-6}	49,2	32,1	79,7	49,4	14,3
AUC_{0-4}	38,8	25,1	66,4	41,0	13,4

Die Abb. 33 bis 38 zeigen die Streudiagramme und das Bestimmtheitsmaß der Regressionen der einzelnen Mycophenolatkonzentration C_0 , C_1 , C_2 , C_3 , C_4 und C_6 mit der AUC_{0-6} des zweiten Profils.

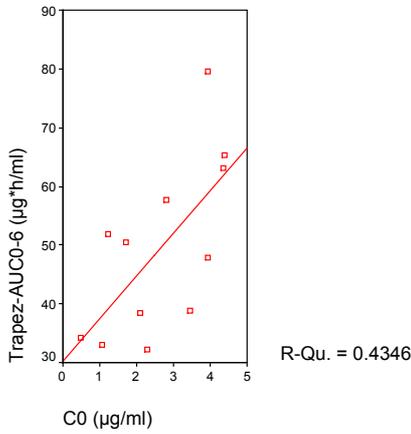


Abb. 33: Regression C_0 mit AUC_{0-6}

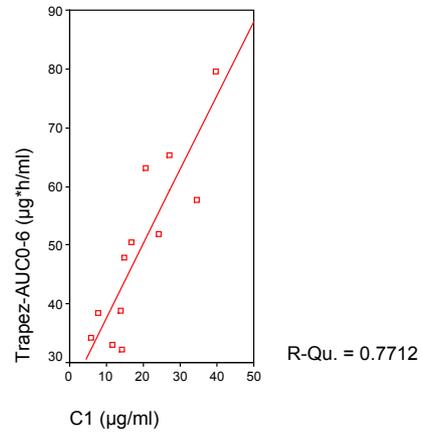


Abb. 34: Regression C_1 mit AUC_{0-6}

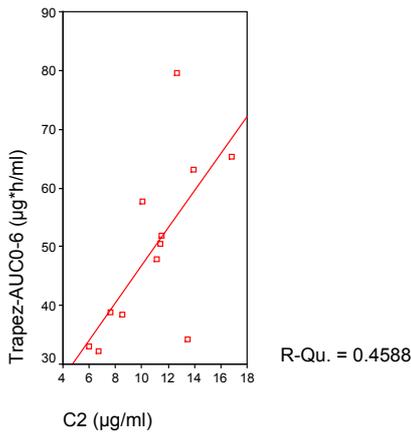


Abb. 35: Regression C_2 mit AUC_{0-6}

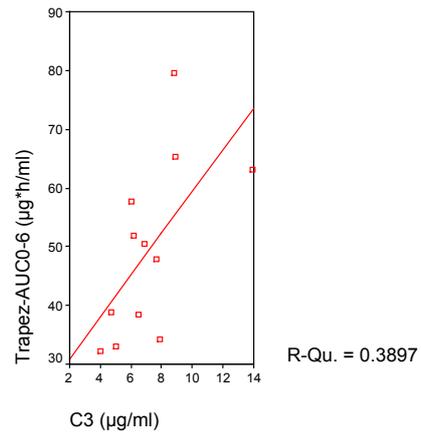


Abb. 36: Regression C_3 mit AUC_{0-6}

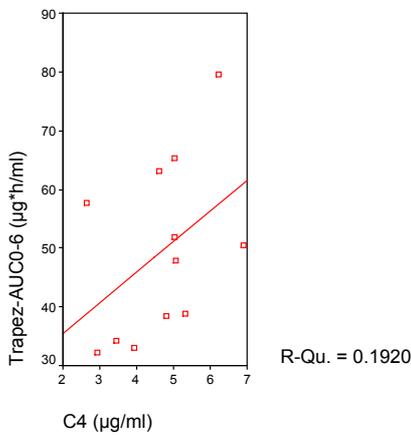


Abbildung 37: Regression C_4 mit AUC_{0-6}

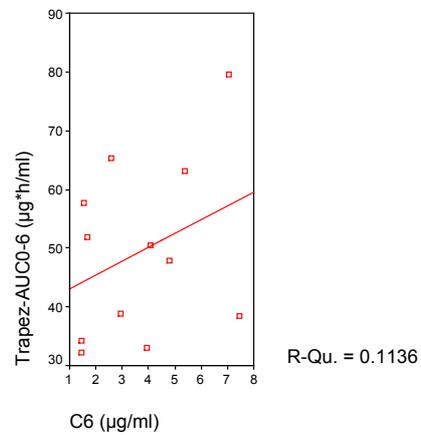


Abbildung 38: Regression C_6 mit AUC_{0-6}

Tab. 26 zeigt die Regressionsgleichungen für die Berechnung der AUC_{0-6} anhand der einzelnen Variablen sowie anhand von zwei oder drei Variablen.

Als einzelne Variable zeigte dabei C_1 mit einem Bestimmtheitsmaß von $r^2 = 0,77$ ($p < 0,001$) die beste Regression mit der Trapez- AUC_{0-6} . Somit kann anhand der Gleichung $AUC = 25,04 + 1,259 \times C_1$ die AUC_{0-6} ($\mu\text{g} \cdot \text{h}/\text{ml}$) mit einer Regression von $r^2 = 0,77$ mit der Trapez- AUC_{0-6} berechnet werden. Mit Ausnahme von C_4 ($p = 0,15$) und C_6 ($p = 0,28$) zeigten die Regressionen der einzelnen Variablen auf dem Niveau von $p = 0,05$ Signifikanz.

Tab. 26: AUC_{0-6} Regressionsgleichungen

Variable ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	Regressionsgleichung ($\mu\text{g} \cdot \text{h}/\text{ml}$)	r^2
C_0	$AUC = 30,23 + 7,250 \times C_0$	0,44
C_1	$AUC = 25,04 + 1,259 \times C_1$	0,77
C_2	$AUC = 15,15 + 3,161 \times C_2$	0,46
C_3	$AUC = 23,591 + 3,575 \times C_3$	0,39
C_4	$AUC = 25,10 + 5,206 \times C_4$	0,19
C_6	$AUC = 40,66 + 2,358 \times C_6$	0,11
C_1, C_2	$AUC = 9,5 + 1,038 \times C_1 + 1,834 \times C_2$	0,90
C_1, C_3	$AUC = 10,44 + 1,10 \times C_1 + 2,45 \times C_3$	0,94
C_1, C_3, C_4	$AUC = 0,785 + 1,067 \times C_1 + 2,171 \times C_3 + 2,641 \times C_4$	0,98

Abb. 39 zeigt die Regression der berechneten AUC_{0-6} anhand der einzelnen Variable C_1 und der AUC_{0-6} nach der Trapezoidmethode während des zweiten Profils.

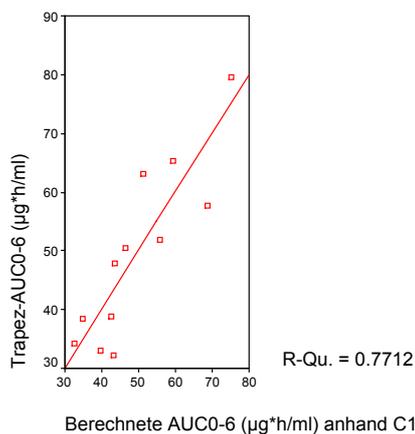


Abb. 39: Regression zwischen der berechneten AUC_{0-6} anhand C_1 und der Trapez- AUC_{0-6}

In Tab. 27 wird ersichtlich, dass sich hinsichtlich der Berechnung der AUC während eines 4- Stunden- Intervalls ebenfalls C_1 als einzelne Variable mit der höchsten Regression ($r^2 = 0,84$) mit der Trapez- AUC_{0-4} erwiesen hat.

Tab. 27: AUC₀₋₄ Regressionsgleichungen

Variable (µg/ml)	Regressionsgleichung (µg*h/ml)	r ²
C ₀	AUC= 24,01 + 6,442xC ₀	0,39
C ₁	AUC= 17,28 + 1,228xC ₁	0,84
C ₂	AUC= 8,18 + 3,033xC ₂	0,49
C ₃	AUC= 18,37 + 3,140xC ₃	0,35
C ₄	AUC= 25,71 + 3,283xC ₄	0,09
C ₆	AUC= 37,18 + 1,038xC ₆	0,03
C ₂ , C ₁	AUC= 2,59 + 1,730xC ₂ + 1,019xC ₁	0,98

Während des zweiten Profils zeigte sich eine signifikante negative Korrelation zwischen der MMF- Tagesdosis in mg/m² KOF und der MMF- Konzentration sowohl bei C₀ (r= -0,59, p= 0,04) als auch bei C₆ (r= -0,61, p= 0,03).

5.2.3 Vergleich des ersten und zweiten Profils

Im Gegensatz zum ersten Profil mit der größten Variabilität bei C₂ wurde im zweiten Profil die größte Variabilität bei C₆ ermittelt (Vk= 56,3 vs. 56,8 %) (siehe Tab. 28). Die maximalen MMF- Konzentrationen zeigten keinen signifikanten Unterschied (p= 0,64). Im Gegensatz zu Ciclosporin A wurden die maximalen MMF- Konzentrationen früher erreicht (T_{max}= 1,1 ± 0,3 h in Profil 1 bzw. T_{max}= 1,2 ± 0,4 h in Profil 2). Hinsichtlich der MMF- Tagesdosis (mg/kg bzw. mg/m² KOF) gab es zwischen beiden Profilen keine signifikanten Unterschiede (p= 0,17 bzw. p= 0,13).

Tab. 28: MMF- Konzentration (µg/ml) und MMF- Tagesdosis (mg/kg, mg/m² KOF)

	Profil 1			Profil 2		
	Median (min-max)	Mittelwert ± SD	Vk (%)	Median (min-max)	Mittelwert ± SD	Vk (%)
C ₀ (µg/ml)	2,2 (0,5-5,1)	2,6 ± 1,4	53,9	2,5 (0,5-4,4)	2,6 ± 1,4	53,8
C ₁ (µg/ml)	15 (11-28)	17,5 ± 5,8	33,1	15,8 (5,9-39,8)	19,3 ± 10,4	53,9
C ₂ (µg/ml)	9,6 (3,1-27)	11,2 ± 6,3	56,3	11,3 (6,0-16,8)	10,8 ± 3,2	29,6
C ₃ (µg/ml)	6,0 (1,9-15)	6,4 ± 3,4	53,1	6,7 (4,1-13,9)	7,2 ± 2,6	36,1
C ₄ (µg/ml)	4,4 (1,3-8,0)	4,4 ± 2,1	47,7	4,9 (2,7-6,9)	4,7 ± 1,3	27,7
C ₆ (µg/ml)	3,6 (0,5-6,5)	3,6 ± 1,7	47,2	3,4 (1,4-7,5)	3,7 ± 2,1	56,8
C _{max} (µg/ml)	18 (11-28)	18,5 ± 6,0	32,4	15,8 (8,6-39,8)	20,0 ± 9,7	48,5
Dosis (mg/kg)	27,9 (12,6-41,0)	29,2 ± 8,1	27,7	26,2 (14,8-41,9)	28,6 ± 9,0	31,5
Dosis (mg/m ²)	1053 (417-1429)	1058 ± 266	25,1	1015 (538-1402)	944 ± 304	32,2

