

Klinik für Hämatologie, Onkologie und klinische Immunologie
Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf
Direktor: Universitätsprofessor Dr. med. R. Haas

**Zur Pharmakokinetik von Cyclophosphamid und seinem
Metaboliten Phosphoramid Mustard in der
Hochdosiskonditionierungstherapie vor
Knochenmarktransplantation**

Dissertation

zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin
Der Medizinischen Fakultät der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf
vorgelegt von

Ursula Maria Althaus-Meißner

2003

Meiner Familie

Als Inauguraldissertstion gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der
Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

gez. Prof. Dr. Labisch, M.A.

Dekan

Referent: Priv. Doz. Dr. Burk

Korreferent: Priv. Doz. Dr. Hartmann

I Inhaltsverzeichnis

I Inhaltsverzeichnis	03
II Abbildungsverzeichnis	06
III Tabellenverzeichnis	08
IV Abkürzungsverzeichnis	09
1 Einleitung	11
1.1 Entdeckung der Chemotherapie	11
1.2 Wirkmechanismus von Cyclophosphamid	12
1.3 Alkylierung durch Phosphoramid Mustard	15
1.4 Cyclophosphamidresistenz	16
1.4.1 Cyclophosphamidresistenz über erhöhten Glutathionbestand	16
1.4.2 Cyclophosphamidresistenz über vermehrten Aldehyddehydrogenasegehalt	17
1.5 Nebenwirkungen bei klinischer Anwendung von Cyclophosphamid	18
1.6 Einsatz von Cyclophosphamid	19
1.7 Ziel dieser Arbeit	20
1.8 Auswahl des Nachweisverfahrens von Phosphoramid Mustard	21
2 Methodik	22
2.1 Phosphoramid-Mustard-Bestimmung	22
2.1.1 Vorstellung der Methode	22
2.1.2 Patientenauswahl	24
2.1.3 Konditionierungstherapie	25
2.2 Chemikalien	28
2.3 Geräte und Materialien	29
2.4 Probenentnahme	29
2.4.1 Herstellung der Semicarbazidlösung	30
2.5 Konservierung der Phosphoramid-Mustard-Proben	30
2.6 Aufbereitung der Phosphoramid-Mustard-Proben	30
2.6.1 Herstellung von Pufferlösungen	31
2.6.2 Herstellung der Ionenaustauschersäulen	31
2.6.2.1 Aufbereitung des Ionenaustauschers	31
2.6.2.2 Säulenfüllung	31

2.6.3 Herstellung der Probenstandards	31
2.6.4 Herstellung der mobilen Phase	32
2.7 Messung der Phosphoramid-Mustard-Proben	32
2.8 Cyclophosphamidbestimmung	33
2.8.1 Probenaufbereitung	33
2.8.2 Chromatographische Probenmessung	33
2.9 Statistik	34
2.10 Pharmakokinetische Analyse	34
2.10.1 Nicht kompartmentgebundene Analyse	34
2.10.2 Kompartimentgebundene Analyse	35

3 Ergebnisse ----- **36**

3.1 Pharmakokinetische Daten von Cyclophosphamid	36
3.1.1 Eliminationskonstante und Halbwertszeit	37
3.1.2 Körperclearance	37
3.1.3 Verteilungsvolumen	37
3.1.4 Renale Elimination	37
3.1.5 Metabolische Clearance	38
3.1.6 Fläche unter Konzentrations-Zeit-Kurve	38
3.2 Pharmakokinetische Daten von Phosphoramid Mustard	38
3.2.1 Serumkonzentrationen von Phosphoramid Mustard	38
3.2.2 Übersichtstabellen	47
3.2.3 Eliminationskonstante und Halbwertszeit	49
3.2.4 Körperclearance und Verteilungsvolumen	49
3.2.5 Fläche unter Konzentrations-Zeit-Kurve	49
3.3 Statistische Zusammenhänge	49
3.3.1 Wechselwirkungen zwischen Phosphoramid Mustard und Cyclophosphamid	50
3.3.2 Alter	52
3.3.3 Geschlecht	54
3.3.4 Krankheitsverlauf vor und nach Knochenmarktransplantation	55
3.3.5 Nieren- und Leberfunktion	55
3.3.6 Komedikation	58
3.3.6.1 Medikamente	58
3.3.6.2 Statistische Zusammenhänge mit der Komedikation	61
3.3.6.3 Über das Cytochrom-P-450-Oxidasesystem metabolisierte Medikamente, ohne Einfluss auf pharmakokinetische Parameter	67
3.3.6.4 Komedikation und Geschlechtsunterschiede	68
3.3.6.5 Pharmakokinetische Auffälligkeiten bei Einzelmedikation	70
3.3.7 Patienten mit Verminderung der Phosphoramid Mustard Fläche unter Konzentrations-Zeit-Kurve von Tag 1 auf Tag 2	70

4 Diskussion	72
4.1 Cyclophosphamidtherapie	73
4.2 Pharmakokinetische Erkenntnisse	74
4.3 Wechselwirkungen zwischen Phosphoramid Mustard und Cyclophosphamid	75
4.4 Einflussfaktoren auf pharmakokinetische Daten von Cyclophosphamid und Phosphoramid Mustard	77
4.4.1 Einfluss über die Metabolisierung	77
4.4.1.1 Das Cytochrom-P-450-Oxidasesystem	77
4.4.1.2 Inhibitoren und Induktoren des Cytochrom-P-450-Oxidasesystems	80
4.4.1.3 Cyclophosphamidmetabolismus	81
4.4.2 Einfluss des Alters	82
4.4.3 Einfluss des Geschlechts	83
4.4.4 Krankheitsverlauf vor und nach Knochenmarktransplantation	84
4.4.5 Einfluss der Leber- und Nierenfunktion	85
4.4.6 Einfluss der Komedikation	86
4.4.6.1 Einfluss von Metronidazol, Fluconazol und Ciprofloxacin	87
4.4.6.2 Einfluss von Buprenorphin und Triflupromazin	90
4.4.6.3 Einfluss von Diazepam	91
4.4.6.4 Medikamente ohne Einfluss auf pharmakokinetische Parameter, die über das Cytochrom-P-450-Oxidasesystem metabolisiert werden	92
4.4.6.5 Komedikation und Geschlechtsunterschiede	93
4.4.6.6 Einfluss von Einzelmedikation	94
4.4.7 Patienten mit Verminderung der Phosphoramid-Mustard-Fläche unter Konzentrations-Zeit-Kurve von Tag 1 auf Tag 2	95
4.5 Variabilität der pharmakokinetischen Parameter	96
4.6 Mögliche Konsequenzen aus oben genannten Daten	98
5 Zusammenfassung	101
5.1 Cyclophosphamid	101
5.2 Phosphoramid Mustard	101
5.3 Statistische Zusammenhänge	101
V Literaturverzeichnis	103
VI Formelsammlung	117
VII Danksagung	120
VIII Lebenslauf	121

II Abbildungsverzeichnis

Abb. 01: Strukturformel von Cyclophosphamid -----	12
Abb. 02: Metabolische Aktivierung von Cyclophosphamid -----	13
Abb. 03: N-Demethylierung von Cyclophosphamid zu Dechloroethylcyclophosphamid -----	14
Abb. 04: Alkylierung durch Phosphoramid Mustard-----	15
Abb. 05: Reaktion von Phosphoramid Mustard und Aldophosphamid mit Glutathion über die Glutathion-S-Transferase -----	17
Abb. 06: Eichkurve Phosphoramid Mustard im Dreifachansatz-----	23
Abb. 07: Beispielchromatogramm Patientenserum -----	24
Abb. 08: Grunderkrankung der 26 untersuchten Phosphoramid-Mustard-Patienten -----	25
Abb. 09 bis 34: Serumkonzentrationen von Phosphoramid Mustard für den ersten und zweiten Therapietag -----	39-47
Abb. 09: Patient 1 -----	39
Abb. 10: Patient 2 -----	39
Abb. 11: Patient 3 -----	39
Abb. 12: Patient 4 -----	40
Abb. 13: Patient 5 -----	40
Abb. 14: Patient 6 -----	40
Abb. 15: Patient 7 -----	41
Abb. 16: Patient 8 -----	41
Abb. 17: Patient 9 -----	41
Abb. 18: Patient 10 -----	42
Abb. 19: Patient 11 -----	42
Abb. 20: Patient 12 -----	42
Abb. 21: Patient 13 -----	43
Abb. 22: Patient 14 -----	43
Abb. 23: Patient 15 -----	43
Abb. 24: Patient 16 -----	44
Abb. 25: Patient 17 -----	44
Abb. 26: Patient 18 -----	44
Abb. 27: Patient 19 -----	45
Abb. 28: Patient 20 -----	45
Abb. 29: Patient 21 -----	45
Abb. 30: Patient 22 -----	46
Abb. 31: Patient 23 -----	46
Abb. 32: Patient 24 -----	46
Abb. 33: Patient 25 -----	47
Abb. 34: Patient 26 -----	47
Abb. 35: Größere Phosphoramid-Mustard-Fläche unter Konzentrations-Zeit-Kurve Tag 1 bei höherer Cyclophosphamidclearance Tag 1 -----	50
Abb. 36: Größere Phosphoramid-Mustard-Fläche unter Konzentrations-Zeit-Kurve Tag 1 bei höherer Cyclophosphamidclearance Tag 2- -----	51
Abb. 37: Größere Phosphoramid-Mustard-Fläche unter Konzentrations-Zeit-Kurve Tag 1 bei größerer Differenz der Cyclophosphamidclearance von Tag 1 auf Tag 2 -----	51
Abb. 38: Verteilung der Cyclophosphamidclearance Tag 1 nach dem Patientenalter -----	52

