

**Pharmakokinetisches und immunologisches Monitoring
bei de novo Leber-Transplantat-Empfängern unter Ciclosporin A**

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Hohen Medizinischen Fakultät
Rheinische Friedrich-Wilhelms-Universität
Bonn

vorgelegt von: Julian Benjamin Pump
aus: Mülheim an der Ruhr

2008

Angefertigt mit Genehmigung der
Medizinischen Fakultät der Universität Bonn

1. Gutachter: Univ.-Prof. Dr. med. René H. Tolba
2. Gutachter: Univ.-Prof. Dr. med. Dipl. Biol. Birgit Stoffel-Wagner

Tag der Mündlichen Prüfung: 15.07.2008

Aus der Klinik und Poliklinik für Allgemein-, Viszeral-,
Thorax- und Gefäßchirurgie der Universität Bonn
Direktor: Univ.-Prof. Dr. med. A. Hirner

Diese Dissertation ist auf dem Hochschulschriftenserver der ULB Bonn
http://hss.ulb.uni-bonn.de/diss_online elektronisch publiziert.

Meinem Großvater Apa

Inhaltsverzeichnis

1.	Einleitung	7
	1.1. Immunsuppression	10
	1.1.1. Ciclosporin	10
	1.1.2. Geschichte und Entwicklung	10
	1.1.3. Struktur und Wirkungsmechanismus	13
	1.1.4. Pharmakologie und Pharmakokinetik	15
	1.1.5. Verabreichung und Dosierung von Ciclosporin unter Berücksichtigung pharmakokinetischer Kriterien	16
	1.1.6. Nebenwirkungen	21
2.	Material und Methoden	23
	2.1. Probanden und Studiengenehmigung	23
	2.2. Immunsuppression	23
	2.3. Blutprobenentnahme	23
	2.4. Probenverlust	25
	2.5. Biochemische Blutuntersuchungen	25
	2.6. Statistik	29
3.	Ergebnisse	31
	3.1. Ciclosporinspiegel	31
	3.2. Leberparameter	41
	3.3. Nierenparameter	47
	3.4. Immunologische Parameter	48
	3.5. Infektionsparameter	51
	3.6. Vergleich verschiedener Laborparameter	52
	3.7. Abstoßungen	54
4.	Diskussion	60
	4.1. Immunsuppression	60

4.2. Nierenfunktionseinschränkung	64
4.3. Ischämie-Reperfusionsschaden (IRS)	65
4.4. Immunologische-Aktivierung	68
5. Zusammenfassung	70
6. Literaturverzeichnis	72
7. Danksagung	81
8. Lebenslauf	82

1. Einleitung

Seit der ersten Lebertransplantation 1963 durch T.E. Starzl in Denver, Colorado USA, hat sich die orthotope Lebertransplantation zu einem Standardverfahren bei der Behandlung progredienter Lebererkrankungen, die auf andere Art und Weise nicht mehr therapierbar sind, entwickelt (Starzl et al., 1963; Starzl et al., 1989). Nachdem in den ersten Jahren die klinischen Ergebnisse ernüchternd und die Erfolgsraten mäßig waren, stagnierte die Transplantationsmedizin in den 70er Jahren deutlich.

Die stetige Weiterentwicklung der chirurgischen operativen Technik, der Intensivmedizin und die Entwicklung von hochpotenten Immunsuppressiva ließen die Transplantationszahlen jedoch beständig steigen. Den eigentlichen Durchbruch erlangte die Transplantationsmedizin mit der klinischen Einführung von Ciclosporin A im Jahre 1981 (Pfitzmann et al., 2001). Im Gegensatz zur zuvor gebräuchlichen Immunsuppression mit Azathioprin und Cortison machte die neu gewonnene Kontrolle über die Immunreaktion des Organismus durch Ciclosporin A die Organtransplantation als erfolgreiche Behandlungsmethode in der modernen Medizin erst möglich und konnte sie fest etablieren.

In der heutigen Zeit, in der die Transplantation von Organen zu einem standardisierten Routineverfahren bei terminalem Organversagen gehört, ist die größte Aufmerksamkeit allerdings nicht mehr der chirurgischen Technik, sondern vielmehr der Verbesserung der Organkonservierung und vor allem der Entwicklung neuer immunsuppressiver Medikamente sowie der Optimierung ihrer Handhabung gewidmet.

Der immer größer werdende Organbedarf kann jedoch durch die abnehmende Spendebereitschaft in der Bevölkerung bei weitem nicht gedeckt werden (Cohen et al., 1997). Damit keine Patienten auf den Wartelisten sterben und die Wartelisten abgebaut werden können, müssten pro Jahr 900 Herzen, 1100 Lebern, 3500 Nieren, 400 Lungen und 400 Bauchspeicheldrüsen zur Transplantation zur Verfügung stehen (www.dso.de, 2005). Dem Jahresbericht der Deutschen Stiftung Organtransplantation (DSO) von 2006 zufolge wurden im Jahre 2006 in der BRD aber nur 198 Herzen, 446 Lebern, 1122 Nieren, 125 Lungen und 74 Bauchspeicheldrüsen postmortal gespendet, was die deutliche Kluft zwischen Bedarf und Angebot und der Realität aufzeigt (Smit et al.; 2006).

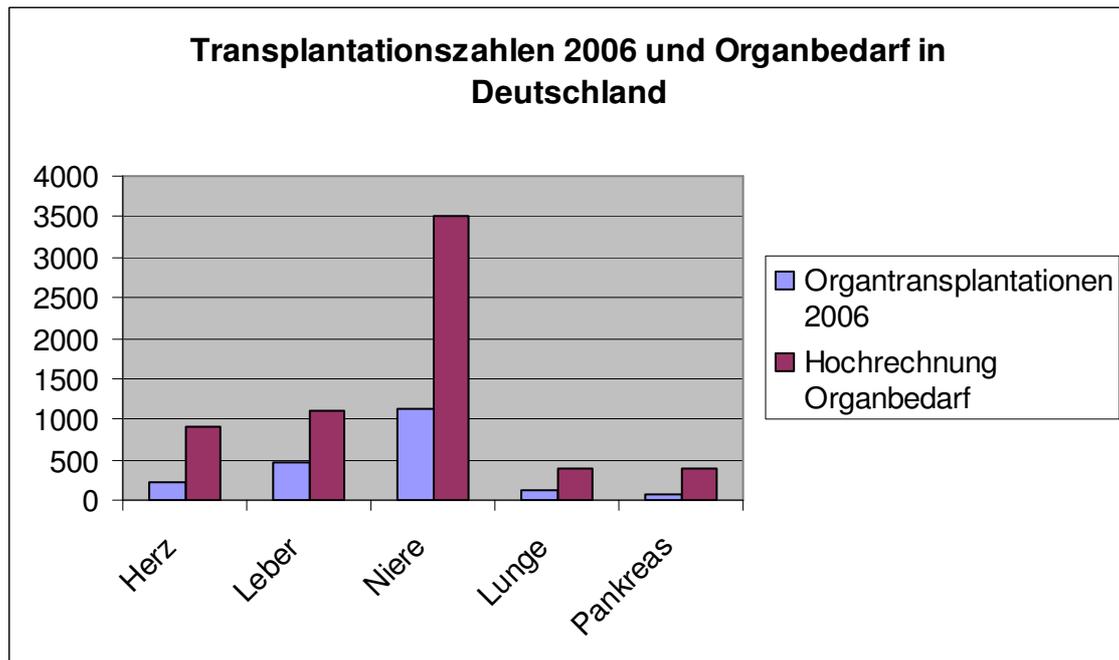


Abbildung 1: Transplantationszahlen 2006 und Organbedarf in Deutschland

Schon Anfang der neunziger Jahre wurden ähnliche Entwicklungstendenzen im Jahresreport des „US Scientific Registry of Transplant Recipients and the Organ Procurement Network“ beschrieben. Hier stieg z. B. die Anzahl der auf ein Leberorgan wartenden Patienten um 54%, die Zahl derer, die während der Wartezeit verstorben sind, erhöhte sich in derselben Zeit sogar um 128%. In der gleichen Periode, wuchs die Zahl der tatsächlichen Organspenden jedoch nur um 15,5% (Casavilla et al., 1995).

In Anbetracht des Organmangels ist es neben dem Bestreben, die Spendebereitschaft in der Bevölkerung zu erhöhen, das oberste Ziel, ein langes Überleben der transplantierten Organe und Patienten zu ermöglichen. Eine entscheidende Rolle hierbei spielt die Optimierung der Immunsuppression gerade in der frühen postoperativen Phase (Moser, 2002), da eine Minimierung der akuten Abstoßungsreaktionen und ein geringeres immunologisches „Awakening“ des Spender-Organismus besonders in dieser empfindlichen Situation zu einer längeren Transplantatüberlebenszeit verhelfen könnten.

Das Ziel dieser Studie war es, bei de novo Leber-Transplantat-Empfängern

1.) durch pharmakokinetische Messungen des Blutspiegels von Ciclosporin A (C0, C2, C4, C6 und C12) genauere Ergebnisse und Erkenntnisse in der frühen postoperativen Phase unter immunsuppressiver Therapie mit Ciclosporin A als Mikroemulsion (Sandimmun® Optoral), sowie

2.) die Auswirkungen der Immunsuppression auf die Interleukin 2-Rezeptor-Expression und andere immunologische und biologische Parameter (Interleukin 2-, Interleukin 6- und α -GST-Konzentrationen im Serum) zu erfassen.

1.1 Immunsuppression

W.G. Land definierte 2004 die Immunsuppression nach Organtransplantationen wie folgt: „Unter Immunsuppression im Zusammenhang mit der allogenen Organtransplantation verstehen wir derzeit allgemein alle Maßnahmen, die imstande sind, die unterschiedlichen sequenziellen molekularen Vorgänge, welche vom Augenblick der Interaktion zwischen Alloantigen-präsentierenden Zellen und T-Lymphozyten des Empfängers bis zur endgültigen Zerstörung des Transplantates ablaufen, an irgendeiner Stelle oder mehreren Stellen gleichzeitig zu hemmen.“

1.1.1 Ciclosporin

1.1.1.1 Geschichte und Entwicklung

Die Geschichte des Ciclosporins ist sehr facettenreich. Zufall, professionell und engagiert durchgeführte experimentelle Untersuchungen, Durchhaltevermögen nach negativ verlaufenen Experimenten, das gute Gespür eines Grundlagenforschers sowie Glücksfälle begleiteten die Entdeckung und Entwicklung dieser immunsuppressiven Substanz.

Auf Bodenproben, die durch Mitarbeiter der Firma Sandoz, Basel, Schweiz, in der norwegischen Hochebene „Hardanger Vidda“ entnommen wurden, wuchs ein Pilz namens *Tolypocladium Inflatum* Gams. Aus diesem Pilz wurde 1971 Ciclosporin isoliert (Borel, 1982).

Die immunsuppressive Wirkung wurde zuerst durch Jean Borel 1972 in Basel nachgewiesen (Borel, 1976): der Forscher zeigte eine signifikante Hemmung der Bildung von hämagglutinierenden Antikörpern bei immunisierten Mäusen. Die Proliferation von Mastzellen wurde hingegen nicht gehemmt. Nachdem er in anderen Experimenten an Ratten erhöhte Harnstoffwerte nach Verabreichung sehr hoher Dosen über eine Woche verzeichnete, hatte man binnen weniger Wochen experimenteller Untersuchungen die drei entscheidenden Wirkungsmerkmale von Ciclosporin ausfindig gemacht: immunsuppressive, allerdings nicht antiproliferative Wirkung sowie einen Hinweis auf Nephrotoxizität.

Nachdem Borel 1976 auf der Tagung der Britischen Gesellschaft für Immunologie Bericht über seine Ergebnisse erstattete, entschied sich die Forschergruppe um Sir Roy Calne aus Cambridge, den Wirkstoff in weiteren Versuchsreihen zu testen. Bald wurden in Cambridge umfangreiche Tierversuche an Nagetieren gestartet. Dass Ciclosporin die Überlebenszeit von Herztransplantaten signifikant verlängerte, wurde in ersten Experimenten an der Ratte entdeckt (Kostakis et al., 1977). Im Zuge dieser anfänglichen Forschungsarbeiten stellte man auch fest, dass die Substanz nicht in alkoholischer, sondern nur in öliger Lösung aktiv war. Die deutlich

verlängerte Überlebenszeit allogenen transplantierten Nieren in einem Versuch an Hunden, denen Ciclosporin gelöst in Olivenöl verabreicht wurde, belegte dies (Calne et al., 1977).

Nachdem die Forschungsgruppe aus Cambridge Ihre Ergebnisse umgehend publizierte, begann man weltweit mit weiteren Tierversuchen und konnte damit die außergewöhnliche Wirkung von Ciclosporin immer deutlicher nachweisen.

Mitte 1978 wurden erste Therapieversuche an 7 nierentransplantierten Patienten unternommen. In dieser Studie wurde bei völligem Verzicht auf Steroid-Gabe mit 25mg/kg eine – nach heutigen Erkenntnissen - sehr hohe Dosis Ciclosporin verabreicht, was schwerwiegende Nebenwirkungen, insbesondere Nephrotoxizität, Hepatotoxizität sowie vital gefährdende Infektionen zur Folge hatte (Calne et al., 1978).

Auf diese Versuchreihe folgte direkt die nächste, in der 34 Patienten, davon 32 nieren-, 2 pankreas-, und 2 lebertransplantiert, mit Ciclosporin A (CsA) immunsupprimiert wurden. Zwar zeigte sich hier eine deutliche Verbesserung hinsichtlich des Transplantat-Überlebens (26 von 34 Transplantaten funktionierten), jedoch wurde die Studie durch die Inzidenz von drei Lymphomen überschattet (Calne et al., 1979), einer bösartigen Tumor-Erkrankung.

Mit einer Modifizierung des immunsuppressiven Protokolls aufgrund des Verdachts der Überimmunsuppression erreichten Calne und Mitarbeiter in einer weiteren Patientenversuchsreihe eine 1-Jahres-Transplantatüberlebensrate von 86% im Gegensatz zu früheren 20 – 50% (Calne et al., 1981).

Die positiven Verläufe und Ergebnisse dieser Studien spielten eine wesentliche Rolle für die Aufnahme der Europäischen Multizentrenstudie an Empfängern postmortal entnommener Nieren, welche erstmals eine statistisch-signifikant bessere Wirkung von CsA gegenüber der damals gebräuchlichen Therapie mit Azathioprin und Steroiden nachweisen konnte (The European Multicentre Trial, 1982). In der von acht europäischen Zentren durchgeführten Studie wurden von 232 Nierentransplantat-Empfängern 117 Patienten mit CsA und 115 Patienten mit Azathioprin und Steroiden immunsupprimiert. Über einen Beobachtungszeitraum von 11 Monaten konnte ein Transplantatüberleben bei 73% der CsA-immunsupprimierten Patienten, jedoch nur bei 53% der Kontrollgruppe verzeichnet werden. In der CsA-Gruppe kam es zu zwei und in der Kontrollgruppe zu sieben Todesfällen.

Was die frühe experimentelle Entwicklung des CsA hinsichtlich der allogenen Lebertransplantation im Allgemeinen angeht, wären noch drei wichtige Studien zu erwähnen.

Während eines Studienaufenthaltes in Cambridge wies der Münchener Kinderchirurg Franz Zimmermann deutlich verlängerte Lebertransplantatüberlebenszeiten bei CsA-immunsupprimierten Ratten unter Überwachung von Abstoßungsreaktionen mittels Feinnadelbiopsie- und Aspirationszytologie-Untersuchungen nach (Zimmermann et al., 1983).

Die Kieler Forschungsgruppe um Müller-Buchholz und Hamelmann konnte eine prolongierte spezifische Transplantattoleranz bei lebertransplantierten Ratten, die nur 13 Tage mit CsA behandelt wurden, erzielen (Engemann et al., 1983).

Nicht zuletzt veröffentlichte Williams über die sehr günstigen immunsuppressiven Eigenschaften von CsA am Modell der orthotopen allogenen Lebertransplantation im Großtierversuch beim Hund 1982 im Journal of Surgical Research eine wegweisende Veröffentlichung (Williams et al., 1982).

Nach mehr als zwanzigjähriger Erfahrung kann die Transplantationsmedizin auf einen großen Wissensschatz hinsichtlich der Immunsuppression mit CsA nach Organtransplantation zurückgreifen. Die jahrelange persönliche Erfahrung der Transplantations-Mediziner, die unzähligen Berichte aus der internationalen Literatur, sowie die ausgefeilten Möglichkeiten von durchdachten, subtilen und pharmakokinetisch orientierten Laboruntersuchungen ermöglichen es, mehr als 60% organtransplantierte Patienten eine fundierte, intensiv überwachte immunsuppressive Therapie mit CsA zu offerieren.

1.1.1.2 Struktur und Wirkungsmechanismus

Ciclosporin setzt sich aus 25 natürlichen, lipophilen, zyklischen Undekapeptiden und mehr als 2000 Derivaten zusammen. In der Ciclosporin-Familie vermögen aber nur Ciclosporin A sowie seine natürlichen Analoga Ciclosporin C, Ciclosporin D, Ciclosporin G und Ciclosporin M, die durch Substitution der α -Aminobutylsäure an der Position 2 hergestellt werden können, die Immunantwort *in vivo* selektiv zu hemmen. Das praktische Unvermögen, sich in Wasser zu lösen, sowie die hohe Löslichkeit in Lipiden sind durch die lipophile Struktur des Ciclosporins begründet.

Ciclosporin unterbindet selektiv die T-Zell-Aktivierung mittels einer Hemmung von Signal 1, der Interaktion des TCR/CD3-Komplexes auf Empfänger-T-Lymphozyten mit dem Allopeptid/MHC-Komplex auf herangereiften vom Spender und/oder Empfänger abstammenden dendritischen Zellen – dem ausschlaggebenden und obligaten Schritt zur spezifischen Stimulation ruhender T-Zellen.

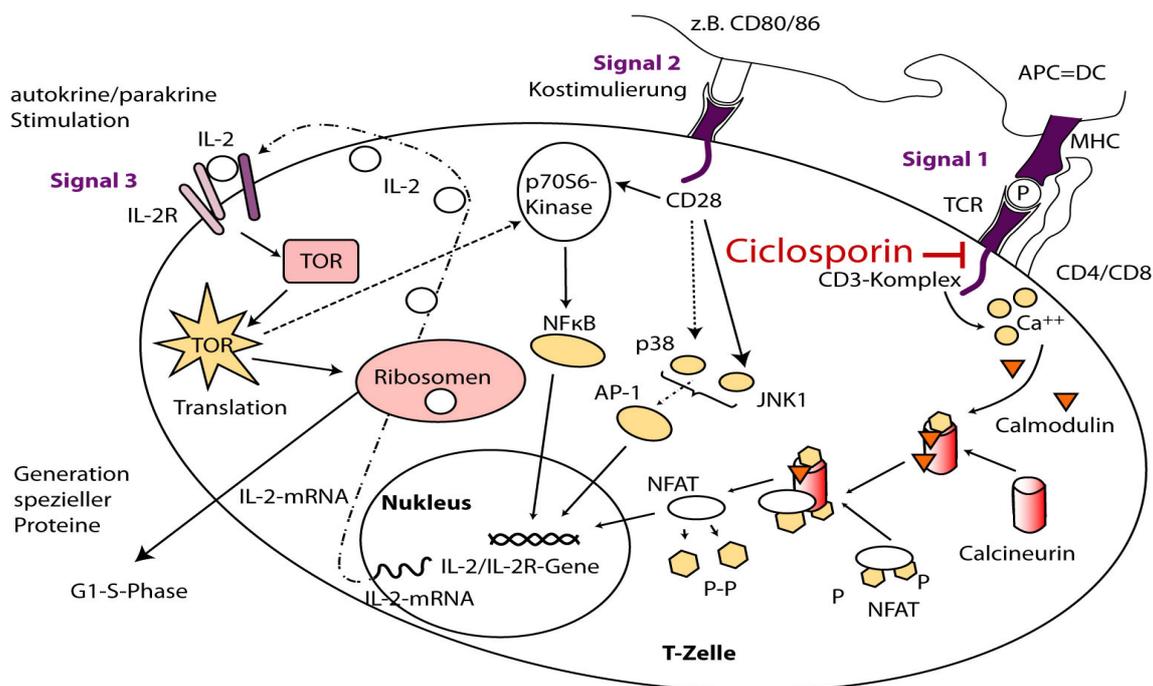


Abbildung 2: Schematische Darstellung der Aktivierung ruhender T-Zellen und Wirkungsmechanismus von Ciclosporin (modifiziert nach W.G. Land, Immunsuppressive Therapie Band 1, Georg Thieme Verlag 2004)

Ohne Immunsuppression würden die T-Zell-Rezeptor-getriggerten transkriptionellen Vorgänge zunächst eine Calciumausschüttung im endoplasmatischen Retikulum (ER) mittels der primären

Aktivierung von Tyrosinkinase und ZAP-70 verursachen. Weiter käme es zu einer Bindung von Calcium an Calmodulin und damit zur Aktivierung von Calcineurin und der Expression des Zytokin-Gen-Komplexes. Die Folge hinsichtlich der Progredienz des Zellzyklus ist eine Verweilung der T-Zelle im Ruhezustand, da die Zelle über diese Transkriptionshemmung gehindert wird, von der G0-Phase in die G1-Phase überzugehen.

Die Reste 1,2,9,10 und 11 - als die rezeptorbindende Domäne fungierend - und die Reste 4 und 8, welche die Effektor-domäne repräsentieren, bilden die zwei regulierenden Domänen der immunsuppressiv wirkenden Ciclosporine. Nach Eintritt in die eukaryote Zelle bindet Ciclosporin an mehrere intrazelluläre Proteine, welche als Immunophiline bezeichnet werden.

Das wichtigste Immunophilin ist Cyclophilin (Fruman et al., 1994). Cyclophiline stellen Proteine des Zytosols dar, welche eine Peptidyl-proline-cis-trans-Isomerase-Aktivität aufweisen und als 18-kd-Enzyme die Dreifachfaltung von Proteinen begünstigen. Diese Funktion wird durch Ciclosporin gehemmt (Bierer et al., 1990). Entscheidend in der Aufklärungsphase des Wirkmechanismus der selektiven Hemmung der Signaltransduktion in T-Lymphozyten war, dass Ciclosporin nicht allein, sondern nur nach intrazellulärer Komplexbildung über seine rezeptorbindende Domäne mit Cyclophilin A seinen hemmenden Effekt auf die T-Zell-Aktivierung ausüben kann. Dies geschieht, indem es als bimolekularer Komplex über seine antipodische Effektor-domäne mit einem anderen Zytosolprotein, dem Calcineurin, interagiert (Liu et al., 1991).

Dieses Enzym, welches zur Familie der Protein-(Serin/Threonin) Phosphatasen gehört, dephosphoryliert - nach Aktivierung - Transkriptionsfaktoren der NFAT-Familie (engl. nuclear factor of activated T-cells) im Zytosol. Dies führt in Folge einer Energiefreisetzung zur Translokation der Faktoren in den Zellkern, wo es zur Aktivierung der Genexpression durch ihr cis-Element – genannt NFAT – kommt (Loh et al., 1996). Zu den Angehörigen der NFAT-Familie zählen NFAT 1, NFAT 2 und NFAT 4, welche an der transkriptionellen Aktivierung der Gene mitwirken, welche u.a. die Zytokine IL-2 und IL-4 codieren.

Aus der Inhibition der verschiedenen transkriptionellen Vorgänge durch Ciclosporin, bzw. genauer durch den bimolekularen CyPA/CsA-Komplex, resultiert das Verweilen des Zellzyklus auf der G0- oder G1-Phase. Auf diesem Wege wird die Synthese von DNA, RNA und Proteinen gehemmt und die Produktion von Wachstumshormonen wie den Zytokinen gestoppt. Das Expressieren von Aktivierungsstrukturen auf der Lymphozytenoberfläche, wie z.B. des IL-2-

Rezeptors, bleibt aus, und eine Generation von spezifischen zytotoxischen T-Lymphozyten und/oder humoralen Antikörpern, die gegen allogene Spenderorgan-Antigene gerichtet sind, wird deutlich abgeschwächt oder gar an ihrer Entstehung gehindert.

1.1.1.3. Pharmakologie und Pharmakokinetik

Ciclosporin ist ein lipophiles zyklisches Polypeptid aus 11 Aminosäuren mit einem hohen Molekulargewicht von 1202,63 Dalton. Die vorzugsweise Resorption findet im oberen Intestinaltrakt statt. Die Resorptionsrate ist konstant und unabhängig von der gegenwärtigen Konzentration der Substanz, jedoch unter vermindertem Gallenfluß signifikant verringert (Lindholm et al., 1990). Unter dem Einfluß von Cytochrom P450-3A4 wird Ciclosporin schon im Darmwandepithel präsystemisch metabolisiert. Bereits an dieser Stelle wird ein großer Teil der zur Aufnahme zur Verfügung stehenden Muttersubstanz eliminiert (Kolars et al., 1991).

Hinzu kommt, dass ein weiterer Teil über P-Glykoprotein in der epithelialen Zellmembran (ein Produkt des „multiple drug resistance gene“) ins Darmlumen zurücktransportiert wird (Lown et al., 1997). Nur ca. 30% werden in das portale System aufgenommen und nur ein kleiner Teil über die Lymphbahnen transportiert (Freeman et al., 1991). Erst mit der Ablösung der ursprünglichen oralen Darreichungsform von Ciclosporin, bestehend aus einer auf Olivenöl basierenden Trinklösung bzw. auf Kornöl basierenden Gelkapseln (CsA-ÖG), durch die Anfang der neunziger Jahre entwickelte galenische Form, die Ciclosporin-Mikroemulsion (CsA-ME), wurde ein deutlicher Fortschritt gemacht. Das gewinnbringende Detail der Pharmakologie war die Entwicklung einer homogenen Dispersion uniformer Partikel von der Größe etwas unter 0,15 µm an der resorbierenden Oberfläche (Müller et al., 1994; Kovarik et al., 1994; Kovarik et al., 1994; Müller et al., 1994).