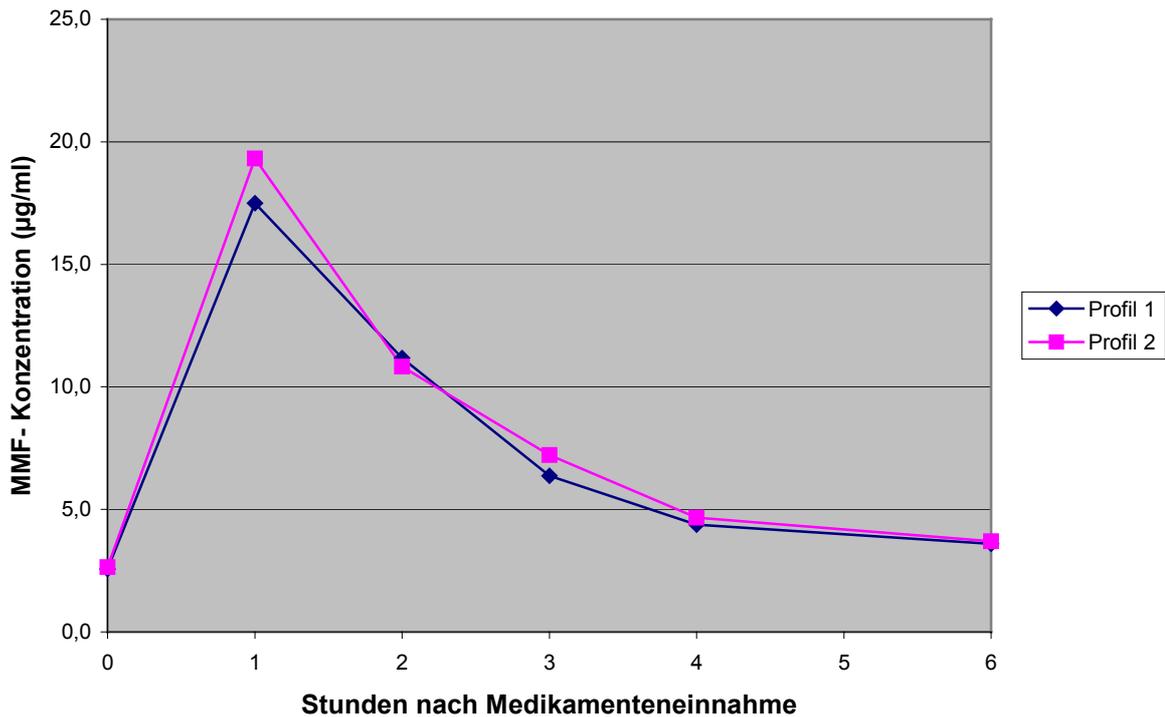


Abb. 40: Mittelwerte der MMF- Konzentrationen (µg/ml): Profil 1 und 2

In Abb. 40 sind die Mittelwerte der MMF- Konzentrationen des ersten und des zweiten Profils dargestellt, woraus ersichtlich wird, dass es keine signifikanten Unterschiede zwischen den MMF- Konzentrationen gegeben hat. Unmittelbar vor der Einnahme der Medikamente betrug die C_0 - Konzentration in beiden Profilen $2,6 \pm 1,4 \mu\text{g/ml}$. Keinen signifikanten Unterschied haben die Konzentrationen nach einer Stunde aufgewiesen ($p=0,57$). C_2 betrug im ersten Profil $11,2 \pm 6,3 \mu\text{g/ml}$, im zweiten Profil $10,8 \pm 3,2 \mu\text{g/ml}$ ($p=0,57$).

Tab. 29 gibt einen Überblick über die AUC_{0-6} und die AUC_{0-4} im ersten und zweiten Profil. Es gab keine signifikanten Unterschiede zwischen den Flächen unter den Konzentrations- Zeit- Kurven der beiden Profile.

Tab. 29: AUC_{0-6} und AUC_{0-4} ($\mu\text{g}^*\text{h/ml}$) des ersten und zweiten Profils

	Profil 1		Profil 2	
AUC ($\mu\text{g}^*\text{h/ml}$)	Median (min-max)	Mittelwert \pm SD	Median (min-max)	Mittelwert \pm SD
AUC_{0-6}	43,2 (23,0-71,6)	$46,5 \pm 14,3$	49,2 (32,1-79,7)	$49,4 \pm 14,3$
AUC_{0-4}	35,4 (19,2-60,3)	$38,5 \pm 12,7$	38,8 (25,1-66,4)	$41,0 \pm 13,4$

Unterschiede zwischen beiden Profilen ergaben sich in einer linearen Regressionsanalyse zwischen MMF- Konzentration und der AUC_{0-6} bzw. der AUC_{0-4} .

In Profil 1 erwies sich C_2 als einzelne Variable, welche die höchste Regression ($r^2= 0,78$; $p<0,001$) mit der Trapez- AUC_{0-6} zeigte, während in Profil 2 die Variable C_1 die höchste Regression ($r^2= 0,77$; $p<0,001$) mit der Trapez- AUC_{0-6} aufwies. Zu ähnlichen Ergebnissen hat auch die lineare Regressionsanalyse zwischen der MMF- Konzentration und der AUC_{0-4} geführt. In Profil 1 ergab sich die höchste Regression ($r^2= 0,77$; $p<0,001$) für die Variable C_2 , während in Profil 2 die höchste Regression mit $r^2= 0,84$ ($p<0,001$) bei der Variablen C_1 ermittelt wurde.

Im ersten Profil wurden signifikante positive Korrelationen zwischen der MMF- Tagesdosis (mg/kg) und der AUC_{0-6} ($r= 0,60$; $p= 0,03$), der AUC_{0-4} ($r= 0,61$; $p= 0,03$) und C_4 ($r= 0,59$; $p= 0,03$) ermittelt.

Entgegen den Erwartungen wurden im zweiten Profil signifikante negative Korrelationen sowohl zwischen der MMF- Tagesdosis (mg/m² KOF) und C_0 ($r= -0,59$; $p= 0,04$) als auch C_6 ($r= -0,61$; $p= 0,03$) nachgewiesen.

5.3 Calcineurin-Phosphatase- Aktivität

5.3.1 Calcineurin- Aktivität: Profil 1

In Abb. 41 sind der Median des berechneten Phosphats von 8 Patienten als Indikator für die Aktivität der Calcineurin- Phosphatase sowie der Median der Phosphatmengen bei 8 gesunden Kontrollprobanden dargestellt. Vor der Einnahme der immunsuppressiven Medikamente wurde eine Phosphatmenge von 0,85 (0,35-1,92) nmol gemessen, welche damit über derjenigen der Kontrollgruppe (0,58-1,37) lag, wobei jedoch kein signifikanter Unterschied ermittelt werden konnte ($p= 0,47$). Eine Stunde nach der Einnahme war ein signifikantes Absinken ($p= 0,02$) auf 0,66 (0,33-1,20) nmol zu verzeichnen. Somit wurde nach einer Stunde in den Proben der immunsupprimierten Kinder weniger Phosphat als bei den Kontrollprobanden nachgewiesen, jedoch war dieser Unterschied ebenfalls nicht signifikant ($p= 0,43$). Nach zwei Stunden betrug die Phosphatmenge 0,71 (0,30-1,47) nmol. Drei Stunden nach der Einnahme lag sie bei 0,66 (0,28-1,04) nmol und stieg bis zum Zeitpunkt 6 langsam bis auf 0,69 (0,28-0,84) nmol an.

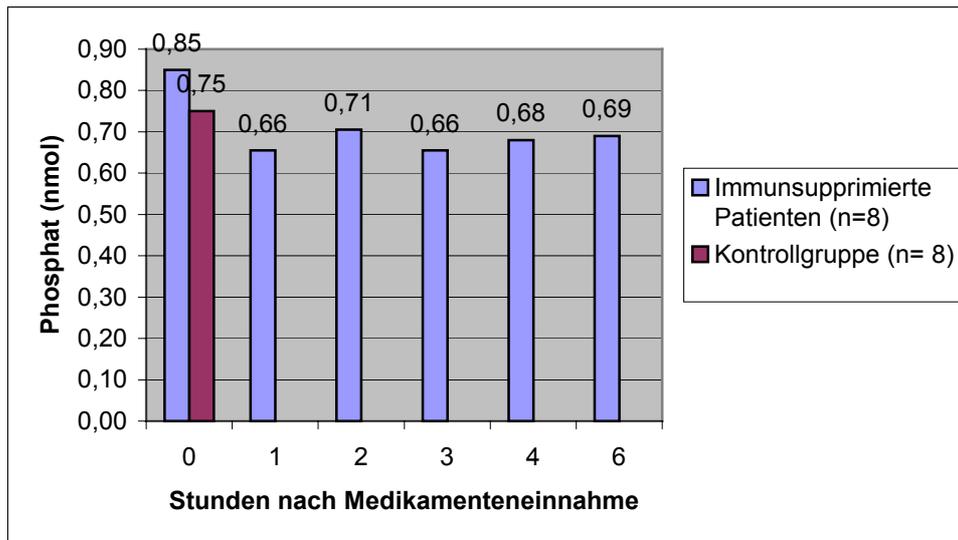


Abb. 41: Median der Phosphatmenge (nmol) zu den Zeitpunkten 0 bis 6

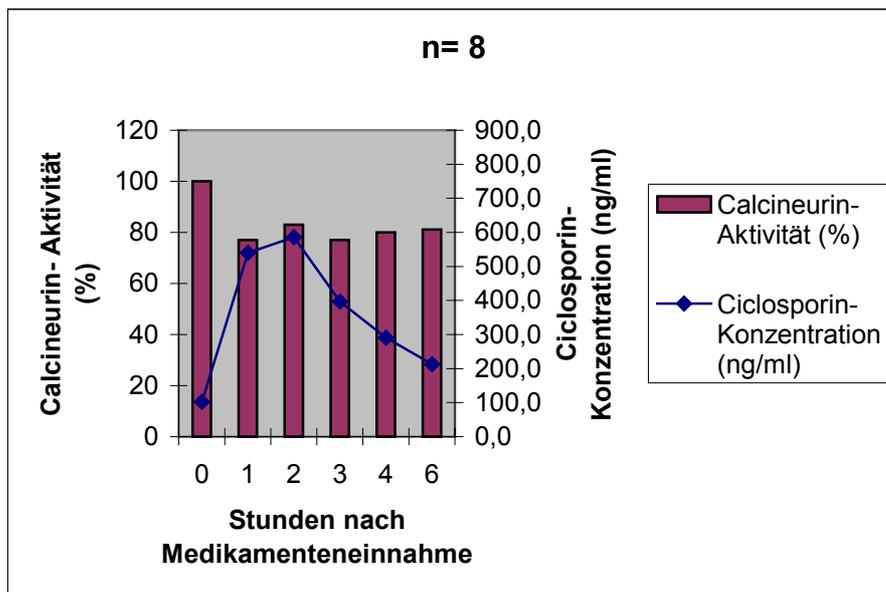


Abb. 42: Median der Calcineurin- Aktivität (%) und entsprechende Cyclosporin-Konzentration (ng/ml) zu den Zeitpunkten 0 bis 6

Abb. 42 zeigt den Median der Calcineurin- Aktivität von 8 Patienten und die entsprechende Cyclosporin- Konzentration zu den Zeitpunkten 0 bis 6. Es wird deutlich, dass die Calcineurin- Aktivität eine Stunde nach der Medikamenteneinnahme bei einer Cyclosporin- Konzentration von 540,5 (345,6-1270,8) ng/ml auf 77 (58-106) % gesunken ist ($p= 0,004$). Zwei Stunden nach Medikamenteneinnahme betrug die Aktivität des Enzyms 83 (54-100) % bei einer Cyclosporin- Konzentration von 586,2 (340,8-792,3)

ng/ml. Sechs Stunden nach Medikamenteneinnahme lag die Aktivität bei einem auf 213,2 (167,5-255,1) ng/ml gesunkenen Ciclosporin- Spiegel bei 81 (30-109) %.

In Tab. 30 sind die Korrelationen der CyA- Konzentration mit der Calcineurin- Aktivität dargestellt. Eine hohe Ciclosporin- Konzentration war mit Ausnahme von C₆ mit einer niedrigen Calcineurin- Aktivität verbunden, jedoch waren die Korrelationen nicht signifikant.