Abb. 39: Verteilung der Cyclophosphamidclearance Tag 2 nach dem Patientenalter -----	53
Abb. 40: Höhere Phosphoramid-Mustard-Fläche unter Konzentrations-Zeit-Kurve Tag 1 bei höherem Patientenalter -----	53
Abb. 41: Phosphoramid-Mustard-Fläche unter Konzentrations-Zeit-Kurve, Vergleich beider Applikationstage für männliche und weibliche Probanden-----	54
Abb. 42: Cyclophosphamidclearance, Vergleich beider Applikationstage für männliche und weibliche Probanden -----	54
Abb. 43: Verlauf der Kreatininwerte während des stationären Aufenthaltes, Phosphoramid-Mustard-Patient 19 -----	56
Abb. 44: Anstieg des maximalen Kreatininwertes mit zunehmender Phosphoramid-Mustard- Differenz der Fläche unter Konzentrations-Zeit-Kurve beider Applikationstage -----	57
Abb. 45: Verlauf der Gesamtbilirubinwerte während des stationären Aufenthaltes, Phosphoramid-Mustard-Patient 01 -----	57
Abb. 46: Cyclophosphamidclearance Tag 1 und Tag 2 mit und ohne Fluconazol-----	62
Abb. 47: Phosphoramid-Mustard-Fläche unter Konzentrations-Zeit-Kurve Tag 2 mit und ohne Triflupromazin -----	63
Abb. 48: Cyclophosphamidclearance Tag 1 und Tag 2 mit und ohne Triflupromazin -----	64
Abb. 49: Phosphoramid-Mustard-Differenz der Fläche unter Konzentrations-Zeit-Kurve zwischen Tag 1 und Tag 2 mit und ohne Buprenorphin-----	64
Abb. 50: Cyclophosphamidclearance Tag 2 mit und ohne Buprenorphin -----	65
Abb. 51: Geringere Phosphoramid-Mustard-Maximalkonzentration Tag 1 bei höherer Diazepamdosis -----	66
Abb. 52: Geringere Cyclophosphamidclearance Tag 2 bei höherer Diazepamdosis -----	66
Abb. 53: Geringere Differenz der Cyclophosphamidclearance zwischen beiden Applikationstagen bei höherer Diazepamdosis-----	67
Abb. 54: Patienten ohne Fluconazoleinnahme: niedrigere Eliminationskonstante Tag 2 bei weiblichen Probanden-----	68
Abb. 55: Patienten ohne Triflupromazin- und Fluconazol: größere Phosphoramid-Mustard- Fläche unter Konzentrations-Zeit-Kurve Tag 2 bei weiblichen Probanden-----	69
Abb. 56: Patienten ohne Triflupromazin- und Fluconazol: niedrigere Eliminationskonstante Tag 2 bei weiblichen Probanden -----	69
Abb. 57: Höheres Patientenalter bei Verminderung der Phosphoramid-Mustard-Fläche unter Konzentrations-Zeit-Kurve von Tag 1 auf Tag 2 -----	71
Abb. 58: Oxidation durch Monooxygenasen-----	78

III Tabellenverzeichnis

Tab. 01: Qualitätskontrolle Phosphoramid Mustard -----	23
Tab. 02: Patientencharakterisierung-----	26-27
Tab. 03: Darstellung der untersuchten Patientengruppe; 1. Reihe Cyclophosphamid Patienten; 2. Reihe: Phosphoramid-Mustard-Patienten -----	36
Tab. 04: Pharmakokinetische Daten von Phosphoramid Mustard, 1. und 2. Therapietag -----	48
Tab. 05: Patientenmedikation, eine Woche vor und während der Konditionierung, Teil 1 -----	59
Tab. 06: Patientenmedikation, Teil 2 -----	59
Tab. 07: Patientenmedikation, Teil 3 -----	60
Tab. 08: Patientenmedikation, Teil 4 -----	60
Tab. 09: Medikamente, die statistische Auffälligkeiten mit pharmakokinetischen Werten von Phosphoramid Mustard und Cyclophosphamid zeigten-----	61
Tab. 10: Gruppe 1, Biotransformation durch Cytochrom-P-450-Oxidase-----	79
Tab. 11: Gruppe 2, Metabolismus des Cholesterols und dessen Folgeprodukte durch Cytochrom-P-450-Oxidase -----	79
Tab. 12: Induktoren des Cytochrom-P-450-Oxidasesystems -----	80
Tab. 13: Inhibitoren des CytochromP-450-Oxidasesystems-----	80

IV Abkürzungsverzeichnis

Abkürzung	Bedeutung
Abb.	Abbildung
ADH	Antidiuretisches Hormon
ALDH	Aldehyddehydrogenase
ALL	akute lymphatische Leukämie
Allof	allogen, Fremdspender
allog	allogen, Geschwisterspender
allom1	allogen, Mismatch
AML	akute myeloische Leukämie
ARDS	“adult-respiratory-distress-syndrome” (Syndrom des Lungenversagens bei Erwachsenen)
AUC	Fläche unter der Konzentrations-Zeit-Kurve
AUC _{diff}	Differenz der Fläche unter der Konzentrations-Zeit-Kurve zwischen den Applikationstagen
AUMC	Fläche unter dem ersten Moment der Konzentrations-Zeit-Kurve
BSO	Butathionin Sulfoximin
C	Celsius
Cl	Clearance
Cl _{tot}	totale Körperclearance
C _{max}	Maximalkonzentration
CML	chronisch myeloische Leukämie
CP	Cyclophosphamid
CP Cl _{diff}	Differenz der Cyclophosphamidkörperclearancewerte zwischen den Applikationstagen
Cyp	Cytochrom-P-450-Oxidase
DANN	“deoxyribonucleic acid” (Desoxyribonukleinsäure)
DNHP	Dinatriumhydrogenphosphat
E	Einheiten
et al.	und andere
Gl.	Gleichung
GS	Glutathion
GSH	Glutathion-S-Transferase
GVHD	“graft-versus-host-disease” (Transplantat-gegen-Wirt-Reaktion)
HPLC	Hochdruckflüssigkeitschromatografie
I.E.	Internationale Einheit
KG	Körpergewicht
KMT	Knochenmarktransplantation
kpl.	Komplett
lambda	Eliminationkonstante
LT	Lutschtabletten
M	molar (mol/l)
Mä	männlich
Max.	maximal
mind.	mindestens
Mio	Millionen
Mittel	Mittelwert
Mo	Monat/Monate
möglw.	möglicherweise

Abkürzung	Bedeutung
MPD	“myelo-proliferative disease” (Myeloproliferative Erkrankung)
mRNA	“messenger ribonucleic acid” (Matritzenribonukleinsäure)
MRT	“mean residence time” (mittlere Verweilzeit im Organismus)
U-Test	Mann-Whitney-U-Test
N	normal
NaCl	Natriumchlorid
NHL	Non-Hodgkin-Lymphom
NNM	Nornitrogen Mustard
Nr.	Nummer
NT	Nasentropfen
PAH	polyzyklische, aromatische Kohlenwasserstoffe
Pat.	Patient, Patientin
PB	Phenobarbital
PCDD	polychlorierte Dibenzo-p-dioxine
Pearson	Pearson’scher Korrelationskoeffizient
PM	Phosphoramid Mustard
Rem.	Remissionsstadium
Rez.	Rezidiv
s.	siehe
S. D.	Standardabweichung
Stat.	Stationärer Aufenthalt
Steroid	an der Steroidbiosynthese beteiligte Gewebe
s. u.	siehe unten
Tab.	Tabelle
T _{max}	Zeit bis zum Erreichen der Maximalkonzentration
TX	Transplantation
u. a.	unter anderem
Überl.	Überleben
Vd	Verteilungsvolumen
VOD	“veno-occlusive-disease” (Venenschlusskrankheit)
W	weiblich

1 Einleitung

1.1 Entdeckung der Chemotherapie

Die Entdeckung der alkylierenden Substanzen gelang durch eine überraschende Beobachtung [61, 134]. Dabei ist makaber, dass die erste effektive antikanzerogene Substanz als Kampfgas entwickelt wurde. Im ersten Weltkrieg wurde Sulfur Mustard (H-Gas) in Kampfhandlungen eingesetzt. Neben extremer Reizung der Augen, der Haut und des Respirationstrakts entdeckte man andere toxische Effekte. So stellte man bei diesem Gas ausgesetzten Personen eine Leukopenie, eine Knochenmarkaplasie, eine Affektion des lymphatischen Systems und gastrointestinale Ulzerationen fest [85]. Bereits 1931 injizierten Adair und Bagg Sulfur Mustard direkt in Tumore, hatten damit aber wenig Erfolg, da sich dieser Stoff für den systemischen Gebrauch als zu toxisch erwies [1].

In den 1930er Jahren wurde ein neues Kampfgas entwickelt: Nitrogen Mustard. Im zweiten Weltkrieg wurde dieses Gas letztlich nicht in Kampfhandlungen eingesetzt. Allerdings kam es zu einem Unfall, bei dem viele Personen Mustard-Gas ausgesetzt wurden. Auf diese Weise wurde einer größeren Öffentlichkeit die Auswirkungen dieses Kampfgases bewusst gemacht [70]. Die englischen Truppen bevorrateten Kampfgas im Bereich des Hafengeländes von Bari, um in Bereitschaft zu sein, falls die gegnerischen Truppen Kampfgas einsetzen sollten. Im Dezember 1943 kam es im Rahmen eines deutschen Bombenangriffs zur Zerstörung der Vorratslager und zum Austritt des Kampfgases. Obwohl die alliierten Truppen keine Auskunft über den Austritt des Kampfgases gaben, erkannte ein amerikanischer Arzt die Ursache für die Erkrankung der dort anwesenden Menschen. Viele starben nach der Exposition mit Sulfur Mustard, hauptsächlich an inneren Blutungen und Infektionen. Einige Jahre später untersuchten Gilman und Goodman in Erinnerung an die damaligen Geschehnisse diese Substanz aufgrund ihrer bekannten lymphozytopenischen Wirkung im Tierversuch an Mäusen, die an Lymphosarkomen litten [59]. Sie entdeckten den guten zytostatischen Effekt und starteten 1946 Behandlungsversuche an Patienten mit Lymphosarkomen. Dies erscheint der Beginn der chemotherapeutischen Ära. Unzählige chemische Varianten auf Basis der Nitrogen-Mustard-Struktur wurden entwickelt, aber nur wenige erwiesen sich als wirksamer als die ursprüngliche Substanz.

1.2 Wirkmechanismus von Cyclophosphamid

Cyclophosphamid (CP) gehört zu der Gruppe der Nitrogen Mustarde. Diese sind als alkylierende Substanzen neben Aziridinen, Alkylsulfonaten, Nitroseharnstoffen, Platin-komponenten und methylierenden Stoffen Teil der Gruppe der kovalent DNA-bindenden Chemotherapeutika [61]. CP selbst wurde 1958 entwickelt [87]. Siehe dazu Abb. 01.