Auf diese Weise wurde die Zeitverzögerung bei der Resorption praktisch aufgehoben und damit die Dauer bis zum Erreichen der maximalen Konzentration im Blut (C_{\max}) deutlich reduziert:

C_{\max} wird bereits nach 1,5 – 2 h erreicht. Im Gegensatz zur Pharmakokinetik der ursprünglichen Darreichungsform ist C_{\max} um 60% erhöht und die Bioverfügbarkeit von CsA-ME um 30-50% gesteigert. Sowohl die Schwankungsbreiten in T_{\max} und C_{\max} als auch die in der Gesamtexposition der Substanz über 12 h (AUC 0 – 12 h) wurden durch Verwendung von CsA-ME um bis zu 75% verringert (Kovarik et al., 1996; Kovarik et al., 1994; Keown et al., 1996). Somit hatte man die inter- und intraindividuellen Erschwernisse bezüglich des schmalen therapeutischen Fensters, assoziiert mit unregelmäßiger, schlecht kalkulierbarer und teils

unzureichender Resorption von Ciclosporin in der ursprünglichen Darreichungsform überwunden und eine besser steuerbare und gut resorbierbare Galenik von Ciclosporin entwickelt.

1.1.1.4. Verabreichung und Dosierung von Ciclosporin unter Berücksichtigung pharmakokinetischer Kriterien

Schon zu Beginn und während der europäischen Multizentrenstudie wurden in der Münchener Gruppe um W. G. Land - in enger Zusammenarbeit mit D. White aus der Cambridge-Gruppe - Überlegungen angestellt, wie man die Immunsuppression mit CsA verbessern könnte. Schnell war die Idee geboren, sich der Möglichkeit zu bedienen, die Konzentration des Medikamentes im Blut zu bestimmen und die Ergebnisse dann auf klinische Begebenheiten zu beziehen. Dieser Ansatz verfolgte das Ziel, die tägliche Dosierung von CsA besser steuern zu können, mit dem Effekt, Wirksamkeit und Verträglichkeit mithilfe von optimalen Dosen besser auszuloten und somit eine eindeutige Dosis-Wirkungs-Beziehung zu definieren. Die Fragestellung der angestrebten Untersuchungen lautete: Existiert ein therapeutischer Wirkungsbereich bzw. ein therapeutisches Fenster, unter- bzw. oberhalb dessen die eruierte Konzentration der Substanz im Blut klinische Ereignisse begründet, ergo bei niedrigen Konzentrationen (die eine eventuelle Unterimmunsuppression anzeigen) eine Abstoßungsreaktion und bei hohen Konzentrationen (die über eine eventuelle Überdosierung bzw. Überimmunsuppression informieren) klinisch bedeutsame Nebenwirkungen?

In ersten, orientierenden Studien an nierentransplantierten Patienten, wie z.B. von G. Thiel et al., fand man heraus, dass tatsächlich ein derartiges therapeutisches Fenster existiert, wenn auch ein sehr schmales (Thiel et al., 1983). Jedoch hütete man sich, deren Wertung als allgemeingültig zu betrachten und forderte weitere Verifizierung. Erst die Arbeiten von Kahan et al. und später von Meyer et al., die auf eine erhebliche inter- und intraindividuelle Schwankungsbreite der CsA-Blutkonzentrationen nach Gabe identischer CsA-Dosen hinwiesen, untermauerten die Aufforderung, die Dosierung von CsA mittels Drug-Monitoring zu individualisieren (Kahan et al., 1983; Meyer et al., 1993).

In der Praxis etablierte sich, bei zweimaliger oraler Gabe pro Tag im 12-stündigen Abstand den Talblutspiegel unmittelbar vor Gabe der nächsten Dosis, den so genannten C₀-Wert, zu messen (engl. pre-dose level). So konnten z.B. Lindholm, Nankivell et al. und Min et al. in verschiedenen klinischen Studien zum einen eine Korrelation von Abstoßungskrisen und niedrigen CsA-Spiegeln und zum anderen von Nephrotoxizität und hohen CsA-Spiegeln nachweisen (Lindholm,

1996; Nankivell et al., 1994; Min et al., 1998). Diese Form des Drug-Monitorings stellt auch heute noch das Standardverfahren zur Einstellung der Immunsuppression organtransplantierter Patienten bei „Critical-Dose-Pharmaka“ dar.

Wie anfänglich schon geschildert, ist Ciclosporin in der ursprünglichen Galenik als eine Substanz mit schlechter oraler Bioverfügbarkeit, großem Verteilungsvolumen und geringer bis mittlerer Eliminationsrate, zudem durch eine erhebliche inter- und intraindividuelle Variabilität sowie durch ein enges Spektrum zwischen Wirksamkeit auf der einen Seite und einen entsprechenden Bereich von Toxizitäten auf der anderen Seite gekennzeichnet. Dies alles weist deutlich darauf hin, dass die Messung der 12 h-Talblutspiegel nicht ausreichend sein kann, sondern dass hier zusätzliche intensivere pharmakokinetische Untersuchungen unentbehrlich sind, um die Therapie mit diesem Critical-dose-Pharmakon zu optimieren.

Um die Pharmakokinetik eines Präparates hinsichtlich seiner Wirksamkeit und seiner Nebenwirkungen näher beurteilen zu können, müssen zu verschiedenen Zeitpunkten bzw. nach bestimmten Zeitintervallen nach Gabe die Konzentrationen im Blut bestimmt und grafisch dargestellt werden. Es resultiert dann eine „Konzentrationszeitkurve“, bei der die errechenbare Fläche unter der Kurve (eng. area under the concentration/time curve = AUC) die gesamte Medikamentenexposition eines Organismus (Resorption – Verteilung – Metabolismus – Elimination) anzeigt. Jedoch wäre ein derartiges Drug-Monitoring hinsichtlich des apparativen, personellen und finanziellen Aufwandes eher unpraktikabel - von der Belastung des Patienten durch multiple Blutentnahmen ganz zu schweigen.

Auch die Einführung der wesentlich besser steuer- und resorbierbaren Mikroemulsion von Ciclosporin A (CsA-ME) half nicht über diese Problematik hinweg. Zwar konnte in pharmakokinetischen Studien gezeigt werden, dass der 12 h-Talblutspiegel unter Immunsuppression mit der Mikroemulsion besser mit den AUC-Werten korrelierte, jedoch auch hier die Korrelation nicht über 80% lag (Frei et al., 1994; Kahan et al., 1995; Keown et al., 1996; Barone et al., 1996; Amante et al., 1996).

Großes Interesse weckte die Bestimmung des CsA-Spiegels 2 Stunden nach Gabe (C2-Wert): In einer groß angelegten Studie in Kanada an lebertransplantierten Patienten, die entweder mit der alten oder neuen Galenik von CsA immunsupprimiert wurden, konnte gezeigt werden, dass der C2-Wert einerseits ein äußerst genauer Prädiktor des zugrunde liegenden AUC-Wertes unter der Behandlung mit der CsA-ME war (93% Genauigkeit), dass er andererseits aber auch – im

Gegensatz zum C0-Wert – mit dem klinischen Ereignis akuter Abstoßungsreaktionen in beiden Armen der Studie hervorragend korrelierte (Hemming et al., 1997; Canadian-Liver-Transplant-Study-Group, 1998).

Der grundlegende Gedanke beim C2-Monitoring ist, dass die Phase der Resorption des Medikamentes innerhalb der ersten 1 – 4 Stunden nach Aufnahme mit Erreichen einer maximalen Konzentration im Blut das entscheidende Ereignis zur Vermittlung eines immunsuppressiven Effektes offenbart. Die Messung des C2-Wertes ist die am ehesten geeignete Methode, diese „1 – 4-Stunden-AUC“ zu repräsentieren (Mahalati et al., 1999).

Levy et al. konnten 2002 statistisch signifikant verbesserte Ergebnisse nach Lebertransplantation bei CsA-ME-immunsupprimierten Patienten unter C2-Monitoring nachweisen: im Gegensatz zu 31,6% der Patienten unter C0-Monitoring erlitten nur 23,6% der Patienten unter C2-Monitoring innerhalb der ersten 3 Monate post Transplantation eine akute Abstoßungskrise (Levy et al., 2002).

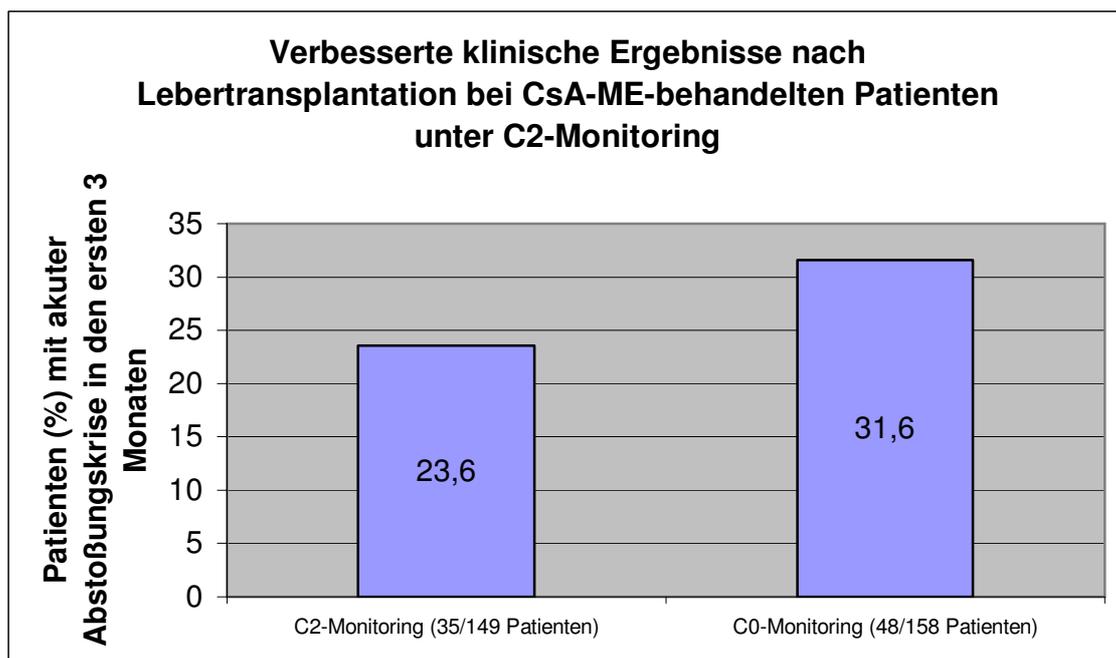


Abbildung 3: Verbesserte klinische Ergebnisse nach Lebertransplantation bei CsA-ME-behandelten Patienten unter C2-Monitoring (nach Levy et al., 2002)

Die in der Literatur angegebenen therapeutischen Fenster variieren zum Teil von Transplantationszentrum zu Transplantationszentrum, aber auch je nach Art der zugrundeliegenden Organtransplantation. Im angelsächsischen Raum liegen die Werte bei Patienten nach

Herz-, Herz-Lungen- und Lebertransplantation höher als bei Nierentransplantierten. Auch die Werte, die in den ersten drei Monaten post Transplantation, also der Phase erhöhter alloimmunologischer Reaktivität, gemessen werden, liegen höher als die in der Phase der Erhaltungstherapie gemessenen Blutkonzentrationen (Oellerich et al., 1995).

Die Abbildungen 4 und 5 geben Auskunft über die therapeutischen Bereiche des C0-Monitorings für die Initial- und Erhaltungsbildung organtransplantierte Patienten, wie sie auf einer Konsensuskonferenz in Lake Louisa, Alberta (Kanada), im Jahr 1995 sowie auf der deutschen C2-Konsensuskonferenz in Berlin im September 2002 erarbeitet wurden (Oellerich et al., 1995; Holt et al., 2000; Shaw et al., 1990).

	therapeutische Bereiche [$\mu\text{g/l}$]*	
	Initialtherapie	Erhaltungstherapie
Nierentransplantation	150 - 225	100 - 150
Lebertransplantation	225 - 300	100 - 150
Herztransplantation	250 - 350	150 - 250
* Vollblut-C0-Spiegel (Trough level), bei Tripeltherapie, HPLC, selektive Immunoassays (EMIT [®] , m ¹²⁵ I RIA)		

Abbildung 4: C0-Blutkonzentrationen: Ergebnisse einer internationalen Konsensuskonferenz in Lake Louise, Alberta (Kanada) (nach Öllerich et al., 1995)

C0 [$\mu\text{g/l}$]	C2 [$\mu\text{g/l}$]	CsA-Dosis
< 100		↑
100 - 200	< 1000	↑
100 - 200	1000 - 1400	↑
100 - 200	> 1400	beibehalten
200- 300	< 1000	↑
200- 300	1000 - 1400	beibehalten
200- 300	> 1400	beibehalten
300 - 400	< 1000	beibehalten
300 - 400	1000 - 1400	beibehalten
300 - 400	> 1400	↓
> 400		↓

Abbildung 5: Zielspiegelempfehlungen: im Vergleich C0- und C2-Werte und vorgeschlagene Ciclosporin-Dosisveränderung gemäß den Empfehlungen der deutschen C2-Konsensuskonferenz, Berlin, September 2002 (nach Novartis Pharma, Nürnberg)

Als Dosierungsempfehlung schreibt die Novartis Pharma GmbH, Nürnberg, in ihrer Fachinformation von Sandimmun[®] Optoral (Novartis Pharma, 2005): „Die Initialdosis von 10 - 14 mg Ciclosporin pro kg Körpergewicht wird in 2 Einzeldosen innerhalb von 12 Stunden vor der Transplantation gegeben. Die Initialdosis sollte für 1 – 2 Wochen postoperativ beibehalten werden. Danach wird unter Blutspiegelkontrolle die Dosierung schrittweise vermindert, bis eine Erhaltungsdosis von 2 – 6 mg Ciclosporin pro kg Körpergewicht erreicht ist.“

Der Minimalblutspiegel vor der nächsten Anwendung („through blood level“) liegt zwischen 100 und 400 ng Ciclosporin/ml. ... Einige Patienten kommen schon nach einem Monat mit weniger als 5 mg Ciclosporin pro kg Körpergewicht täglich aus, wenn gleichzeitig Kortikosteroide gegeben werden. Die Tagesdosis wird auf 2 Einzeldosen verteilt.“

Bei Darlegung derartiger Empfehlungen ist jedoch stets zu beachten, dass das Vorgehen bei einer auf Ciclosporin basierenden immunsuppressiven Dauertherapie im Langzeitverlauf keinesfalls allein nach den CsA-Blutspiegeln ausgerichtet werden sollte. Zusätzliche Größen, wie z.B. das Alter von Spender und Empfänger, das Auftreten von akuten Abstoßungskrisen oder Virusinfektionen in der Posttransplantationsphase, sollten unbedingt und unerlässlich bei der Planung der immunsuppressiven Therapie im individuellen Fall abgewogen und mit in die Therapieüberlegungen miteinbezogen werden.

1.1.1.5. Nebenwirkungen

Die sich strukturell und funktionell äußernde ausgeprägte Nephrotoxizität ist klinisch für den Patienten am bedeutungsvollsten. Die Nierenfunktion wird dosisabhängig gemindert, die glomeruläre Filtrationsrate vorerst reversibel reduziert (unter einer Dosierung von 5 mg/kg/d um ca. 25%), dadurch eine Oligurie und damit ein Anstieg von Harnstoff und Kreatinin im Blut erzeugt. Die erhöhte Natrium-Rückresorption im proximalen Tubulussystem lässt sich durch abnehmende Natrium-Spiegel im Urin nachweisen. Dazu kommen die akute Verminderung der Blutzirkulation im Bereich der Nierenrinde und des Nierenmarks, sowie das Nachlassen der glomerulären Kapillarperfusion und der Mesangialzellenkontraktion.

Als weitere Nebenwirkungen sind Neurotoxizität, Hypertension, Hyperglykämien, Hyperlipidämien, Hyperurikämien, Hyperkaliämien, Hypomagnesiämien, gastrointestinale Beschwerden, Hepatotoxizität, mukokutane (kosmetische) Veränderungen, Knochenerkrankungen (Vitamin-D-, Kalziummangel), maligne Erkrankungen (Entstehung von Lymphomen) sowie weitere, aber nur sehr selten auftretende Nebenwirkungen bekannt (Land, 2004).

Die auftretenden Nebenwirkungen unter CsA-Therapie zu quantifizieren und damit näher zu klassifizieren, gestaltet sich insofern als schwierig, als das Auftreten der Nebenwirkungen multifaktoriell bedingt ist. Dosierung, Vorerkrankungen, Alter, Co-Medikation, perioperative Komplikationen, Qualität des Transplantates sowie der physische und psychische Gesamtzustand

des Empfängerorganismus vor und nach Transplantation spielen eine wesentliche Rolle beim Auftreten und Wahrnehmen von Nebenwirkungen unter immunsuppressiver Therapie mit CsA.

So kommt es, dass in der internationalen Literatur unterschiedlichste und sehr variable Zahlen zur Inzidenz von Nebenwirkungen zu finden sind. Plosker et al. errechneten im Jahr 2000 in einer Auswertung mehrerer klinischer Studien zum Vergleich der Tolerabilität unter CsA- und Tacrolimus-Therapie, dass sich im ersten Jahr nach Leber- und Nierentransplantation bei 39 - 56% der mit CsA immunsupprimierten Patienten eine Hypertonie manifestierte. Chapman et al. sowie Curtis veröffentlichten jedoch 1997 und 1998 Studien, bei denen in 68 – 92% der Fälle eine Hypertonie auftrat.

Auch die Angaben zur Inzidenz einer Hypercholesterinämie unter CsA-Immunsuppression variieren stark. So errechneten Plosker et al. in der oben erwähnten Studie, dass sich bei 14,5% der immunsupprimierten Patienten eine Hypercholesterinämie manifestierte, während eine Reihe anderer Autoren von einer Inzidenz in 16 – 78% der Fälle sprachen (Bittar et al., 1990; Satterthwaite et al., 1998; Appel, 1991; Vathsala et al., 1989; Kuster et al., 1994).

Die Novartis Pharma GmbH, Nürnberg, enthält sich in ihrer Fachinformation zu Sandimmun[®] Optoral genauer prozentualer Angaben zu potentiellen Nebenwirkungen ihres Präparates und quantifiziert und klassifiziert die Nebenwirkungen hinsichtlich der Inzidenz mit den Angaben häufig (> 10% d.F.), gelegentlich (>1% d.F.) und selten (> 0,1% d.F.). Als häufige Nebenwirkungen werden Nierenfunktionsstörungen, Hypertonie, neurologische Nebenwirkungen (Tremor, Müdigkeit, Kopfschmerzen, Parästhesien), Gingivitis hypertrophicans, gastrointestinale Beschwerden (Appetitlosigkeit, Bauchschmerzen, Übelkeit, Erbrechen, Durchfall, Gastritis, Gastroenteritis), leichte Erhöhung der Blutfettwerte (insbesondere in Kombination mit Kortikosteroiden) und Hypertrichose genannt (Novartis Pharma, 2005).

Es zeigt sich, dass es nicht möglich ist, allgemeingültige Aussagen hinsichtlich der Inzidenz von Nebenwirkungen unter der Therapie mit CsA zu machen. Vielmehr muss jeder Patient bezüglich seines Nebenwirkungsprofils individuell betrachtet und therapiert werden.

2. Material und Methoden

2.1 Probanden und Studiengenehmigung

Die Untersuchung fand an 13 Patienten im Zeitraum vom 20.12.2002 bis zum 04.10.2004, die in der Klinik und Poliklinik für Chirurgie des Universitätsklinikum Bonn lebertransplantiert wurden, über einen Beobachtungszeitraum von geplanten 3 Monaten bzw. bis zur vorzeitigen Entlassung aus der Klinik statt, wobei ein Patient nach Retransplantation ein weiteres Mal an der Studie partizipiert hat. Alle Untersuchungen am Menschen oder an menschlichem Material wurden gemäß der revidierten Deklaration von Helsinki des Weltärztebundes (1983) und der entsprechenden gesetzlichen Grundlagen durchgeführt.

Die Studie wurde vor Beginn von der Ethikkommission der Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn begutachtet und genehmigt (Nr.: 128/02).

2.2 Immunsuppression

Alle 14 Probanden wurden in der direkten postoperativen Phase mit intravenös-verabreichten Ciclosporin A (Sandimmun[®]) und Prednisolon (Solu-Decortin[®]) und im weiteren Verlauf mit oral-applizierten Ciclosporin A (Sandimmun[®] Optoral) und Prednisolon (Solu-Decortin[®]) immunsuppressiv behandelt.

Als zusätzliche Immunsuppressiva wurden im Verlauf des Beobachtungszeitraumes Azathioprin (Imurek[®]) per os und Mycophenolatmofetil (CellCept[®]) per os verabreicht.

Bei 2 Patienten wurde die immunsuppressive Therapie im Verlauf des Beobachtungszeitraumes auf Tacrolimus (Prograf[®]) umgestellt.

Die Einstellung der Immunsuppression der Patienten geschah allein unter der C0-Monitoring-Methode. Die Messergebnisse und die daraus resultierenden Erkenntnisse, die während des Studienverlaufes gemacht wurden, hatten keinen Einfluss auf das bestehende Therapie-Konzept („no intention to treat“).

2.3 Blutprobenentnahme

Laut Studienprotokoll war es geplant, bei jedem Patienten neben der morgendlichen Blutabnahme für das Routinelabor an den Tagen 0, 1, 3, 5, 7, 14, 21, 28 und 3 Monate post Transplantation 2 Stunden nach Gabe von Ciclosporin (vornehmlich nach der morgigen Gabe) 4 ml venöses Vollblut in einer Ethylendiamintetraessigsäure (EDTA)-Monovette und 9 ml venöses Vollblut in

einer Serum-Monovette abzunehmen. Zudem sollten 4 und 6 Stunden nach Gabe je 4 ml venöses Vollblut in einer EDTA-Monovette abgenommen werden.

	Rheinische Friedrich-Wilhelms-Universität Klinik und Poliklinik für Chirurgie Direktor: Prof. Dr. med. A. Hirner Chirurgische Forschung Leiter: Prof. Dr. med. T. Minor		Medizinische Einrichtungen 53105 Bonn, 19.07.06 Sigmund-Freud-Str. 25 Telefon: 287-5166 Telefax: 287-5199 (Vorwahl national: 0228- international: +49-228-)
	Sektion Chirurgische Forschung Chir. Univ.-Klinik, Sigmund-Freud-Straße 25, 53105 Bonn		
Klinische Studie: (Nr. der Ethik Kommission: 128/02) C-2h Monitoring unter Sandimmun Optoral bei de novo Leber-Transplantat-Empfängern Verantwortliche Leiter: PD Dr. Wolff, Stellvertreter: Dr. R.H. Tolba			
<p><i>Bitte 2h, 4h und 6h nach Gabe des Cyclosporin den Cyclosporin Spiegel im Blut (EDTA) direkt im Labor bestimmen lassen.</i></p> <p><i>Bitte 2h nach Gabe des Cyclosporin 1 Serumröhrchen extra abnehmen, beschriften und im Kühlschrank deponieren (wird abgeholt).</i></p>			
<ul style="list-style-type: none"> • Cystatin C und $\beta 2$ Traceprotein (bei jeder Routine) • CAVE Bitte EDTA Röhrchen mit C2, C4 oder C6 beschriften 			
Tag / Monat	EDTA	Serum 2h	Handzeichen
-1	prä Op	1X	
0	Tag der Transplantation	1X	
1	Cyclosporin Spiegel 2, 4 & 6h	1X	
3	Cyclosporin Spiegel 2, 4 & 6h	1X	
5	Cyclosporin Spiegel 2, 4 & 6h	1X	
7	Cyclosporin Spiegel 2, 4 & 6h	1X	
14	Cyclosporin Spiegel 2, 4 & 6h	1X	
21	Cyclosporin Spiegel 2, 4 & 6h	1X	
28	Cyclosporin Spiegel 2, 4 & 6h	1X	
3 Monate post TX	Cyclosporin Spiegel 2, 4 & 6h	1X	
Bei Rückfragen stehe ich unter Tel.: 6163, Funk 274 oder Mobil unter 0171-4960539 zur Verfügung. Herr cand. med. Benjamin Pump ist Mobil unter 0163-3578676 zu erreichen. Vielen Dank für Ihre Kooperation im Voraus.			
Mit freundlichen Grüßen			
Dr. med. R. H. Tolba			

Abbildung 6: Studien-Prüfplan

2.4 Probenverlust

Aufgrund der großen Blutprobenanzahl, der Versorgungsumstände (z.B. Intensivstationen), vorzeitiger Entlassung aus dem Klinikum, sowie aufgrund von Personalmangel und der zum Teil nächtlichen Blutprobenentnahmezeitpunkte ließ sich die Entnahme aller der Studie dienlichen Blutproben leider nicht realisieren.

Zudem waren einige Proben nicht auswertbar, da sie lipämisch, ikterisch oder hämolytisch verändert waren.

2.5 Biochemische Blutuntersuchungen

Ciclosporinspiegel Bestimmung

Das Blut in den EDTA-Monovetten wurde sofort nach Abnahme zur Ciclosporinblutspiegel-Bestimmung verwendet; also zur Bestimmung der CsA-Blutspiegel 2, 4 und 6 Stunden nach Gabe (C2, C4 und C6). Die Bestimmung der Ciclosporinspiegel erfolgte mit der Ciclosporin Flex[®] Reagenzkassette der Firma Dade Behring, Newark, U.S.A., im Automaten RXL Dimension[®] des gleichen Herstellers, in Immunoassay-Technik.

Das Blut in den Serum-Monovetten wurde bei 2900 Umdrehungen pro Minute in einer Laborzentrifuge für 10 Minuten zentrifugiert, und das Serum bis zur Analyse bei – 25 °C asserviert. Bei der späteren Analyse der Serumproben handelte es sich um die Bestimmungen der Konzentrationen von alpha Glutathion S-Transferase (α -GST), Interleukin-2 und Interleukin-2-Rezeptor.