Tab. 30: Korrelation: CyA- Konzentration (ng/ml) und Calcineurin- Aktivität (%)

Variable	r	p
C ₁	-0,07	0,87
C ₂	-0,20	0,63
C ₃	-0,27	0,53
C ₄	-0,12	0,81
C ₆	0,51	0,24

5.3.2 Calcineurin- Aktivität: Profil 2

In Abb. 43 sind der Median der berechneten Phosphatmengen von 9 Patienten zu den Zeitpunkten 0 bis 6 des zweiten Profils und wiederum der Median der Phosphatmenge der 8 Kontrollprobanden dargestellt. Deutlich wird ein Abfall der Phosphatmenge eine Stunde nach Medikamenteneinnahme, welcher aber nicht signifikant war ($p= 0,44$). Vor der Einnahme der immunsuppressiven Medikamente wurde eine Phosphatmenge von 0,60 (0,33-1,05) nmol gemessen. Eine Stunde nach der Einnahme war die Phosphatmenge auf 0,49 (0,29-1,02) nmol gesunken. Nach zwei Stunden betrug sie 0,55 (0,22-1,01) nmol und nach drei Stunden 0,66 (0,27-0,94) nmol. Vier Stunden nach Einnahme lag sie bei 0,54 (0,30-0,95) nmol und sechs Stunden nach Einnahme war nur ein leichter Anstieg auf 0,55 (0,30-1,02) nmol zu verzeichnen. Die Phosphatmenge der Kontrollgruppe lag damit über den jeweiligen Werten der Immunsupprimierten, es konnten aber ebenso wie im ersten Profil keine signifikanten Unterschiede ermittelt werden ($p> 0,05$).

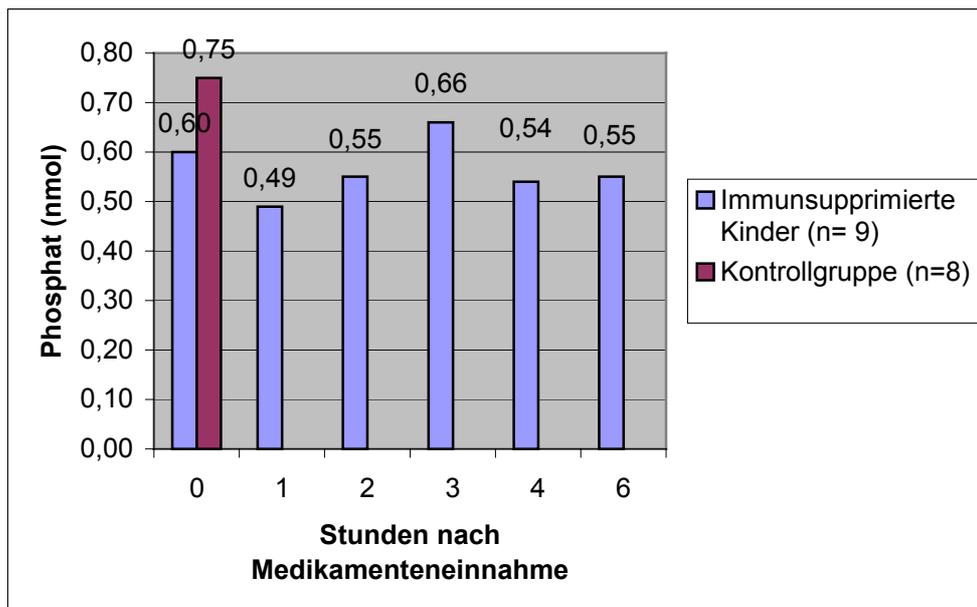


Abb. 43: Median der Phosphatmenge (nmol) zu den Zeitpunkten 0 bis 6

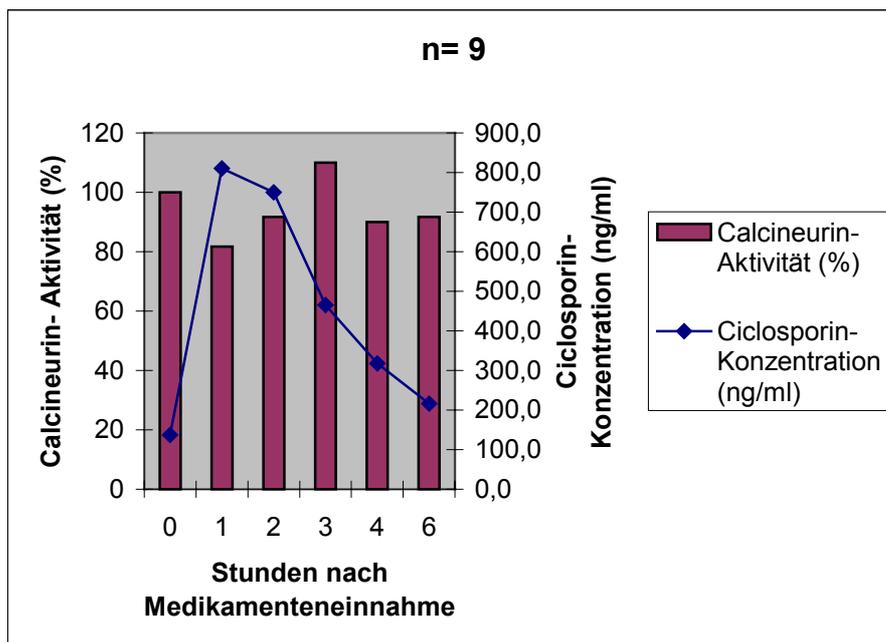


Abb. 44: Median der Calcineurin- Aktivität (%) und entsprechende Cyclosporin-Konzentration (ng/ml) zu den Zeitpunkten 0 bis 6

Abb. 44 zeigt den Median der Calcineurin- Aktivitäten von 9 Patienten und die entsprechenden Cyclosporin- Konzentrationen. Es wird deutlich, dass die Aktivität bei der maximalen Cyclosporin- Konzentration von 810,6 (442,2-1125,9) ng/ml nach einer Stunde auf 82 (57-148) % gesunken war. Zwei Stunden nach Medikamenteneinnahme lag die

Aktivität bei 92 (32-167) % bei einem Ciclosporin- Spiegel von 750,0 (387,6-1191,9) ng/ml. Sechs Stunden nach Medikamenteneinnahme hatte die Calcineurin- Phosphatase eine Aktivität von 92 (41-236) %, während die Ciclosporin- Konzentration auf 216,2 (179,4-380,2) ng/ml gesunken war.

Im zweiten Profil hat ähnlich wie im ersten Profil eine hohe CyA- Konzentration mit Ausnahme von C₆ und C₃ eine niedrige Calcineurin- Aktivität nach sich gezogen (siehe Tab. 31). Die Korrelationen zwischen beiden Parametern waren jedoch wie im ersten Profil nicht signifikant.

Tab. 31: Korrelation: CyA- Konzentration (ng/ml) und Calcineurin- Aktivität (%)

Variable	r	p
C1	-0,32	0,41
C2	-0,03	0,95
C3	0,02	0,96
C4	-0,23	0,56
C6	0,22	0,58

6. Diskussion

Der Einsatz von Ciclosporin A hat die Ergebnisse der Organtransplantation signifikant verbessert (Morris 1981). Bei den Nierentransplantationen, welche nach 1992 durchgeführt worden sind, betrug die Überlebensrate der Patienten nach einem Jahr 92,3 %, nach fünf Jahren 86,3 % und nach zehn Jahren 79,4 %. Die Transplantatüberlebensrate lag nach einem Jahr bei 90,8 %, nach 5 Jahren bei 74,1 % und nach 10 Jahren bei 55,6 % (Lucan et al. 2004). Allerdings konnten in den vergangenen Jahren nur die Ergebnisse der 1- Jahres-Transplantatüberlebensrate nach Nierentransplantation verbessert werden, während die langfristige Transplantat- Halbwertszeit praktisch gleich geblieben ist (Cecka 1998).

Ein Grund dafür stellt die Tatsache dar, dass eine immunsuppressive Therapie mit Ciclosporin A mit schwerwiegenden Nebenwirkungen verbunden ist. Es konnte eine signifikante Korrelation zwischen der Höhe der Ciclosporin- Konzentration im Blut und dem Abfall der glomerulären Filtrationsrate nachgewiesen werden (Hornung 2001).

Therapieprotokolle von Kindern nach Organtransplantation werden bis zum heutigen Tag nahezu analog zu denjenigen erwachsener Transplantatempfänger durchgeführt. Die Übertragbarkeit der Immunsuppressions- Protokolle von Erwachsenen auf Kinder wird jedoch zunehmend in Frage gestellt. Die Entwicklung geht hin zu alters- und risikoadaptierten Protokollen. Bisher erfolgte die Dosierung von Ciclosporin ausschließlich nach der Betrachtung des Talspiegels (C_0 - Monitoring). Obwohl diese Methode gegenwärtig in den meisten medizinischen Einrichtungen den Standard darstellt, wurde nach der Entwicklung des neuen Ciclosporins Neoral[®] klar, dass durch die damit erzielte verbesserte Bioverfügbarkeit des Medikaments eine veränderte Pharmakokinetik die Folge war, die sich aber nicht in der C_0 - Konzentration, sondern in der C_2 - Konzentration widerspiegelte (Nashan et al. 2003).

Bislang wurden wenige Studien unternommen, welche die Ciclosporin- Konzentration insbesondere zwei Stunden nach der Medikamenteneinnahme bei Kindern in der stabilen Phase nach Nierentransplantation untersucht haben. In der Literatur finden sich unterschiedliche Definitionen einer „stabilen“ Nierenfunktion nach Nierentransplantation. Citterio et al. sprachen bis zu einer Serum- Kreatinin- Konzentration von 221 $\mu\text{mol/l}$ von einer stabilen Nierenfunktion (Citterio et al. 2001). Das Vorliegen einer „stabilen Nierenfunktion“ ist mit einer Vielzahl von klinischen Parametern verbunden, wobei neben einer konstanten Serum- Kreatinin- Konzentration das Auftreten einer Proteinurie eine weitere entscheidende Bezugsgröße darstellt. In der vorliegenden Arbeit lagen die Serum-

Kreatinin- Konzentrationen über dem Normbereich von Nierengesunden, wobei berücksichtigt werden muss, dass eine transplantierte Einzelniere nicht die Leistung zweier gesunder Nieren erbringen kann. In der vorliegenden Untersuchung wurde eine Serum-Kreatinin- Konzentration von 225 $\mu\text{mol/l}$ als oberer Grenzwert festgelegt. Bei den untersuchten Patienten fanden sich keine Anzeichen einer progredienten Funktionsverschlechterung. Deshalb wurde bei ihnen von einer stabilen Nierenfunktion ausgegangen. Die niedrigen Erythrozyten- und Hämoglobinkonzentrationen sind als charakteristische unerwünschte Wirkungen der immunsuppressiven Therapie mit Mycophenolatmofetil anzusehen (Tönshoff et al. 2004). Die erhöhten Harnsäure-Konzentrationen und die leicht erhöhten Harnstoffwerte sind als unerwünschte Wirkungen der Ciclosporintherapie zu werten (Lucan et al. 2004).

Aus zahlreichen Studien gibt es mittlerweile Daten, die belegen, dass der zwei Stunden nach Einnahme gemessene CyA- Spiegel (C_2) gegenüber C_0 eine bessere Vorhersage der klinischen Wirksamkeit und Verträglichkeit bietet. Es wurden bislang jedoch wenige Studien unternommen, die den C_2 - Blutspiegel von Ciclosporin A bei Kindern in der Spätphase nach Nierentransplantation untersucht haben. In der vorliegenden Arbeit lag der Median der Talspiegel ($C_0= 107 \text{ ng/ml}$ in Profil 1, 121 ng/ml in Profil 2) von Ciclosporin A vergleichbar mit den Konzentrationen in einer Untersuchung von David-Neto et al. im klinischen Rahmen ($100\text{-}300 \text{ ng/ml}$) bei Kindern in der Spätphase nach Nierentransplantation (David-Neto et al. 2002). Zwei Stunden nach Medikamenteneinnahme wurden in Untersuchungen bei pädiatrischen Nierentransplantatempfängern in der stabilen Phase C_2 - Blutkonzentrationen zwischen 650 und 1100 ng/ml ermittelt (Weber et al. 2004, Filler et al. 1999, Kelles et al. 1999, Wigger et al. 2001, Dello Strologo et al. 1999, David-Neto et al. 2002). In der vorliegenden Arbeit lagen die C_2 - Konzentrationen im Median bei 717 ng/ml . Bei 3 Patienten wurden in beiden Profilen C_2 - Konzentrationen über 800 ng/ml gemessen. Diese Patienten erhielten eine höhere CyA- Tagesdosis, wobei bei zwei der Patienten die Transplantation weniger als 6 Monate zurücklag. Weiterhin konnte eine signifikante Korrelation zwischen der CyA- Konzentration zwei Stunden nach Medikamenteneinnahme und der Zeit nach der Transplantation nachgewiesen werden. Eine Patientin befand sich zum Untersuchungszeitpunkt in der Phase der Steroidreduktion. In dieser Phase ist offensichtlich eine höhere Dosis an Ciclosporin A notwendig, um die bislang gewünschte C_0 - Konzentration aufrechtzuerhalten.