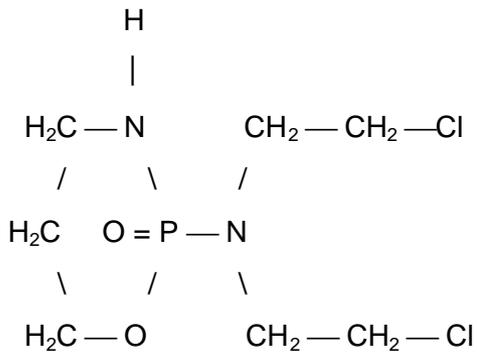
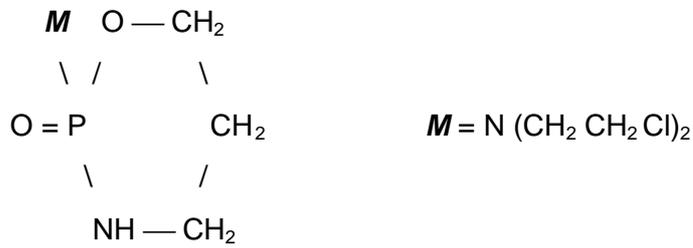


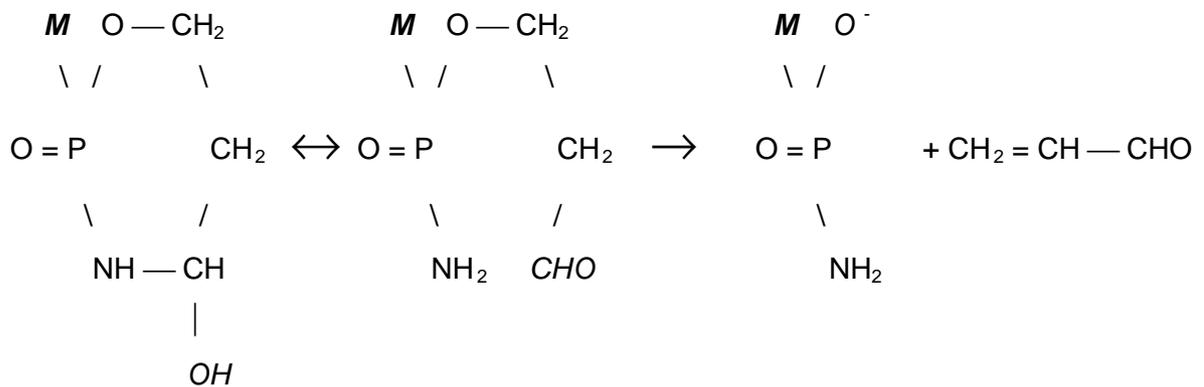
Abb. 01: Strukturformel von Cyclophosphamid

Viele alkylierende Substanzen sind instabil. Cyclophosphamid dagegen ist eine sehr stabile Substanz. So muss eine Aktivierung des Medikamentes durch Metabolisierung in der Leber über die Cytochrom-P-450-Oxidasen stattfinden, bevor das eigentliche alkylierende Substrat gebildet wird. Bei oraler und intravenöser Gabe besitzt Cyclophosphamid eine gute Verfügbarkeit und Verträglichkeit. Etwa 50% der Substanz wird in den ersten 24 h unverändert oder in Form der Metabolisierungsprodukte wie z. B. Carboxyphosphamid, Dechloroethylcyclophosphamid, 4-Ketocyclophosphamid und Phosphoramid Mustard und deren Hydrolyseprodukte über den Urin ausgeschieden [15, 134, 168]. Etwa 16% Prozent beträgt der Anteil des nicht-metabolisiert ausgeschiedenen Cyclophosphamid [75].

Cyclophosphamid wird zunächst zu 4-Hydroxycyclophosphamid umgewandelt (Abb. 02), welches sich im "steady state" mit seinem Tautomer Aldophosphamid befindet. Diese Hydroxylierung geschieht über die Cytochrom-P-450-Oxidasen. 4-Hydroxy-CP wird über Aldehydoxygenase in Carboxyphosphamid überführt oder über Aldehydreduktase zu Alcocyclophosphamid reduziert. Wie 4-Ketocyclophosphamid (Folgeprodukt von 4-Hydroxycyclophosphamid) und das als Nebenprodukt anfallende Dechloroethylcyclophosphamid zeigen diese keine biologische Aktivität. Das für die 4-Ketocyclophosphamidentstehung verantwortliche Enzym ist eine Alkoholdehydrogenase [75].



Cyclophosphamid

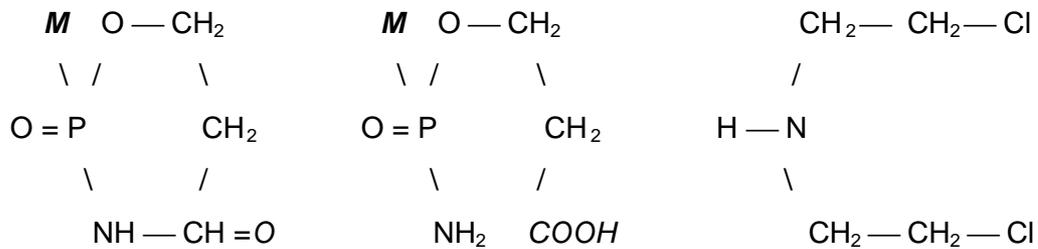


4-Hydroxycyclophosphamid

Aldophosphamid

Phosphoramid Mustard

Acrolein



4-Ketocyclophosphamid

Carboxyphosphamid

Nornitrogen Mustard

nicht zytotoxische Metabolite

zytotoxische Metabolite

Abb. 02: Metabolische Aktivierung von Cyclophosphamid [61]

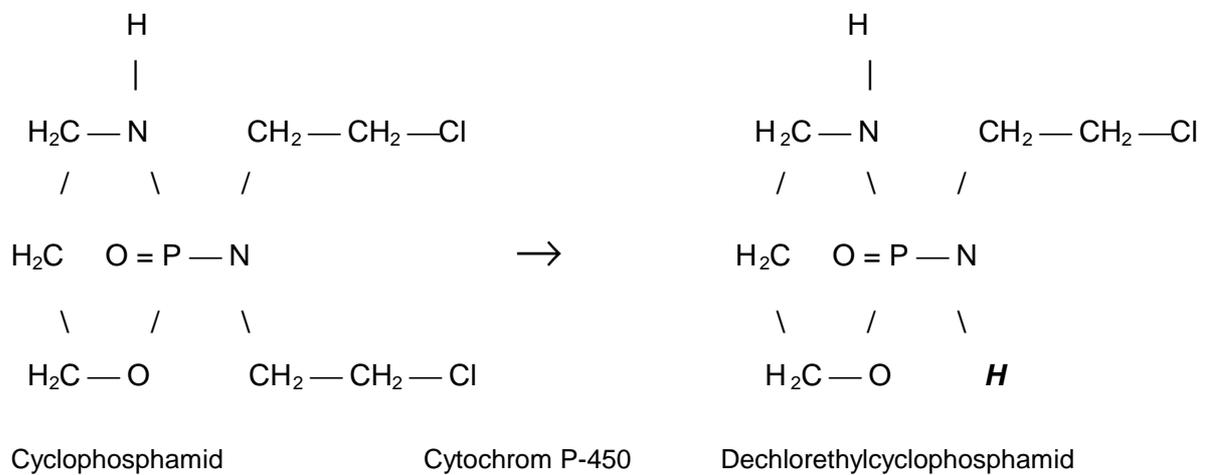


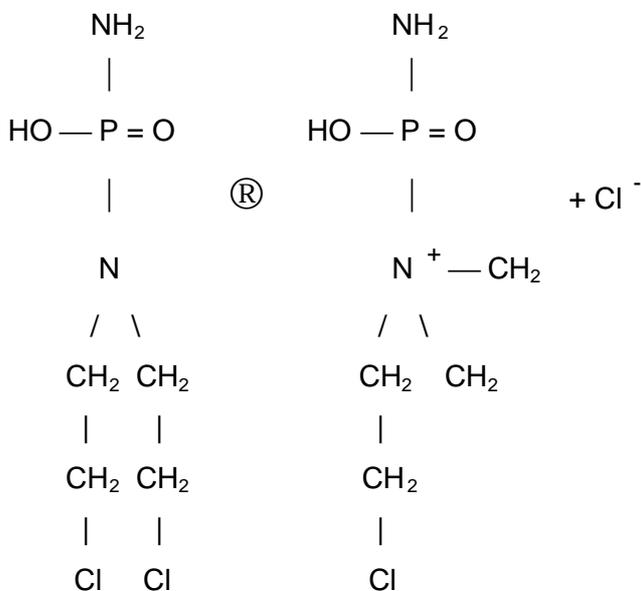
Abb. 03: N-Demethylierung von Cyclophosphamid zu Dechloroethylcyclophosphamid [16]

Man vermutet auch bei diesem Umwandlungsschritt eine Mitbeteiligung der Cytochrom-P-450-Oxidasen [179]. Bei der sogenannten Seitenkettenreaktion der N-Dealkylation von CP zu Dechloroethylcyclophosphamid gelang der Nachweis durch Bohnenstengel et al. [16], dass diese Reaktion über das Cytochrom-P-450-Oxidasesystem stattfindet (Abb. 03). Auf der anderen Seite steht der spontane Zerfall des Aldophosphamids durch β -Elimination des Acroleins zu Phosphoramid Mustard (PM). Vermutungen bestehen, dass die PM-Bildung auch enzymatisch abläuft und zwar über ubiquitär im Blut vorkommende Phosphodiesterasen [165]. Da PM aufgrund seiner stärkeren Polarität die Zellmembran nur schwer überwindet, sieht man in Hydroxycyclophosphamid oder Aldophosphamid die Transportmetaboliten, die ein Eindringen in die Zelle ermöglichen [179]. In Phosphoramid Mustard sieht man den eigentlichen aktiven Metaboliten mit der alkylierenden Potenz [38, 39]. Bei Acrolein und dem Folgeprodukt von PM Nornitrogen Mustard (NNM) stehen die toxischen Wirkungen im Vordergrund, so z. B. bei der Blasen-toxizität. Ob auch ein Teil der therapeutischen Wirkung durch Acrolein verursacht wird [13, 91, 174], wird in der Literatur unterschiedlich diskutiert [106]. So vermutet man, dass ein Teil der immunsuppressiven Wirkung von Cyclophosphamid durch Acrolein bewirkt wird [14, 78], da auch nach alleiniger Gabe von Acrolein genetische Veränderungen an Lymphozyten auftraten. In vitro führte Acroleingabe zu Tumorzellreduktion, in vivo konnte dieses allerdings nicht nachgewiesen werden [14]. Andererseits fehlt Phosphoramid Mustard nicht die toxische Komponente, so sieht man in PM den Hauptverursacher der Toxizität am Ovar [130]. Betrachtet man ältere Literaturquellen, so wurde damals diskutiert, ob die alkylierende Wirkung, oder zumindest ein Teil davon, durch Nornitrogen Mustard verursacht wird. Schließlich entdeckte man, dass NNM bei physiologischem pH-Wert keine alkylierende Potenz besitzt. Inzwischen wird sogar angezweifelt, dass NNM als Folgeprodukt von Phosphoramid Mustard im Körper entsteht.

Sondern man vermutet, dass NNM im Urin als Hydrolyseprodukt aus Carboxyphosphamid gebildet wird. Stattdessen hat man Chloroethylaziridin als Folgeprodukt entdeckt [151].

1.3 Alkylierung durch Phosphoramid Mustard

Allgemein wird davon ausgegangen, dass die relevante alkylierende Substanz von Cyclophosphamid das Metabolisierungsprodukt Phosphoramid Mustard darstellt [38, 61, 134, 156]. Die eigentliche Alkylierung wird möglich durch Bildung eines hochreaktiven Substrats nach Abgabe des Chloridions (Abb. 04). So wird am Ammoniumion eine Bindungsstelle frei, das tertiäre wird zum quartären Ammoniumion, welches eine neue Bindung eingehen kann.