α -GST Bestimmung

α -GST ist ein im Zytoplasma der Hepatozyten in hoher Konzentration (2-5% des Gesamtproteins der Zellen) lokalisiertes Enzym, welches durch erhöhte Werte eine Permeabilitätsstörung von Zellen anzeigt. Der Nachweis ist wegen des geringeren Molekulargewichts (MG 56000 Dalton) sensitiver als durch die Transaminasen (MG ca. 147000 Dalton). Es wird benutzt zur Diagnostik von Lebererkrankungen, speziell von akuten Schädigungen durch toxische Einflüsse, Anoxie oder virale Infektionen. Bei der Beurteilung der Werte müssen die in-vivo-Halbwertszeiten berücksichtigt werden. Dieser Marker besitzt eine besonders kurze Halbwertszeit (90 Minuten) (i.G. zu AST 17 h und für ALT 47 h), und reagiert zudem sehr sensitiv, da er im Gegensatz zur AST leberspezifisch ist und die Leberzellen bereits bei geringer ausgeprägten Schädigungen verlässt als die Transaminasen. Somit ist die α -GST ein geeigneter empfindlicher Parameter, um

einen Leberschaden sowie dessen Regeneration sehr zeitnah widerspiegeln zu können. Die Konzentrationsbestimmung erfolgte mit einem Alpha GST EIA Kit der Firma Biotrin, Dublin, Irland, im Automaten Immulite[®] der Firma Diagnostic Products Corporation, Los Angeles, U.S.A., in Immunoassay Technik. Der Referenzbereich beträgt $< 7,8 \mu\text{g/l}$.

Interleukin-2 Bestimmung

Interleukin-2 (IL-2) ist ein Glykoprotein aus einer einzigen Polypeptidkette und wird ausschließlich von aktivierten T-Lymphozyten produziert. Es ist *das* Zytokin, welches für das Wachstum und die Proliferation aktivierter T-Zellen hauptverantwortlich ist. Es stimuliert nicht nur die klonale Expansion Alloantigen-aktivierter T-Zellen, sondern triggert auch die Produktion anderer Wachstumsfaktoren und Zytokine und regt darüber hinaus die Expansion und Zytotoxizitätsaktivität der CD8-T-Zellen und natürlichen Killerzellen sowie das Wachstum der B-Zellen an. Mit der Messung dieses proliferationsfördernden Zytokins lässt sich eine genaue Aussage über Aktivierung und Aktivierungszustand der Alloimmunantwort des Empfängerorganismus machen. Zudem hat es in neuerer Zeit an Wichtigkeit gewonnen, da im Rahmen einer Abstoßungsreaktion monoklonale Antikörper gegen IL-2 verabreicht werden können.

Die Konzentrationsbestimmung erfolgte mit einem IL-2 ELISA Kit der Firma Promo Cell, Heidelberg, im Automaten Immulite[®] der Firma Diagnostic Products Corporation, Los Angeles, U.S.A., in Immunoassay Technik. Der Referenzbereich beträgt $< 7 \text{ pg/ml}$.

Interleukin-2-Rezeptor Bestimmung

Der Interleukin-2-Rezeptor ist ein Membranrezeptor-Komplex an der Oberfläche von T-Lymphozyten, über welchen bei Bindung mit Interleukin-2 ein intrazelluläres Signalgeschehen ausgelöst wird, das - wie oben schon beschrieben - zur Aktivierung und Proliferation von ruhenden T-Zellen und letztlich zur Bildung von Helfer-, Suppressor- und zytotoxischen T-Zellen führt, die die Immunreaktion vermitteln. Die meisten ruhenden T-Zellen, B-Zellen, großen granulären Lymphozyten und Monozyten exprimieren keine signifikanten Mengen dieses Rezeptors an ihrer Oberfläche. Nach ihrer Aktivierung werden Rezeptormoleküle an der Zelloberfläche exprimiert, und es wird eine lösliche Variante des Rezeptors (sIL2R) freigesetzt, die um etwas 10 kDa kleiner ist als das membrangebundene Protein. Es wurde festgestellt, dass geringe Mengen an sIL2R im Serum von gesunden Personen und signifikant erhöhte Konzentrationen bei vielen verschiedenen Krankheitsbildern wie zum Beispiel Neoplasien,

Autoimmunerkrankungen, Transplantatabstoßung und verschiedenen Infektionen anzutreffen sind (Diagnostic Products Corporation, 2005). Aus diesem Grund haben wir sIL2R als Marker bzw. Indikator für die Alloimmunaktivität ausgewählt und seine Konzentrationen bestimmt. Die Konzentrationsbestimmung erfolgte mit einem Immulite IL2R Kit der Firma Diagnostic Products Corporation, Los Angeles, U.S.A., im Automaten Immulite[®] der gleichen Firma, in Immunoassay Technik. Der Referenzbereich beträgt 223 - 710 U/ml.

Routinelabor

Zudem wurden die im Routinelabor bestimmten Parameter Kreatinin, Alanin-Aminotransferase (ALT), Aspartat-Aminotransferase (AST), Glutamat-Dehydrogenase (GLDH), Interleukin-6 und Leukozyten in die Auswertung miteinbezogen.

Als Indikatoren parenchymaler Schädigung der Leber dienten die zytoplasmatischen Enzyme ALT und AST und die in den Mitochondrien lokalisierte GLDH (intramitochondrial). Das Auftreten von Transaminasen (AST und ALT) im Serum ist Hinweis auf eine Organschädigung (Grenzflächenschädigung). Die in den Mitochondrien lokalisierte GLDH tritt im Serum nur bei schwerer Zellschädigung auf. Die Bestimmung der Enzyme ALT und AST erfolgte photometrisch mit Hilfe von fertigen Enzymkits (Flex[®] Reagenskassetten) der Firma Dade Behring, Newark, U.S.A., nach Empfehlungen der International Federation of Clinical Chemistry (IFCC) im Automaten RXL Dimension[®] des gleichen Herstellers. Das Enzym GLDH wurde mit Hilfe eines fertigen Enzymkits (Ecoline[®] S+ GLDH) der Firma DiaSys Diagnostic Systems, Holzheim, im Automaten RXL Dimension[®] des Herstellers Dade Behring, Newark, U.S.A., nach Empfehlungen der Deutschen Gesellschaft für Klinische Chemie (DGKC) photometrisch bestimmt.

Der Referenzbereich für ALT beträgt 30 - 65 U/l, für AST 15 - 37 U/l und für GLDH 0 – 5,0 U/l für Frauen und 0 – 7,0 U/l für Männer.

Kreatinin i.S. diene als Kontrollparameter der Nierenfunktion unter Gabe nephrotoxischer Medikamente. Dabei ist zu beachten, dass die Kreatininkonzentration Einflüssen wie Muskelmasse und Ernährung unterliegt und zudem erst eine Reduktion der GFR (glomeruläre Filtrationsrate) auf $\leq 50\%$ aufzeigt.

Die Bestimmung der Kreatinin-Konzentration i.S. erfolgte photometrisch mit Hilfe von fertigen Enzymkits (Flex[®] Reagenskassetten) der Firma Dade Behring, Newark, U.S.A., nach der Krea-Methode im Automaten RXL Dimension[®] des gleichen Herstellers.

Der Normalbereich für Kreatinin i.S. beträgt 0,5 - 1,4 mg/dl.

Als weiterer Parameter des Routinelabors bei Lebertransplantierten in der direkten postoperativen Phase wurden die Interleukin-6 (IL-6)-Werte beobachtet. IL-6 fungiert als eine Mediators substanz des Immunsystems und gibt bei Erhöhung Hinweis auf eine vermeintliche Abstoßungsreaktion. Es bewirkt, dass B-Zellen nach Stimulation mit IL-4 zu Ig-produzierenden Plasmazellen differenzieren, dass sie im Beisein von IL-2 T-Zellen zu zytotoxischen T-Zellen differenzieren sowie dass Thymozyten proliferiert werden.

Die Konzentrationsbestimmung erfolgte mit einem Immulite 1000 IL-6 Kit der Firma Diagnostic Products Corporation, Los Angeles, U.S.A., im Automaten Immulite[®] der gleichen Firma, in Immunoassay Technik.

Der Referenzbereich beträgt 0 - 6,0 pg/ml.

Als Indikator von Infektions- und Entzündungsprozessen diene die Leukozytenzahl, die den Reaktionszustand des Organismus widerspiegelt. Bei der Bestimmung der Leukozytenzahl handelt es sich um eine Impedanzmessung mit Zählung im Durchflußzytometer.

Der Referenzbereich beträgt 4,3 - 10,5 G/l.

2.6 Statistik

Für die statistische Auswertung wurden die üblichen Methoden zur Berechnung von Mittelwert (M) und Standardabweichung (SD) benutzt.

$$M = \frac{\sum X_i}{N}$$

$$SD = \left(\frac{\sum (X_i - M)^2}{N - 1} \right)^{1/2}$$

Die Korrelation der Grundgesamtheit ergibt sich aus der Kovarianz zweier Datensätze, dividiert durch das Produkt aus deren Standardabweichungen:

$$r = \sqrt{\frac{SQ_3}{SQ_1}} = \frac{s_{xy}}{s_x \cdot s_y}$$

Regressionsanalyse: Dabei wird durch eine Reihe von Beobachtungen eine Gerade nach der Methode der kleinsten Quadrate geführt.

$$y(x_i) = b_0 + b_1 \cdot x_i$$

Das relative Risiko, die Bedeutung eines Risikofaktors, errechnet sich aus den Quotienten zweier Wahrscheinlichkeiten für ein Ereignis:

$$RR = \frac{a/(a + c)}{b/(b + d)}$$

Die Odds Ratio (das Chancen-Verhältnis) zur Bewertung des Unterschieds zweier Odds und der Stärke von Zusammenhängen wurde wie folgt berechnet:

$$R(A : B) = \frac{R(A)}{R(B)} = \frac{\frac{P(A)}{1-P(A)}}{\frac{P(B)}{1-P(B)}} = \frac{P(A) \cdot (1 - P(B))}{P(B) \cdot (1 - P(A))}$$

Alle Berechnungen wurden mit Hilfe elektronischer Datenverarbeitung auf einem IBM-kompatiblen Personalcomputer unter Microsoft Windows XP und der Tabellenkalkulation Excel für Windows (Microsoft, Redmond, USA) durchgeführt.

Die statistische Auswertung erfolgte mit dem Programm INSTAT, Version 3.06 der Firma Graph Pad, Vermont, USA.

Die stochastische Signifikanz oder Unterschiede zwischen den Gruppen wurde mittels Varianzanalyse (ANOVA) überprüft. Zuerst erfolgte Bartlett's Test für Homogenität der Varianzen und danach als post-hoc Test der Tukey-Kramer Test zum multiplen Vergleich.

Unterschiede bei einem p-Wert $< 0,05$ wurden als signifikant angesehen.

3. Ergebnisse

3.1 Ciclosporinspiegel

Die nachfolgenden Abbildungen zeigen die Ergebnisse der pharmakologischen CsA-Spiegelmessungen von Tag 1-21 post Transplantationem zu den Zeitpunkten C0 (Talblutspiegel, unmittelbar vor Gabe des Immunsuppressivums), C2 (2 Stunden nach Gabe), C4 (4 Stunden nach Gabe) und C6 (6 Stunden nach Gabe) in ng/ml.

In der Legende sind die verabreichten Dosen aufgeführt.

Die Studientage 28 sowie 3 Monate post Transplantationem konnten aufgrund vorzeitiger Entlassung, Umstellung der Immunsuppression oder nicht asservierter Blutproben nicht ausgewertet werden.

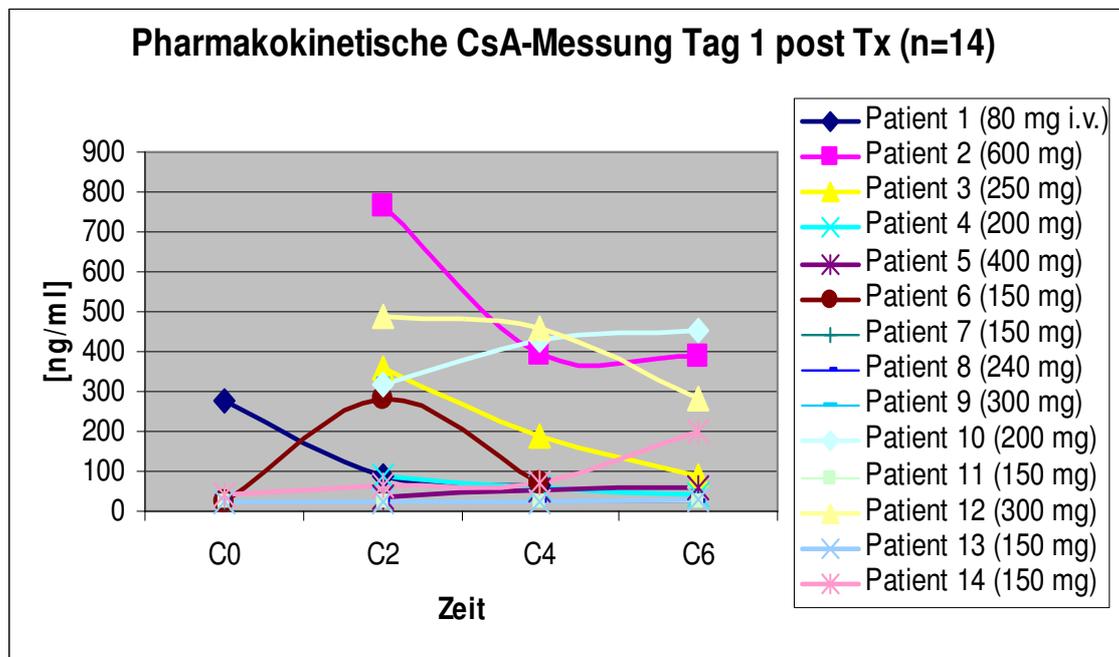


Abbildung 7: Pharmakokinetische CsA-Spiegelmessung am Tag 1 post Transplantationem bei 14 Studienteilnehmern

Die Abbildung 7 zeigt die starken intraindividuellen Schwankungen der CsA-Spiegel am Tag 1 post Transplantationem. Der bei den vorhandenen Proben maximal erreichte Talblutspiegel betrug 270 ng/ml, der minimal erreichte betrug den kleinsten im Labor messbaren Wert von 25 ng/ml. Den höchsten C2-Wert erreichte Proband 2 mit 762 ng/ml, den niedrigsten 3 andere Probanden mit 25 ng/ml.

Zu diesem Zeitpunkt waren 42 von 56 potentiellen Proben verfügbar bzw. auswertbar.

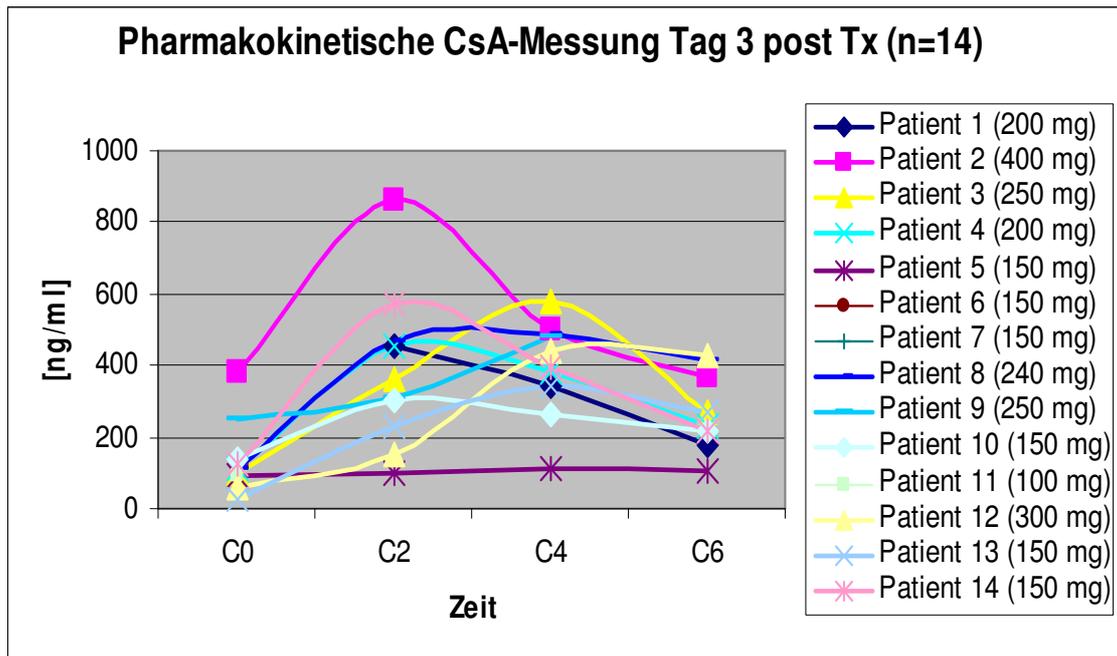


Abbildung 8: Pharmakokinetische CsA-Spiegelmessung am Tag 3 post Transplantationem bei 14 Studienteilnehmern

In Abbildung 8 lassen sich neben den weiterhin bestehenden intraindividuellen Schwankungen der CsA-Spiegel auch interindividuelle Unterschiede der Konzentrationszeitkurven am Tag 3 post Transplantationem ausmachen. Es zeigt sich, dass 5 Probanden C_{\max} (maximale im Blut gemessene Medikamentenkonzentration) um 2 Stunden nach Ciclosporin-Gabe und 5 Probanden C_{\max} im Zeitraum zwischen 2 und 6 Stunden nach Gabe erreichten, sowie dass Proband 5 nahezu eine gleich bleibende CsA-Blutkonzentration aufwies.

Der höchste gemessene Talblutspiegel am Tag 3 post Tx betrug 379 ng/ml, der minimal erreichte betrug den kleinsten im Labor messbaren Wert von 25 ng/ml. Den höchsten C2-Wert erreichte Proband 2 mit 863 ng/ml, den niedrigsten Proband 5 mit 99 ng/ml.

Zu diesem Zeitpunkt waren 45 von 56 potentiellen Proben verfügbar bzw. auswertbar.

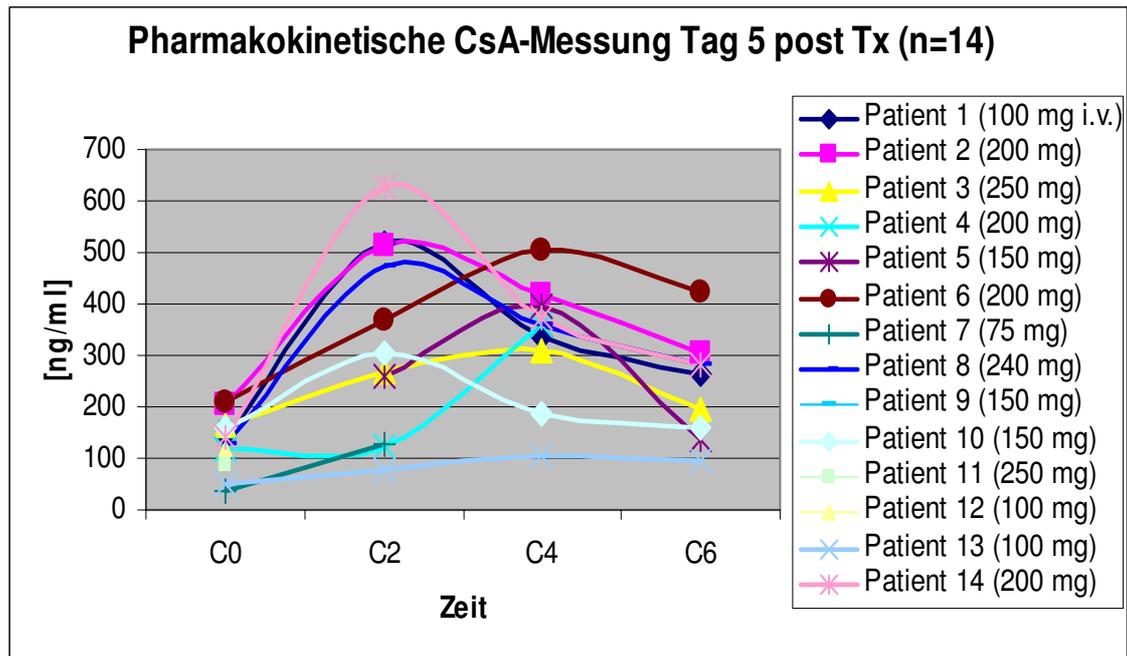


Abbildung 9: Pharmakokinetische CsA-Spiegelmessung am Tag 5 post Transplantationem bei 14 Studienteilnehmern

Die Abbildung 9 zeigt die Konzentrationszeitkurven am Tag 5 post Transplantationem.

An den auswertbaren Kurven ist zu erkennen, dass 5 Probanden ihre C_{max} um 2 Stunden nach CsA-Gabe, sowie 5 Probanden ihre C_{max} erst um 4 Stunden nach Gabe erreichten.

Der höchste gemessene Talblutspiegel am Tag 5 post Tx betrug 211 ng/ml, der minimal erreichte betrug 38 ng/ml. Den höchsten C2-Wert erreichte Proband 14 mit 628 ng/ml, den niedrigsten Proband 13 mit 76 ng/ml.

Zu diesem Zeitpunkt waren 43 von 56 potentiellen Proben verfügbar bzw. auswertbar.

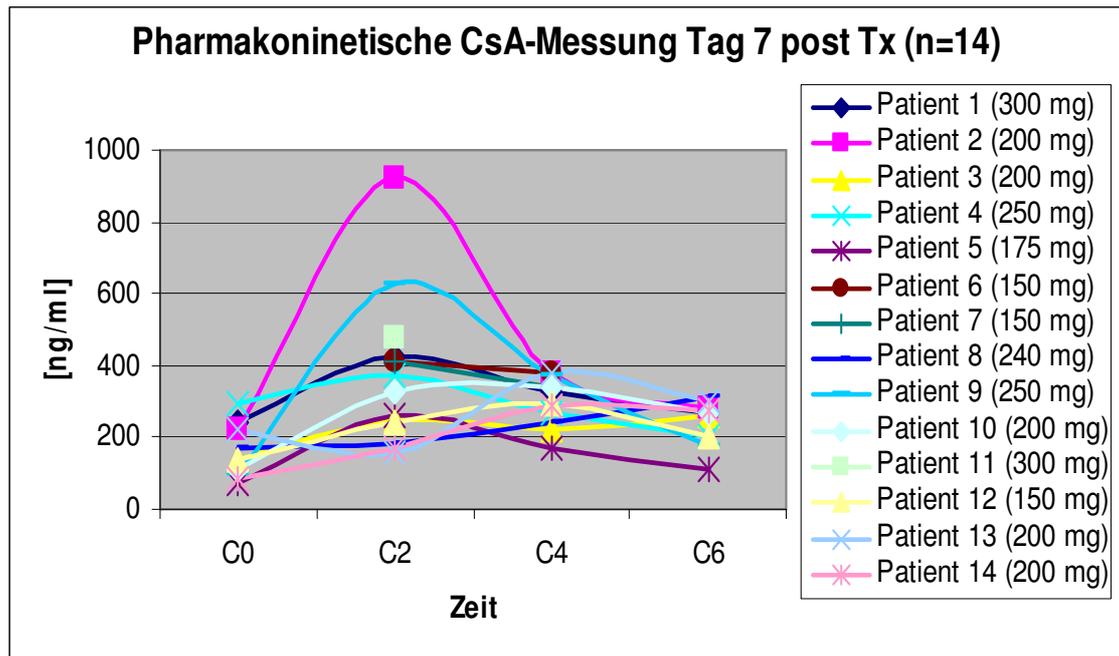


Abbildung 10: Pharmakokinetische CsA-Spiegelmessung am Tag 7 post Transplantationem bei 14 Studienteilnehmern

Die Abbildung 10 zeigt die CsA-Spiegel-Verläufe am Tag 7 post Transplantationem.

7 Probanden erreichten C_{max} um 2 Stunden nach Gabe, wohingegen 6 Probanden ihre Maximalkonzentration erst zwischen 2 und 6 Stunden nach Gabe erreichten.

Der höchste gemessene Talblutspiegel am Tag 7 post Tx betrug 292 ng/ml, der minimal erreichte betrug 69 ng/ml. Den höchsten C2-Wert erreichte Proband 2 mit 922 ng/ml, den niedrigsten Proband 13 mit 157 ng/ml.

Zu diesem Zeitpunkt waren 49 von 56 potentiellen Proben verfügbar bzw. auswertbar.

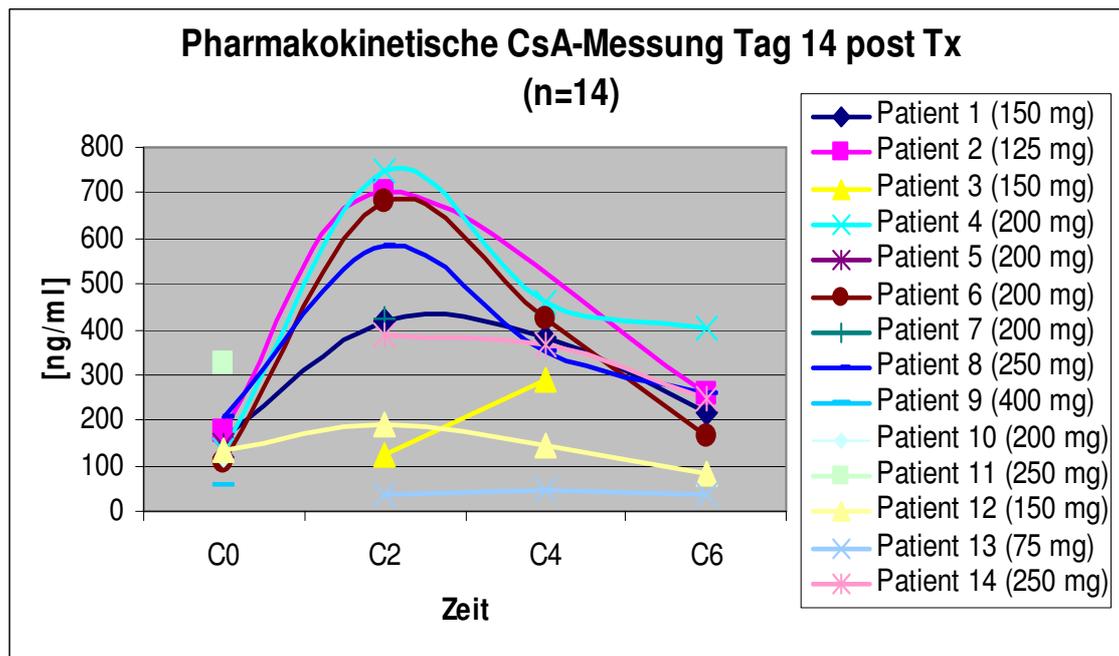


Abbildung 11: Pharmakokinetische CsA-Spiegelmessung am Tag 14 post Transplantationem bei 14 Studienteilnehmern

Die Abbildung 11 zeigt die CsA-Spiegel-Verläufe am Tag 14 post Transplantationem. Demnach erreichten 6 Probanden C_{max} um 2 Stunden nach Gabe, und 2 Probanden ihre Maximalkonzentration zwischen 2 und 6 Stunden nach Gabe.