Auf dem 18. Kongress der International Society of Organ Transplantation (August 2000) wurden erstmals Empfehlungen für Zielspiegelbereiche bei erwachsenen Patienten präsentiert (Nashan et al. 2003). Im Jahr 2001 wurden von Levy Leitlinien für Ciclosporin- C_2 - Zielwerte bei erwachsenen Leber- und Nierentransplantierten herausgegeben. Als empfohlener Zielwert 7 bis 12 Monate nach der Transplantation wurden 900 ng/ml angegeben, nach mehr als 12 Monaten 800 ng/ml (Levy 2001). Ein Jahr später wurden diese Leitlinien für die C_2 - Zielwerte bereits nach unten korrigiert (Levy et al. 2002). So galten von nun an C_2 - Zielkonzentrationen für die Zeit von 6 bis 12 Monaten nach der Transplantation von 800 ng/ml und nach mehr als 12 Monaten von 600 ng/ml. Allerdings sind diese Empfehlungen nicht ohne Einschränkungen auf hiesige Verhältnisse übertragbar, da in Deutschland die Ciclosporin- Dosierung auf niedrigere C_0 - Konzentrationen eingestellt wird als im nordamerikanischen Raum und demzufolge auch die C_2 - Blutkonzentrationen angepasst werden müssen (Nashan et al. 2003). Für Kinder gibt es bislang keinen Konsens hinsichtlich empfohlener C_2 - Konzentrationen für Ciclosporin A.

Es existieren derzeit nur wenige Studien, welche die Kombinationstherapie aus Ciclosporin und MMF bei Kindern in der Spätphase nach Nierentransplantation betrachtet haben. Pape et al. haben in einer Untersuchung eine Beeinflussung des Ciclosporin- Metabolismus durch Mycophenolatmofetil festgestellt (Pape et al. 2003). Dabei lagen die C_2 - Konzentrationen von Ciclosporin bei 33 Kindern, welche eine Kombinationstherapie aus Ciclosporin A, Prednisolon und Mycophenolatmofetil erhalten haben, mit 617 ± 221 ng/ml signifikant unter den C_2 - Konzentrationen bei Kindern, die ohne MMF therapiert wurden (755 ± 271 ng/ml) ($p < 0,005$). Durch eine kürzlich erschienene Untersuchung von Brunet et al. wurde dagegen bekräftigt, dass die C_2 - Konzentrationen trotz niedrigerer CyA- Dosis bei Patienten, welche eine Kombinationstherapie (CyA und MMF) erhalten haben, 22 % höher als die Konzentrationen bei CyA- Monotherapie lagen (Brunet et al. 2004). Auch in der vorliegenden Arbeit lagen die C_2 - Konzentrationen im Vergleich zu den Ergebnissen von Pape et al. höher (685 in Profil 1 bzw. 749 in Profil 2 vs. 615 ng/ml) bei einer vergleichsweise niedrigeren CyA- Dosis (143 vs. 190 mg/m²). Darüber hinaus konnte in der vorliegenden Untersuchung eine signifikante Korrelation der CyA- Dosis mit der Blutspiegelkonzentration zwei Stunden nach Medikamenteneinnahme gezeigt werden ($p = 0,001$). Möglicherweise sind auch die unterschiedlichen Bestimmungsverfahren der Ciclosporin- Konzentration für die Erklärung der Ergebnisse zu berücksichtigen. Während bei Pape et al. die Konzentration durch den Enzyme- multiplied- Immunoassay (EMIT)

gemessen wurde, kam in der vorliegenden Arbeit ein Fluoreszenzpolarisations-Immunoassay zum Einsatz. Hinsichtlich der unterschiedlichen Messmethoden konnte in einer Untersuchung aus dem Jahr 2003 gezeigt werden, dass die durch EMIT gemessenen C_0 -Blutkonzentrationen und in geringerem Maß auch die C_2 -Konzentrationen niedriger lagen (Soldin et al. 2003).

Das Hauptziel dieser Arbeit bestand darin, einen einzelnen Konzentrationszeitpunkt zu ermitteln, welcher die beste Regression mit der Fläche unter der Konzentrations- Zeit-Kurve (AUC_{0-6} bzw. AUC_{0-4}) aufweist. Pharmakokinetische Analysen von Patienten, welche Neoral[®] einnahmen, haben gezeigt, dass die größte interindividuelle Variabilität der CyA- Absorption innerhalb der ersten 4 Stunden nach Medikamenteneinnahme auftritt (Johnston et al. 2000). In Übereinstimmung mit Johnston et al. zeigte sich in dieser Arbeit die größte interindividuelle Variabilität nicht zum Zeitpunkt vor der Medikamenteneinnahme (C_0), sondern während des ersten Profils in der ersten Stunde und während des zweiten Profils in der dritten Stunde. In der vorliegenden Studie wurde die Berechnung der Fläche unter der Konzentrations- Zeit- Kurve während der ersten 6 Stunden nach Medikamenteneinnahme durchgeführt, um das Absorptionsmuster des individuellen Patienten während dieses Zeitraums zu erkennen. Nashan et al. sprachen aufgrund dieser individuellen Absorptionsmuster von einer Einteilung in gute, verzögerte und schlecht resorbierende Individuen, sogenannte „good“, „slow“ und „low absorber“ (Nashan et al. 2003). Der entscheidende Unterschied zwischen einem „low“ und einem „slow absorber“ spiegelt sich in der Fläche unter der Konzentrations- Zeit- Kurve wider: Diese ist bei einem „low absorber“ im Vergleich zu gut resorbierenden Patienten vermindert, bei einem „slow absorber“ zeigt sich nur ein verzögerter Anstieg bis zu der maximalen Konzentration bei nicht verminderter Fläche unter der Konzentrations- Zeit-Kurve. In der vorliegenden Arbeit zeigte ein Patient im ersten Profil einen relativ langsamen Anstieg der CyA- Konzentration, wobei die maximale Konzentration erst drei Stunden nach Einnahme erreicht wurde, im zweiten Profil hingegen wurde die maximale CyA- Konzentration bereits nach zwei Stunden erreicht, so dass insgesamt keine „slow absorber“ ermittelt wurden. Weber et al. haben in einer kürzlich erschienenen Studie bei nierentransplantierten Kindern die Patienten nach einem Schema von Einecke et al. in „low“, „intermediate“ und „high absorbers“ eingeteilt, wobei ein Quotient von $C_2/C_0 < 3,5$ auf einen „low absorber“ und ein Quotient $> 7,5$ auf einen „high absorber“ hinweist (Weber et al. 2004). In der vorliegenden Arbeit wurden zwei Patienten ermittelt, die einen

Quotienten $< 3,5$ aufgewiesen haben, 5 Patienten erfüllten nach dieser Einteilung das Kriterium eines „high absorbers“.

Die Fläche unter der Konzentrations- Zeit- Kurve stellt die beste Methode dar, um die Pharmakon- Exposition zu ermitteln. Bei der zweimaligen täglichen Ciclosporin- Gabe spiegelt sich die Gesamtexposition in einem pharmakokinetischen Profil und der Berechnung der AUC während eines 12- Stunden- Intervalls wider. In pharmakokinetischen Untersuchungen konnte eine signifikante Korrelation ($r^2= 0,98$) der AUC innerhalb der ersten sechs Stunden nach Medikamenteneinnahme (AUC_{0-6}) mit der AUC_{0-12} gezeigt werden (Kelles et al. 1999). Da sich die ersten vier Stunden nach Medikamenteneinnahme als entscheidende Absorptionsphase von Ciclosporin erwiesen haben, wurde in mehreren Untersuchungen die AUC während eines 4- Stunden- Zeitintervalls berechnet. Für Kinder stellen mehrmalige Blutabnahmen eine besondere Belastung dar. Als Lösung dieses Problems wurden Einzelzeitbestimmungen entwickelt und untersucht, wobei die CyA- Konzentration zwei Stunden nach Einnahme die beste Regression mit der AUC aufgewiesen hat. Kelles und Mitarbeiter zeigten in einer pädiatrischen Studie an langzeit- nierentransplantierten Patienten, dass das C_2 - Monitoring eine bessere Alternative für das C_0 - Monitoring und einen wesentlich praktischeren Marker für verkürztes AUC- Monitoring in der täglichen klinischen Praxis darstellt (Kelles et al. 1999). In der vorliegenden Arbeit wurde in den Regressionsuntersuchungen zwischen den Ciclosporin- Konzentrationen C_0 bis C_6 und der AUC_{0-6} in beiden Profilen die beste Regression mit der AUC_{0-6} zwei Stunden nach Medikamenteneinnahme ermittelt ($r^2= 0,72$; $p < 0,001$ in Profil 1 und $r^2= 0,89$; $p < 0,001$ in Profil 2). Im ersten Profil konnte eine Regressionsgleichung ($AUC_{0-6} = 813,5 + 2,7 \times C_2$) ermittelt werden, welche als einzelne Variable die Ciclosporin- Konzentration nach zwei Stunden einschließt und mit welcher die AUC_{0-6} mit einem Bestimmtheitsmaß von $r^2= 0,72$ berechnet werden kann. Im Rahmen der linearen Regressionsanalyse wurde im zweiten Profil eine Gleichung ($AUC_{0-6} = 655,0 + 2,8 \times C_2$) ermittelt, mit der die AUC_{0-6} anhand der Variable C_2 mit einem Bestimmtheitsmaß von $r^2= 0,89$ ($p < 0,001$) berechnet werden kann. Analoge Ergebnisse ergaben sich in einer linearen Regressionsanalyse zwischen der Ciclosporin- Konzentration und der AUC_{0-4} . Ferrarresso et al. konstatierten C_2 als die beste Bezugsgröße der AUC_{0-4} (Ferrarresso et al. 2004). Zu den gleichen Schlussfolgerungen kamen David-Neto et al. in einer Untersuchung bei 34 Kindern in der Spätphase nach Nierentransplantation. Die beste Regression mit der AUC_{0-4} ergab sich zwei Stunden nach der Neoral- Einnahme (David-Neto et al. 2002). In einer Untersuchung bei 19 pädiatrischen Patienten haben Meier-

Kriesche et al. C_2 als beste Bezugsgröße der Ciclosporin- Exposition ermittelt (Meier-Kriesche et al. 1999). Zu ähnlichen Ergebnissen gelangten auch Pape et al. (Pape et al. 2003). Sie konstatierten eine Korrelation von C_2 mit der AUC_{0-12} von $r=0,95$, während für die Ciclosporin- Konzentration C_0 nur eine Korrelation von $r=0,66$ ermittelt werden konnte. Kovarik et al. haben in einer Untersuchung bei pädiatrischen Patienten in der Spätphase nach Nierentransplantation C_2 als einzelne Variable mit der höchsten Regression ($r^2=0,86$) mit der AUC_{0-4} ermittelt (Kovarik et al. 2003). Dunn hat nach der Evaluation der pharmakokinetischen Angaben verschiedener Autoren konstatiert, dass sich C_2 als ein adäquater Einzelzeitmesspunkt für die Vorhersage der AUC erwiesen hat (Dunn 2003). C_0 zeigte dagegen nur relativ niedrige Korrelationen. Obwohl die Variable C_2 als adäquate Bezugsgröße nachgewiesen wurde, welche die höchste Korrelation mit der Fläche unter der Konzentrations- Zeit- Kurve aufweist, gibt es auch andere Einschätzungen. Wigger et al. fanden in einer Untersuchung bei nierentransplantierten Kindern zwischen der 1h- Konzentration und der AUC die beste Korrelation. (Wigger et al. 2003). Ihrer Meinung nach bietet daher im Kindesalter C_1 eine präzisere Variable als C_2 . Zu berücksichtigen ist dabei allerdings, dass auch in der Arbeit von Wigger et al. C_2 die zweitbeste Regression nach C_1 aufgewiesen hat.