Phosphoramid Mustard

Abb. 04: Alkylierung durch Phosphoramid Mustard [61, 134]

Kovalente Bindungen können mit vielen Stellen an der DNA eingegangen werden. Phosphoramid Mustard als bifunktionelle alkylierende Substanz ist in der Lage mit zwei Seitenketten des Stickstoffatoms (unter Abgabe der beiden Chloridionen) eine nukleophile Bindung einzugehen. Sollte eine Bindung der zweiten Seitenkette mit dem schwach nukleophilen H₂O eingegangen werden, fällt die Zweigverbindung weg, damit entsteht ein monoalkyliertes Substrat. Die sicherlich favorisierte Bindung wird mit der 7'-Nitrogen Gruppe

von Guanin eingegangen. Dabei kann PM mit Guanin in unterschiedlicher Form reagieren, sodass verschiedene Alkylierungsprodukte entstehen. Nor-G-OH entsteht durch Bindung von NH-OH, Nor-G durch NH-Cl. Durch Koppelung zweier Guanine jeweils an der 7'-Position durch eine Nitratgruppe bildet sich G-Nor-G. Ein weiteres mögliches Produkt entsteht durch Verbindung von PM an der 3'-Position von Guanin mit der Phosphorgruppe zum 3'-dGMP-Phosphoester [131]. Andere Möglichkeiten sind Verbindungen mit Cytosin oder Adenin, so können Zweigverbindungen zwischen verschiedenen DNA-Strängen auftreten [48]. Eine wichtige mutagene Wirkung entsteht dadurch, dass das veränderte Guanin Fehlverbindungen mit Thymin eingeht und so eine falsche Baseninformation entsteht, weil ein Guanin/Cytosin-Paar mit einem Adenin/Thymin-Paar verwechselt wird. Neben einer Verhinderung der DNA-Replikation resultiert daraus auch eine veränderte oder verminderte Proteinsynthese über eine veränderte RNA-Bildung. Durch zelleigene Reparatursysteme der Endonuklease, die diese Fehler beheben, können zusätzliche DNA-Strangbrüche auftreten. Besonders wenn die CP-Dosis über ein bestimmtes Maß hinausgeht, werden die Reparatursysteme überlastet und können nicht alle aufgetretenen Fehler wieder reparieren. Insgesamt entstehen die größten Schäden in Geweben mit einem erhöhten Maß an Zellproliferation, da es dort zu vermehrter DNA-Synthese kommt.

1.4 Cyclophosphamidresistenz

Bei der Untersuchung von gegen Cyclophosphamid resistenten Zellreihen sind im wesentlichen zwei Resistenzmechanismen aufgefallen. Eine verminderte Empfindlichkeit gegenüber Cyclophosphamid besteht zum einen bei Zellen, die vermehrt Aldehyddehydrogenasen produzieren, zum anderen bei Zellen, die einen erhöhten Bestand an Glutathion enthalten. Eine erhöhte Fähigkeit von Zellreparatursystemen spielt wie die verminderte intrazelluläre Aufnahme eine untergeordnete Rolle [61, 134].

1.4.1 Cyclophosphamidresistenz über erhöhten Glutathionbestand

Ein erhöhter Glutathionbestand in den Zellen führt durch eine Reaktion von Glutathion mit elektrophilen Substraten mit Hilfe der Glutathion-S-Transferase (GSH) zu einer Detoxifikation von alkylierenden Substanzen [47, 91, 92, 136], wie in Abb. 05 dargestellt. Beim Menschen sind mehrere Isoenzyme von GSH bekannt [45, 46]. Neben der enzymatischen Reaktion mit Glutathion (GS) über die Glutathion-S-Transferase (GSH) existiert eine nicht enzymatische irreversible Detoxifikation über eine spontan eingegangene Verbindung mit GS aufgrund der starken Nukleophilie von Phosphoramid Mustard [151].

Diese Erkenntnisse führten zu der Entwicklung von Butathion Sulfoximin (BSO). Die γ -Glutamylcysteinsynthetase, welche ein Schlüsselenzym in der GSH-Biosynthese ist, wird durch BSO gehemmt. Durch die gleichzeitige Gabe von BSO mit alkylierenden Substanzen kommt es so zu einer gesteigerten Wirkung von Cyclophosphamid [61].

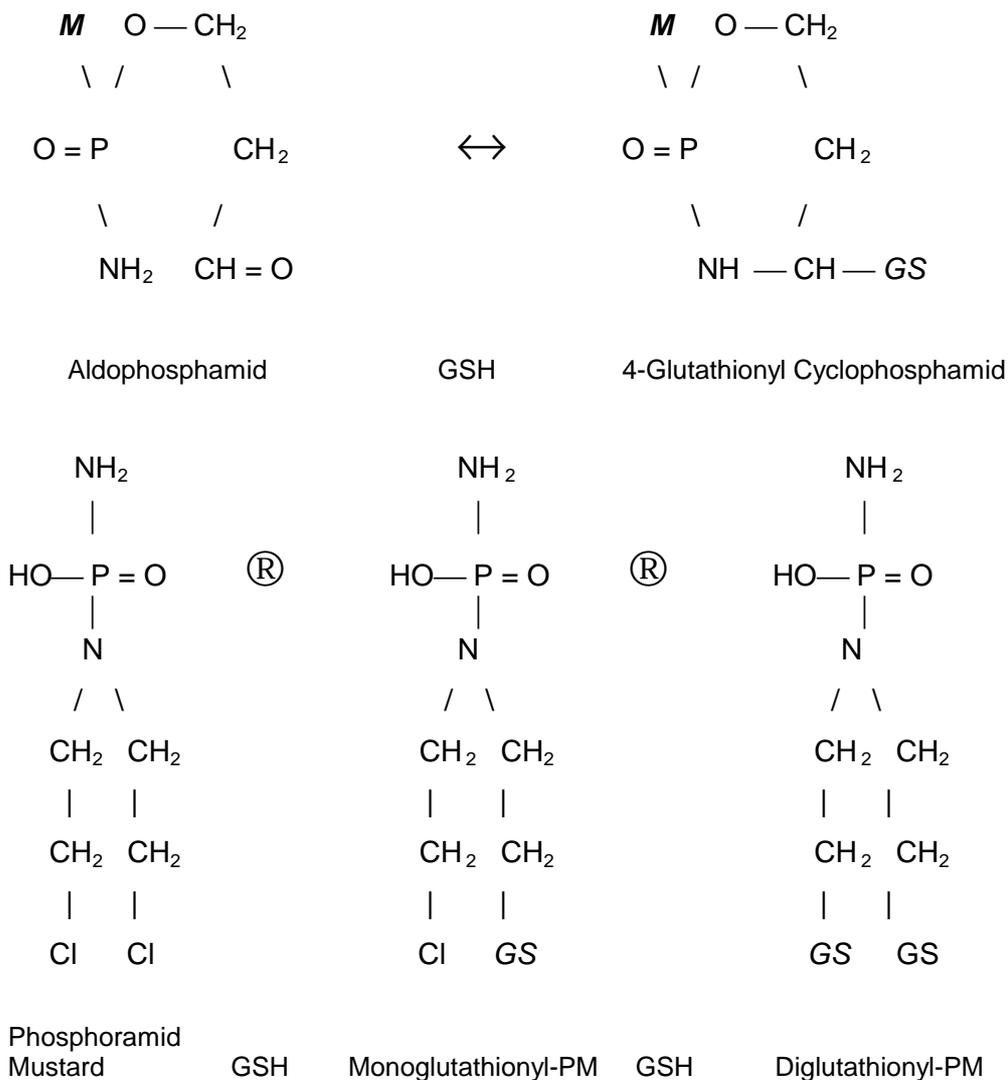
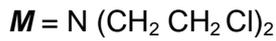


Abb. 05: Reaktion von Phosphoramid Mustard (PM) und Aldophosphamid mit Glutathion (GS) über die Glutathion-S-Transferase (GSH; [45])

1.4.2 Cyclophosphamidresistenz über vermehrten Aldehyddehydrogenasegehalt

Ein vermehrter Gehalt an Aldehyddehydrogenase hat direkten Einfluss auf die Metabolisierung von CP [23]. Das Stoffwechselprodukt Aldophosphamid wird vermehrt zu

den nicht toxischen Keto- und Carboxyphosphamid umgewandelt [100, 114]. So entsteht weniger PM als reaktives Substrat [2]. Durch den hohen Anteil an Aldehyddehydrogenase in der Leber kommt es zu einer geringeren Hepatotoxizität und einer stärkeren Selektivität am Tumorgewebe, da dort eher eine verminderte ALDH-Konzentration besteht [23].

1.5 Nebenwirkungen bei klinischer Anwendung von Cyclophosphamid

Dosisabhängig kommt es bei Cyclophosphamidgabe zu unterschiedlichen Nebenwirkungsercheinungen [61, 87, 134]. Das Auftreten einer hämorrhagischen Zystitis, im Wesentlichen hervorgerufen durch den toxischen Metaboliten Acrolein, gehörte früher zu den häufigsten Nebenwirkungen. Durch den Einsatz von Mesna tritt dies heutzutage nur selten auf. Mesna wird im Serum schnell abgebaut und seine Abbauprodukte werden über die Nieren ausgeschieden. Mesnadisulfid wird in der Niere nach glomerulärer Filtration mit Glutathion zu freien Thiolkomponenten reduziert, welche irreversibel mit Acrolein reagieren und so eine Reizung der Blase verhindern. Bei CP-Gabe über längere Zeit konnte es ohne Mesna zu einer Fibrose der Blase kommen, welche zum Auftreten von Blasenkrebs führen kann.

Dosislimitierend ist die Knochenmarksuppression, hier steht die Verminderung der Leukozyten im Vordergrund, Thrombozyten sind weniger betroffen [37]. Durch die Immunsuppression besteht ein erhöhtes Infektionsrisiko. Übelkeit und Erbrechen sind oft auftretende Nebenwirkungen, weitere sind Schleimhautulzerationen, Schwindelanfälle, reversibler Haarausfall, Nagelverformungen und vermehrte Pigmentation der Haut. Außerdem kann eine interstitielle Lungenfibrose auftreten. Eine gonadale Dysfunktion kann zu Amenorrhoe oder Aspermie führen. Ein sehr seltenes Phänomen ist das Auftreten der inadäquaten ADH-Sekretion und somit die Gefahr der Wasserintoxikation, welche nur bei höherer Dosierung beobachtet wurde. In der Hochdosistherapie zum Beispiel vor KMT können zusätzlich weitere Nebenwirkungen auftreten [107]. Hier ist z. B. die "Veno-occlusive-disease" der Leber und die akute Kardiotoxizität zu nennen [144, 153]. Allerdings ist hier wie beinahe generell eine Überlagerung mit gleichzeitig stattfindenden Maßnahmen wie z. B. Strahlentherapie und Gabe anderer Zytostatika zu sehen, da Cyclophosphamid gerade in der Hochdosistherapie selten als Monotherapie eingesetzt wird.