Der höchste gemessene Talblutspiegel am Tag 14 post Tx betrug 324 ng/ml, der minimal erreichte betrug 58 ng/ml. Den höchsten C2-Wert erreichte Proband 2 mit 700 ng/ml, den niedrigsten Proband 13 mit 34 ng/ml.

Zu diesem Zeitpunkt waren 36 von 56 potentiellen Proben verfügbar bzw. auswertbar.

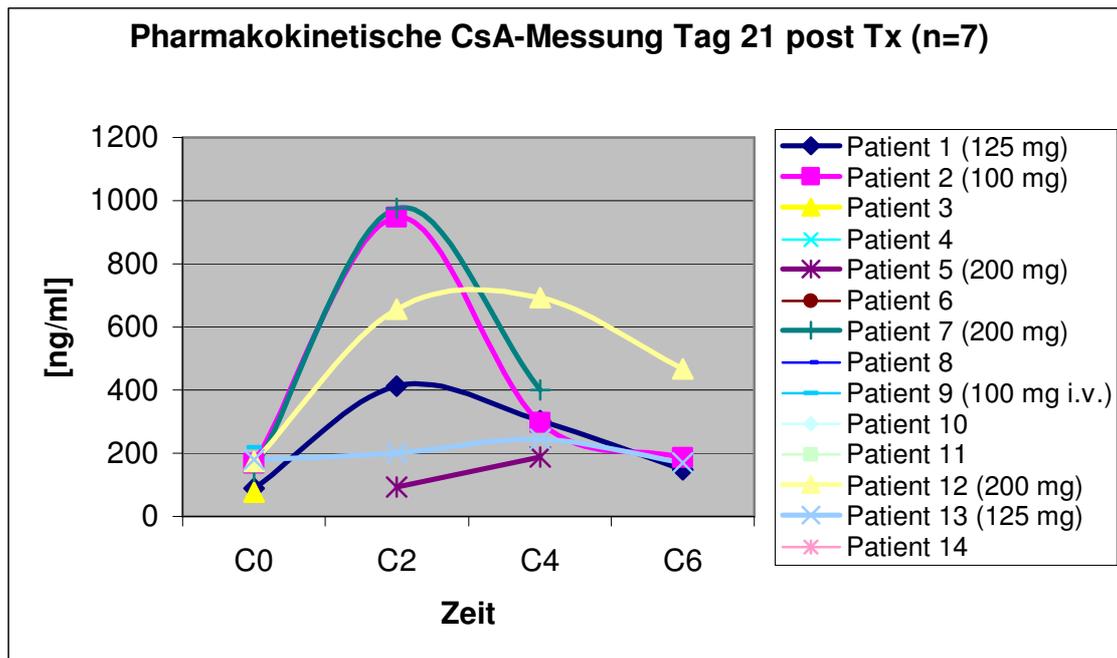


Abbildung 12: Pharmakokinetische CsA-Spiegelmessung am Tag 21 post Transplantationem bei 7 Studienteilnehmern

Die Abbildung 12 zeigt die CsA-Spiegel-Verläufe am Tag 21 post Transplantationem bei 7 Studienteilnehmern.

An diesem Tag erreichten 3 Probanden C_{max} um 2 Stunden nach Gabe, und 3 Probanden ihre Maximalkonzentration zwischen 2 und 6 Stunden nach Gabe.

Der höchste gemessene Talblutspiegel am Tag 21 post Tx betrug 218 ng/ml, der minimal erreichte betrug 76 ng/ml. Den höchsten C2-Wert erreichte Proband 2 mit 948 ng/ml, den niedrigsten Proband 5 mit 93 ng/ml.

Zu diesem Zeitpunkt waren 33 von 56 potentiellen Proben verfügbar bzw. auswertbar.

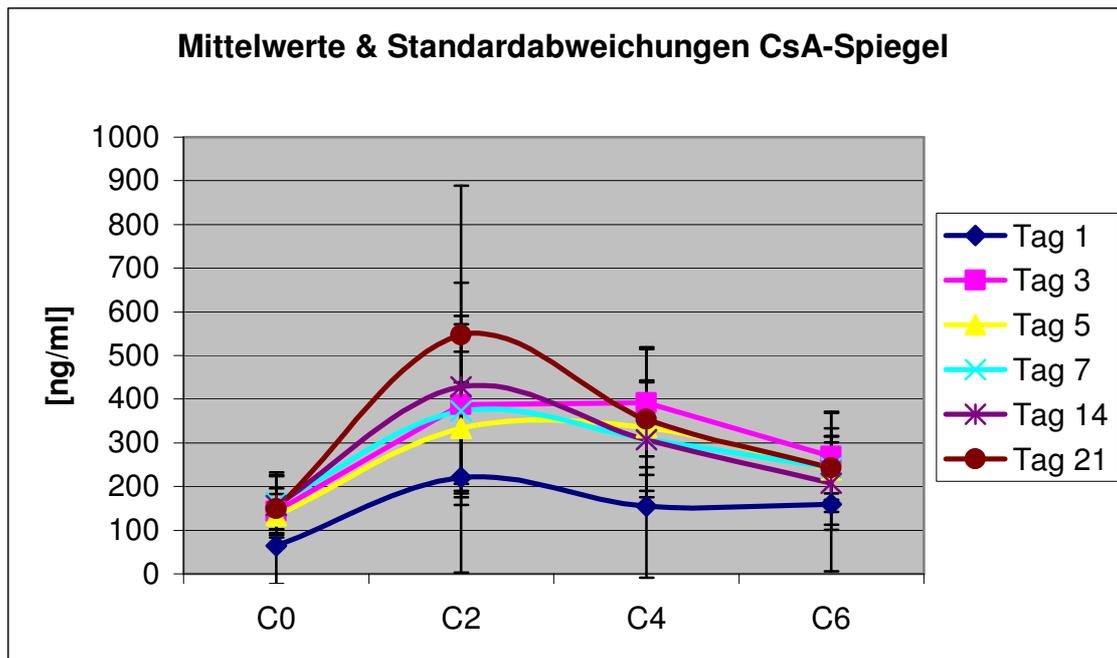


Abbildung 13: Mittelwerte und Standardabweichungen CsA-Spiegel Tag 1 – 21 post Transplantationem

Die Abbildung 13 zeigt die Mittelwerte und Standardabweichungen der Konzentrationszeitkurven von Tag 1 bis 21 post Transplantationem.

An den Tagen 1, 7, 14 und 21 post Tx wurde C_{max} um 2 Stunden und an den Tagen 3 und 5 post Tx um 4 Stunden nach CsA-Gabe erreicht. Der höchste mittlere Talblutspiegel wird an Tag 7 mit $162,72 \pm 69,68$ ng/ml, der Niedrigste an Tag 1 mit $64 \pm 88,02$ ng/ml erreicht. Der höchste mittlere C2-Wert wurde mit $547,33 \pm 341,82$ ng/ml an Tag 21 und der Kleinste mit $221,31 \pm 217,77$ ng/ml an Tag 1 gemessen.

Die starke interindividuelle Schwankungsbreite des Stoffwechsels von CsA ist in der großen Standardabweichung insbesondere zum Zeitpunkt C2 zu erkennen.

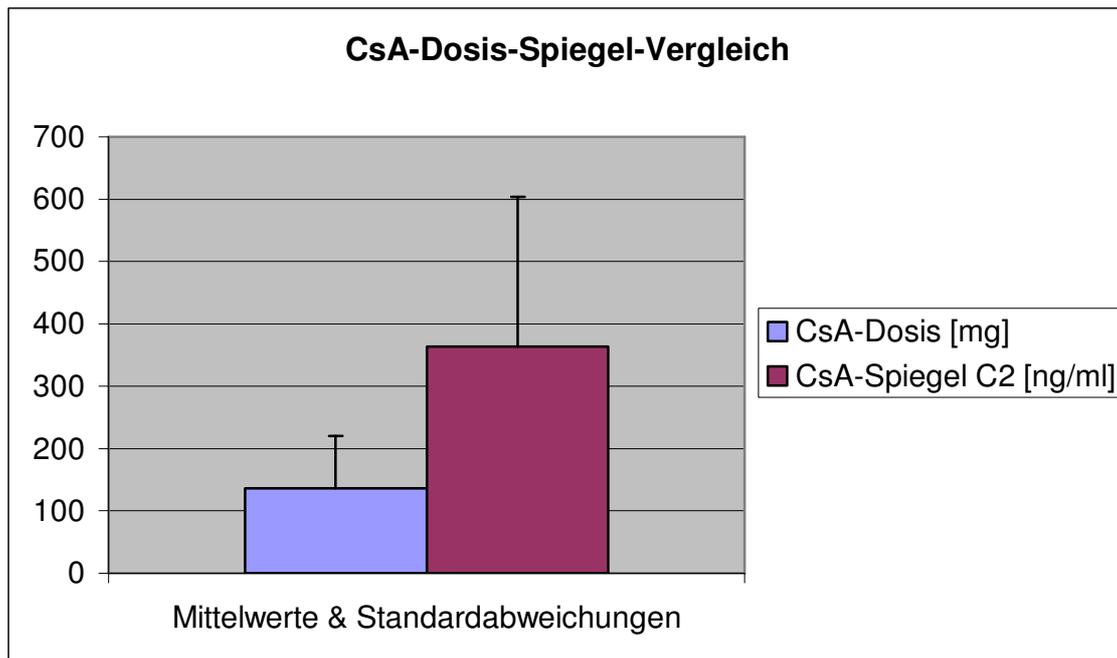


Abbildung 14: CsA-Dosis-C2-Spiegel-Vergleich

In der Abbildung 14 ist der Vergleich der Mittelwerte von CsA-Dosis und der dazugehörigen Mittelwerte der C2-CsA-Spiegel aufgeführt. Die mittlere CsA-Dosis beträgt $136,18 \pm 83,67$ mg. Der mittlere CsA-C2-Spiegel beträgt $362,98 \pm 240,34$ ng/ml. Die großen Standardabweichungen sowohl bei der CsA-Dosis als auch bei dem C2-CsA-Spiegel weisen auf eine ausgeprägte inter- und intraindividuelle Schwankungsbreite hin.

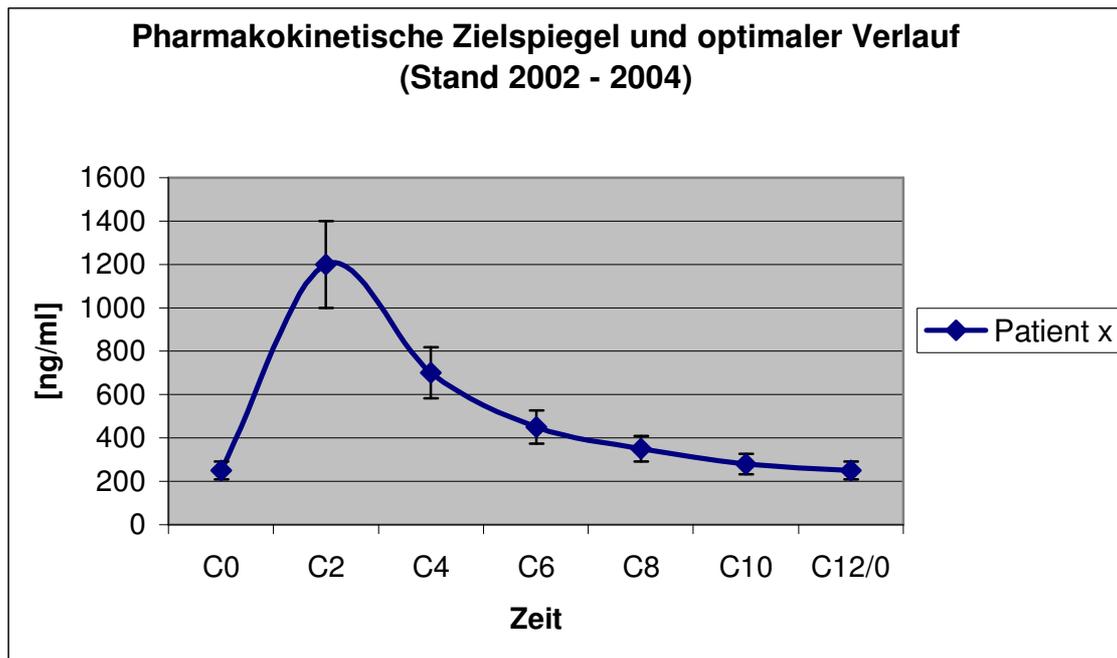


Abbildung 15: Pharmakokinetische CsA-Zielspiegel und optimaler Verlauf zum Zeitpunkt der Studie (2002 -2004)

Die Abbildung 15 zeigt die pharmakokinetischen Zielspiegel und den optimalen Verlauf der Konzentrationszeitkurve bei CsA-Immunsuppression zum Zeitpunkt der Studie (2002 - 2004) gemäß den Empfehlungen der deutschen C2-Konsensuskonferenz, Berlin, November 2002 (Novartis Pharma GmbH, Nürnberg). Die nach Möglichkeit zu erzielenden Spiegel betragen zum Zeitpunkt C0 250 ng/ml, zu C2 1200 ng/ml, zu C4 700 ng/ml, zu C6 450 ng/ml, zu C8 350 ng/ml, zu C10 280 ng/ml und zu C12 wieder 250 ng/ml.

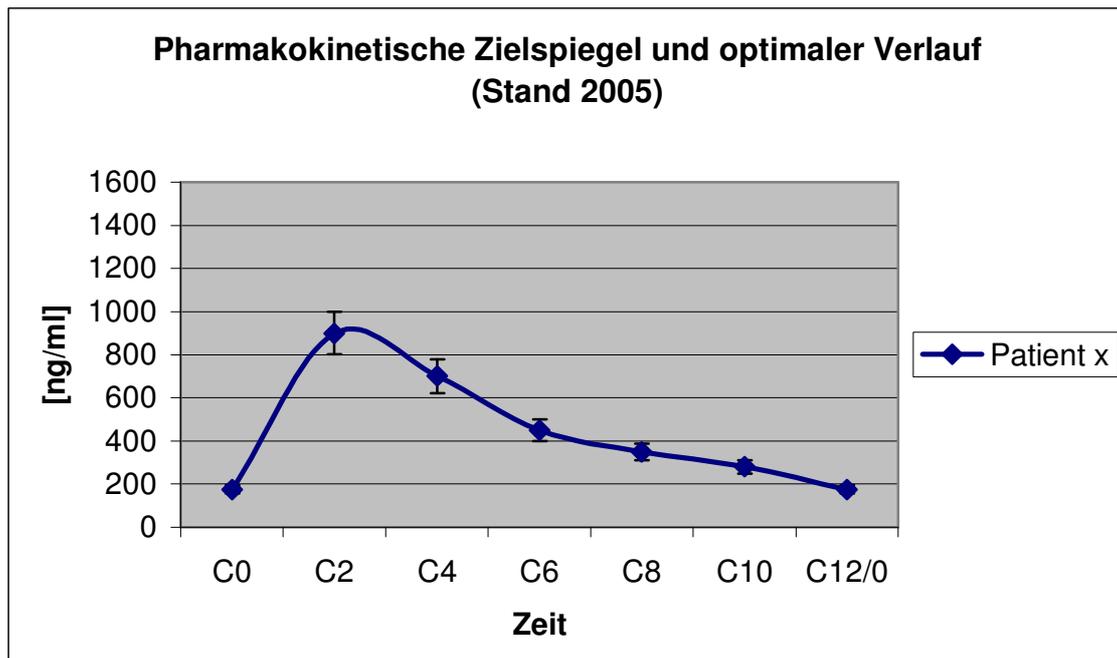


Abbildung 16: Pharmakokinetische CsA-Zielspiegel und optimaler Verlauf aktueller Stand (2005)

Die Abbildung 16 zeigt die aktuellen pharmakokinetischen Zielspiegel und den optimalen Verlauf der Konzentrationszeitkurve bei CsA-Immunsuppression im ersten Monat nach Transplantation gemäß den Empfehlungen der medizinischen Hochschule Hannover publiziert in „Use of Neoral C2 monitoring: a European consensus“ (Nashan et al., 2005). Die nach Möglichkeit zu erzielenden Spiegel betragen zum Zeitpunkt C0 175 ng/ml, zu C2 900 ng/ml, zu C4 700 ng/ml, zu C6 450 ng/ml, zu C8 350 ng/ml, zu C10 280 ng/ml und zu C12 wieder 175 ng/ml.

3.2 Leberparameter

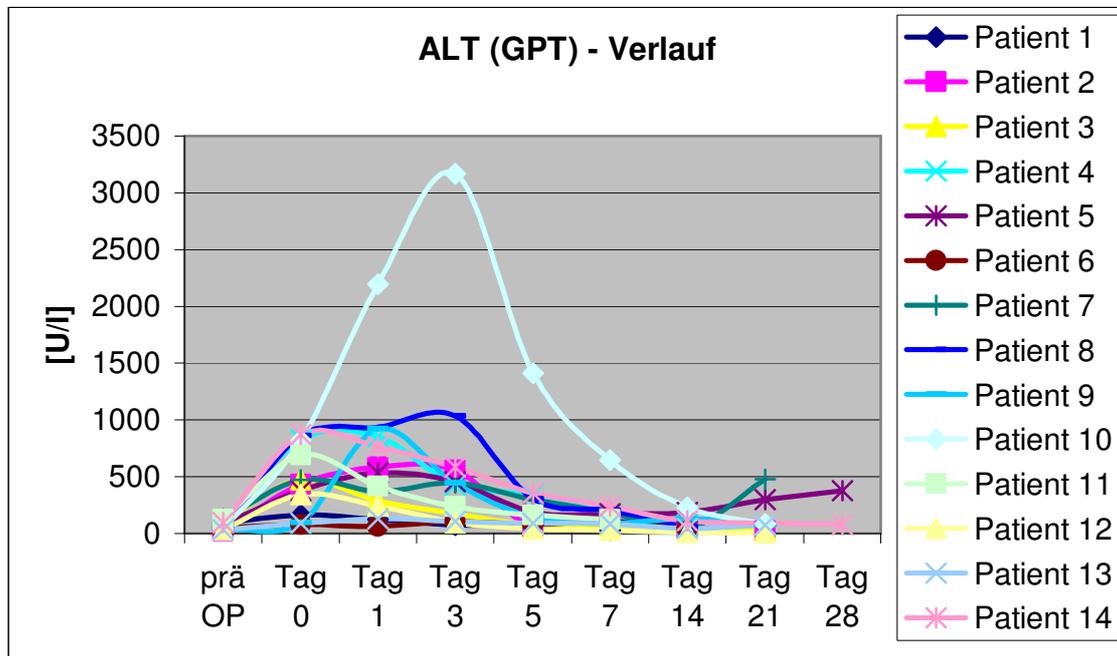


Abbildung 17: Pharmakokinetische ALT (GPT)-Blutkonzentrationsmessungen bei 14 Studienteilnehmern

Die Abbildung 17 zeigt die ALT-Blutkonzentrationen der 14 Probanden im Verlauf. Im Rahmen eines Ischämie-Reperfusionsschadens traten auffällige Konzentrationsspitzen am dritten Tag post Transplantationem bei Proband 8 mit 1034 U/l und beim Probanden 10 mit 3171 U/l auf.

Im Studienzeitraum waren 108 von 126 potentiellen Proben verfügbar bzw. auswertbar.

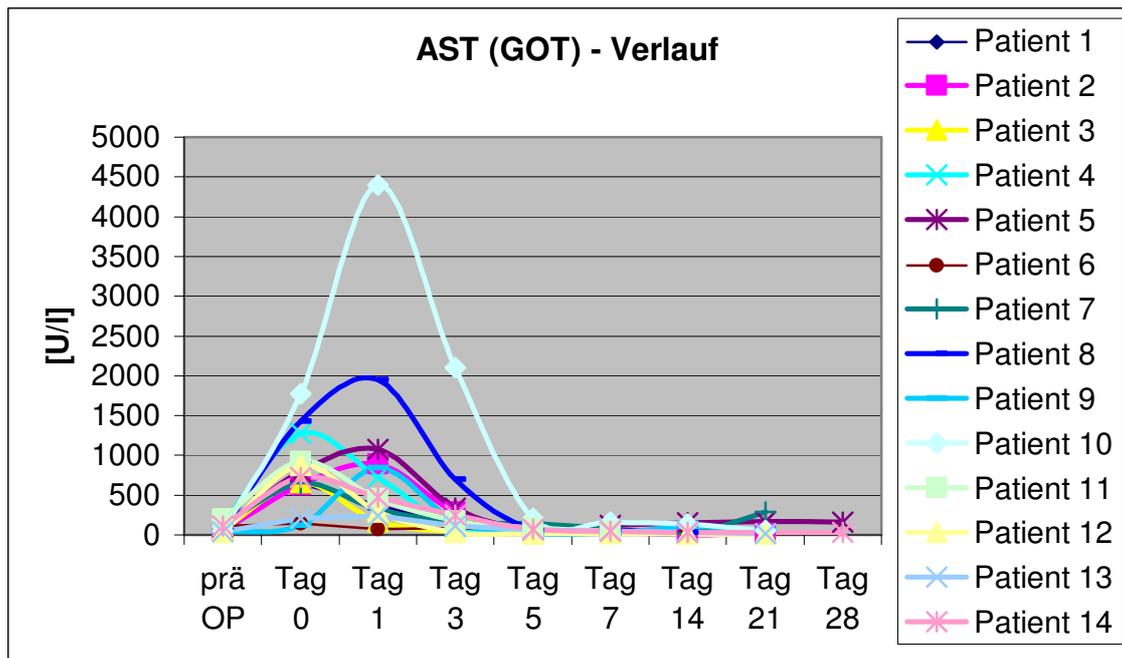


Abbildung 18: Pharmakokinetische AST (GOT)-Blutkonzentrationsmessungen bei 14 Studienteilnehmern

Die Abbildung 18 zeigt die AST-Blutkonzentrationen der 14 Probanden im Verlauf. Im Rahmen eines Ischämie-Reperfusionsschadens sind auch hier auffällige Konzentrationsspitzen am ersten Tag post Transplantationem bei Proband 8 mit 1951 U/l und bei Proband 10 mit 4399 U/l zu verzeichnen.

Im Studienzeitraum waren 108 von 126 potentiellen Proben verfügbar bzw. auswertbar.

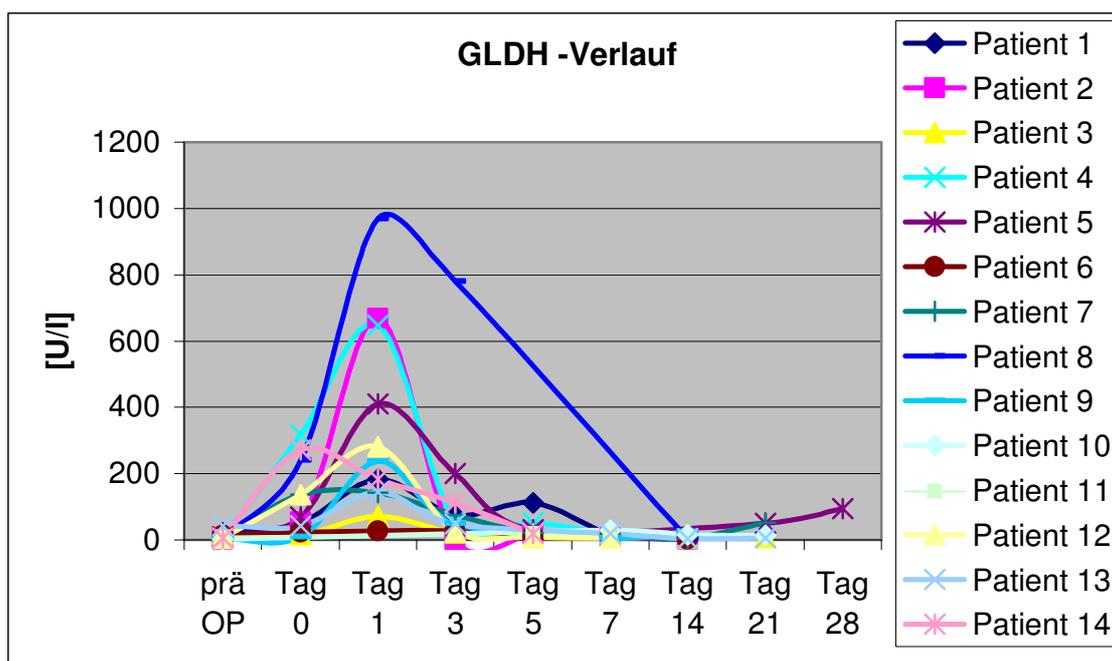


Abbildung 19: Pharmakokinetische GLDH -Blutkonzentrationsmessungen bei 14 Studienteilnehmern

Die Abbildung 19 zeigt die GLDH-Blutkonzentrationen der 14 Probanden im Verlauf. Am ersten Tag post Transplantationem sind Konzentrationsspitzen bei drei Studienteilnehmern zu verzeichnen (Proband 8: 968,6 U/l, Proband 2: 668,2 U/l und Proband 5: 410,2 U/l). Da die GLDH intramitochondrial gelegen ist, handelt es sich nicht um einen Zelloberflächen- bzw. Grenzflächenschaden, sondern um eine schwere Zellschädigung.