Hinsichtlich des Zielbereichs der Ciclosporin- C_2 - Konzentration im Blut gibt es bislang bis auf wenige Empfehlungen keine Klarheit. Untersuchungen von Citterio et al. weisen darauf hin, dass die Ciclosporin- Konzentration zwei Stunden nach Medikamenteneinnahme als Prädiktor der chronisch renalen Allograft Dysfunktion (CRAD) gelten könnte, welche sich in einem progredienten Kreatininanstieg, einer Proteinurie und arteriellem Hypertonus widerspiegelt (Citterio et al. 2003). In einer Untersuchung bei 79 Patienten in der stabilen Phase nach Nierentransplantation konnte gezeigt werden, dass bei Patienten, deren C_2 - Spiegel über 900 ng/ml lagen, in 90 % der Fälle eine CRAD bioptisch ausgeschlossen wurde, während bei Patienten, deren C_2 - Konzentrationen niedriger lagen, in 50 % eine CRAD bioptisch gesichert wurde. In der vorliegenden Arbeit kann aufgrund der fehlenden Biopsien keine Aussage hinsichtlich einer chronischen Transplantatdysfunktion gemacht werden. Eine Arbeitsgruppe von Hu et al. hat die C_2 - Konzentrationen bei erwachsenen Nierentransplantierten im Langzeitverlauf untersucht (Hu et al. 2004). Dabei wurden keine Auswirkungen der Höhe der C_2 - Konzentration auf die Nierenfunktion ermittelt. Die Autoren sind daher zu dem Schluss gekommen, dass das C_2 - Monitoring im Langzeitverlauf dem traditionellen C_0 - Monitoring nicht überlegen ist. Allerdings wurden in deren Studie die C_2 - Konzentrationen nur zu

Beginn und am Ende eines einjährigen Untersuchungszeitraums bestimmt, während die C_0 -Konzentrationen monatlich gemessen wurden.

Es ist verständlich, dass komplette AUC- Profile während eines 12- Stunden- Intervalls bzw. eines 4- Stunden- Intervalls eine zeitaufwändige Methode in der klinischen Praxis darstellen. Sie sind auf der einen Seite zu kostenaufwendig, auf der anderen Seite stellen mehrmalige Blutabnahmen eine sehr hohe psychische Belastung gerade bei pädiatrischen Patienten dar und können ambulant nicht durchgeführt werden.

Es wurden Einzelzeitmesspunkte untersucht, die den 12- Stunden- Profilen in ihrer Aussagekraft bezüglich der Ciclosporin- Exposition gleichwertig sind. In dieser Studie konnte gezeigt werden, dass C_2 einen effektiven Einzelzeitparameter für die Vorhersage der kompletten AUC darstellt.

Die Messung des C_2 - Spiegels allein reicht nicht aus, um zu unterscheiden, ob es sich bei einem Patienten um einen echten „low“ oder „slow absorber“ handelt, bei dem die Absorption nur verzögert ist. Liegt die C_2 - Konzentration niedriger als erwartet, muss ein „low absorber“ in Betracht gezogen und zusätzlich die Konzentration sechs Stunden nach Einnahme bestimmt werden, um einen „slow absorber“ ausschließen zu können.

Aufgrund der rapiden Änderung der Konzentration innerhalb der ersten vier Stunden nach Medikamenteneinnahme ergeben sich bei zeitlicher Ungenauigkeit erhebliche Abweichungen von der wahren Ciclosporin- Blutkonzentration. Wichtig ist deshalb die akkurate Zeit der Probenentnahme. Kahan et al. haben ein enges Zeitfenster von 15 Minuten vor und nach dem 2- Stunden- Zeitpunkt definiert, in dem die Probe entnommen werden darf (Kahan et al. 2000). Dieses Vorgehen verlangt gute Patientenaufklärung und ein gut organisiertes Team in der Ambulanz, wo nierentransplantierte Kinder betreut werden.

Mycophenolatmofetil wurde 10 bis 15 Jahre nach Ciclosporin A eingeführt. Im Vergleich zu der Kombination von CyA mit Azathioprin traten unter der Kombinationstherapie von CyA mit Mycophenolatmofetil seltener Rejektionen auf. Bisher sind nur wenige Studien durchgeführt worden, in der die Pharmakokinetik von Mycophenolatmofetil in Kombination mit Ciclosporin A untersucht worden ist. Es hat sich gezeigt, dass die Kombination von Ciclosporin A mit MMF bei pädiatrischen nierentransplantierten Patienten die Anzahl akuter Abstoßungskrisen vermindert hat (Staskewitz et al. 2001) und

gleichzeitig positive Effekte hinsichtlich einer chronischen Allograft- Nephropathie aufgewiesen hat (David-Neto et al. 2001, Henne et al. 2003). Bislang konnte kein einzelner Messzeitpunkt ermittelt werden, der im Rahmen des MMF- Monitorings als adäquater Prädiktor der AUC eingesetzt werden kann. In der vorliegenden Arbeit konnte im ersten Profil gezeigt werden, dass auch die Konzentration von Mycophenolatmofetil zwei Stunden nach Medikamenteneinnahme die beste Regression mit der AUC_{0-6} aufgewiesen hat ($r^2= 0,78$, $p < 0,001$). So konnte eine Regressionsgleichung ermittelt werden, nach der sich die AUC_{0-6} unter Einbeziehung nur einer Variablen berechnen lässt. Im zweiten Profil hat dagegen die MMF- Konzentration eine Stunde nach Medikamenteneinnahme die beste Regression aufgewiesen ($r^2= 0,77$, $p < 0,001$). Eine Erklärung dieser voneinander abweichenden Ergebnisse ist angesichts des Literaturstudiums zu diskutieren. David-Neto et al. haben in ihrer Arbeit über die Immunsuppression mit Mycophenolatmofetil bei nierentransplantierten Kindern keine einzelne Variable nachweisen können, welche die AUC_{0-12} mit einem Korrelationsindex höher als 0,5 vorhersagen konnte (David-Neto et al. 2003). Ähnlich wie in der vorliegenden Arbeit, in der bei Kombination von C_1 mit C_2 eine Regression mit der AUC_{0-6} von $r^2= 0,97$ und bei Kombination von C_0 mit C_2 eine Regression von $r^2= 0,92$ ermittelt wurde, ergaben sich bei David-Neto et al. signifikante Regressionen mit der AUC_{0-6} bei Kombination von zwei Konzentrationsvariablen in einer Gleichung (r^2 jeweils 0,67). Aus diesen Ergebnissen kann geschlussfolgert werden, dass bei der Pharmakokinetik von Mycophenolatmofetil eine Kombination der Variablen C_1 und C_2 in einer Gleichung als Prädiktor der AUC benutzt werden kann. Allerdings sind bei einer derartigen Kombination zwei Blutabnahmen erforderlich, welche eine zusätzliche Belastung der Kinder und zusätzliche Kosten verursachen, Argumente, die nicht im Einklang mit der klinischen Praxis stehen. Viel kritischer ist die Tatsache zu sehen, dass in einer Untersuchung die maximale MMF- Konzentration in einem zeitlichen Rahmen zwischen bereits 20 Minuten und 2 Stunden nach Einnahme aufgetreten ist (Weber et al. 1999). Weiterhin wurde in der Arbeit von Weber et al. aufgrund des enterohepatischen Kreislaufs ein zweiter geringerer Konzentrationsanstieg der Mycophenolsäure bei einzelnen Patienten zwischen 6 und 12 Stunden nach der Einnahme beschrieben. Es muss daher konstatiert werden, dass für eine adäquate Erfassung der Pharmakokinetik von MMF die C_1 - sowie die C_2 - Konzentration nicht ausreichend sind, sondern vor Vollendung der ersten Stunde nach Einnahme eine Konzentrationsbestimmung durchgeführt werden sollte, um den schnellen Anstieg der MMF- Konzentration zu erfassen. Die hohe interindividuelle Variabilität von Mycophenolatmofetil zeigte sich auch in einer Studie von Kuypers et al.

(Kuypers et al. 2003). In ihrer Arbeit wurde die MMF- Konzentration nach 6 Stunden als der beste Prädiktor der AUC_{0-12} ermittelt ($r^2= 0,76$, $p< 0,001$). Sie haben geschlussfolgert, dass das Tal Spiegel- Monitoring von MMF keine verlässliche Methode für die individuelle Dosis- Einstellung darstellt, um die damit verbundenen Nebenwirkungen zu verringern.

Eine Empfehlung für einen Algorithmus zur Erfassung der MMF- Exposition anhand eines Einzelmesswertes ist aufgrund der ungenügenden und widersprüchlichen Korrelationen in der vorliegenden Arbeit und in der Literatur nicht möglich. Eine mögliche Lösung dieses Problems bietet die Durchführung eines Kurzprofils, das auf jeweils einer Blutabnahme vor MMF- Gabe (C_0), sowie 30 min (C_{30min}) und 2 Stunden (C_2) nach MMF- Gabe basiert (Tönshoff et al. 2004). Die MPA- AUC_{0-12} wird dabei nach der Formel berechnet: $MPA-AUC= 18,6 + 4,3 \times C_0 + 0,536 \times C_{30min} + 2,148 \times C_2$. Dieses Kurzprofil besitzt eine Korrelation mit der gemessenen MPA- AUC über 12 Stunden von $r^2= 0,72$.

Weiterführende Untersuchungen zur Pharmakokinetik dieses Immunsuppressivums, v. a. zu Interaktionen von MMF mit Ciclosporin, sind notwendig.

Sekundäres Ziel der Arbeit war die Evaluierung der Calcineurin- Phosphatase- Aktivität als Parameter wirksamer Calcineurin- Inhibition. Sowohl im ersten Profil als auch im zweiten Profil konnte eine Abnahme der Calcineurin- Aktivität nach Einnahme der immunsuppressiven Medikamente nachgewiesen werden. Die größte Calcineurin- Inhibition trat vergleichbar mit einer Untersuchung von Halloran et al., in deren Arbeit die maximale Inhibition in der ersten bzw. in der zweiten Stunde nach Ciclosporin- Einnahme angegeben wurde, eine Stunde nach Medikamenteneinnahme auf (Halloran et al. 1999). Die Calcineurin- Phosphatase arbeitete in der Untersuchung von Halloran et al. mit einer verbleibenden Aktivität von 36 % zum Zeitpunkt C_1 bzw. 44 % zum Zeitpunkt C_2 . In der vorliegenden Arbeit wurde eine deutlich geringere Inhibition ermittelt. Zu ähnlichen Ergebnissen wie Halloran et al. gelangten Cantarovich et al. in einer Studie bei erwachsenen Patienten ein Jahr nach Lebertransplantation (Cantarovich et al. 1998). Die Calcineurin- Aktivität lag in deren Arbeit zwischen 56 % und 61 %.