Cyclophosphamid ist als alkylierende Substanz karzinogen, mutagen und teratogen [61, 87]. Ein vermehrtes Auftreten bestimmter Karzinome konnte bei Patienten beobachtet werden, die mit CP behandelt worden sind. Dazu gehören der bereits erwähnte Harnblasenkrebs, außerdem Leukämien, Lymphome und andere klonale Erkrankungen des hämatologischen

Formenkreises. Außerdem gibt es Hinweise für ein vermehrtes Auftreten von Hautkrebsformen. Da aber generell Patienten bei der Tumornachsorge gründlicher untersucht werden, ist es umstritten, ob in der intensiveren Nachbetreuung von Chemotherapiepatienten die alleinige Begründung liegt [87].

1.6 Einsatz von Cyclophosphamid

Neben seinem Einsatz in der Chemotherapie maligner Erkrankungen wird Cyclophosphamid als Immunsuppressivum auch bei Erkrankungen des autoimmunen Formenkreises und bei rheumatoider Arthritis eingesetzt. Cyclophosphamid ist das meist verwendete Medikament unter den alkylierenden Substanzen. Es wird in Kombination mit anderen Chemotherapeutika bei einem breiten Spektrum von Karzinomen eingesetzt. Hierzu zählen Lymphome, Myelome und Tumore des Kindesalters, wie beispielsweise Wilms-Tumore oder Neuroblastome, außerdem Brust- und Lungenkrebs sowie maligne Veränderungen an Ovar und Endometrium [61, 134]. Die durch CP erreichbare Immunsuppression [78] kann in der Behandlung von Abstoßungsreaktionen nach Organtransplantationen genutzt werden, obwohl dies in modernen Therapieschemata außer bei der Knochenmarktransplantation (KMT) keine große Bedeutung mehr besitzt [175]. Allerdings ist diese Eigenschaft im Rahmen der immunologischen Konditionierung vor allogener KMT unabdingbar. Weiterhin wird CP in der Behandlung von Autoimmunerkrankungen wie z. B. Wegenersche Granulomatose, idiopathische thrombozytopenische Purpura und rheumatoider Arthritis [99, 125] eingesetzt [64]. CP verhindert die humorale Reaktion und die zelluläre Immunantwort. In antigen- oder immunkomplex-vermittelten Autoimmunerkrankungen wie z. B. dem Goodpasture Syndrom zeigt es eine bessere Wirkung als bei T-Zell-vermittelten, wie z. B. bei Psoriasis, wo Ciclosporin Vorteile zeigt [8].

Eine Verbesserung der Wirkung von Cyclophosphamid versucht man mit Entwicklung neuer CP-Derivate [17] und der Entwicklung neuer Derivate seiner Metabolisierungsprodukte [18, 55, 86, 165] zu erreichen. Versucht wird auch eine Kombination nicht nur mit anderen Chemotherapeutika, sondern auch z. B. der zusätzliche Einsatz der Hyperthermie [173]. Ein weiteres Einsatzgebiet, wobei allerdings nur aktive Derivate von Cyclophosphamid verwandt werden, da eine Aktivierung über die Cytochrom-P-450-Oxidasen nicht möglich ist, ist das "Purging" von Knochenmark-Stammzellpräparaten in vitro. Hier wird autologes Knochenmark aufbereitet bzw. zytostatisch behandelt, um bei autologer KMT eine Übertragung von malignen Zellen zu vermeiden [83, 140, 150].

1.7 Ziel dieser Arbeit

Cyclophosphamid wird als wesentlicher Bestandteil eines Standardprotokolls zur Hochdosischemotherapie als Konditionierung vor Knochenmarktransplantation eingesetzt und wird als solches weltweit angewendet. Dabei wird die Cyclophosphamidgesamtdosis je nach Behandlungsschema auf zwei bis vier aufeinander folgende Tage verteilt, um mögliche Nebenwirkungen zu limitieren. Wie oben beschrieben muss Cyclophosphamid erst im Stoffwechselschritt der 4-Hydroxylierung über die Cytochrom-P-450-Oxidase in 4-Hydroxycyclophosphamid und anschließend in Phosphoramid Mustard umgewandelt werden, um seine Wirksamkeit zu erlangen [38]. Seit etwa 25 Jahren ist bekannt, dass die Hydroxylierung bei einer zweiten Einnahme innerhalb eines Tages nach Erstgabe deutlich beschleunigt wird [9, 44, 63]. Dafür ist eine Selbstinduktion durch CP die Ursache [29, 32]. Ob die gesteigerte Stoffwechselaktivierung am zweiten Behandlungstag zu einer erhöhten Exposition von aktiven Metaboliten führt, ist weiter umstritten [146, 152]. Weitgehend unklar ist auch, ob begleitende Medikation, die das mikrosomale Oxidase-System aktiviert oder inhibiert, zu Veränderungen der Wirkspiegel führt [39].

In der hier beschriebenen Studie soll durch Konzentrationsmessungen insbesondere des aktiven Metaboliten Phosphoramid Mustard überprüft werden, in wieweit es bei den hier untersuchten 26 Patienten vor Knochenmarktransplantation zu interindividuellen Unterschieden der gemessenen Wirkstoffmengen kommt. Berücksichtigt werden soll dabei besonders, ob sich eine Beeinflussung pharmakokinetischer Parameter von Phosphoramid Mustard und Cyclophosphamid u. a. durch Geschlecht, Alter oder durch Begleitmedikation zeigt und ob es dabei zu Differenzen an den zwei Cyclophosphamidapplikationstagen kommt. Ziel dieser pharmakokinetischen Untersuchung ist letztlich eine weitgehende Therapieindividualisierung. Sowohl Effekt als auch Toxizität einer Chemotherapie stehen bei der Mehrzahl der Zytostatika im direkten Bezug zu den erreichten Konzentrationen und zur Expositionszeit [172]. Die Chemotherapiedosierung wird in der Regel nach Körperoberfläche, gelegentlich auch nach Körpergewicht berechnet. So wird vorausgesetzt, dass eine Proportionalität zwischen Körpergewicht bzw. Körperoberfläche und dem Verteilungsvolumen des Pharmakons zugrunde liegt. Bei interindividuell konstanten Bedingungen für Verteilung, Metabolismus und Exkretion würde bei den Patienten eine gleiche Exposition stattfinden. Unterschiede innerhalb einer Patientenpopulation hinsichtlich Effekt und Toxizität wären auf pharmakodynamische Beziehungen reduziert. Interindividuelle Sensitivität der Tumorzellen würde allein über die Wirkung entscheiden. Ansatzpunkte in diesem Zusammenhang sind Untersuchungen über Zellresistenzen gegenüber Cyclophosphamid [22, 91].³

Diese Reduktion auf die Pharmakodynamik kann jedoch allein dem Problem der Therapieindividualisierung bei der Cyclophosphamidanwendung nicht gerecht werden. Die vorliegende Arbeit zeigt erhebliche Abweichungen unter den Patientendaten bei den resultierenden pharmakokinetischen Parametern, die z. B. bei der Fläche unter der Konzentrations-Zeit-Kurve von PM beim Faktor 30 lag. Informationen zu Streubreiten pharmakokinetischer Größen müssen größere Bedeutung erlangen, um eine weitere Therapieindividualisierung und somit Therapieverbesserung und Verringerung von Nebenwirkungen zu ermöglichen [79]. So könnte man Korrelationen zu beobachtbaren Effekten wie Überlebensraten oder Auftreten bestimmter Erkrankungen z. B. einer GVHD früher entdecken und gegebenenfalls noch während der Konditionierung oder schon im Vorfeld tätig werden, um diese positiv zu beeinflussen.

1.8 Auswahl des Nachweisverfahrens von Phosphoramid Mustard

Die Bestimmung des Phosphoramid Mustards im Serum erfolgte nach der Methode von Hardy et al. [66]. Grundlage der angewandten Methodik ist nach Vorbereitung des Serums durch Enteiweißung und Elution über eine Ionenaustauschersäule eine hochdruck-flüssigkeitschromatographische Auftrennung mit nachfolgender photometrischer Messung. Dieses Verfahren wurde ausgewählt, weil es sich gegenüber anderen Verfahren wie z. B. der Dünnschichtchromatographie mit Massenspektroskopie [156], der Dünnschichtchromatographie mit Derivatisierung und Fluorometrie [132] oder der Gaschromatographie kombiniert mit Massenspektroskopie [74] als weniger aufwendig und zeitintensiv, aber auch gegenüber den anderen Methoden als sehr sensitiv erwies. Die apparativen Voraussetzungen waren bei dem ausgewählten Nachweisverfahren am besten gegeben und konnten in den hämatologischen Laboren der Heinrich-Heine-Universität in Düsseldorf durchgeführt werden.

2 Methodik

2.1 Phosphoramid-Mustard-Bestimmung

2.1.1 Vorstellung der Methode

Phosphoramid Mustard wurde nach der 1985 erstmals beschriebenen Methode von Hardy et al. bestimmt [66]. Diese Methode beruht im wesentlichen auf folgenden Prinzipien: eine Blutprobe wird unmittelbar nach der Entnahme mit auf physiologischen pH-Wert gepufferter Semicarbazidlösung versetzt. Semicarbazid stabilisiert die darin enthaltenen 4-Hydroxycyclophosphamid und Aldophosphamid, die Metabolisierungsprodukte von Cyclophosphamid, und hemmt den spontanen Zerfall zu Phosphoramid Mustard. Das gewonnene Serum wird mit Methanol enteivert und auf eine basisch äquilibrierte Ionenaustauschersäule gebracht. Hier wird das bei einem pH-Wert von 9,0 anionische PM zunächst selektiv gebunden und dann mit Hilfe einer gepufferten, hochmolaren Natriumchloridlösung wieder ausgewaschen. Nach hochdruckchromatographischer Auftrennung erfolgt die photometrische Messung.

Verwendet wurde eine externe Standardisierung durch den Einsatz von Standardseren, welche mit einer definierten Menge Phosphoramid Mustard vor der Aufbereitung versetzt wurden. Die Peakhöhe bei definierter Menge PM diente dann zur Berechnung der Substanzmenge in den Patientenseren. Vor den Probenmessungen wurde eine Eichkurve im Dreifachansatz von Standardseren mit Konzentrationen von 2,0 bis 50 µg/ml erstellt. Sie war linear und lief durch den Koordinatenursprung [Abb. 06]. Bei jeder Messserie eines anderen Patienten wurde jeweils neu mit Standardseren im Sinne einer erneuten Eichung verglichen. Hardy [66] erreichte in seiner Arbeit eine Wiederfindungsrate für PM von ca. 34%, bestimmt im Vergleich von einem Standardserum und einem Leerserum, das die definierte PM-Dosis nach der Aufbereitung erhielt. In dieser Arbeit wurde eine Wiederfindungsrate von 42,3% ($\pm 3,4$ bei $n=10$) erreicht. Die Daten zur Qualitätskontrolle enthält Tab. 01. Interferierende endogene oder exogene Substanzen wie z. B. gleichzeitig eingenommene Medikamente wie Etoposid, Fluconazol, Triflupromazin u. a. waren auch in Leerproben, die vor Beginn der Cyclophosphamidinfusion gewonnen wurden, nicht nachweisbar. Ein Beispielchromatogramm für die Messung einer Patientenprobe zeigt Abb. 07. Der Peak bei ca. sieben Minuten stellt die Phosphoramid-Mustard-Fraktion dar.