Im Studienzeitraum waren 86 von 126 potentiellen Proben verfügbar bzw. auswertbar.

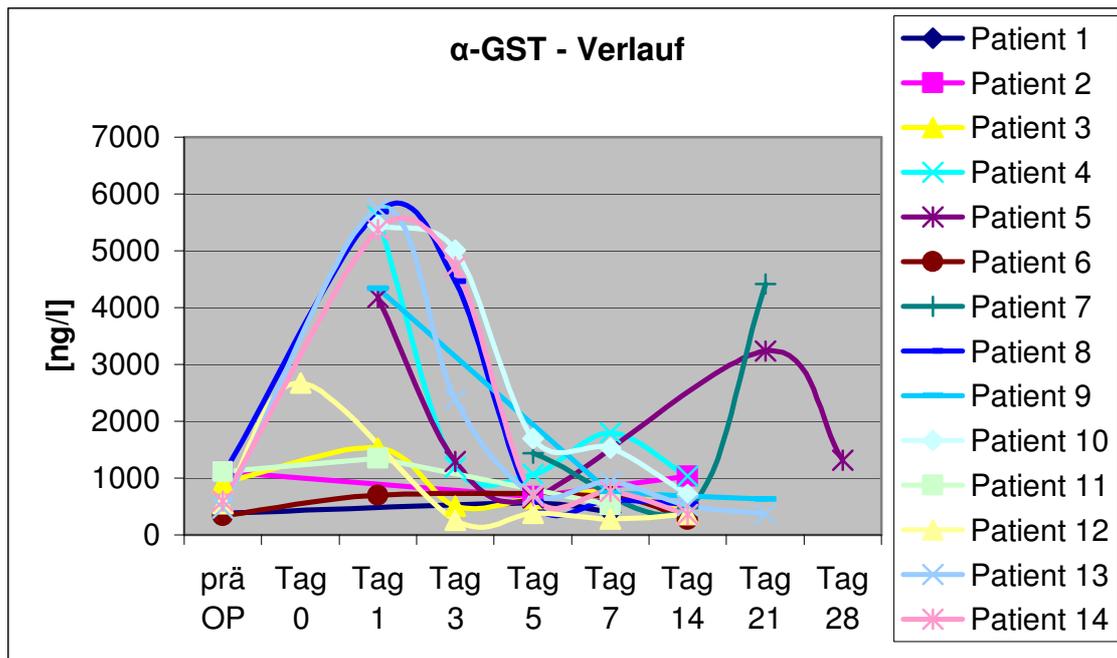


Abbildung 20: Pharmakokinetische α -GST-Blutkonzentrationsmessungen bei 14 Studienteilnehmern

Die Abbildung 20 zeigt die α -GST-Blutkonzentrationen der 14 Probanden im Verlauf. Am ersten Tag post Transplantationem sind im Rahmen des Ischämie-Reperfusionsschadens Konzentrationsspitzen um 5500 ng/l bei fünf Studienteilnehmern (Probanden 4, 8, 10, 13 und 14) zu verzeichnen. Aufgrund der sehr kurzen Halbwertszeit sind die Peaks der α -GST im Gegensatz zur denen der ALT (GPT) nur auf den ersten postoperativen Tag beschränkt.

Am 21. postoperativen Tag weisen Proband 5 mit 3238,19 ng/l sowie Patient 7 mit 4416,61 ng/l weitere Konzentrationsspitzen auf.

Im Studienzeitraum waren 65 von 126 potentiellen Proben verfügbar bzw. auswertbar.

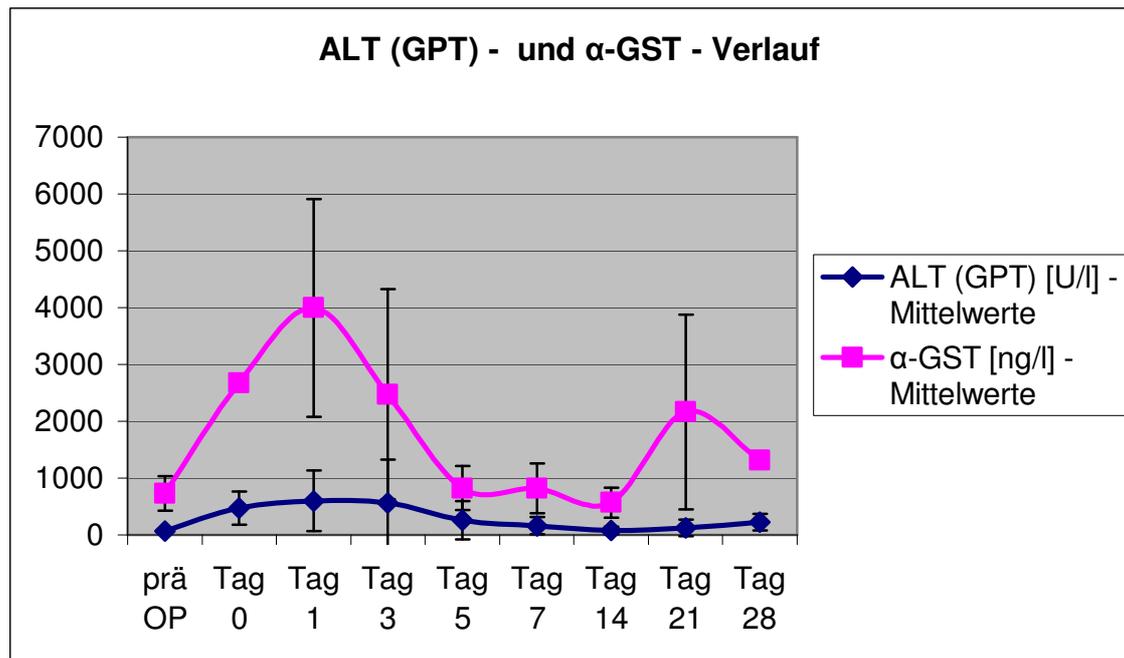


Abbildung 21: Vergleich Mittelwerte ALT (GPT)-Blutkonzentrationen mit Mittelwerte α -GST-Blutkonzentrationen

Die Abbildung 21 vergleicht die Mittelwerte der ALT (GPT)-Blutkonzentrationen mit den Mittelwerten der α -GST-Blutkonzentrationen im Verlauf. Es zeigen sich zumeist gleichsinnige Verlaufsentwicklungen der beiden Parameter, wobei im Rahmen der interindividuellen Schwankungsbreite insbesondere am ersten und dritten postoperativen Tag große Standardabweichungen zu verzeichnen sind.

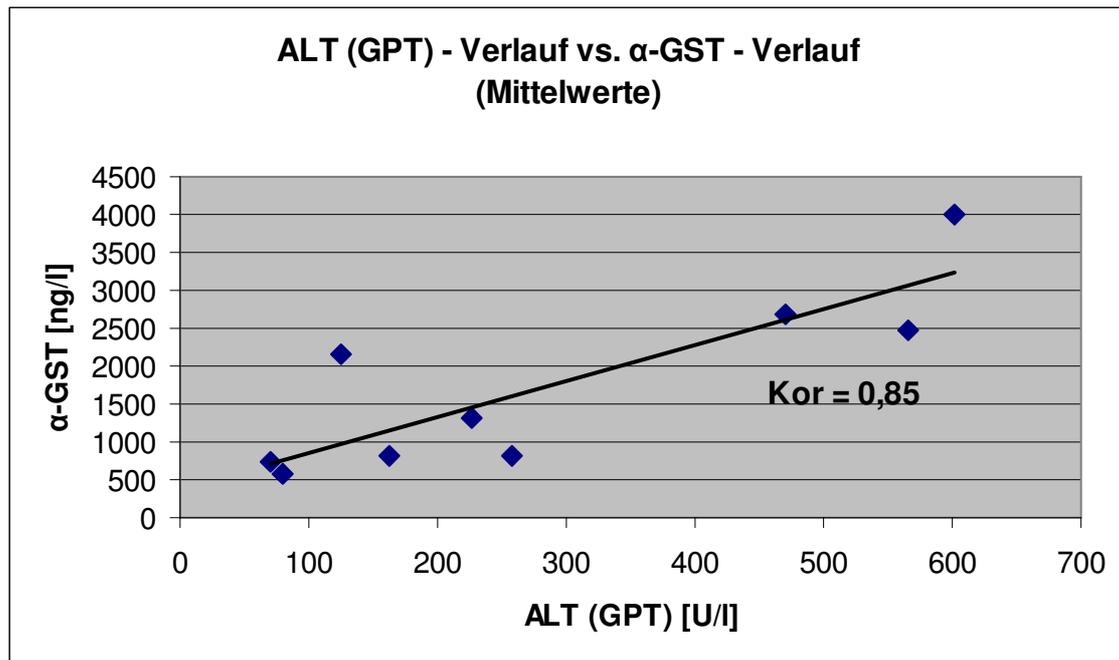


Abbildung 22: Korrelation von Mittelwerten der α -GST-Blutkonzentrationen und Mittelwerten der ALT (GPT)-Blutkonzentrationen bei 14 Studienteilnehmern

Die Abbildung 22 zeigt die Korrelation von Mittelwerten der α -GST-Blutkonzentrationen und Mittelwerten der ALT (GPT)-Blutkonzentrationen bei 14 Studienteilnehmern im Verlauf. Der Korrelationskoeffizient beträgt 0,85 und beweist statistisch eine ausgeprägte positive Korrelation dieser beiden Parameter.

Es waren 54 von potentiellen 84 Wertgegenüberstellungen zur Ermittlung der Korrelationsgeraden verfügbar bzw. auswertbar.

3.3 Nierenparameter

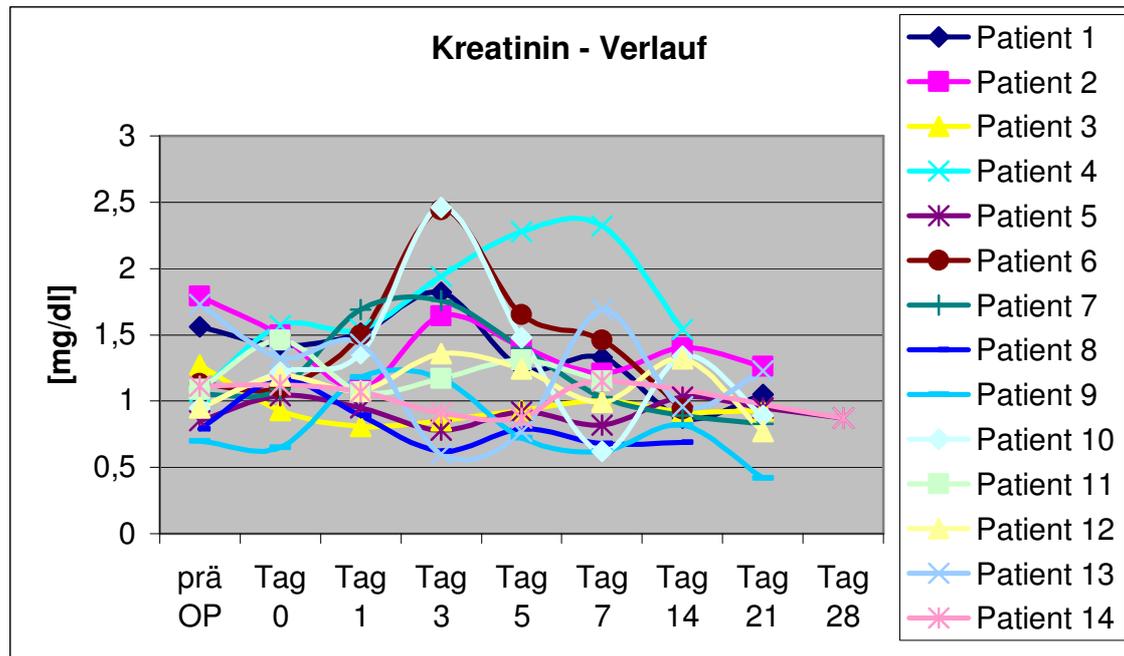


Abbildung 23: Pharmakokinetische Kreatinin-Blutkonzentrationsmessungen bei 14 Studienteilnehmern

Die Abbildung 23 zeigt die Kreatinin-Blutkonzentrationen der 14 Probanden im Verlauf.

Am 3. Tag post Transplantationem weisen Proband 10 mit 2,46 mg/dl und Proband 6 mit 2,44 mg/dl Konzentrationsspitzen auf. Am 7. postoperativen Tag zeigt Proband 4 mit 2,32 g/dl eine weitere Konzentrationsspitze.

Im Studienzeitraum waren 107 von 126 potentiellen Proben verfügbar bzw. auswertbar.

3.4 Immunologische Parameter

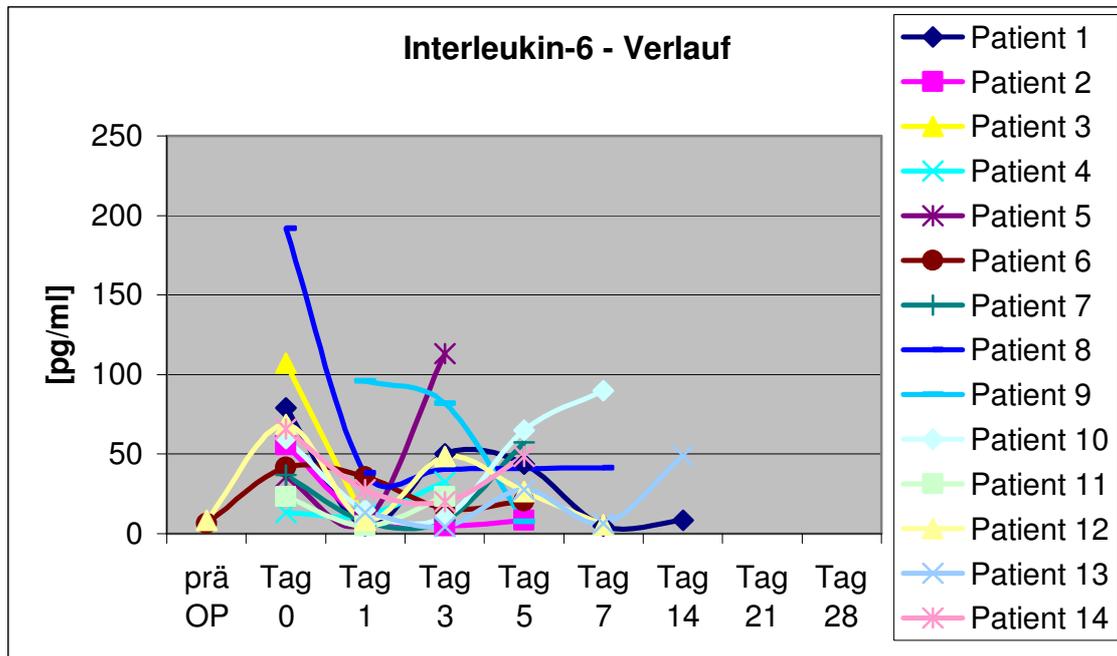


Abbildung 24: Pharmakokinetische Interleukin-6-Blutkonzentrationsmessungen bei 14 Studienteilnehmern

Die Abbildung 24 zeigt die Interleukin-6-Blutkonzentrationen der 14 Probanden im Verlauf.

In der unmittelbaren postoperativen Phase sind Konzentrationsspitzen bei Proband 3 mit 107 pg/ml und bei Proband 8 mit 192 pg/ml zu verzeichnen. Am 3. postoperativen Tag zeigt Proband 5 mit 113 pg/ml eine weitere Konzentrationsspitze.

Im Studienzeitraum waren 57 von 126 potentiellen Proben verfügbar bzw. auswertbar.

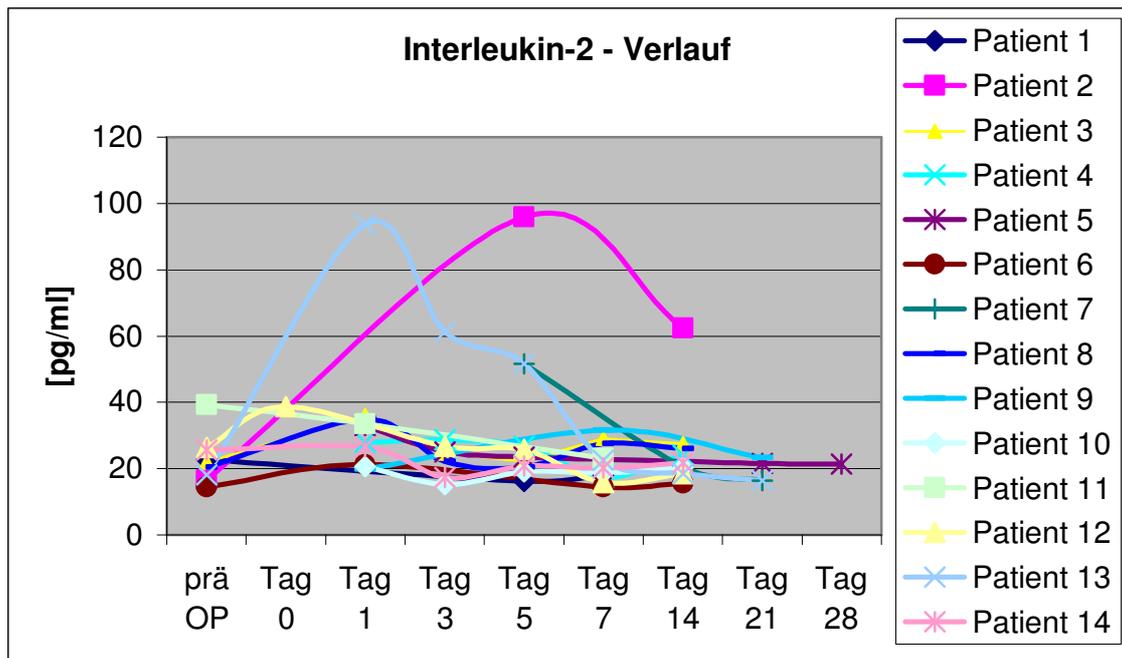


Abbildung 25: Pharmakokinetische Interleukin-2-Blutkonzentrationsmessungen bei 14 Studienteilnehmern

Die Abbildung 25 zeigt die Interleukin-2-Blutkonzentrationen der 14 Probanden im Verlauf.

Am ersten Tag post Transplantationem weist Proband 13 eine Konzentrationsspitze mit 93,64 pg/ml auf. Am 5. postoperativen Tag zeigt Proband 2 mit 95,5 pg/ml eine weitere Konzentrationsspitze.

Im Studienzeitraum waren 65 von 126 potentiellen Proben verfügbar bzw. auswertbar.

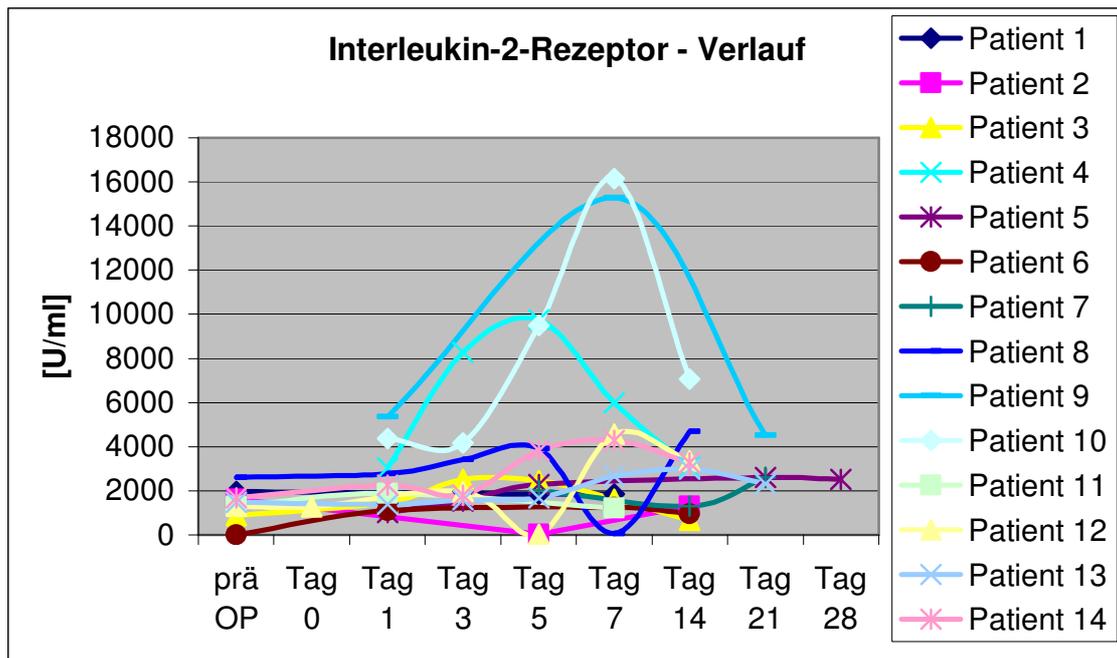


Abbildung 26: Pharmakokinetische Interleukin-2-Rezeptor-Blutkonzentrationsmessungen bei 14 Studienteilnehmern

Die Abbildung 26 zeigt die Interleukin-2-Rezeptor-Blutkonzentrationen der 14 Probanden im Verlauf.

Konzentrationsspitzen sind am Tag 5 post Transplantationem bei Proband 4 mit 9752 U/ml, am Tag 7 post Transplantationem bei Proband 10 mit 16146 U/ml und bei Proband 9 mit 15278 U/ml zu verzeichnen.

Im Studienzeitraum waren 65 von 126 potentiellen Proben verfügbar bzw. auswertbar.

3.5 Infektionsparameter

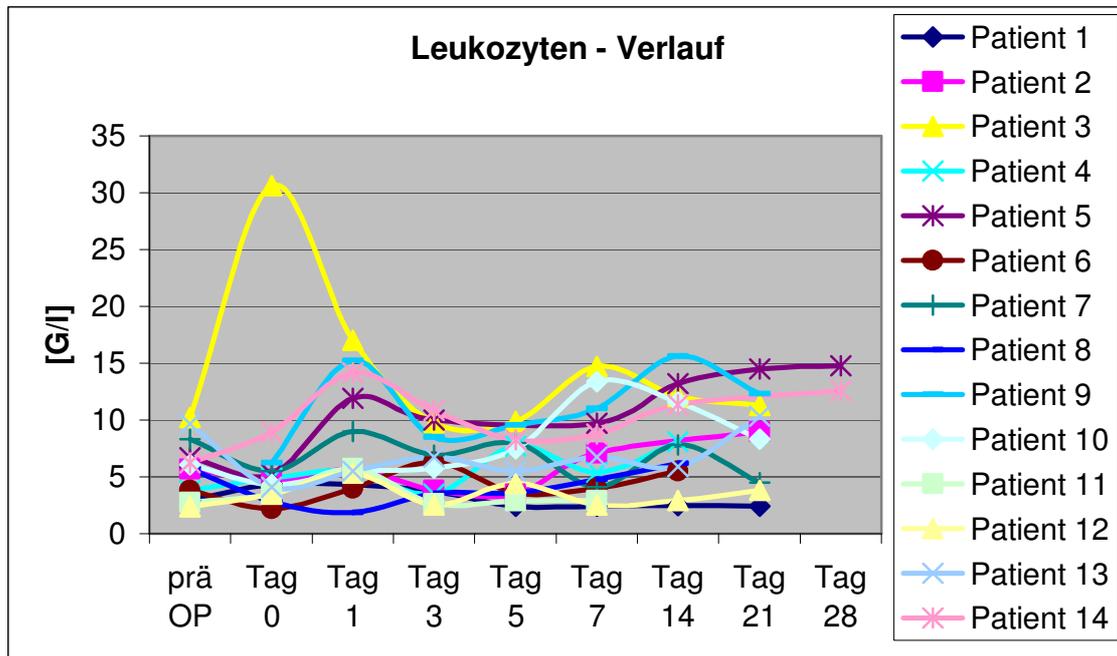


Abbildung 27: Pharmakokinetische Messung der Leukozytenanzahl bei 14 Studienteilnehmern

Die Abbildung 27 zeigt die Leukozytenzahlen der 14 Probanden im Verlauf.

Auffällig ist der im Rahmen des postoperativen Geschehens aufgetretene Leukozyten-Peak von Proband 3.

Im Studienzeitraum waren 105 von 126 potentiellen Proben verfügbar bzw. auswertbar.