Angesichts der Ergebnisse in der vorliegenden Arbeit spielen methodische Unterschiede gegenüber den Studien anderer Autoren die entscheidende Rolle. Die Calcineurin- Inhibition ist proportional zu der Ciclosporin- Konzentration (Halloran et al. 1999). Eine hohe CyA- Konzentration bewirkt eine stärkere Inhibition des Enzyms. In der vorliegenden Arbeit lagen die CyA- Konzentrationen und somit die Calcineurin- Inhibition niedriger als

in der Untersuchung von Halloran et al. Zudem wurden in den bisher durchgeführten Untersuchungen zur Calcineurin- Inhibition andere Testkits verwendet. Sowohl in der Studie von Halloran et al. als auch Cantarovich et al. wurde die Phosphatmenge mittels eines Kationenaustauschers isoliert und in einem Szintillationszähler gemessen. In der vorliegenden Arbeit wurde die Phosphatmenge photometrisch erfasst. Der in dieser Studie angewandte Testkit wurde bisher in der Medizin für eine derartige Untersuchung nicht verwendet. Erst im Rahmen dieser Arbeit wurde das Verfahren des Testkits entwickelt. Demnach müssen methodische Probleme berücksichtigt werden. Ein solches spiegelt sicherlich die hohe Calcineurin- Aktivität des zweiten Profils drei Stunden nach CyA-Einnahme wider. Ferner ergab sich aufgrund einer hohen Streuung der Einzelwerte keine signifikante Korrelation der Calcineurin- Aktivität mit der Ciclosporin- Blutkonzentration zu den entsprechenden Zeitpunkten nach der Einnahme. Der Vergleich zwischen der Calcineurin- Aktivität bei gesunden Kontrollprobanden und bei immunsupprimierten Kindern hat gezeigt, dass die Aktivität 12 Stunden nach der Einnahme der Immunsuppressiva nur geringfügig unter der Aktivität der Kontrollprobanden gelegen hat, während sie eine Stunde nach der Medikamenteneinnahme der nierentransplantierten Kinder deutlich unter die der Kontrollprobanden gesunken war. Auch zu den weiteren Zeitpunkten nach der Einnahme des Ciclosporins wurden bei den nierentransplantierten Kindern niedrigere Aktivitäten des Enzyms gegenüber den Kontrollprobanden nachgewiesen, dennoch waren die Unterschiede nicht als signifikant anzusehen. Vergleichbare Untersuchungen konnten in der Literatur nicht ermittelt werden.

7. Schlussfolgerungen und Ausblick

Bei den Kindern und Jugendlichen in der vorliegenden Arbeit lagen die C_2 -Konzentrationen im Mittel über den für Erwachsene empfohlenen Zielwerten. Es bleibt Gegenstand weiterer Untersuchungen, ob sich die Ciclosporin-Konzentrationen auch bei pädiatrischen Patienten angesichts der unerwünschten Arzneimittelwirkungen bei gleichzeitiger Rejektionsprophylaxe weiter senken lassen. Vorstellbar ist die Annahme eines Zielbereiches von 450- 800 ng/ml. C_2 ist bei Kindern in der stabilen Phase nach Nierentransplantation die beste Bezugsgröße für die Ciclosporin- Exposition und weist die beste Korrelation mit der Fläche unter der Konzentrations- Zeit- Kurve auf. C_0 korreliert nur gering mit der AUC.

Diese Arbeit soll einen Beitrag dazu leisten, die medizinischen Einrichtungen auf dem Gebiet der Transplantation zu ermutigen, auf das C_2 - Monitoring umzustellen. Patienten dieser Studie wurden im Anschluss an die Profile bereits nach C_2 - Monitoring auf die immunsuppressiven Medikamente eingestellt. Es zeigten sich bereits erste Trends einer verbesserten Nierenfunktion. Eine nachfolgende Studie auf diesem Gebiet ist geplant.

Eine Empfehlung für einen Algorithmus zur Erfassung der MMF- Exposition anhand eines Einzelmesswertes ist aufgrund der eigenen und in der Literatur angegebenen ungenügenden und widersprüchlichen Korrelationen mit der Fläche unter der Konzentrations- Zeit- Kurve nicht möglich. Eine mögliche Lösung dieses Problems bietet die Durchführung eines Kurzprofils, das auf einer Blutabnahme vor MMF- Gabe, sowie 30 min und 2 Stunden nach MMF- Gabe basiert. Es sind weitere Untersuchungen hinsichtlich der Pharmakokinetik von MMF notwendig.

Der für die Bestimmung der Calcineurin- Aktivität verwendete Testkit stellt für wissenschaftliche Untersuchungen ein geeignetes Nachweisverfahren dar. Für einen Einsatz in der klinischen Praxis sind methodische Fehlerquellen zu verbessern.

Literaturverzeichnis

- Allison AC, Kowalski WJ, Muller CD. 1993. Mechanism of action of mycophenolic acid. In: Allison AC, Lafferty K, Fliri H, eds. *Immunosuppressive and Antiinflammatory Drugs*. New York, NY: The New York Academy of sciences, 696:63-87.
- Amante AJ, Kahan BD. 1996. Abbreviated area- under- the- curve strategy for monitoring cyclosporine microemulsion therapy in immediate posttransplant period. *Clin Chem*, 42:1294-1296.
- Baltzan M, George D. 1999. Renal allograft pathology: the Banff classification. *Kidney Int*, 56:1602.
- Batiuk TD, Kung L, Halloran PF. 1997. Evidence that calcineurin is rate- limiting for primary human lymphocyte activation. *J Clin Invest*, 100:1894.
- Beals CR, Clipstone NA, Ho SN, Crabtree GR. 1997. Nuclear localization of NF-Atc by a calcineurin- dependent, cyclosporin- sensitive intramolecular interaction. *Genes Dev*, 11:824.
- Broyer M, Guest G, Gagnadoux MF. 1992. Growth rate in children receiving alternate- day corticosteroid treatment after kidney transplantation. *J Pediatr*, 120 (5):721.
- Brunet M, Millán O, Jimenez O, Campistol JM, Vidal E, Rojo I, Oppenheimer F, Fortuna V, Martorell J. 2004. New Concepts in Cyclosporine Pharmacokinetic and Dynamic Monitoring: The Impact of Concomitant Immunosuppression on Target C₂ Concentrations. *Transplant Proc*, 26 (2S), 437-441.
- Bullingham RES, Nicholls A, Kamm BR. 1998. Clinical pharmacokinetics of mycophenolic acid. *Clin Pharmacokinet*, 34 (6):429-455.
- Cantarovich M, Barkun JS, Tchervenkov JI, Besner JG, Aspeslet L, Metrakos P. 1998. Comparison of Neoral dose monitoring with cyclosporine trough levels versus 2-hr postdose levels in stable liver transplant patients. *Transplantation*, 66 (12):1621-1627.
- Cecka M. 1998. Clinical outcome of renal transplantation. Factors influencing patient and graft survival. *Surg Clinb North Am*, 78:133-148.
- Citterio F, Scata MC, Borzi MT. 2001. Single- point sampling to evaluate cyclosporine exposure in long- term renal transplant recipients. *Transplant Proc*, 33:3133-3136.
- Citterio F, Scata MC, Pozzetto U, Nanni G, Castagneto M. 2003. Long- term Predictive Value of Cyclosporine Microemulsion C₂ Level for Chronic Renal Allograft Dysfunction. *Transplant Proc*, 35:2894-2898.

- Clipstone NA, Crabtree GR. 1992. Identification of calcineurin as key signalling enzyme in lymphocyte activation. *Nature*, 357:695.
- Dantal J, Hourmant M, Cantarovich D, Giral M, Blanco G, Dreno B, Souillou J-P. 1998. Effect of long- term immunosuppression in kidney- graft recipients on cancer incidence: randomised comparison of two cyclosporin regimens. *The Lancet*, 351:623-628.
- David-Neto E, Araujo LM, Lemos FC, et al. 2001. Introduction of mycophenolate mofetil and cyclosporine reduction in children with chronic allograft nephropathy. *Pediatr Transplant*, 5:302.
- David-Neto E, Araujo LMP, Alves CF, Sumita NN, Romano P, Yagyu EM, Nahas WC, Ianhez LE. 2002. A strategy to calculate cyclosporin A area under the time-concentration curve in pediatric renal transplantation. *Pediatr Transplantation*, 6:313-318.
- David-Neto E, Araujo LP, Sumita NN, Mendes ME, Castro MCR, Alves CF, Kakehashi E, Paschoalina R, Yagyu EM, Queiroga M, Nahas WC, Ianhez LE. 2003. Mycophenolic acid pharmacokinetics in stable pediatric renal transplantation. *Pediatr Nephrol*, 18:266-272.
- Dello Strologo L, Pontesilli C, Rizzoni G, Tozzi AE. 2003. C2 monitoring: A reliable tool in pediatric renal transplant recipients. *Transplantation*, 76 (2):444-441.
- Di Paolo S, Teutonico A, Infante B, Stallone G, Schena A, Grandaliano G, Battaglia, Di Tonno P, Schena FP. 2004. Experience with cyclosporine: Approaching the Therapeutic Window for C₂ Levels in Maintenance Kidney Transplant Recipients. *Transplant Proc*, 36 (2S):434-436.
- DuBois D, DuBois EF. 1916. A formula to estimate the approximate surface area if height and weight be known. *Arch Intern Med*, 17:863-871.
- Dunn SP. 2003. Neoral monitoring 2 hours post- dose and the pediatric patient. *Pediatr Transplantation*, 7:25-30.
- Einecke G, Mai I, Diekmann F, et al. 2002. Cyclosporine absorption profiling and therapeutic drug monitoring using C(2) blood levels in stable renal allograft recipients. *Transplant Proc*, 71:638-644.
- Elliot JF, Lin Y, Mizel SB, Bleackely R, Harnish DG, Paetkau V. 1984. Induction of interleukin 2 messenger RNA inhibited by cyclosporine A. *Science*, 226:1439.

- European Mycophenolate Mofetil Cooperative Study Group. 1995. Placebo- controlled study of mycophenolate mofetil combined with cyclosporin and corticosteroids for prevention of acute rejection. *Lancet*, 345 (8961):1321-1325.
- Ferraresso M, Ghio L, Tirelli S, Pedotti P, Taioli E, Edefonti A, Berardinelli L. 2004. Cyclosporine monitoring in stable, long- term, pediatric kidney transplant recipients: The value of C2 determination. *Transplant Proc*, 36:685-686.
- Filler G, Mai I, Filler S, Ehrich HHJ. 1999. Abbreviated cyclosporine AUCs on Neoral- the search continues! *Pediatr Nephrol*, 13:98-102.
- Filler G, Feber J, Lepage N, Weiler G, Mai I. (Ohne Zeitangabe). Universal approach to pharmacokinetic monitoring of immunosuppressive agents in children. Poster einer Zusammenarbeit: Children's Hospital of Eastern Ontario, University of Ottawa, Charité, Humboldt University at Berlin.
- Fuleihan R, Ramesh N, Horner A. 1994. Cyclosporin A inhibits CD40 ligand expression in T lymphocytes. *J Clin Invest*, 93:1315.
- Ganschow R, Borhler A, Grabhorn E, Horstmann M, Mir TS, Offner G, Rodeck B, Stieh J, Strehlau J. 2003a. Immunsuppression in der pädiatrischen Transplantationsmedizin. 1te Aufl. Bremen: Uni-Med, 28.
- Ganschow R, Borhler A, Grabhorn E, Horstmann M, Mir TS, Offner G, Rodeck B, Stieh J, Strehlau J. 2003b. Immunsuppression in der pädiatrischen Transplantationsmedizin. 1te Aufl. Bremen: Uni-Med, 17f.
- Ganschow R, Borhler A, Grabhorn E, Horstmann M, Mir TS, Offner G, Rodeck B, Stieh J, Strehlau J. 2003c. Immunsuppression in der pädiatrischen Transplantationsmedizin. 1te Aufl. Bremen: Uni-Med, 30f.
- Ganschow R, Borhler A, Grabhorn E, Horstmann M, Mir TS, Offner G, Rodeck B, Stieh J, Strehlau J. 2003d. Immunsuppression in der pädiatrischen Transplantationsmedizin. 1te Aufl. Bremen: Uni-Med, 20.
- Halloran PF. 2004. Immunosuppressive drugs for kidney transplantation. *N Engl J Med*, 351:26.
- Halloran PF, Helms LM, Kung L, Noujaim J. 1999. The temporal profile of calcineurin inhibition by cyclosporine in vivo. *Transplantation*, 68:1356-1361.
- Henne T, Latta K, Strehlau J, et al. 2003. Mycophenolate mofetil induced reversal of glomerular filtration loss in children with chronic allograft nephropathy. *Transplantation*, 76:1236.