Eichkurve Phosphoramid Mustard

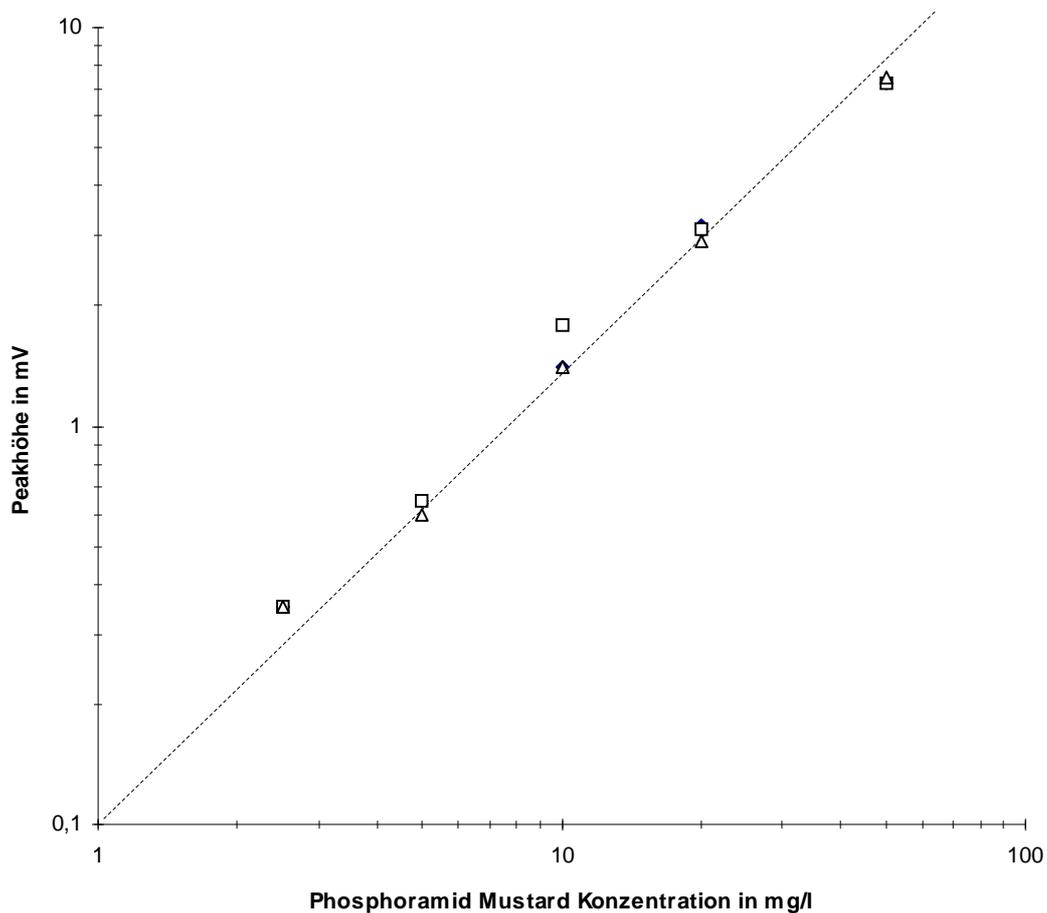


Abb. 06: Eichkurve Phosphoramid Mustard im Dreifachansatz, doppeltlogarithmische Darstellung; $r^2= 0,996$; Konz= 6,810; Peakhöhe: - 0,251

Untersuchung	Bei Konzentration (mg/l)	Mittel (mg/l)	Standardabweichung (%)	n (Anzahl)
Wiederfindung	10,0	4,23	3,4%	10
Wiederholfehler				
Intra-Assay	20	18,6	5,9	10
	5	5,2	8,4	10
Inter-Assay	20	21,1	4,4	10
	5	4,4	9,5	10
Nachweisgrenze		0,7		5

Tab. 01: Qualitätskontrolle Phosphoramid Mustard

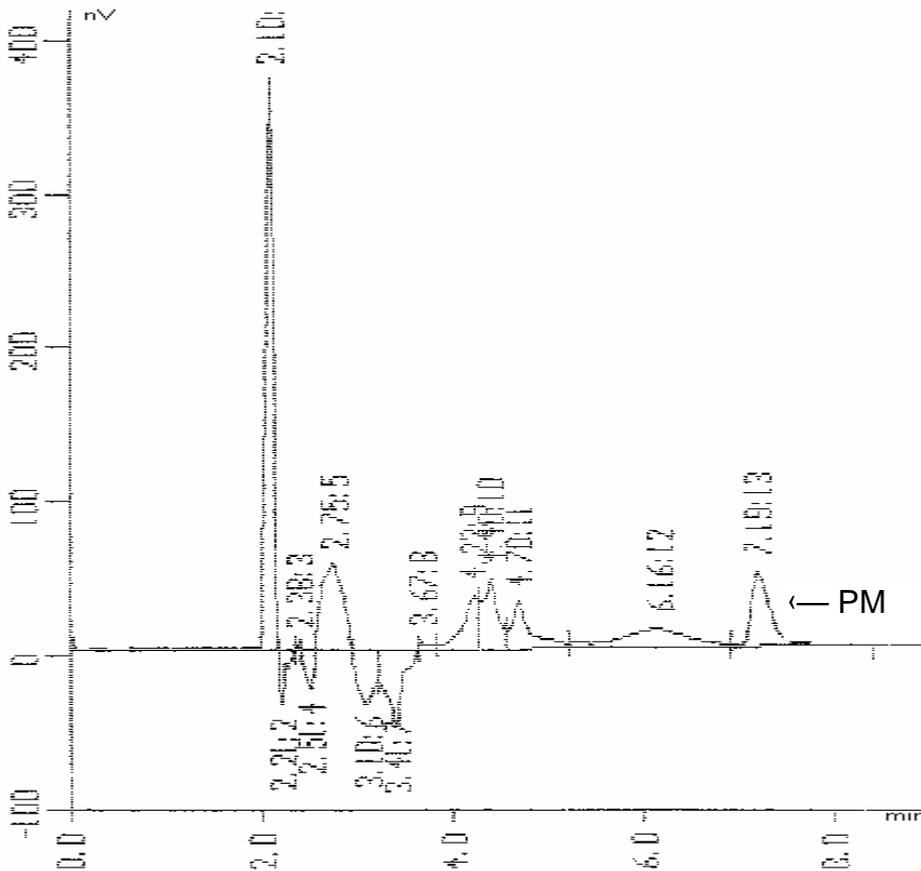


Abb. 07: Beispielchromatogramm Patientenserum; Peak von Phosphoramid Mustard bei ca. 7 min

2.1.2 Patientenauswahl

Zwischen 1990 und 1993 wurden bei 33 erwachsenen Patienten der Knochenmarkstransplantationsstation der Medizinischen Universitätsklinik Düsseldorf Proben entnommen. Bei allen Patienten wurde Cyclophosphamid, bei 26 Phosphoramid Mustard bestimmt. Bei letzteren handelt es sich um 14 Patientinnen und 12 Patienten mit verschiedenen Grunderkrankungen (Abb. 08). Diese wurden im Rahmen der Konditionierung nach Ganzkörperbestrahlung an zwei aufeinander folgenden Tagen einer Hochdosis-cyclophosphamidtherapie unterzogen. Elf Patienten waren an einer chronisch myeloischen Leukämie (CML) erkrankt, neun an akuter myeloischer Leukämie (AML). Zweimal war die Grunderkrankung eine akute lymphatische Leukämie (ALL), einmal ein Non-Hodgkin-Lymphom (NHL). Ein Erkrankter litt an einer chronisch myelomonozytären Leukämie (CMML). Zwei weitere hatten eine myeloproliferative Erkrankung (MPD).

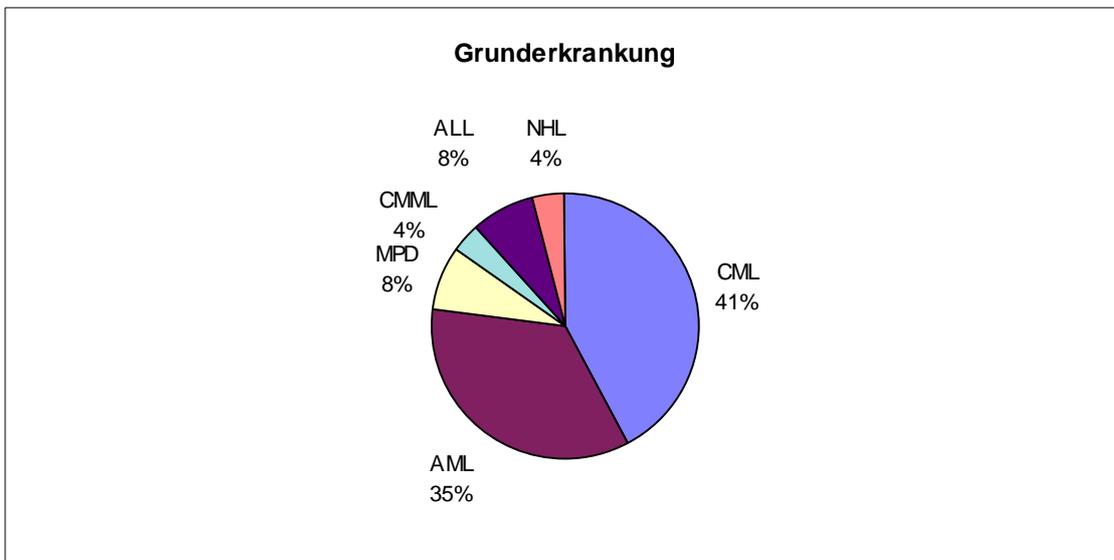


Abb. 08: Grunderkrankung der 26 untersuchten Phosphoramid-Mustard-Patienten (Anteile in Prozent)

Es wurden 19 HLA-identische Geschwisterspendertransplantationen durchgeführt. Fünf Übertragungen kamen von Fremdspendern. Bei einer allogenen Transplantation bestand ein HLA-Klasse-1-Mismatch. In einem Fall erfolgte eine autologe KMT. Insgesamt bestanden bei den Patienten nur wenige Vorerkrankungen (PM-Pat. 1 und PM-Pat. 19 waren früher an einer Tuberkulose erkrankt, die aber jeweils sicher ausgeheilt war, PM-Pat. 16 war 9/87 an einem Hodentumor pT1 N0 M0 behandelt worden, bei PM-Pat. 20 bestand eine arterielle Hypertonie). Entsprechend dem Remissionsstadium und der Krankheitsdauer hatten die Patienten alle bereits unterschiedliche Chemotherapien erhalten. Zum Zeitpunkt der Transplantation lag bei keinem der Behandelten eine laborchemisch zu quantifizierende Einschränkung der Nieren- oder Leberfunktion vor.