3.6 Vergleich verschiedener Laborparameter

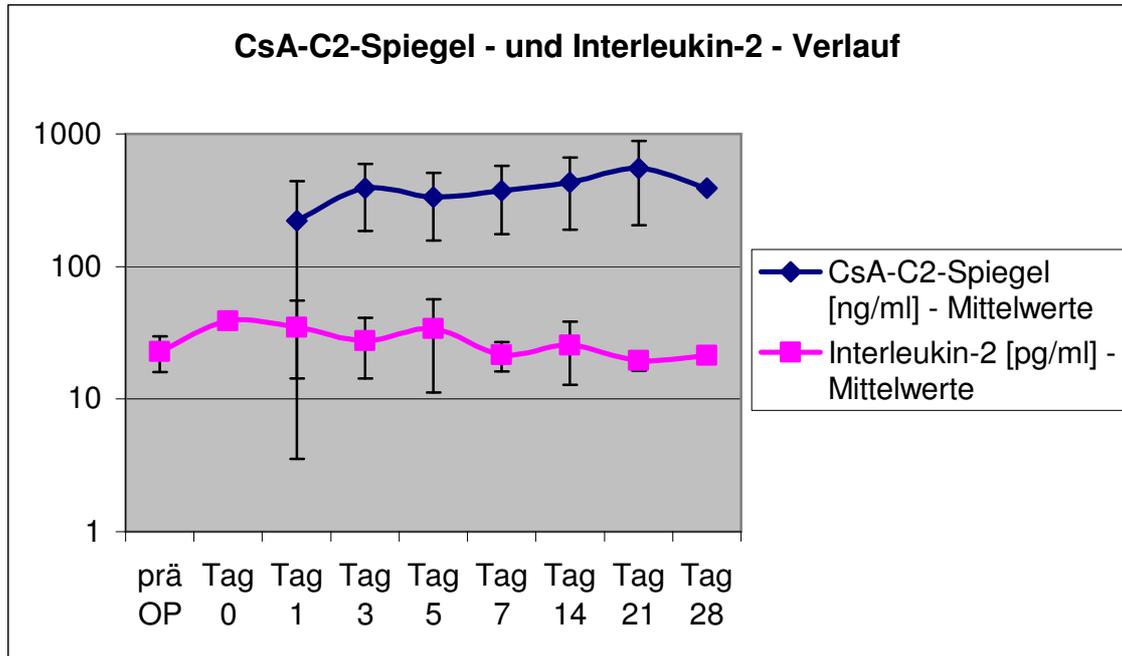


Abbildung 28: Vergleich Mittelwerte CsA-C2-Spiegel mit Mittelwerte Interleukin-2-Blutkonzentrationen

Die Abbildung 28 vergleicht die Mittelwerte der CsA-C2-Spiegel mit den Mittelwerten der IL-2-Blutkonzentrationen im Verlauf. Es zeigen sich zumeist gegensätzliche Verlaufsentwicklungen der beiden Parameter, wobei im Rahmen der interindividuellen Schwankungsbreite insbesondere am ersten postoperativen Tag eine große Standardabweichung zu verzeichnen ist.

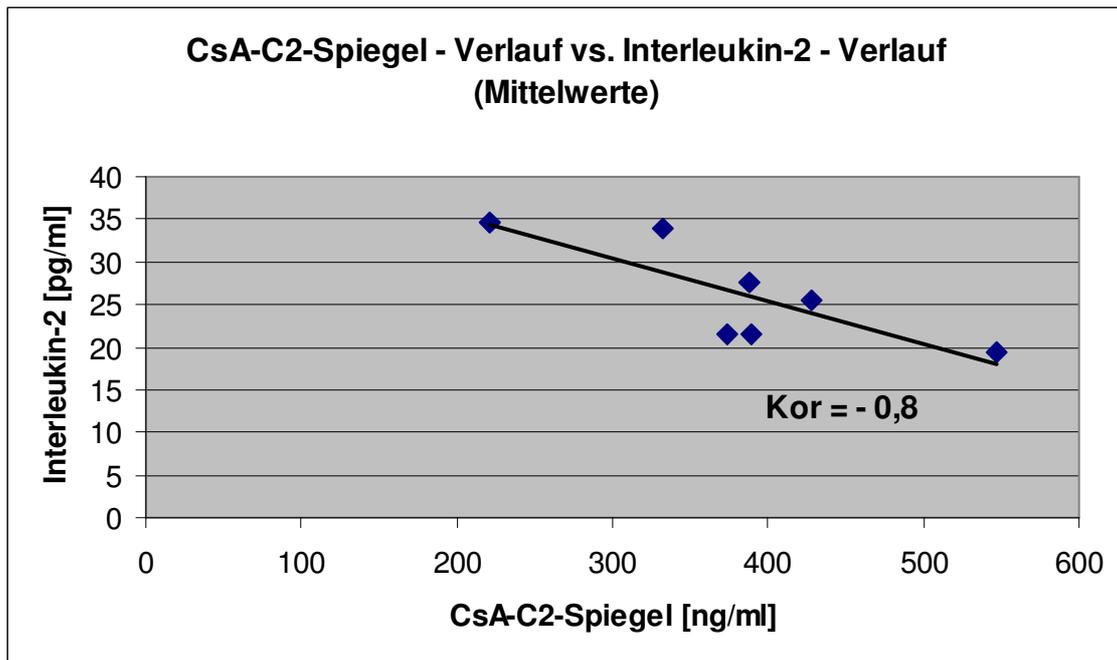


Abbildung 29: Korrelation von Mittelwerten der CsA-C2-Spiegel und Mittelwerten der Interleukin-2-Blutkonzentrationen

Die Abbildung 29 zeigt die Korrelation von den Mittelwerten der CsA-C2-Spiegel und den Mittelwerten der IL-2-Blutkonzentrationen im Verlauf.

Der Korrelationskoeffizient beträgt $-0,8$ und bestätigt statistisch die ausgeprägte negative Korrelation dieser beiden Parameter.

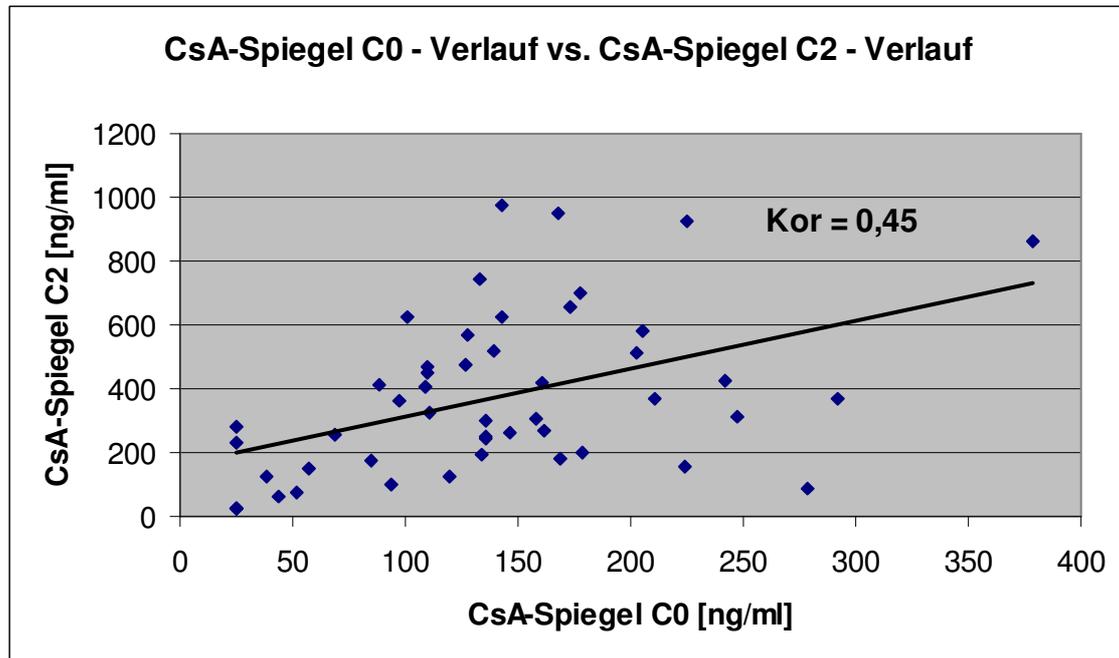


Abbildung 30: Korrelation von CsA-Spiegeln zum Zeitpunkt C0 und C2 bei 14 Studienteilnehmern

Die Abbildung 30 zeigt die Korrelation von CsA-Spiegeln zum Zeitpunkt C0 und C2 bei 14 Studienteilnehmern im Verlauf. Der Korrelationskoeffizient beträgt 0,45 und zeigt eine statistisch schwach ausgeprägte positive Korrelation dieser beider Parameter.

3.7 Abstoßungen

Bei unserem Patientenkollektiv waren in dem geplanten Beobachtungszeitraum drei Abstoßungsreaktionen zu verzeichnen, welche allesamt durch eine Kortisonstoßtherapie suffizient behandelt wurden.

Bei Patient 1 wurde am 4./5. postoperativen Tag eine Abstoßung registriert, welche am 5. sowie am 6. postoperativen Tag mit 250 mg/d Prednisolon (Solu-Decortin[®]) i.v. therapiert wurde. Labortechnisch ließ sich die Abstoßungsreaktion nur vermuten, da sich bei Betrachten der erhöhten leberspezifischen Parameter in der direkten postoperativen Phase nicht eindeutig zwischen Ischämie-Reperfusionsschaden und Abstoßungsreaktion differenzieren ließ. Lediglich die deutlich erhöhte GLDH mit 111,8 U/l am Tag 5 post OP wies klar auf eine Abstoßung hin.

Bei Patient 5 wurde am 22./23. postoperativen Tag eine Abstoßung festgestellt, welche vom 23. bis zum 25. Tag post OP mit 500 mg/d Prednisolon (Solu-Decortin[®]) i.v. therapiert wurde.

Bei Patient 7 wurde am 20./21. postoperativen Tag eine Abstoßung verzeichnet, welche vom 21. bis zum 23. Tag post OP mit 500 mg/d Prednisolon (Solu-Decortin®) i.v. therapiert wurde.

Die Abstoßungsreaktionen der Probanden 5 und 7 ließen sich neben den erhöhten Lebertransaminasen deutlich an den am 21. Tag post OP gemessenen α -GST-Peaks von 3238,19 ng/l und 4416,61 ng/l erkennen.

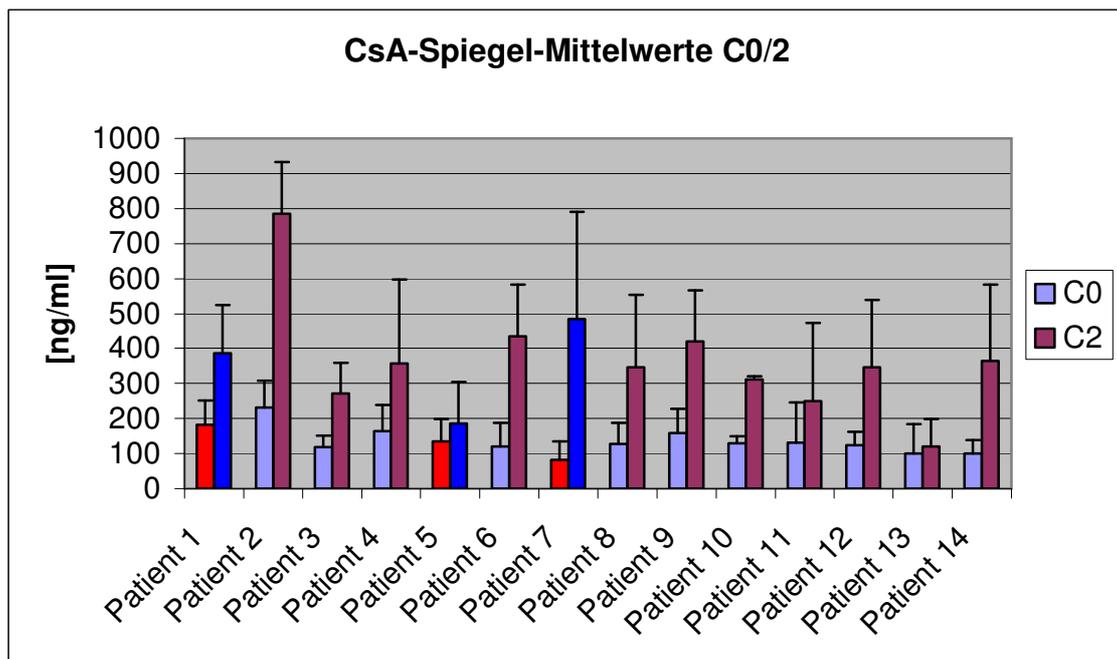


Abbildung 31: CsA-Spiegel-Mittelwerte C0/2

Die Abbildung 31 zeigt die CsA-Spiegel-Mittelwerte aller Patienten zu den Zeitpunkten C0 und C2.

Die Balken der Patienten 1, 5 und 7, die eine Abstoßungsreaktion in dem Beobachtungszeitraum erfuhren, sind farblich hervorgehoben.

Es ist deutlich zu sehen, dass die Patienten 1 und 5 mit $385,67 \pm 138,73$ ng/ml und $185,5 \pm 117,95$ ng/ml einen niedrigen mittleren CsA-C2-Spiegel aufwiesen.

Patient 7, der dritte Patient in unserem Probandenkollektiv, der eine Abstoßungsreaktion erlitt, wies mit $483,75 \pm 307,3$ ng/ml einen relativ hohen mittleren CsA-C2-Spiegel sowie eine sehr hohe dazugehörige Standardabweichung auf. Eine Erklärung dafür findet sich in der genaueren Betrachtung des CsA-C2-Spiegel-Verlaufs dieses Patienten in der nächsten Grafik.

Die mittleren CsA-C0-Spiegel der Patienten 1, 5 und 7 sind mit 181,8 ng/ml, 135,5 ng/ml und 82,5 ng/ml verglichen mit dem durchschnittlichen mittleren CsA-C0-Spiegel aller Patienten, die keine Abstoßungsreaktion erlitten, von 136,76 ng/ml nur im letzten Falle gering erniedrigt.

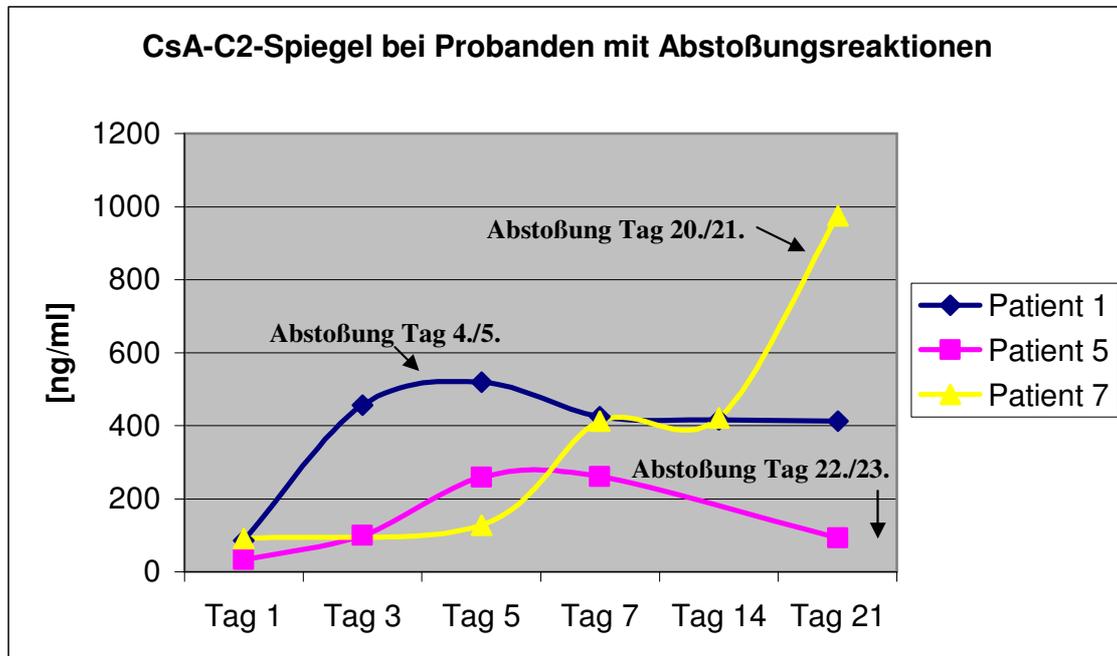


Abbildung 32: CsA-C2-Spiegel bei Probanden mit Abstoßungsreaktionen

Die Abbildung 32 zeigt die CsA-C2-Spiegel der drei Probanden mit Abstoßungsreaktionen im Verlauf. Bei allen drei Probanden ist zu ersehen, dass die CsA-C2-Spiegel mit der einzigen Ausnahme von Patient 7 an Tag 21 an keinem der Untersuchungstage 600 ng/ml überstiegen haben.

Der CsA-C2-Spiegel von Patient 7 an Tag 21 mit 975 ng/ml ist die Folge der Applikation einer hohen CsA-Dosis im Rahmen der Abstoßungsreaktion (200 mg), und erklärt somit den hohen CsA-C2-Spiegel-Mittelwert sowie die dazugehörige hohe Standardabweichung dieses Patienten (s. Abb. 32).

3.8 Errechnung der Odds Ratio und des Relativen Risikos

In der Statistik verwendet man das so genannte Odds Ratio (Verhältnis von Odds; Chancen-Verhältnis), um den Unterschied zweier Odds zu bewerten und damit Aussagen über die Stärke von Zusammenhängen zu machen.

Das relative Risiko drückt aus, um welchen Faktor sich ein Risiko (beispielsweise für eine Erkrankung) in zwei Gruppen unterscheidet. Es wird also das Verhältnis der Wahrscheinlichkeiten für ein Ereignis/Merkmal dargestellt.

Wir haben anhand unseres Patientenkollektivs das Odds Ratio sowie das relative Risiko errechnet, um eine statistische Aussage über die Wahrscheinlichkeit, ob ein Patient ober- bzw. unterhalb eines bestimmten gemittelten CsA-C2-Spiegels eine Abstoßungsreaktion erleidet, machen zu können.

Das Odds Ratio drückt dann aus, um wie viel größer die Chance, eine Abstoßungsreaktion zu erleiden, in der Gruppe mit einem CsA-C2-Spiegel unter einem bestimmten Wert ist (verglichen mit der Gruppe mit einem CsA-C2-Spiegel oberhalb eines bestimmten Wertes). Das Odds Ratio nimmt Werte zwischen 0 und Unendlich an. Ein Wert von 1 bedeutet ein gleiches Chancenverhältnis.

Das Relative Risiko nimmt Werte zwischen 0 und Unendlich an. Ein Wert von 1 bedeutet, dass das Risiko in beiden Gruppen gleich ist.

Das relative Risiko ist verwandt mit dem Odds Ratio. Anders als das Odds Ratio kann man das relative Risiko aber nur errechnen, wenn die Randwahrscheinlichkeiten der Häufigkeitstabelle zufällig sind. D.h. die Anzahl der Erkrankten darf nicht durch das Studiendesign fest vorgegeben sein, was bei uns auch nicht vorliegt.

Wenn die Wahrscheinlichkeit zu erkranken gering ist, sind Odds Ratio und relatives Risiko ungefähr gleich, was bei uns der Fall ist.

Für einen mittleren CsA-C2-Spiegel von 200 ng/ml ergab sich Folgendes:

Odds Ratio: 5 mit einem 95%-Konfidenz-Intervall von 0,2119 – 117,99

Relatives Risiko: 3,667 mit einem 95%-Konfidenz-Intervall von 0,3130 – 42,958

Das heißt, die Chance, dass ein Patient mit einem mittleren CsA-C2-Spiegel von ≤ 200 ng/ml eine Abstoßungsreaktion erfährt, ist 5-mal so hoch wie bei Patienten mit einem mittleren CsA-C2-Spiegel von > 200 ng/ml. Des Weiteren ist das Risiko, eine Abstoßungsreaktion zu erleiden, bei Patienten einem mittleren CsA-C2-Spiegel von ≤ 200 ng/ml 3,667-mal so hoch wie bei Patienten mit einem mittleren CsA-C2-Spiegel von > 200 ng/ml.

Für einen mittleren CsA-C2-Spiegel von 300 ng/ml ergab sich Folgendes:

Odds Ratio: 1,333 mit einem 95%-Konfidenz-Intervall von 0,0858 – 20,721

Relatives Risiko: 1,222 mit einem 95%-Konfidenz-Intervall von 0,1885 – 7,924

Das heißt, die Chance eines Patienten mit einem mittleren CsA-C2-Spiegel von ≤ 300 ng/ml eine Abstoßungsreaktion zu erfahren, ist 1,333-mal so hoch wie bei Patienten mit einem mittleren CsA-C2-Spiegel von >300 ng/ml. Des Weiteren ist das Risiko einer Abstoßungsreaktion für Patienten mit einem mittleren CsA-C2-Spiegel von ≤ 300 ng/ml 1,222-mal so hoch wie bei Patienten mit einem mittleren CsA-C2-Spiegel von >300 ng/ml.

Für einen mittleren CsA-C2-Spiegel von 400 ng/ml ergab sich Folgendes: Odds Ratio: 0,75 mit einem 95%-Konfidenz-Intervall von 0,04826 – 11,656

Relatives Risiko: 0,9167 mit einem 95%-Konfidenz-Intervall von 0,3808 – 2,206

Die Chance eines Patienten mit einem mittleren CsA-C2-Spiegel von ≤ 400 ng/ml eine Abstoßungsreaktion zu erfahren, ist 0,75-mal so hoch ist wie bei Patienten mit einem mittleren CsA-C2-Spiegel von >400 ng/ml. Des Weiteren ist das Risiko einer Abstoßungsreaktion bei Patienten einem mittleren CsA-C2-Spiegel von ≤ 400 ng/ml 0,9167-mal so hoch wie bei Patienten mit einem mittleren CsA-C2-Spiegel von >400 ng/ml.

Für einen mittleren CsA-C2-Spiegel von 500 ng/ml ergab sich Folgendes:

Odds Ratio: 1,0 mit einem 95%-Konfidenz-Intervall von 0,03263 – 30,644

Relatives Risiko: 1,1 mit einem 95%-Konfidenz-Intervall von 0,9125 – 1,326

Demnach ist die Chance für einen Patienten mit einem mittleren CsA-C2-Spiegel von ≤ 500 ng/ml, eine Abstoßungsreaktion zu erleiden, gleichhoch wie bei Patienten mit einem mittleren CsA-C2-Spiegel von >500 ng/ml. Ebenso ist das Risiko, eine Abstoßungsreaktion zu erleiden, bei Patienten einem mittleren CsA-C2-Spiegel von ≤ 500 ng/ml 1,1-mal so hoch wie bei Patienten mit einem mittleren CsA-C2-Spiegel von >500 ng/ml.

Für einen mittleren CsA-C2-Spiegel von 600 ng/ml ergab sich Folgendes:

Odds Ratio: 1,0 mit einem 95%-Konfidenz-Intervall von 0,03263 – 30,644

Relatives Risiko: 1,1 mit einem 95%-Konfidenz-Intervall von 0,9125 – 1,326

Das heißt, Patienten mit einem mittleren CsA-C2-Spiegel von ≤ 600 ng/ml haben die gleichhohe Chance einer Abstoßungsreaktion wie Patienten mit einem mittleren CsA-C2-Spiegel von >600 ng/ml. Des Weiteren ist das Risiko einer Abstoßungsreaktion bei Patienten einem mittleren CsA-C2-Spiegel von ≤ 600 ng/ml 1,1-mal so hoch wie bei Patienten mit einem mittleren CsA-C2-Spiegel von >600 ng/ml.

In Berücksichtigung der Tatsache, dass es sich mit $n=14$ um ein sehr kleines Patientenkollektiv handelt und die statistischen Ergebnisse für die mittleren CsA-C2-Spiegel von 400 ng/ml, 500 ng/ml und 600 ng/ml als nicht sehr realistisch erscheinen und zudem fast alle gleich sind, lässt sich dennoch erkennen, dass das Risiko einer Abstoßungsreaktion ab einem mittleren CsA-C2-Spiegel von >300 ng/ml signifikant sinkt.

4. Diskussion

Das Ziel dieser Studie war es, bei de novo Leber-Transplantat-Empfängern

- 1.) durch pharmakokinetische Messungen des Blutspiegels von Ciclosporin A (C0, C2, C4, C6 und C12) genauere Ergebnisse und Erkenntnisse in der frühen postoperativen Phase unter immunsuppressiver Therapie mit Ciclosporin A als Mikroemulsion (Sandimmun[®] Optoral), sowie
- 2.) die Auswirkungen der Immunsuppression auf die Interleukin 2-Rezeptor-Expression und andere immunologische und biologische Parameter (Interleukin 2-, Interleukin 6- und α -GST-Konzentrationen im Serum) zu erfassen.

Zudem wurden die im Routinelabor bestimmten Parameter Kreatinin, Alanin-Aminotransferase (ALT), Aspartat-Aminotransferase (AST), Glutamat-Dehydrogenase (GLDH), Cholinesterase und Leukozyten in die Auswertung miteinbezogen.

Die Untersuchung fand an 13 Patienten im Zeitraum vom 20.12.2002 bis zum 04.10.2004 statt, die in der Klinik und Poliklinik für Chirurgie des Universitätsklinikum Bonn de novo lebertransplantiert wurden, wobei ein Patient nach Retransplantation ein weiteres Mal an der Studie partizipiert hat.

4.1 Immunsuppression

Die Lebertransplantationen wurden im klinischen Alltag erst durch die Entdeckung und klinische Einführung von Ciclosporin A im Jahre 1981 ermöglicht. Nach der erstmaligen Anwendung dieses Calcineurin-Inhibitors stiegen die Überlebensraten nach Organtransplantationen drastisch an. Auch wenn nach Angaben des European Liver Transplant Registry (www.eltr.org) die Ein-Jahres-Überlebensraten von 34% in den Jahren vor 1985 auf mittlerweile 85% im Beobachtungszeitraum 2000-2004 angestiegen sind, so sind akute Abstoßungsreaktionen (bis 28 Tage nach oLTX) nach wie vor eine gefürchtete und nicht seltene Komplikation in der frühen postoperativen Phase. Neuberger bezifferte 1999 die Inzidenz akuter Abstoßungsreaktionen nach Lebertransplantationen in Abhängigkeit der verwendeten immunsuppressiven Therapie zwischen 20 und 70% (Neuberger, 1999). Hinzu kommen, insbesondere bei langfristiger Einnahme hoher Dosen, die Entwicklung kardiovaskulärer Komplikationen und Nierenfunktionseinschränkungen, um nur die häufigsten unerwünschten Wirkungen der Calcineurin-Inhibitoren zu nennen.

Es wird deutlich, dass bei jedem Patienten ein individuelles Immunsuppressions-Therapieschema nach dem Leitsatz „so wenig wie möglich, so viel wie nötig“ erarbeitet werden sollte: Das

Immunsystem des Transplantatempfängers sollte soweit supprimiert werden, dass es keine Abstoßungsreaktion auslösen kann, und der Medikamentenspiegel sollte so niedrig gehalten werden, dass es zu keiner bzw. möglichst geringer Ausbildung unerwünschter Nebenwirkungen kommt.