- Höcker B, John U, Plank C, Wühl E, Weber LT, Misselwitz J, Rascher W, Mehls O, Tönshoff B. 2004. Successful withdrawal of steroids in pediatric renal transplant recipients receiving cyclosporine A and mycophenolate mofetil treatment: Results after four years. *Transplantation*, 78 (2):228-234.
- Hornung S. 2001. Renal function after pediatric cardiac transplantation: The effect of early cyclosporin dosage. *Pediatrics*, 107 (6)
- Hoyer PF. 2000. Therapeutic drug monitoring of cyclosporine A: Should we use the area under the concentration- time curve and forget trough levels? *Pediatric Transplantation*, 4:2-5.
- Hoyer PF, Vester U. 2004. The Impact of Cyclosporine on the Development of Immunosuppressive Therapy- Pediatric Transplantation Using Cyclosporine. *Transplant Proc*, 36 (2S):197-202.
- Hu RH, Tsai MK, Lee PH. 2004. Evaluation of Cyclosporine C₂ Levels in Long- Term Stable Renal Allograft Recipients. *Transplant Proc*, 36:2105-2107.
- Johnston A, David OJ, Cooney GF. 2000. Pharmacokinetic validation of Neoral absorption profiling. *Transplant Proc*, 32:53.
- Jungraithmayr T, Staskewitz A, Kirste G, Böswald M, Bulla M, Burghard R, Dippell J, Greiner C, Helmchen U, Klare B, Klaus G, Leichter HE, Mihatsch MJ, Michalk DV, Misselwitz J, Plank C, Querfeld U, Weber LT, Wiesel M, Tönshoff B, Zimmerhackl LB für die German Pediatric Renal Transplantation Study Group. 2003. Pediatric renal transplantation with mycophenolate mofetil- based immunosuppression without induction: results after three years. *Transplantation*, 75:454-461.
- Kahan BD, Welsh M, Schoenberg L. 1996. Variable oral absorption of cyclosporine. A biopharmaceutical risk factor for chronic renal allograft rejection. *Transplantation*, 62:599-606.
- Kahan BD, Keown P, Levy GA, Johnston A. 2000. Therapeutic drug monitoring of immunosuppressant drugs in clinical practice. *Clin Therapeutics*, 24 (3):1-21.
- Kelles A, Herman J, Tjandra-Maga TB, van Damme-Lombaerts R. 1999. Sandimmune to Neoral conversion and value of abbreviated AUC monitoring in stable pediatric kidney transplant recipients. *Pediatr Transplant*, 3:282-287.
- Kobashigawa J, Miller L, Renlund D. 1998. A randomized active- controlled trial of mycophenolate mofetil in heart transplant recipients. *Transplantation*, 66 (4):507-515.

- Kovarik JM, Hoyer PF, Ettenger R, Punch J, Soergel M. 2003. Cyclosporine absorption profiles in pediatric kidney and liver transplant patients. *Pediatr Nephrol*, 18:1275-1279.
- Krönke M, Leonard WJ, Depper JM, Arya SK, Wong-Staal F, Gallo RC, Waldmann TA, Greene WC. 1984. Cyclosporin A inhibits T- cell growth factor gene expression at the level of mRNA transcription. *Proc Natl Acad Sci USA*, 81:5214.
- Kuypers DRJ, Vanrenterghem Y, Squifflet J-P, Mourad M, Abramowicz D, Oellerich M, Armstrong VW, Shipkova M, Daems J. 2003. Twelve- Month evaluation of the clinical pharmacokinetics of total and free mycophenolic acid and its glucuronide metabolites in renal allograft recipients on low dose tacrolimus in combination with mycophenolate mofetil. *Ther Drug Monit*, 25:609-622.
- Land W. 2001a. *Ciclosporin in der Transplantationsmedizin*. 1te Aufl. Stuttgart;New York: Georg- Thieme- Verlag, V.
- Land W. 2001b. *Ciclosporin in der Transplantationsmedizin*. 1te Aufl. Stuttgart;New York: Georg- Thieme- Verlag, 83.
- Land W. 2001c. *Ciclosporin in der Transplantationsmedizin*. 1te Aufl. Stuttgart;New York: Georg- Thieme- Verlag, 65.
- Land W. 2001d. *Ciclosporin in der Transplantationsmedizin*. 1te Aufl. Stuttgart;New York: Georg- Thieme- Verlag, 75f.
- Levy G. 2001. C2- Monitoring- Strategie zur Optimierung der Immunsuppression durch Cyclosporin aus der Sandimmun Optoral[®]- Formulierung. *Biodrugs*, 15 (5):279-290.
- Levy G, Thervet E, Lake J, Uchida K. 2002. Patient management by Neoral C2 monitoring: An international consensus statement. *Transplantation*, 73:12-18.
- Lindholm A, Kahan BD. 1993. Influence of cyclosporine pharmacokinetics, trough concentrations, and AUC monitoring on outcome after kidney transplantation. *Clin Pharmacol Ther*, 54:205-218.
- Liu J, Farmer JDJ, Lane WS, Friedman J, Weissman I, Schreiber SL. 1991. Calcineurin is a common target of cyclophilin, cyclosporin A and FKBP- FK506 complexes. *Cell*, 66:807.
- Löffler G, Petrides PE. 1998. *Biochemie und Pathobiochemie*. 5te Aufl. Berlin; Heidelberg: Springer- Verlag, 1073.

- Loh C, Shaw KTY, Carew J, Viola JPB, Luo C, Perrino BA, Rao A. 1996. Calcineurin binds the transcription factor NFAT1 and reversibly regulates its activity. *J Biol Chem*, 271:10884.
- Lucan M, Iacob G, Lucan C, Lăpușan C, Munteanu A, Sîrbu S. 2004. Ten Years of cyclosporine use in renal transplantation: A single- center experience with 479 renal transplants. *Transplant Proc*,36 (2S):177-188.
- Luo C, Shaw KTY, Rhaghavab A. 1996a. Interaction of calcineurin with a domain of the transcription factor NFAT1 that controls nuclear import. *Proc Natl Acad Sci USA*, 93:8907.
- Luo C, Burgeon E, Carew JA, McCaffrey PG, Badalian TM, Lane WS, Hogan PG, Rao A. 1996b. Recombinant NFAT1 (NFATp) is regulated by calcineurin in T cells and mediates transcription of several cytokine genes. *Mol Cell Biol*, 16:3955.
- Meier- Kriesche HU, Bonilla-Felix MA, Ferris ME, Swinford R, Kahan BD, Brannan P, Portman RJ. 1999. A limited sampling strategy for the estimation of Neoral AUCs in pediatric patients. *Pediatr Nephrol*, 13:742-747.
- Misselwitz J. 1986. Diagnostische Bedeutung der Antikörperspiegel gegen Lipid A im Serum bei Kindern mit Harnwegsinfektionen. Dissertation, Medizinische Fakultät, FSU Jena.
- Morris PJ. 1981. Cyclosporine A. *Transplantation*, 32:349.
- Nashan B, Armstrong VW, Budde K, Fricke L, Heemann U, Lück R, Röthele E, Scheuermann EH, Suwelack B. 2003. Cyclosporin C₂- Monitoring zur Optimierung der Immunsuppression nach Nierentransplantation - Empfehlungen anhand erster Erfahrungen in Deutschland. *Tx Med*, 15:15-24.
- Neumayer HH, Böhler T, Budde K, Fritsche L, Gaedeke J, Hauser I, Kunzendorf U, Maibücher A, Morgera S, Sommer F, Waiser J. 2001. Neue Medikamente in der Transplantationsmedizin. 1te Aufl. Bremen: Uni- Med Verlag,62.
- Nowak I, Shaw LM. 1995. Mycophenolic acid binding to human serum albumin: Characterization and relation to pharmacodynamics. *Clin Chem*, 41 (7):1011-1017.
- Pape L, Froede K, Strehlau J, Ehrich HHJ, Offner G. 2003. Alterations of cyclosporin A induced by mycophenolat mofetil. *Pediatr Transplant*, 7:302-304.
- Rao A. 1995. NFATp , a cyclosporin- sensitive transcription factor implicated in cytokine gene induction. *J Leuk Biol*, 57:536.
- Schreiber SL, Crabtree GR. 1992. The mechanism of action of cyclosporin A and FK506. *Immunol Today*, 13:136.

- Schwartz GJ, Brion LP, Spitzer A. 1987. The use of plasma creatinine concentration for estimating glomerular filtration rate in infants, children, and adolescents. *Pediatr Clin North Am*, 34:571-590.
- Shaw LM, Nicholls A, Hale M. 1998. Therapeutic drug monitoring of mycophenolic acid: A consensus panel report. *Clin Biochem*, 31 (5):317-322.
- Soldin SJ, Steele BW, Witte DL, Wang E, Elin RJ. 2003. Lack of specificity of cyclosporine immunoassays. *Arch Pathol Lab Med*, 127:19-22.
- Sollinger HW. 1995. Mycophenolate mofetil for the prevention of acute rejection in primary cadaveric renal allograft recipients. *Transplantation*, 60 (3):225-232.
- Staskewitz A, Kirste G, Toenshoff B, et al. 2001. Mycophenolate mofetil in pediatric renal transplantation without induction therapy: results after 12 months of treatment. *Transplantation*, 15:638.
- Su B, Jacinto E, Hibi M, Kallunki T, Karin M, Ben-Neriah Y. 1994. JNK is involved in signal integration during costimulating of T lymphocytes. *Cell*, 77:727.
- Tönshoff B, Weber LT, Höcker B, Köpf S, Zimmerhackl LB, Armstrong VW, Oellerich M. 2004. Der Stellenwert des Immunsuppressivums Mycophenolatmofetil bei pädiatrischen Nierentransplantatempfängern. *Tx Med*, 16:26-37.
- Weber LT, Lamersdorf T, Shipkova M, Niedmann PD, Wiesel M, Zimmerhackl LB, Staskewitz A, Schütz E, Mehls O, Oellerich M, Armstrong VW, Tönshoff B, und Mitglieder der German Study Group on Mycophenolate Mofetil Therapy in Pediatric Renal Transplant Recipients. 1999. Area Under the Plasma Concentration- Time Curve for Total, but not for Free, Mycophenolic Acid Increases in the Stable Phase After Renal Transplantation: A Longitudinal Study in Pediatric Patients. *Ther Drug Monitoring*, 21:498-506.
- Weber LT, Armstrong VW, Shipkova M, Feneberg R, Wiesel M, Mehls O, Zimmerhackl LB, Oellerich M, Tönshoff B, und Mitglieder der German Study Group on Pediatric Renal Transplantation. 2004. Cyclosporin A Absorption Profiles in Pediatric Renal Transplant Recipients Predict the Risk of Acute Rejection. *Ther Drug Monit*, 26:415-424.
- Wigger M, Drückler E, Muscheits J, Stolpe HJ, Kundt G, Wacke R. 2001. Cyclosporine peak concentration in relation relation to the four- hour absorption phase in pediatric renal graft recipients. *Transplant Proc*, 33:3126-3127.

- Wigger M, Drückler E, Muscheites J, Stolpe HJ, Kundt G, Wacke R. 2003. Comparison of Cyclosporine Absorption Profiles over a 12- Month Period in Stable Pediatric Transplant Recipients. *Transplant Proc*, 35.
- Wu JC. 1994. Mycophenolate mofetil: Molecular mechanism of action. *Perspect Drug Discovery Design*, 2:185-204.