2.1.3 Konditionierungstherapie

Je nach Grunderkrankung wurden die Patienten und Patientinnen mit unterschiedlichen Konditionierungsschemata behandelt. Gemeinsam war dabei, dass als Vorbereitung zur Knochenmarkübertragung während der Konditionierungsphase zunächst eine fraktionierte Ganzkörperbestrahlung erfolgte, anschließend erhielten sie an zwei aufeinander folgenden Tagen jeweils eine Cyclophosphamidinfusion (Endoxan®, Asta) über eine Stunde. Abweichungen von dieser Vorgabe wurden protokolliert. Für pharmakokinetische Berechnungen wurden nur tatsächliche Infusionszeiten verwendet. Die Dosierung betrug 60 mg/kg Körpergewicht. In der Regel wurden die Erkrankten zuvor an vier aufeinander folgenden Tagen mit jeweils 2,5 Gray, also insgesamt 10 Gray bestrahlt.

Nr.	Ge- schlecht	Alter (Jahre)	Dia- gnose	Art der KMT	TX- Datum	Rem. vor TX	Monate bis TX	Konditio- nierung	Abl. Phase (d)	Statio- när (d)	Überl. (Mo) oder Tod (d)	Todes- ursache
1.	W	37,5	CML	ALLOG	11.12.1990	1. chro. Phase	6	CP 10 Gray	23	58	58	
2.	Mä	30,4	CML	ALLOM1	19.12.1990	1. akz. Phase	17	CP 10 Gray	54	73	58	
3.	W	35,6	AML	ALLOG	26.02.1991	1. kpl. Rem.	8	CP 10 Gray	26	48	56	
4.	W	28,7	ALL	ALLOG	26.03.1991	1. kpl. Rem.	3	CP 12 Gray	25	45	55	
5.	W	44,0	AML	ALLOG	16.04.1991	1. Teil- Rem.	3	CP 10 Gray	21	40	54	
6.	W	30,0	AML	ALLOF	25.04.1991	2. kpl. Rem.	15	CP 10 Gray	19	21	21 d Tod	Pneu- monie
7.	Mä	52,8	MPD	ALLOG	28.05.1991	1. Teil- Rem.	5	CP 10 Gray	18	41	53	
8.	Mä	17,3	AML	ALLOG	28.06.1991	1. kpl. Rem.	5	CP 10 Gray	28	69	436 d Tod	GVHD
9.	W	33,7	AML	Autolog	16.07.1991	2. kpl. Rem.	12	CP 12 lokal 16 Gray + VP 16	22	34	121 d Tod	Rezidiv
10.	Mä	33,1	CML	ALLOG	23.07.1991	1. chro. Phase	10	CP 10 Gray	17	33	209 d Tod	Infekt, ARDS
11.	W	26,3	NHL	ALLOG	21.10.1991	1. Teil- Rem.	7	CP 12 Gray + VP 16	19	40	48	
12.	W	22,4	AML	ALLOG	05.11.1991	1. Teil- Rem.	6	CP 12 Gray + VP 16	22	46	180 d Tod	Rezidiv

13.	Mä	20,5	ALL	ALLOG	03.12.1991	1. kpl. Rem.	4	CP 12 Gray + VP 16	20	59	46	
14.	Mä	52,1	CMML	ALLOG	17.12.1991	1. Teil- Rem.	37	CP 10 Gray	13 (Tod)	Tod 12	12 d Tod	Lungen- blutung
15.	W	45	CML	ALLOG	21.01.1992	1. chro. Phase	10	CP 10 Gray	18	45	45	
16.	Mä	42,4	CML	ALLOG	03.03.1992	1. kpl. Rem.	6	CP 10 Gray	18	71	44	
17.	W	37,1	MPD	ALLOG	26.05.1992	1. kpl. Rem.	3	CP 10 Gray	15	62	41	
18.	W	51,5	CML	ALLOG	16.06.1992	1. chro. Phase	6	CP 10 Gray	17	50	92 d Tod	GVHD
19.	W	33,5	CML	ALLOF	30.09.1992	1. chro. Phase	14	CP 10 Gray	19	Tod 34	34 d Tod	GVHD + Infekt
20.	Mä	38,3	AML	ALLOF	03.11.1992	1. Teil- Rem.	11	CP 10 Gray	20	Tod 148	148 d Tod	GVHD + Infekt
21.	W	30,0	AML/ MPD	ALLOF	23.11.1992	2. kpl. Rem.	27	CP 10 Gray	25	56	35	
22.	W	23,8	CML	ALLOF	02.02.1993	3. akz. Phase	11	CP 10 Gray	40	41	117 d Tod	Infekt + Rez.
23.	Mä	25,6	AML	ALLOG	23.02.1993	2. kpl. Rem.	8	CP 10 Gray	17	33	114 d Tod	GVHD + Rez.
24.	Mä	32,1	CML	ALLOG	02.03.1993	1. chro. Phase	55	CP 10 Gray	19	34	31	
25.	Mä	36,1	CML	ALLOG	13.04.1993	1. chro. Phase	11	CP 10 Gray	24	42	30	
26.	Mä	46,7	CML	ALLOG	11.05.1993	1. chro. Phase	11	CP 10 Gray	19	36	27	

Tab. 02: Patientencharakterisierung (Abkürzungen siehe Abkürzungsverzeichnis), Stand 10/95

Dies ist ein inzwischen etabliertes Konditionierungsschema [163], obwohl auch Modifikationen mit anderen Zytostatika und der Bestrahlungstherapie bis zum Entfallen der Bestrahlung häufig sind [42, 95, 144]. Fünf Patienten bzw. Patientinnen mit erhöhten Rezidivrisiko wurden mit 12 Gray bestrahlt. Diese wurden an drei aufeinander folgenden Tagen mit zweimal (einmal die Körpervorderseite, dann die Rückseite) 2 Gray bestrahlt. Vier dieser so Behandelten bekamen zusätzlich an dem darauffolgenden Tag Etoposid. Eine Patientin wiederum erhielt zusätzlich einen lokalen Boost bis maximal 16 Gray. Die Bestrahlung konnte in der Regel ohne Probleme durchgeführt werden. Nur einmal musste die Bestrahlung am zweiten Tag wegen Auftreten einer Menièreschen Symptomatik für acht Stunden unterbrochen werden. Dabei handelte es sich um eine Patientin, die mit dem regulärem Schema behandelt wurde. Nach der Cyclophosphamidgabe bestand ein Latenztag, bis die Transplantation am nachfolgenden Tag durchgeführt wurde. Dann erfolgte die Transplantation mittels intravenöser Infusion. Die Transplantate wurden durch Knochenmarkaspiration bei multiplen Punktionen in den Beckenkamm gewonnen.

2.2 Chemikalien

Nachfolgend werden die verwendeten Chemikalien (mit Angabe des Herstellers in p.a. Qualität oder besser) aufgeführt:

- Ammoniumacetat, $\text{CH}_3\text{COO NH}_4$, Merck, Darmstadt
- Cyclohexylamin, $\text{C}_6\text{H}_{13}\text{N}$, 98-99%, Sigma, St. Louis, USA
- Dinatriumhydrogenphosphat-2-hydrat, $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, Merck, Darmstadt
- Essigsäure, CH_3COOH , 100%, Merck, Darmstadt
- Methanol, CH_2OH , Merck, Darmstadt
- Natriumacetat, $\text{CH}_3\text{COO Na}$, Merck, Darmstadt
- Natriumchlorid, NaCl , Merck, Darmstadt
- Natriumhydroxid, NaOH , Merck, Darmstadt
- Phosporamid Mustard, $\text{PO}_2\text{NCl}_2\text{NH}_2$, Asta, Frankfurt
- Salzsäure, HCl , 32%, Merck, Darmstadt
- Semicarbazid Hydrochlorid, $\text{CH}_6\text{Cl N}_3\text{O}$, Sigma, St. Louis, USA
- Tetrahydrofuran, $\text{C}_4\text{H}_8\text{O}$, Merck, Darmstadt

2.3 Geräte und Materialien

Nachfolgend werden die verwendeten Materialien und Gerätschaften (mit Angabe des Herstellers) aufgeführt:

- Bio-Rad, anion exchange Resin, AG1-X8, 100-200 mesh, acetate form, analytical grade, Bio-Rad Laboratories, Richmond, Ca., USA
- Chromatographiesäule, C 18, ODS Hypersil 5 µm, Bischof, Leonberg
- Chromatopac C-R6A Drucker, Shimadzu, Kyoto, Japan
- Degasser ERC-3512, Erma CR Incorporation
- Glaswolle, extrafein, Assistent
- HPLC 360 Autosampler, Kontron Instruments, Mailand, Italien (Flussrate: 1 ml/min; Air gap: 10µl; Sample: 500µl, Into Loop: 10 µl)
- HPLC Pumping System 322, Kontron Instruments, Mailand, Italien
- LC Pump T 414, Kontron Instruments, Mailand, Italien, (bis 6/95)
- Pasteur-Pipetten, ca. 150 mm Länge, Innendurchmesser ca. 5mm, Brand, Wertheim
- Spectrophotometer Uvicon 720 LC, Kontron Instruments, Mailand, Italien mit einer Deuterium-Lampe mit kontinuierlichem Spektrum, Schlitzbreite 10 nm
- Zentrifuge J-6M/E, Beckman Instruments, UK
- Zentrifuge, 5414, Eppendorf, Hamburg

2.4 Probenentnahme

Die Entnahme von Blutproben zur pharmakokinetischen Untersuchung erfolgte an beiden Tagen jeweils kurz vor Infusionsbeginn von Cyclophosphamid, nach einer halben Stunde während und unmittelbar nach der Infusion, sowie ½ h, 1 h, 2 h, 4 h, 8 h und 16 h nach Infusionsende. Pro Patient wurden so insgesamt 18 Proben gesammelt. Die auf die Minute genauen Entnahmezeiten wurden dokumentiert, um nur diese bei späteren Analysen zu verwenden. Vor der Probenentnahme erteilten alle Patienten ihr Einverständnis, das sie vor Beginn der Therapie im Rahmen einer umfassenden schriftlichen Aufklärung abgaben. Die Blutentnahme von 20 ml erfolgte in zwei Fraktionen aus einem zentralen Venenkatheter (Hickman-Katheter). Dabei wurden andere Infusionen abgestellt. Die ersten 10 ml konnten nicht für die Probenbestimmung benutzt werden und wurden dem Patienten nach der Entnahme zurückgegeben. Jeweils 3 ml des Nativbluts wurden zu 0,9 ml gekühlter

Semicarbazidlösung pipettiert. Dieses Gemisch wurde sofort auf Eis und kühl gestellt. Die restlichen 7 ml Nativblut standen für die Bestimmung von Cyclophosphamid und des aktiven Metaboliten Hydroxycyclophosphamid zur Verfügung. Bei einigen männlichen Patienten wurde zusätzlich Urin gesammelt. Um den methodischen Fehler möglichst gering zu halten, wurde die Probenentnahme nur vom Mitdoktoranden Herrn Kunecke und der Autorin durchgeführt.