Nach Einführung von Ciclosporin als Mikroemulsion Anfang der 1990er-Jahre, welche wesentliche Vorteile hinsichtlich Steuer- und Resorbierbarkeit brachte, stellte die Modifikation der Messverfahren der CsA-Blutkonzentrationen mit Einführung des C2-Monitorings einen weiteren wegweisenden Schritt im Rahmen der immunsuppressiven Therapie dar. Der grundlegende Gedanke beim C2-Monitoring ist, dass die Phase der Resorption des Medikaments innerhalb der ersten 1 – 4 Stunden nach Aufnahme mit Erreichen einer maximalen Konzentration im Blut das entscheidende Ereignis zur Vermittlung eines immunsuppressiven Effektes offenbart. Der Messung des C2-Wertes ist die am ehesten geeignete Methode, diese „1 – 4-Stunden-AUC“ zu repräsentieren (Mahalati et al., 1999). In einer groß angelegten Studie in Kanada an lebertransplantierten Patienten, die entweder mit der alten oder neuen Galenik von CsA immunsupprimiert wurden, konnte gezeigt werden, dass der C2-Wert – im Gegensatz zum C0-Wert – mit dem klinischen Ereignis akuter Abstoßungsreaktionen in beiden Armen der Studie hervorragend korrelierte (Hemming et al., 1997; Canadian-Liver-Transplant-Study-Group, 1998). Zudem konnten Levy et al. 2002 statistisch signifikant verbesserte Ergebnisse nach Lebertransplantation bei CsA-ME-immunsupprimierten Patienten unter C2-Monitoring nachweisen: im Gegensatz zu 31,6% der Patienten unter C0-Monitoring, erlitten nur 23,6 % der Patienten unter C2-Monitoring innerhalb der ersten 3 Monate post Transplantation eine akute Abstoßungskrise (Levy et al., 2002).

Auch wir konnten in unserer Studie, in der die Abstoßungs-Inzidenz bei 21,43 % (3 Abstoßungen bei 14 Probanden) lag, zeigen, dass der C2-Wert ein guter prädiktiver Faktor für das Ereignis akuter Abstoßungsreaktionen ist. Dies wird zum einen durch die niedrigen mittleren CsA-C2-Spiegel der „Abstoßungs-Patienten“ (Abb. 31) und zum anderen durch die niedrigen CsA-C2-Spiegel der betroffenen Patienten an den Tagen vor der Abstoßung (Abb. 32) deutlich gemacht.

Nach statistischer Analyse durch Berechnung des Odds Ratio und des relativen Risikos konnten wir nachweisen, dass das Risiko einer Abstoßungsreaktion ab einem mittleren CsA-C2-Spiegel von >300 ng/ml signifikant sinkt.

Die mittleren CsA-C0-Spiegel der Patienten, die eine Abstoßungsreaktion erfuhren, ließen hingegen keine Rückschlüsse auf die Prädiktion einer Abstoßungsreaktion zu, da sie in unserem Patientenkollektiv keine Auffälligkeiten aufwiesen.

Auffällig war die schwache Korrelation der CsA-C0- mit den CsA-C2-Spiegeln von 0,45 (s. Abb. 30). Dieser Wert zeigt, dass zwar ein schwach positiver Zusammenhang zwischen diesen beiden statistischen Variablen besteht, der aber nicht sehr deutlich ist. In Anbetracht der Tatsache, dass auch in unserer Studie der CsA-C2-Spiegel im Gegensatz zum CsA-C0-Spiegel ein guter Prädiktor einer Abstoßungsreaktion war, kann man folgern, dass der CsA-C0-Wert zur Erarbeitung eines CsA-Therapieschemas für einen Patienten weniger geeignet ist.

Ein weiteres Problem in der frühen postoperativen Phase stellen nach wie vor die inter- und intraindividuelle Variabilität der einzelnen Empfängerorganismen insbesondere in Bezug auf Resorption, Verteilung, Metabolismus und Elimination des Pharmakons dar (Kovarik et al., 1994). Diese Variabilität lässt laut der International Neoral Renal Transplant Study Group erst im späteren Verlauf der ersten 3 Monate post Tx nach (International Neoral Renal Transplant Study Group, 2002).

Nashan et al. konnten in einer groß angelegten multizentrischen Studie zeigen, dass erstens die CsA-Resorption in den ersten ein bis zwei Wochen postoperativ beträchtlich steigt, was zur Vermeidung von Ciclosporin-Überdosierungen beachtet werden sollte. Zweitens kamen die Forscher zu dem Schluss, dass ein Patient mit einem niedrigen C2-Spiegel entweder ein „Niedrig-“ oder „Spätresorbierer“ sein oder aber eine zu geringe CsA-Dosis erhalten haben könnte (Nashan et al., 2005).

Auch wir konnten zeigen, dass die CsA-Resorption im Beobachtungszeitraum stetig anstieg, was insbesondere bei Betrachten der Mittelwerte der Konzentrationszeitkurven, die von Tag 1 bis 21 post Transplantationem beständig anstiegen, in Abbildung 13 anschaulich wird. Des Weiteren konnten wir nach Analyse der CsA-Spiegel-Verläufe aller Patienten an den einzelnen Studientagen demonstrieren, dass sich der „klassische“ Verlauf der CsA-Konzentrationszeitkurve (Abb. 15 und 16), bei dem Großteil der Probanden erst am Tag 14 post Tx einstellte, was in Abbildung 11 eindrucksvoll zu sehen ist. Man sieht den steilen Anstieg der Konzentration ab dem Zeitpunkt C0 mit Erreichen eines Peaks um den Zeitpunkt C2 und im Folgenden ein langsames Absinken der Konzentration bis zum Zeitpunkt C6.

In Bezug auf die inter- und intraindividuelle Variabilität betreffs des Resorptionsverhaltens zeigten sich auch in unserem Patientenkollektiv Auffälligkeiten:

Was den Typen des „Niedrigresorbierers“ betrifft, wäre in unserer Studie insbesondere Proband 5 zu nennen, der z.B. an den Tagen 1 und 3 post Tx unter Dosen von 400 mg und 150 mg einen fast statischen CsA-Spiegel unter 150 ng/ml aufrecht erhielt. Erst in den folgenden Studientagen stieg die Resorption bei diesem Patienten an, was auf eine intraindividuelle Variabilität hinsichtlich Resorption, Verteilung, Metabolismus und Elimination des Pharmakons hinweist.

Als „Spätresorbierer“ sind insbesondere die Probanden 3 und 12 zu nennen, was anhand des CsA-Konzentrationszeitverlaufes an Studientag 3 deutlich wird. Hier erreichen die beiden Patienten ihre C_{\max} erst ca. 4h nach Gabe des Immunsuppressivums.

Betrachtet man die Konzentrationszeitverläufe aller Probanden an den Studientagen im Verlauf, so lässt sich zum einen sagen, dass fast alle Patienten inter- und intraindividuellen Schwankungen betreffs der Resorption-, der Metabolisierungs-, der Eliminationsverhalten, sowie der erreichten Maximalblutkonzentrationen unterworfen waren. Zum zweiten zeigte sich ein langsames Annähern an einen so genannten „steady state“ bezüglich der CsA-Konzentrationszeitkurven sowie der erreichten CsA-Maximalkonzentrationen gegen Tag 14 post Transplantationem, was die Resorptionssteigerung von Ciclosporin im Verlauf der frühen postoperativen Phase unterstreicht.

Neben den Forschern um Nashan konnten auch Villamil und Pollard diese Beobachtung machen. Gemäß Ihren Studienergebnissen wird ein „steady state“, also eine Art Resorptions-Plateau, erst gegen Ende des zweiten postoperativen Monats erreicht (Villamil et Pollard, 2004).

Gründe für dieses Verhalten seien noch nicht genau erforscht. Als mögliche Ursachen werden postoperativ angeordnete „Diät“, verspätete Leberfunktion, Cholestase, Ductus-Jeunum-Anastomosen-Insuffizienz, externe biliäre Drainage und reduzierte Darmmotilität genannt (Nashan et al., 2005).

In unserer Arbeit zeigte lediglich Proband 2 einen „Musterverlauf“ der CsA-Blutkonzentrationen mit vom ersten Tag post Tx beginnendem gleichmäßig guten Resorptionverhalten, CsA-Maximalkonzentrationen um den Zeitpunkt C2, sowie einem hohen mittleren CsA-C2-Spiegel von 785 ng/ml.

Vergleicht man die in Abbildung 15 dargestellten CsA-C2-Zielspiegel nach Empfehlung der Medizinischen Hochschule Hannover von 800-1000 ng/ml im ersten postoperativen Monat (Abb.

16) mit dem Gesamt-CsA-C2-Durchschnittswert von 363,98 ng/ml unserer Studie, so muss man schlussfolgern, dass die Dosierung bei unserem Patientenkollektiv viel zu zurückhaltend war.

4.2 Nierenfunktionseinschränkung

Bei lebertransplantierten Patienten spielen Nierenfunktionseinschränkungen und Niereninsuffizienz insbesondere wegen ihrer hohen Morbidität und Mortalität sowohl prä- als auch postoperativ eine große Rolle (Cohen et al., 2002; Fisher et al., 1998; Gonwa et al., 2001).

Sie sind eine der häufigsten Nebenwirkungen bei Patienten, die sich einer Lebertransplantation unterziehen. In der Literatur wird eine postoperative Schädigung der renalen Funktion mit einem Anteil von fast 73% der transplantierten Patienten beziffert (Lynn et al., 2001).

Andere Studien beschreiben ein episodisches oder dauerhaftes Auftreten einer Nierenfunktionsstörung bzw. Niereninsuffizienz bei 50 bis 90% der lebertransplantierten Patienten (Fisher et al., 1998; Lynn et al., 2001; Munoz et al., 2000).

Bei 30 bis 40% der Patienten kommt es im Langzeitverlauf zu einer bleibenden Nierenfunktionseinschränkung (Gonwa et al., 2001; Pawarode et al., 2003) und bei bis zu 10% zu einer Dialysepflichtigkeit (Lynn et al., 2001; Paramesh et al., 2004).

Existiert vor der Lebertransplantation eine von der Lebererkrankung unabhängige Nierenerkrankung, so wird es nach der Transplantation durch die lebenslange Einnahme von Immunsuppressiva aller Voraussicht nach zu einer Progression der Nierenerkrankung kommen (Bilbao et al., 1998; Fisher et al., 1998; Platz et al., 1994).

Wie auch in der Literatur beschrieben, ist für die Entstehung einer Niereninsuffizienz die nephrotoxische Wirkung der Calcineurininhibitoren Ciclosporin A und FK 506 ausschlaggebend (Gonwa et al., 2001; Mihatsch et al., 1998; Neau-Cransac et al., 2002).

Die Nierenfunktion der an unserer Studie partizipierenden Patienten haben wir anhand der Kreatinin-Blutkonzentration bewertet.

Präoperativ haben wir mit Kreatininwerten zwischen 0,7 und 1,79 mg/dl keine bedeutenden Nierenfunktionsstörungen in unserem Patientenkollektiv feststellen können. Bei einem vorgegebenen Normbereich von 0,5 -1,4 mg/dl befanden sich lediglich 3 Patienten oberhalb dieser Grenze. In der direkten postoperativen Phase sowie vereinzelt im weiteren Verlauf wurden Kreatininspitzen von bis zu 2,46 mg/dl (Abb. 23) verzeichnet. Am Ende des Beobachtungszeitraumes befanden sich jedoch alle Patienten wieder im Referenzbereich.

Diese relativ niedrigen Werte unterstreichen die oben erwähnte Aussage, dass die Dosierung der Immunsuppression hinsichtlich der erreichten CsA-C2-Spiegel in unserem Patientenkollektiv zu niedrig war, bzw. dass man wesentlich höher hätte dosieren dürfen, ohne Gefahr zu laufen, die Nierenfunktion zu stark zu beeinträchtigen.

4.3 Ischämie-Reperfusionsschaden (IRS)

Im Rahmen von Lebertransplantationen werden die Organe nach Entnahme bei 4°C in einer speziellen Konservierungslösung gelagert. Hierbei kommt es durch die Sauerstoffunterversorgung zu einer Aktivierung verschiedener Pathomechanismen und zu ersten Zellschädigungen, dem so genannten ischämischen Schaden. Bei normothermen Verhältnissen besteht im Extrazellulärraum eine hohe Natrium- und geringe Kaliumkonzentration. Im Intrazellulärraum hingegen ist diese Ionenverteilung genau umgekehrt. Diese Elektrolytverteilung wird von der ATP-abhängigen Na^+/K^+ -Pumpe aufrechterhalten, für welche hauptsächlich die oxidative Phosphorylierung als Energielieferant dient. Die anaerobe (ischämische) Hypothermie verhindert jedoch die oxidative Phosphorylierung in den Mitochondrien, bzw. führt zu deren stark verlangsamten Ablauf. Auch die anaerobe Glykolyse kann diese Energiedefizite nicht ausgleichen, was eine Effizienzminderung der Na^+/K^+ - und der $\text{Na}^+/\text{Ca}^{++}$ -Pumpe sowie eine Störung der Ionengleichgewichte an der Membran zur Folge hat.

Durch Einstrom von Na^+ und einem K^+ -Ausstrom kommt es zur Depolarisierung des Membranpotentials. Nun dringt auch Cl^- in die Zelle ein und führt zu intrazellulärer Wasseransammlung und somit zum Zellödem.

Durch Öffnen der spannungsabhängigen Ca^{++} -Poren kommt es auch zu einem Ca^{++} -Einstrom in die Zelle, gegen welches auch die Ca^{++} -Pumpe nicht mehr mit dem erforderlichen Wirkungsgrad arbeiten kann. Der weitere ATP-Verlust führt zur Depolarisierung des mitochondrialen Membran-Potentials, es strömt Ca^{++} aus und Na^+ ein. Durch das ausströmende Ca^{++} werden nun Phospholipasen aktiviert, und dies führt zur Hydrolyse von Membranphospholipiden. Es folgen eine weitere Erhöhung der Membranpermeabilität und ein irreversibler Funktionsverlust der Zelle. Zeitgleich kommt es aufgrund der anaeroben Glykolyse zu einer Ansammlung des daraus entstehenden Laktats, welche zu einer metabolischen Azidose führt. Die Absenkung des pH aktiviert wiederum lysosomale Enzymsysteme und führt somit zu zusätzlicher Zellschädigung (Belzer et al., 1988, Bretschneider 1992).

Die während der Phase der kalten Ischämie auftretenden Schädigungen werden in der Reperfusionsphase, also der Phase, in der das Organ wieder mit sauerstoffreichem, warmen Blut

gespeist wird, noch beträchtlich verstärkt. Dies bezeichnet man entsprechend als Reperfusionsschaden.

Im Zentrum des Reperfusionsschadens nach Ischämie steht die Aktivierung der Makrophagen der Leber, den Kupfferzellen (KC). Die durch aktivierte KC in die Blutgefäße freigesetzten reaktiven Sauerstoffspezies (ROS) führen zu einer schweren Schädigung der Zellen und tragen durch Auslösung einer Reihe von verschiedensten Mediatoren erheblich zum IRS bei (Jaeschke et al., 1991; Jaeschke und Farhood, 1991). Maßgebend ist die vermehrte Ausschüttung des Plättchenaktivierenden Faktors (PAF), von Interleukinen (IL) und des Tumor Nekrose Faktors- α (TNF- α), sowie die Aktivierung der Transkriptionsfaktoren AP-1 (Aktivator Protein-1) und NF- κ B (Nukleärer Faktor- κ B) (Zhou et al., 1992, Le Moine et al., 1997, Kiemer et al., 2000).

Die Folge ist die Auslösung einer starken inflammatorischen Reaktion: Es kommt zu einer erhöhten Expression von Adhäsionsmolekülen und zu einer Infiltration von neutrophilen Granulozyten, welche ihrerseits wieder zellschädigende ROS und Proteasen freisetzen (Jaeschke und Smith, 1997).

In unserer Studie wurde die Freisetzung der Enzyme AST (GOT), ALT (GPT) und GLDH als Standardparameter für die parenchymale Schädigung der Leber herangezogen. Anhand der Konzentration der Enzyme im Serum lässt sich die Schädigung der Leber nach einer Ischämie des Organs beziffern. Dies wurde auch durch Untersuchungen im Rahmen von Lebertransplantationen oder anderen operativen Eingriffen, die mit einer Ischämie der Leber einhergingen, belegt. Dabei wurde gezeigt, dass in der direkten postoperativen Phase, also in den ersten 24 bis 48 Stunden nach Reperfusion, die Serumwerte von GOT, GPT und GLDH anstiegen. Erst nach diesen Zeiträumen fielen die Enzymwerte des Organs wieder ab. Daraus wurde gefolgert, dass man anhand der Enzymfreisetzung ins Serum nach einer Lebertransplantation das Ausmaß der Schädigung bewerten kann. Die Transaminasen zeigten sich jedoch nicht geeignet, um Rückschlüsse auf die Regenerationsfähigkeit oder auf eine Erholung der Leber machen zu können (Herrera et al., 1990, Romani et al., 1988).

Auch wir konnten ähnliche Beobachtungen machen. Im Rahmen des IRS traten bei zwei Probanden auffällige AST-Konzentrationsspitzen am ersten Tag und auffallende ALT-Peaks am dritten Tag post Tx auf (Abb. 16 und 17). Bei einer mittleren AST-Konzentration von $876,85 \pm 1083,05$ U/l und einer mittleren ALT-Konzentration von $601,07 \pm 529,23$ U/l aller 14 Probanden lässt sich mutmaßen, dass alle transplantierten Lebern einen mehr oder minder ausgeprägten Grenzflächenschaden im Rahmen des IRS erlitten haben. Im weiteren

Studienverlauf fielen die Transaminasen jedoch deutlich ab und betrugen am 21. Tag post Transplantationem im Mittel $76,22 \pm 88,61$ U/l (AST) und $124,89 \pm 147,54$ U/l (ALT).

Um eine Information über das Ausmaß der IRS-assoziierten Organschädigung zu bekommen, betrachteten wir parallel zu den Konzentrationen der zytoplasmatischen Enzyme auch die Konzentrationsverläufe der intramitochondrial lokalisierten GLDH.

Neben den auffälligen GLDH-Serumkonzentrationsspitzen bei 3 Studienteilnehmern (Abb.19) gab die mittlere GLDH-Serumkonzentration aller Probanden von $330,22 \pm 275,7$ U/l am ersten postoperativen Tag Hinweis auf eine schwere Zellschädigung. Jedoch ließ sich auch hier ein Rückgang auf $7,04 \pm 7,25$ U/l im Mittel verzeichnen.

Parallel zur Enzymfreisetzung von AST, ALT und GLDH ins Serum verglichen wir auch die Serumkonzentrationen von α -GST, einem Marker, der sich durch eine besonders kurze Halbwertszeit (HWZ) von 90 Minuten (i.G. zu AST 17 h und für ALT 47 h) auszeichnet. Dieser reagiert zudem sehr sensitiv, da er im Gegensatz zur AST leberspezifisch ist und die Leberzellen bereits bei geringer ausgeprägten Schädigungen verlässt als die Transaminasen. Somit ist die α -GST ein geeigneter empfindlicher Parameter, um einen Leberschaden sowie dessen Regeneration sehr zeitnah widerspiegeln zu können. Dies ließ sich in unserer Studie anhand der Abstoßung von Proband 5 am 22./23. postoperativen Tag veranschaulichen: die α -GST-Serumkonzentration an Tag 21 post Tx betrug $3238,19$ ng/l. Infolge der über drei Tage verabreichten Kortisonstoßtherapie erholte sich der Wert auf $1310,13$ ng/l am Tag 28 post OP (Abb. 19).

Zudem konnten wir beim Vergleich der Mittelwerte der ALT- und α -GST-Serumkonzentrationen mit einem Korrelationskoeffizient von 0,85 eine statistisch ausgeprägte positive Korrelation nachweisen.

Ein sich aus der ultrakurzen HWZ ergebender weiterer Vorteil dieses Markers ist, dass er die komplizierte Differenzierung zwischen einem IRS und einer frühen Abstoßungsreaktion erleichtert. Dies konnten wir anhand unseres Patientenkollektivs jedoch nicht aufzeigen, da innerhalb der ersten 72-postoperativen Stunden keine Abstoßungsreaktion zu verzeichnen war.

4.4 Immunologische-Aktivierung

Eine Reaktion des Immunsystems des Organempfängers auf das transplantierte Organ bezeichnet man als Abstoßungsreaktion. Die Rejektion richtet sich gegen (meist in der Zellmembran lokalisierte) Antigene. Ursächlich hierfür sind zwischen Spender und Empfänger unterschiedliche genetische Polymorphismen vieler Gene. Hinsichtlich Transplantationen stellen die Antigene des Haupthistokompatibilitätskomplexes (Major Histocompatibility Complex = MHC), welche einen besonders großen Polymorphismus aufweisen, die bedeutendste Gruppe dar. In Gegenwart von Fremdstoffen präsentieren diese Moleküle den T-Lymphozyten körperfremde (antigene) Peptide. Dies ist der Grund dafür, dass bei gering ausgeprägter Übereinstimmung der MHC- Moleküle zwischen Spender und Empfänger das Risiko einer Abstoßungsreaktion signifikant ansteigt (Kaefer et Resch, 2005).

Eine akute Abstoßungsreaktion tritt zumeist zwischen der zweiten und dritten Woche nach Transplantation auf. Für diese Reaktion sind vor allem zytotoxische T-Lymphozyten verantwortlich.

Cyclosporin A ist ein Calcineurin-Inhibitor. Durch die intrazelluläre Bindung an Cyclophilin wird die calcineurin-vermittelte Dephosphorylierung von NF-AT (nukleärer Faktor aktivierter T-Zellen) inhibiert. Dadurch wird die Bildung und Sekretion mehrerer immunologisch bedeutender Mediatoren, wie Interleukin-2, Interleukin-3, Interleukin-4, Interleukin-5 und Interleukin-6, sowie TNF- α (Tumor-Nekrose-Faktor- α) und Gamma-Interferon gehemmt (Cardenas et al., 1998; Hemenway et Heitman, 1999). Auf diesem Wege wird die Proliferation von antigenstimulierenden T-Lymphozyten unterdrückt (Elliot et al., 1984; Steinhilber, 2005).

Zur Beurteilung der immunologischen Aktivierung beobachteten wir in unserer Studie die Serumkonzentrationen von Interleukin-2, Interleukin-2-Rezeptor sowie Interleukin-6.

Interleukin-2 (IL-2) ist *das* Zytokin, welches für das Wachstum und die Proliferation aktivierter T-Zellen hauptverantwortlich ist. Der Interleukin-2-Rezeptor ist ein Membranrezeptor-Komplex an der Oberfläche von T-Lymphozyten, über welchen bei Bindung mit Interleukin-2 ein intrazelluläres Signalgeschehen ausgelöst wird. IL-6 fungiert als eine Mediatorsubstanz des Immunsystems und gibt bei Erhöhung Hinweis auf eine vermeintliche Abstoßungsreaktion.

Mit der Messung dieser Parameter haben wir versucht, eine genaue Aussage über Aktivierung und Aktivierungszustand der Alloimmunantwort des Empfängerorganismus und somit die Effizienz der Immunsuppression zu erhalten. Zudem hat heutzutage insbesondere das

Interleukin-2 an Wichtigkeit gewonnen, da im Rahmen einer Abstoßungsreaktion monoklonale Antikörper gegen IL-2 verabreicht werden können.

Da die IL-2-Expression zwei Stunden nach Gabe durch die Calcineurin-Inhibition maximal gehemmt ist (Sindhi et al., 2000), haben wir diese sowie die IL-2-Rezeptor-Konzentration in dem 2 Stunden nach Gabe entnommenen Patientenserum bestimmt.

Im Zusammenhang mit den drei im Beobachtungszeitraum aufgetretenen und therapierten Abstoßungsreaktionen konnten wir - auch aufgrund von Datenmangel - keine herausstechenden Auffälligkeiten der immunologischen Parameter verzeichnen. Auch die beschriebenen Konzentrationsspitzen von IL-2, IL-2-Rezeptor sowie IL-6 ließen sich retrospektiv nicht mit etwaigen bzw. therapiebedürftigen Abstoßungsreaktionen in Verbindung bringen. Jedoch kann man bei Betrachten der Mittelwerte des gesamten Patientenkollektivs im Verlauf Rückschlüsse auf die Güte der Immunsuppression ziehen. Die Gesamtmittelwerte von IL-2 mit $27,89 \pm 9,74$ pg/ml, bei einem Referenzbereich von < 7 pg/ml, von IL-2-Rezeptor mit $2960,04 \pm 1839,01$ U/ml, bei einem nicht definierten Referenzbereich, sowie von IL-6 mit $35,48 \pm 28,82$ pg/ml, bei einem Referenzbereich von < 6 pg/ml, präsentieren eine recht ausgeprägte immunologische Aktivierung der Immunsysteme unserer Probanden, welches als ein weiteres Indiz für eine zu zurückhaltende Immunsuppression gewertet werden kann.

Bei der statistischen Auswertung fiel die deutlich negative Korrelation von $-0,8$ bei dem Vergleich der CsA-C2- und IL-2-Blutkonzentrationen auf. Dies bestätigt zum einen, dass bei höheren CsA-C2-Spiegeln die immunologische Aktivierung naturgemäß geringer ausgeprägt ist. Zum anderen zeigt es auch, dass die Messung der IL-2-Serumkonzentrationen neben der C2-Spiegel-Bestimmung ein geeigneter Parameter ist, um die Dosierung der Immunsuppression präzise und vor allem ausreichend genug anzupassen.

5. Zusammenfassung

Seit der ersten Lebertransplantation im Jahre 1963 hat sich die Transplantation zu einem Standardverfahren in der Behandlung von chirurgisch und konservativ austherapierten, irreversiblen Lebererkrankungen entwickelt. Nach Optimierung der chirurgischen Technik, der Organkonservierung und der intensivmedizinischen Betreuung sowie Entwicklung neuer Immunsuppressiva bzw. deren Verbesserung steht in der heutigen Zeit des Organmangels die Optimierung der immunsuppressiven Therapie im Vordergrund.