Anhang

Tab. 32: Begleitmedikation: Profil 1

Pat.	Antihypertensiva (mg)				Prednisolon (mg)	Vit. D (mg)
L.C.	Delix (2,5)	Norvasc (5)	Beloc zok forte(380)		-	-
F.M.	-				-	-
H.J.	Delix (5)	Minipress ret. (2)	Beloc zok mite (95)	Nepresol (75)	2,75	-
F.S.	Lorzaar (50)	Beloc zok (95)			-	Calcimagon D3 (1,25)
L.M.	Xanef (7,5)	Beloc zok (237,5)	Nepresol (150)		-	Calcimagon D3 (1,25)
G.N.	Lopirin (25)	Metoprolol (200)	Nepresol (50)		-	Calcimagon D3 (1,25)
L.R.	Xanef (10)	Beloc zok mite (95)			-	Calcimagon D3 (1,25)
B.S.	Beloc zok (190)				-	Calcimagon D3 (1,25)
T.M.	Lorzaar (25)				-	-
B.T.	Lasix (40)	Beloc zok 95 (190)	Nepresol (100)		8	-
K.M.	Xanef (5)	Minipress ret. (8)	Beloc zok 95 (190)		5	Calcimagon D3 (1,25)
H.M.	Delix (2,5)				5	-
A.C.	Delix (2,5)				2,5	-

Tab. 33: Begleitmedikation: Profil 2

Pat.	Antihypertensiva (mg)				Prednisolon (mg)	Vit. D (mg)
L.C.	Delix (2,5)	Norvasc (5)	Beloc zok forte (190)		-	-
H.J.	Delix (5)	Minipress ret. (2)	Beloc zok mite (95)	Nepresol (50)	2,75	-
F.S.	Lorzaar (50)	Beloc zok mite (95)			-	Calcimagon D3 (1,25)
L.M.	Xanef (7,5)	Beloc zok (237,5)	Nepresol (75)		-	Calcimagon D3 (1,25)
G.N.	Lopirin (25)	Metoprolol (200)	Nepresol (50)		-	Calcimagon D3 (1,25)
L.R.	Xanef (10)	Minipress ret. (12)	Beloc zok mite (95)		-	Calcimagon D3 (1,25)
B.S.	Beloc zok (190)				-	Calcimagon D3 (1,25)
T.M.	Lorzaar (25)				-	-
B.T.	Beloc zok 95(190)	Minipress ret. (12)	Nepresol (100)		8	-
K.M.	Xanef (5)	Minipress ret. (8)	Beloc zok 95 (190)		5	Calcimagon D3 (1,25)
H.M.	Delix (2,5)				5	-
A.C.	Delix (2,5)				2,5	-

Tab. 34: Ciclosporin- Tagesdosis: Profil 1

Patient	mg	mg/kg	mg/m ² KOF
L.C.	220	2,9	116
F.M.	180	4,5	150
H.J.	120	4,1	120
F.S.	210	2,8	117
L.M.	230	2,9	115
G.N.	280	3,9	147
L.R.	250	3,0	125
B.S.	200	2,7	105
T.M.	235	4,8	168
B.T.	400	4,4	191
K.M.	190	3,3	119
H.M.	280	6,2	200
A.C.	260	6,1	186

Tab. 35: Ciclosporin- Konzentrationen (ng/ml): Profil 1

Patient	C ₀	C ₁	C ₂	C ₃	C ₄	C ₆
L.C.	135,4	518,1	563,7	420,6	315	234,6
F.M.	95,7	865,2	547,8	343,8	198,3	167,5
H.J.	134,9	1270,8	684,6	482,1	351,9	230,3
F.S.	172,9	961,2	1022,7	595,8	424,5	263,3
L.M.	106,5	539,7	340,8	269,7	227,1	195,3
G.N.	58,1	345,6	420,6	620,4	337,5	255,1
L.R.	56,3	360,3	779,4	528,9	370,8	201,1
B.S.	129,1	698,4	608,7	352,2	266,7	218,6
T.M.	94,9	525,3	567	438,3	398,1	254,1
B.T.	220,5	1066,2	1004,4	729,6	653,7	500,1
K.M.	97,6	541,2	792,3	372,6	194,4	207,8
H.M.	104,7	773,7	1023	488,8	348,9	201,1
A.C.	130,8	1426,8	1149,9	560,8	456	209,7

Die fett gedruckten Werte weisen auf Patienten hin, deren C₂- Werte über 800 ng/ml lagen.

Tab. 36: Ciclosporin- Tagesdosis: Profil 2

Patient	mg	mg/kg	mg/m ² KOF
L.C.	220	2,9	114
H.J.	110	3,7	110
F.S.	190	2,6	107
L.M.	230	2,8	116
G.N.	280	4,2	151
L.R.	230	2,7	113
B.S.	190	2,6	103
T.M.	235	4,8	165
B.T.	360	4,1	174
K.M.	200	3,6	129
H.M.	240	5,5	179
A.C.	260	6,2	191

Tab. 37: Ciclosporin- Konzentrationen (ng/ml): Profil 2

Patient	C ₀	C ₁	C ₂	C ₃	C ₄	C ₆
L.C.	83,8	865,5	771,9	388,2	285,6	200,8
H.J.	189,2	1097,7	645,6	375,3	295,2	198,5
F.S.	187	1101	748,8	465	309,6	211,7
L.M.	94,8	442,2	387,6	204,3	163,2	188,9
G.N.	142,9	714,3	905,4	630,6	420,9	322
L.R.	136,6	720,3	694,5	412,2	241,8	204,4
B.S.	91	618,9	535,2	357	246	216,2
T.M.	96,8	449,1	750	523,5	410,4	225,6
B.T.	163	1121,4	1191,9	776,4	453,9	380,2
K.M.	71,4	830,1	654,3	315,8	295,8	159
H.M.	105,6	1125,9	811,5	436,2	317,4	179,4
A.C.	137,4	810,6	1176,9	628,5	429,6	221,4

Tab. 38: Mycophenolatmofetil- Tagesdosis: Profil 1

Patient	mg	mg/kg	mg/m ² KOF
L.C.	1250	16,5	658
F.M.	500	12,6	417
H.J.	1000	34,5	1000
F.S.	2500	3,4	139
L.M.	2000	25,0	1000
G.N.	2000	28,2	1053
L.R.	2000	23,9	1000
B.S.	2000	27,0	1053
T.M.	2000	40,8	1429
B.T.	2500	2,8	119
K.M.	2000	34,9	1250
H.M.	1500	33,3	1071
A.C.	1750	41,0	1250

Tab. 39: Mycophenolatmofetil- Konzentrationen (µg/ml): Profil 1

Patient	C ₀	C ₁	C ₂	C ₃	C ₄	C ₆
L.C.	2,83	14,85	8,21	3,99	5,08	2,43
F.M.	1,42	12,76	3,14	1,91	1,28	5,43
H.J.	4,4	27,4	8,71	5,98	4,37	5,18
F.S.	0,5	18,46	8,67	3,65	2,14	2,73
L.M.	2,23	17,88	7,26	4,8	2,8	6,54
G.N.	1,96	13,06	12,68	6,45	4,36	3,48
L.R.	0,85	11,61	3,76	2,66	2,05	1,5
B.S.	2,01	22,5	9,62	5,79	3,66	4,06
T.M.	2,16	10,48	10,45	6,34	5,04	3,89
B.T.	4	15	12,61	9,53	5,21	2,83
K.M.	2,31	13,32	27	14,61	7,95	3,63
H.M.	5,08	27,81	18,48	8,96	5,02	4,61
A.C.	3,66	22,24	14,69	8,15	7,9	0,5

Tab. 40: Mycophenolatmofetil- Tagesdosis: Profil 2

Patient	mg	mg/kg	mg/m ² KOF
L.C.	1250	16,6	647
H.J.	1000	33,9	997
F.S.	2500	31,1	1262
L.M.	2000	24,7	1005
G.N.	1000	14,8	538
L.R.	2000	23,9	980
B.S.	2000	27,8	1081
T.M.	2000	40,8	1400
B.T.	2125	24,2	1025
K.M.	2000	36,1	1286
H.M.	750	17,1	558
A.C.	1750	17,9	552

Tab. 41: Mycophenolatmofetil- Konzentrationen (µg/ml): Profil 2

Patient	C ₀	C ₁	C ₂	C ₃	C ₄	C ₆
L.C.	3,45	13,83	7,64	4,71	5,33	2,96
H.J.	4,34	20,79	13,92	13,89	4,62	5,38
F.S.	0,5	5,89	13,49	7,91	3,44	1,44
L.M.	3,92	14,75	11,16	7,69	5,06	4,8
G.N.	2,09	7,76	8,55	6,49	4,8	7,46
L.R.	2,28	14,35	6,71	4,05	2,93	1,47
B.S.	2,8	34,62	10,07	6,03	2,65	1,54
T.M.	1,06	11,63	5,97	4,99	3,93	3,93
B.T.	4,39	27,24	16,8	8,92	5,04	2,56
K.M.	1,22	24,32	11,53	6,16	5,02	1,67
H.M.	5,08	27,81	18,48	8,96	5,02	4,61
A.C.	3,66	22,24	14,69	8,15	7,9	0,5

Ehrenwörtliche Erklärung

Hiermit erkläre ich, dass mir die Promotionsordnung der Medizinischen Fakultät der Friedrich- Schiller- Universität Jena bekannt ist,

ich die Dissertation selbst angefertigt habe und alle von mir benutzten Hilfsmittel, persönlichen Mitteilungen und Quellen in meiner Arbeit angegeben sind,

mich Herr Prof. Dr. med. J. Misselwitz, Leiter des Arbeitsbereiches Nephrologie der Klinik für Kinder- und Jugendmedizin der FSU Jena, Frau OÄ Dr. med. U. John, Oberärztin in der o. g. Einrichtung, Herr Dr. med. M. Roskos, Assistenzarzt am Institut für klinische Chemie und Laboratoriumsdiagnostik der FSU Jena, Herr Dr. R. Vollandt, Mitarbeiter des Instituts für medizinische Statistik, Informatik und Dokumentation der FSU Jena bei der Auswahl und Auswertung des Materials sowie bei der Herstellung des Manuskripts unterstützt haben,

die Hilfe eines Promotionsberaters nicht in Anspruch genommen wurde und dass Dritte weder unmittelbar noch mittelbar geldwerte Leistungen von mir für Arbeiten erhalten haben, die im Zusammenhang mit dem Inhalt der vorgelegten Dissertation stehen,

dass ich die Dissertation noch nicht als Prüfungsarbeit für eine staatliche oder andere wissenschaftliche Prüfung eingereicht habe und

dass ich die gleiche, eine in wesentlichen Teilen ähnliche oder eine andere Abhandlung nicht bei einer anderen Hochschule als Dissertation eingereicht habe.

Jena, den 01.04.05

Sebastian Ullrich

Lebenslauf

Persönliche Daten

Name	Ullrich, Sebastian
geboren am	26.05.1981
in	Rostock
wohnhaft in	Kemmlerblick 2, 08527 Plauen
Familienstand	ledig

Schulbildung

09/87	Einschulung an der Von- Püchel- Grundschule Tauperlitz
09/91 – 06/00	Besuch des Jean- Paul- Gymnasiums Hof/Saale
30.06.2000	Abitur

Akademischer Werdegang

Seit 09/00	Studium der Humanmedizin an der Friedrich- Schiller- Universität Jena
06.09.02	Ärztliche Vorprüfung
28.08.03	1. Abschnitt der Ärztlichen Prüfung

Jena, den 01.04.05

Sebastian Ullrich

Danksagung

Hiermit danke ich allen Personen, die an der Entstehung der vorliegenden Dissertation beteiligt waren.

Für die Vergabe des Themas sowie die Unterstützung und Beratung möchte ich mich besonders bei Herrn Prof. Dr. med. J. Misselwitz, Leiter des Arbeitsbereiches Nephrologie der Abteilung für Allgemeine Pädiatrie, Hämatologie, Onkologie und Immunologie der Klinik für Kinder- und Jugendmedizin der Friedrich- Schiller- Universität Jena, bei Frau OÄ Dr. med. U. John, Oberärztin an der oben genannten Einrichtung, und bei allen Mitarbeitern dieses Arbeitsbereiches, insbesondere bei Schwester Martina, Schwester Gundula und Schwester Vera, bedanken.

Ich danke allen Mitarbeitern des Instituts für klinische Chemie und Laboratoriumsdiagnostik der FSU Jena, insbesondere Frau Hein und Frau Streck, ganz besonders Herrn Dr. med. M. Roskos für die Einführung in die Methodik, die Unterstützung während des experimentellen Teils der Arbeit und die Unterstützung bei der Erstellung des Manuskriptes.

Außerdem danke ich Herrn Dr. R. Vollandt vom Institut für medizinische Statistik, Informatik und Dokumentation der FSU Jena für die freundliche Beratung bei der statistischen Datenanalyse.

Ich möchte mich bei den Teilnehmern der Kontrollgruppe bedanken, dass sie sich bereitwillig als Probanden zur Verfügung gestellt haben.

Zuletzt danke ich ganz besonders meiner Verlobten Anja Ahlig sowie meinen Eltern für die Unterstützung und die vielen aufmunternden Worte.