Das Ziel der vorliegenden Arbeit war es, bei Leber-Transplantat-Empfängern unter Immunsuppression mit Ciclosporin A als Mikroemulsion (Sandimmun[®] Optoral) durch Messungen der Blutspiegel von CsA zu verschiedenen Zeitpunkten (C0, C2, C4, C6 und C12) genauere Ergebnisse und Erkenntnisse in der frühen postoperativen Phase insbesondere hinsichtlich der Güte des immunsuppressiven Therapieschemas zu erlangen. Zur weiteren Beurteilung des frühen Immunsuppressions-Managements wurden zum einen die Auswirkung der Immunsuppression auf die immunologischen Parameter Interleukin 2, Interleukin 2-Rezeptor und Interleukin 6 erfasst. Zum anderen wurden die biologischen Parameter Kreatinin, Alanin-Aminotransferase (ALT), Aspartat-Aminotransferase (AST), Glutamat-Dehydrogenase (GLDH), Cholinesterase und Leukozyten in die Auswertung miteinbezogen.

Die Untersuchung fand an 13 Patienten statt, die am Universitätsklinikum Bonn zwischen 2002 und 2004 lebertransplantiert wurden, wobei ein Patient nach Retransplantation ein weiteres Mal an der Studie partizipiert hat.

Es konnte gezeigt werden, dass die Erarbeitung des immunsuppressiven Therapieschemas durch die inter- und intraindividuelle Variabilität hinsichtlich Resorption, Verteilung, Metabolismus und Elimination von Ciclosporin A in der frühen postoperativen Phase erschwert wird.

Die 2 Stunden nach Gabe gemessene CsA-Blutkonzentration (C2-Wert) ist im Gegensatz zum CsA-Talblutspiegel (C0-Wert) der besser geeignete Parameter zur Ermittlung der individuell ausreichenden Sandimmun[®] Optoral-Dosen und zur Prädiktion einer Abstoßungsreaktion. Dies zeigte sich sowohl beim Vergleich der CsA-Blutkonzentrationen zu verschiedenen Zeitpunkten, in der Enzymfreisetzung als Schädigungsparameter, als auch beim Betrachten der immunologischen Parameter. Zur Überprüfung und Einstellung der Immunsuppression zeigte sich ein zusätzlicher Benefit unter Zuhilfenahme des Schädigungsparameters α -GST und des immunologischen Parameters IL-2.

Damit bieten sich diese Verfahren zur Beurteilung und Therapie in der klinischen Transplantationsmedizin an, und weiterführende Langzeitstudien sollten folgen.

6. Literaturverzeichnis

- 1) Amante AJ, Kahan BD. Abbreviated AUC strategy for monitoring cyclosporine microemulsion therapy in the immediate posttransplant period. *Transplant Proc* 1996; 28:2162-2163
- 2) Appel G. Lipid abnormalities in renal disease. *Kidney Int* 1991; 39:169-183
- 3) Barone G, Chang CT, Choc MG jr, Klein JB, Marsh CL, Meligeni JA, Min DI, Pescovitz MD, Pollak R, Pruett TL, Stinson JB, Thompson JS, Vasquez E, Waid T, Wombolt DG, Wong RL. The pharmacokinetics of a microemulsion formulation of cyclosporine in primary renal allograft recipients. The Neoral Study Group. *Transplantation* 1996; 61:875-880
- 4) Belzer FO, Southard JH. Principles of solid-organ preservation by cold storage. *Transplantation* 1988; 45:673-676
- 5) Bierer BE, Somers PK, Wandless TJ, Burakoff SJ, Schreiber SL. Probing immunosuppressant action with a nonnatural immunophilin ligand. *Science* 1990; 250:550-559
- 6) Bilbao I, Charco R, Balsells J, Lazaro JL, Hidalgo E, Llopart L, Murio E, Margarit C. Risk factors for acute renal failure requiring dialysis after liver transplantation. *Clin Transplant* 1998; 12:123-129
- 7) Bittar AE, Ratcliffe PJ, Richardson AJ, Raine AE, Jones L, Yudkin PL, Carter R, Mann JJ, Morris PJ. The prevalence of hyperlipidemia in renal transplant recipients. Associations with immunosuppressive and antihypertensive therapy. *Transplantation* 1990; 50:987-992
- 8) Borel JF, Feurer C, Gubler HU, Stähelin H. Biological effects of cyclosporin A: a new antilymphocytic agent. *Agent Actions* 1976; 6:468-475
- 9) Borel JF. The history of Cyclosporin A and its significance. In: White DJG, ed. *Cyclosporin A*. Amsterdam, New York, Oxford: Elsevier Biomedical Press; 1982:5-44
- 10) Bretschneider HJ. Organübergreifende Prinzipien zur Verlängerung der Ischämietoleranz. In: *Jahrbuch 1991 der Deutschen Akademie der Naturforscher Leopoldina* 1992; 37:161-174

- 11) Calne RY, Rolles K, White DJG, Thiru S, Evans DB, McMaster P, Dunn DC, Craddock GN, Henderson RG, Aziz S, Lewis P. Cyclosporin A initially as the only immunosuppressant in 34 recipients of cadaveric organs: 32 kidneys, 2 pancreases, and 2 livers. *Lancet* 1979; 2:1033-1036
- 12) Calne RY, White DJ, Evans DB, Thiru S, Henderson RG, Hamilton DV, Rolles K, McMaster P, Duffy TJ, MacDougall BR, Williams R. Cyclosporin A in cadaveric organ transplantation. *Br Med J* 1981; 282:934-936
- 13) Calne RY, White DJG, Thiru S, Evans DB, McMaster P, Dunn DC, Craddock GN, Pentlow BD, Rolles K. Cyclosporin A in patients receiving renal allografts cadaver donors. *Lancet* 1978; 2:1323-1327
- 14) Calne RY, White DJG. Cyclosporine A – a powerful immunosuppressant in dogs with renal allografts. *IRCS Med Sci* 1977; 5:595-603
- 15) Canadian Liver Transplant Study Group. Importance of cyclosporine pharmacokinetics to clinical outcomes after liver transplantation. *Transplant Proc* 1998; 30:1826-1827
- 16) Cardenas ME, Sanfridson A, Cutler NS, Heitman J. Signal-transduction cascades as targets for therapeutic intervention by natural products. *Trends Biotechnol* 1998; 16:427-433
- 17) Casavilla A, Ramirez C, Shapiro R, Nghiem D, Miracle K, Fung JJ, Starzl TE. Liver and kidney transplantation from non-heart beating donors: The Pittsburgh experience. *Transplant Proc* 1995; 27:710-712
- 18) Chapman JR, Marcen R, Arias M, Raine AE, Dunnill MS, Morris PJ. Hypertension after renal transplantation. A comparison of cyclosporine and conventional immunosuppression. *Transplantation* 1987; 43:860-864
- 19) Cohen AJ, Stegall MD, Rosen CB, Wiesner RH, Leung N, Kremers WK, Zein NN. Chronic renal dysfunction late after liver transplantation. *Liver Transpl* 2002; 8:916-921
- 20) Cohen B, D'Amaro J, De MJ, Persijn GG. Changing patterns in organ donation in Eurotransplant, 1990-1994. *Transpl Int* 1997; 10:1-6
- 21) Curtis JJ. Posttransplant hypertension. *Transplant Proc* 1998; 30:2009-2011
- 22) Diagnostic Products Corporation, Los Angeles, U.S.A. *Klinische Relevanz. Fachinformation Interleukin-2-Rezeptor* 2005; 7

- 23) Elliot JF, Lin Y, Mizel SB, Bleackley RC, Harnish DG, Paetkau V. Induction of interleucin-2 messenger RNA inhibited by cyclosporin A. *Science* 1984; 226:1493-1441
- 24) Engemann R, Ulrichs K, Thiede A. Induction of liver graft tolerance in a primarily nontolerant rat strain combination with temporary treatment of cyclosporine. *Transplant Proc* 1983; 15:2986-2992
- 25) Fisher NC, Nightingale PG, Gunson BK, Lipkin GW, Neuberger JM. Chronic renal failure following liver transplantation: a retrospective analysis. *Transplantation* 1998; 66:59-66
- 26) Freeman DJ. Pharmacology and pharmacokinetics of cyclosporine. *Clin Biochem* 1991; 24:9-14
- 27) Frei U, Taesch S, Niese D. Use of Sandimmun Neoral in renal transplant patients. International Sandimmun Neoral Study Group. *Transplant Proc* 1994; 26:2928-2931
- 28) Fruhman DA, Burakoff SJ, Bierer BE. Immunophilins in protein folding and immunosuppression. *FASEB* 1994; 8:391-403
- 29) Gonwa TA, Klintmalm GB, Levy M, Jennings LS, Goldstein RM, Husberg BS. Impact of pretransplant renal function on survival after liver transplantation. *Transplantation* 1995; 59:361-365
- 30) Hemenway CS, Heitman J. Calcineurin. Structure, function, and inhibition. *Cell Biochem Biophys* 1999; 30:115-151
- 31) Hemming AW, Greig PD, Cattrall MS, Chung SW, Lilly LB, Aljumah AA, Levy GA. Neoral without intravenous cyclosporine in liver transplantation. *Transplant Proc* 1997; 29:543
- 32) Herrera JR, Codoceo J, Cienfuegos F, Pardo NP, Mora F, Preira JL, Castillo-Olivares J. Bile acid profile as early indicator of allograft function during orthotopic liver transplantation. *Transplant Proc* 1989; 21:2313-2314
- 33) Holt DW, Johnston A, Kahan BD, Morris RG, Oellerich M, Shaw LM. New approaches to cyclosporine monitoring raise further concerns about analytical techniques. *Clin Chem* 2000; 46:872-874
- 34) Homepage der Deutschen Stiftung Organtransplantation (DSO) www.dso.de, 2005
- 35) Homepage der European Liver Transplant Registry (ELTR) www.eltr.org, 2007

- 36) International Neoral Renal Transplantation Study Group. Cyclosporine microemulsion (Neoral) absorption profiling and sparse-sample predictors during the first 3 months after renal transplantation. *Am J Transplant* 2002; 2:148-156
- 37) Jaeschke H, Farhood A. Neutrophil and Kupffer cell-induced oxidant stress and ischemia-reperfusion injury in rat liver. *Am J Physiol* 1991; 260:355-362
- 38) Jaeschke H., Bautista AP, Spolarics Z, Spitzer JJ. Superoxide generation by Kupffer cells and priming of neutrophils during reperfusion after hepatic ischemia. *Free Radic Res Commun* 1991; 15:277-284
- 39) Jaeschke H., Smith CW. Mechanisms of neutrophil-induced parenchymal cell injury. *J Leukoc Biol* 1997; 61:647-653
- 40) Kaefer V, Resch K. Immunologische Grundlagen. Prinzipien der Immunsuppression. *Pharm unserer Zeit* 2005; 4:268-275
- 41) Kahan BD, Dunn J, Fitts C, Van Buren D, Wombolt D, Pollak R, Carson R, Alexander JW, Choc M, Wong R, et al. Reduced inter- and intrasubject variability in cyclosporine pharmacokinetics in renal transplant recipients treated with a microemulsion formulation in conjunction with fasting, low-fat meals, or high-fat meals. *Transplantation* 1995; 59:505-511
- 42) Kahan BD, Ried M, Newburger J. Pharmacokinetics of cyclosporine in human renal transplantation. *Transplant Proc* 1983; 15:446-452
- 43) Keown P, Landsberg D, Halloran P, Shoker A, Rush D, Jeffery J, Russell D, Stiller C, Muirhead N, Cole E, Paul L, Zaltzman J, Loertscher R, Daloz P, Dandavino R, Boucher A, Handa P, Lawen J, Belitsky P, Parfrey P. A randomized, prospective multicenter pharmacoepidemiologic study of cyclosporine microemulsion in stable renal graft recipients. Report of the Canadian Neoral Renal Transplantation Study Group. *Transplantation* 1996; 62:1744-1752
- 44) Kierner A. K., Vollmar AM, Bilzer M, Gerwig T, Gerbes AL. Atrial natriuretic peptide reduces expression of TNF-alpha mRNA during reperfusion of the rat liver upon decreased activation of NF-kappaB and AP-1. *J Hepatol* 2000; 33:236-246
- 45) Kirste G. Jahresbericht Deutsche Stiftung für Organtransplantation 2006. Neu-Isenburg: Deutsche Stiftung Organtransplantation; 2006

- 46) Kolars JC, Awni WM, Merion RM, Watkins PB. First-pass metabolism of cyclosporin by the gut. *Lancet* 1991; 338:1488-1490
- 47) Kostakis AJ, White DJG, Calne RY. Prolongation of rat heart allograft survival by cyclosporin A. *IRCS Med Sci* 1977; 5:280-289
- 48) Kovarik JM, Mueller EA, van Bree JB, Flückiger SS, Lange H, Schmidt B, Boesken WH, Lison AE, Kutz K. Cyclosporine pharmacokinetics and variability from a microemulsion formulation--a multicenter investigation in kidney transplant patients. *Transplantation* 1994; 58:658-663
- 49) Kovarik JM, Müller EA, Richard F, Niese D, Halloran PF, Jeffery J, Paul LC., Keown PA. Evidence for earlier stabilization of cyclosporine pharmacokinetics in de novo renal transplant patients receiving a microemulsion formulation. *Transplantation* 1996; 62:759-763
- 50) Kovarik JM, Müller EA, van Bree JB, Arns W, Renner E, Kutz K. Within-day consistency in cyclosporine pharmacokinetics from a microemulsion formulation in renal transplant patients. *Ther Drug Monit* 1994; 16:232-237
- 51) Kovarik JM, Müller EA, van Bree JB, Fluckiger SS, Lange H, Schmidt B, Boesken WH, Lison AE, Kutz K. Cyclosporine pharmacokinetics and variability from a microemulsion formulation: a multicenter investigation in kidney transplant patients. *Transplantation* 1994; 58:658-663
- 52) Kovarik JM, Müller EA, van Bree JB, Tetzloff W, Kutz K. Reduced inter- and intraindividual variability in cyclosporine pharmacokinetics from a microemulsion formulation. *J Pharmaceut Sci* 1994; 83:444-446
- 53) Kuster GM, Drexel H, Bleisch JA, Rentsch K, Pei P, Binswanger U, Amann FW. Relation of cyclosporine blood levels to adverse effects on lipoproteins. *Transplantation* 1994; 57:1479-1483
- 54) Land WG. Calcineurin-hemmende immunsuppressive Medikamente – monoklonaler Anti-T-Zell-Rezeptor-Antikörper. In: Land WG, Hrsg. *Immunsuppressive Therapie Band 2*. Stuttgart - New York: Thieme, 2004; 82-88
- 55) Land WG. Prinzipien der Immunsuppression. In: Land WG, Hrsg. *Immunsuppressive Therapie Band 1*. Stuttgart - New York: Thieme, 2004:119

- 56) Le Moine O., Louis H, Stordeur P, Collet JM, Goldman M, Deviere J. Role of reactive oxygen intermediates in interleukin 10 release after cold liver ischemia and reperfusion in mice. *Gastroenterology* 1997; 113:1701-1706
- 57) Levey G, Burra P, Cavallari A, Duvoux C, Lake J, Mayer AD, Mies S, Pollard SG, Varo E, Villamil F, Johnston A. Improved clinical outcomes for liver transplant recipients using cyclosporine monitoring based on 2-hr post-dose levels (C2). *Transplantation* 2002; 73:840-841
- 58) Lindholm A, Henricsson S, Dahlqvist R. The effect of food and bile acid administration on the relative bioavailability of cyclosporin. *Br J Clin Pharmacol* 1990; 29:541-548
- 59) Lindholm A. Cyclosporine A: clinical experience and therapeutic drug monitoring. *Ther Drug Monit* 1995; 17:631-637
- 60) Liu J, Farmer JD.Jr., Lane WS, Friedman J, Weissman I, Schreiber SL. Calcineurin is a common target of cyclophilin-cyclosporin A and FKBP-FK506 complexes. *Cell* 1991; 66:807-815
- 61) Loh C, Carew JA, Kim J, Hogan PG, Rao A. T-cell receptor stimulation elicits an early phase of activation and a later phase of deactivation of the transcription factor NFAT1. *Mol Cell Biol* 1996; 16:3945-3954
- 62) Lown KS, Mayo RR, Leichtman AB, Hsiao HL, Turgeon DK, Schmiedlin-Ren P, Brown MB, Guo W, Rossi SJ, Benet LZ, Watkins PB. Role of intestinal P-glycoprotein (mdr1) in interpatient variation in the oral bioavailability of cyclosporine. *Clin Pharmacol Ther* 1997; 62:248-260
- 63) Lynn M, Abreo K, Zibari G, McDonald J. End-stage renal disease in liver transplants. *Clin Transplant* 2001; 15:66-69
- 64) Mahalati K, Belitsky P, Sketris I, West K, Panek R. Neoral monitoring by simplified sparse sampling area under the concentration-time curve: its relationship to acute rejection and cyclosporine nephrotoxicity early after kidney transplantation. *Transplantation* 1999; 68:55-62
- 65) Meyer MM, Munar M, Udeaja J, Bennett W. Efficacy of area under the curve cyclosporine monitoring in renal transplantation. *J Am Soc Nephrol* 1993; 4:1306-1315

- 66) Mihatsch MJ, Kyo M, Morozumi K, Yamaguchi Y, Nickeleit V, Ryffel B. The side-effects of cyclosporine-A and Tacrolimus[®]. *Clin Nephrol* 1998; 49:356-363
- 67) Min DI, Perry PJ, Chen HY, Hunsicker LG. Cyclosporine trough concentrations in predicting allograft rejection and renal toxicity up to 12 months after renal transplantation. *Pharmacotherapy* 1998; 18:282-287
- 68) Moser MA. Options for induction immunosuppression in liver transplant recipients. *Drugs* 2002; 62:995-1011
- 69) Müller EA, Kovarik JM, van Bree JB, Lison AE, Kutz K. Pharmacokinetics and tolerability of a microemulsion formulation of cyclosporine in renal allograft recipients: a concentration-controlled comparison with the commercial formulation. *Transplantation* 1994; 57:1178-1182
- 70) Müller EA, Kovarik JM, van Bree JB, Tetzloff W, Grevel J, Kutz K. Improved dose linearity of cyclosporine pharmacokinetics from a microemulsion formulation. *Pharmacol Res* 1994; 11:301-304
- 71) Munoz SJ, Rothstein KD, Reich D, Manzarbeitia C. Long-term care of the liver transplant recipient. *Clin Liver Dis* 2000; 4:691-710
- 72) Nankivell BJ, Hibbins M, Chapman JR. Diagnostic utility of whole blood cyclosporine measurements in renal transplantation using triple therapy. *Transplantation* 1994; 58:989-996
- 73) Nashan B, Bock A, Bosmans JL, Budde K, Fijter H, Jaques B, Johnston A, Lück R, Midtvedt K, Pallardó LM, Ready A, Salamé E, Salizzoni M, Suarez F, Thervet E. Use of Neoral C monitoring: a European consensus. *Transpl Int* 2005;18:768-778
- 74) Neau-Cransac M, Morel D, Bernard PH, Merville P, Revel P, Potaux L, Saric J. Renal failure after liver transplantation: outcome after calcineurin inhibitor withdrawal. *Clin Transplant* 2002; 16:368-373
- 75) Neuberger J. Incidence, timing, and risk factors for acute and chronic rejection. *Liver Transpl Surg* 1999; 5:30-36
- 76) Novartis Pharma GmbH. Dosierungen mit Einzel- und Tagesgaben. Fachinformation Sandimmun Optoral[®] 2005; 5-5
- 77) Novartis Pharma GmbH. Nebenwirkungen. Fachinformation Sandimmun Optoral[®] 2005; 2-3

- 78) Oellerich M, Armstrong VW, Kahan B, Sheaw L, Holt DW, Yatscoff R, Lindholm A, Halloran P, Gallicano K, Wonigeit K, et al. Lake Louise Consensus Conference on cyclosporin monitoring in organ transplantation: report of the consensus panel. *Ther Drug Monit* 1995; 17:642-654
- 79) Oellerich M, Armstrong VW, Kahan B, Sheaw L, Holt DW, Yatscoff R, Lindholm A, Halloran P, Gallicano K, Wonigeit K, et al. Lake Louise Consensus Conference on cyclosporin monitoring in organ transplantation: report of the consensus panel. *Ther Drug Monit* 1995; 17:642-654
- 80) Paramesh AS, Roayaie S, Doan Y, Schwartz ME, Emre S, Fishbein T, Florman S, Gondolesi GE, Krieger N, Ames S, Bromberg JS, Akalin E. Post-liver transplant acute renal failure: factors predicting development of end-stage renal disease. *Clin Transplant* 2004; 18:94-99
- 81) Pawarode A, Fine DM, Thuluvath PJ. Independent risk factors and natural history of renal dysfunction in liver transplant recipients. *Liver Transplant* 2003; 9:741-747
- 82) Pfitzmann R, Hummel M. Allgemeiner Teil. In: Pfitzmann R, Neuhaus P, Hetzer R, Hrsg. *Organtransplantation*. Berlin: De Gruyter, 2001:4-4
- 83) Platz KP, Mueller AR, Blumhardt G, Bachmann S, Bechstein WO, Kahl A, Neuhaus P. Nephrotoxicity following orthotopic liver transplantation. A comparison between cyclosporine and FK506. *Transplantation* 1994; 58:170-178
- 84) Plosker GL, Foster RH. Tacrolimus: a further update of its pharmacology and therapeutic use in the management of organ transplantation. *Drugs* 2000; 59:323-389
- 85) Romani F, Vertami M, Frangi M, Aseni P, Monti R, Codeghini A, Belli L. Effect of superoxide dismutase on liver ischemia-reperfusion injury in the rat: A biochemical monitoring. *Eur Surg Res* 1988; 20:335-340
- 86) Satterthwaite R, Aswad S, Sunga V, Shidban H, Bogaard T, Asai P, Khetan U, Akra I, Mendez RG, Mendez R. Incidence of new-onset hypercholesterolemia in renal transplant patients treated with FK506 or cyclosporine. *Transplantation* 1998; 65:446-449
- 87) Shaw LM, Yatscoff RW, Bowers LD, Freeman DJ, Jeffery JR, Keown PA, McGilveray IJ, Rosano TG, Wong PY. Canadian Consensus Meeting on cyclosporine monitoring: report of the consensus panel. *Clin Chem* 1990; 36:1841-1846

- 88) Sindhi R, LaVia MF, Paulling E, McMichael J, Burckart G, Shaw S, Sindhi LA, Livingston R, Sehgal S, Jaffe J. Stimulated response of peripheral lymphocytes may distinguish cyclosporine effect in renal transplant recipients receiving a cyclosporine+rapamycin regimen. *Transplantation* 2000; 69:432-436
- 89) Starzl TE, Demetris AJ, VanThiel D. Liver transplantation. *N Engl J Med* 1989; 321:1014-1022
- 90) Starzl TE, Marchioro TL, von Kaulla KN, Hermann G, Brittain RS, Waddell WR. Homotransplantation of the liver in humans. *Surg, Gyn Obstet* 1963; 117:659-676
- 91) Steinhilber D. Pharmakologie der Immunsuppressiva. *Pharm unserer Zeit* 2005; 4:276-279
- 92) The European Multicentre Trial. Cyclosporin A as sole immunosuppressive agent in recipients of kidney allografts from cadaver donors. *Lancet* 1982; 2:57-60
- 93) Thiel G, Harder F, Lortscher R, Brunisholz M, Landmann J, Brunner F, Follath F, Wenk M, Mihatsch M. Cyclosporin A used alone or in combination with low-dose steroids in cadaveric renal transplantation. *Klin Wschr* 1983; 61:991-1000
- 94) Vathsala A, Weinberg RB, Schoenberg L, Grevel J, Goldstein RA, Van Buren CT, Lewis RM, Kahan BD. Lipid abnormalities in cyclosporine-prednisone-treated renal transplant recipients. *Transplantation* 1989; 48:37-43
- 95) Villamil F, Pollard S. C2 monitoring of cyclosporine in de novo liver transplant recipients: the clinician's perspective. *Liver Transpl* 2004; 10:577-583
- 96) Williams JW, Peters TG, Haggitt R, Van Voorst S, Hickerson W, Patterson R, Thompson R. Cyclosporin A in orthotopic canine hepatic transplants. *J Surg Res* 1982; 32:576-585
- 97) Zhou W, McCollum MO, Levine BA, Olson MS. Inflammation and platelet-activating factor production during hepatic ischemia/reperfusion. *Hepatology* 1992; 16:1236-1240
- 98) Zimmermann FA, Schmid T, Siegel T. Monitoring of rejection of rat liver allografts using fine needle biopsies and aspiration cytology. *Eur Surg Res* 1983; 15:44-55

7. Danksagung

Herrn Prof. Dr. med. René H. Tolba danke ich herzlich für die Überlassung des Themas sowie für die außerordentliche Hilfsbereitschaft, Tatkraft und das Arbeiten in freundschaftlicher Atmosphäre. Dies alles hat wesentlich zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen.

Der Firma Novartis danke ich für die finanzielle Unterstützung, ohne die die vorliegende Arbeit nicht entstanden wäre.

Besonderen Dank schulde ich den Mitarbeiterinnen und Mitarbeitern des Institutes für Klinische Biochemie für die laborchemischen Untersuchungen meiner Proben.

Mein besonderer Dank gilt Frau Anke Carstensen für die Mehrarbeit im Labor.

Den Mitarbeiterinnen und Mitarbeitern der Klinik und Poliklinik für Allgemein-, Viszeral-, Thorax- und Gefäßchirurgie danke ich für Ihre Hilfsbereitschaft und ihr Verständnis.

Frau Ute Lohmer danke ich für die freundliche Unterstützung und Hilfsbereitschaft.

Herrn Ingo Erdmann möchte ich für die Erstellung zahlreicher Umrechnungshilfen danken.

Meiner Freundin Andrea Grips danke ich für ihre liebevolle Unterstützung bei der Erstellung der Grafiken.

Zuletzt möchte ich mich ganz herzlich bei meiner Familie bedanken, die mir durch Ihre dauerhafte und liebevolle Unterstützung das Erstellen dieser Arbeit ermöglicht hat.