2.4.1 Herstellung der Semicarbazidlösung

0,67 M Semicarbazid wurden in 200 mm Dinatriumhydrogenphosphatpuffer (DNHP-Puffer) gelöst, welcher mit 2 N Natronlauge auf pH 7,4 eingestellt wurde. 18 Reagenzgläser aus Kunststoff wurden mit je 0,9 ml Lösung gefüllt und kühl gestellt, um diese für die Probenentnahme zu nutzen.

2.5 Konservierung der Phosphoramid-Mustard-Proben

Nach der 4 h- und jeweils nach der 8 h- und 16 h-Entnahme wurden die gekühlten Proben bei 4°C für 10 min bei 3000 Umdrehungen abzentrifugiert, der Überstand abpipettiert und das Serum sofort bei -70°C eingefroren. Die letzte Messung erfolgte im September 1995.

2.6 Aufbereitung der Phosphoramid-Mustard-Proben

Die Aufarbeitung der Proben erfolgte bei 4°C im Kältelabor. Alle verwendeten Materialien und Geräte besaßen die gleiche Temperatur. Die Proben wurden jeweils doppelt bestimmt. Nach Auftauen der Proben, was bei 4°C etwa 6 h dauerte, wurden zur Enteiweißung 0,5 ml eisgekühltes Methanol zu 0,5 ml Patientenserum pipettiert, danach geschüttelt und 5 min auf Eis inkubiert. Anschließend wurde dieses bei 6000 Umdrehungen für 5 min abzentrifugiert. Der Überstand wurde auf eine Ionenaustauschersäule pipettiert, welche zuvor noch einmal mit 0,1 M DNHP-Puffer gefüllt worden war, um die Äquilibration auf pH 9,0 abzuschließen. Das enteweißte Serum wurde mit 1 ml des 10 mm DNHP-Puffers in die Säule eingewaschen. Eluiert wurde dann mit 3 M NaCl-Lösung gelöst in 10 mm DNHP-Puffer; die Tropfen 19 bis 40 wurden aufgefangen. Diese Fraktion wurde in mehreren Messreihen bestimmt. Das vorher und nachher aufgefangene Eluat enthielt kein Phosphoramid Mustard,

sodass davon auszugehen war, dass sich das PM in der mittleren Fraktion befand. Die aufgefangene Menge entsprach mit ca. 500 µl in etwa der erforderlichen Probenmenge.

2.6.1 Herstellung von Pufferlösungen

- 10 mM Dinatrium-Hydrogenphosphatpuffer (DNHP-Puffer)
- 3 M Natriumchloridlösung gelöst in 10 mM DNHP-Puffer
- 0,1 M Dinatrium-Hydrogenphosphatpuffer (DNHP-Puffer)

2.6.2 Herstellung der Ionenaustauschersäulen

2.6.2.1 Aufbereitung des Ionenaustauschers

Der Ionenaustauscher, Bio-Rad AG 1-X8, wurde an vier aufeinander folgenden Tagen mit folgenden Lösungen konditioniert, die jeweils nach einem Tag per Vakuumextraktion entfernt wurden. Danach wurde der aufbereitete Ionenaustauscher mit 0,1 M DNHP-Puffer aufgeschwemmt und bei 4°C gelagert.

1. Tag: 3 M Salzsäure
2. Tag: 3 M Natronlauge
3. Tag: 3 M Essigsäure
4. Tag: 1 M Ammoniumacetat

2.6.2.2 Säulenfüllung

Zur Herstellung der Ionenaustauschersäulen wurden Pasteur-Pipetten von Brand mit einer Länge von ca. 150 mm und einem Innendurchmesser von etwa 5 mm gefüllt. Auf ca. 3 mm Glaswolle wurde etwa 2 cm Ionenaustauscher gebracht, abgeschlossen von ca. 2 mm Glaswolle. Die Säule wurde nun zweimal mit 0,1 M DNHP-Puffer gefüllt, um den Ionenaustauscher auf pH 9,0 zu äquilibrieren.

2.6.3 Herstellung der Probenstandards

Die Standards wurden mit zusatzfreiem Leerserum im Kältelabor hergestellt. Dieses wurde von gesunden Probanden gewonnen, welche keine Medikamente einnahmen. Das Serum wurde mit einer definierten Menge Phosphoramid Mustard versetzt. PM wurde in eisgekühltem Wasser gelöst. Trotz der nach Watson beschriebenen relativ hohen Stabilität von PM, wurden die so hergestellten Standards sofort verwendet oder bei -70°C eingefroren

[171]. Gleiches gilt für die PM-Stammlösung. Diese Testserien wurden entsprechend mit den anderen Proben aufgearbeitet.

2.6.4 Herstellung der mobilen Phase

Das Fließmittel für die Hochdruckflüssigkeitschromatographie setzte sich aus folgenden Stoffen zusammen. Mit Essigsäure und Natronlauge wurde die Lösung auf einen pH-Wert von 6,8 eingestellt und schließlich entgast.

78% 20 mM Natriumacetatpuffer mit 20 mM Cyclohexylamin

20% Methanol

2% Tetrahydrofuran

2.7 Messung der Phosphoramid-Mustard-Proben

Die aufbereiteten Proben und Standards wurden mit dem Verfahren der Hochdruckchromatographie, HPLC, gemessen. Proben wurden doppelt, Standards mindestens dreifach bestimmt. Dazu wurden sie in den automatischen Probenaufgeber gestellt. Durch ein Pumpsystem wurde die injizierte Probe unter Hochdruck mit Hilfe des Fließmittels (Zusammensetzung unter 2.6.4) über die Chromatographiesäule (C 18, ODS Hypersil 5 μm) geleitet. Die Geräteeinstellung betrug dabei: Flussrate 1 ml/min, Air gap 10 μl , Sample 500 μl , Into Loop 10 μl . Aufgrund der unterschiedlichen Ladung und Affinität zur hydrophoben Säulenoberfläche wird die Probe in Unterfraktionen zerlegt und aufgetrennt. Das Fließmittel leitet diese Auftrennungsprodukte zum Photometer, wo bei einer bestimmten Wellenlänge charakteristische Absorptionspeaks gemessen werden, die proportional zur Substratmenge sind. Hardy [66] bewies in seiner Arbeit eine optimale Wellenlänge von 210 nm in der spektrophotometrischen Messung. Als Problem erwies sich die Probenaufgabe mit dem automatischen Probenaufgeber. Das aus den Ionenaustauschersäulen gewonnene Eluat, wurde von dem automatischen Probenaufgeber nur unzureichend aufgenommen, da es wegen der hohen NaCl-Konzentration bei 4°C eine ausgeprägte Kristallbildung zeigte. Das machte eine langsame Erwärmung der Proben im Probenaufgeber in ca. 2 h auf 6 bis 7°C notwendig, bis eine ausreichende Fließfähigkeit erreicht war. Bei den Messungen wurde kein wesentlicher Nachweisverlust festgestellt, da auch bei diesen Temperaturen kein messbarer Unterschied über 12 Stunden nachweisbar war. Das entspricht auch den Erkenntnissen von Watson, Dea und Chan, die in Ihrer Arbeit über die Hydrolyse von Phosphoramid Mustard bei 0°C von einer Halbwertszeit von ca. 115

Stunden ausgehen und noch von ca. 11 Stunden bei 25°C. Zudem beschreiben sie eine zusätzlich stabilisierende Wirkung von Patientenserum und Chloridionen [171].

2.8 Cyclophosphamidbestimmung

Da für die pharmakokinetische Analyse von Phosphoramid Mustard die Daten der Muttersubstanz berücksichtigt werden müssen, soll ein kurzer Überblick über die Untersuchungsmethodik von Cyclophosphamid erfolgen. Die Messungen wurden von dem Betreuer dieser Arbeit Priv. Doz. Dr. med. M. Burk durchgeführt [24]. Cyclophosphamid wurde nach Aufbereitung im Serum und Urin hochdruckchromatographisch aufgetrennt und photometrisch gemessen [26, 65, 142]. Die Blutentnahme erfolgte bei 33 Patienten und Patientinnen entsprechend der unter 2.3.3 beschriebenen Vorgehensweise. Bei fünf männlichen Patienten wurde auch Urin untersucht. Ab Beginn einer CP-Infusion wurde der Urin in mehreren Portionen gesammelt. Jeweils das Zeitintervall und die Menge wurde aufgezeichnet und schließlich ein Aliquot bei -20°C eingefroren. Urinsammlung wurde bis zum Beginn der nächsten Infusion oder für ein Intervall von 24 h durchgeführt. Limitierend für eine Urinsammlung bei der Mehrzahl der Patienten, besonders bei Patientinnen war eine nach Ganzkörperirradiation induzierte Mukositis mit nachfolgenden Diarrhoen.

2.8.1 Probenaufbereitung

Serum und Urin wurden bei -20°C bis zur Messung gelagert und direkt nach dem Auftauen verarbeitet. Proben wurden doppelt bestimmt. 500 µl Serum wurde mit 100 µl des internen Standards Ifosphamid (200 mg/l) versetzt und danach 4 ml Chloroform zugesetzt. Urin wurde zusätzlich mit 50 mm Phosphatpuffer, pH 7,4 auf 1:5 bis 1:10 verdünnt. In einem Zentrifugenglas mit teflonbeschichtetem Schraubdeckel wurden die Proben 10 min über Kopf geschüttelt. Nach Zentrifugation zur Phasentrennung wurde der wässrige Überstand abgesaugt und der Unterstand in ein zweites Röhrchen aus Glas mit Spitzboden überführt. Unter Stickstoffstrom wurde die Chloroformphase eingedampft. Der Rückstand wurde mit 100 µl Eluentenpuffer aufgenommen und 30 sec. mittels "Whirl-Mixer" gemischt. Per automatischem Probenaufgeber wurden 50 µl auf die HPLC-Säule aufgetragen.

2.8.2 Chromatographische Probenmessung

Die Messungen erfolgten mit einer kontinuierlich auf 40°C erwärmten Säule (RP18, "reversed phase", Servachrom, Partikelgröße 5 µm, irregulärer Octadecyl-Silica, 250 mm x

4,6 mm). Der kontinuierlich entgaste Eluent bestand bei den ersten 10 Patienten aus Acetat-Puffer und Methanol (57/43). Danach wurde 5 mm Acetat-Puffer, pH 5,0 und Acetonitril (75/25) verwendet. Die Flussrate betrug 1 ml/min. Die photometrische Messung erfolgte bei 200 nm.

2.9 Statistik

Deskriptive statistische Auswertungen wurden mit dem Computerprogramm SPSS, Version 6.0.1. für das PC-Betriebssystem "Windows", Version 3.1., erstellt [155]. Vergleiche von Gruppen wurden bei normalverteilten Daten mit dem t-Test, bei nicht normalverteilten Daten nach Mann-Whitney und Kruskal-Wallis bei ungepaarten oder Wilcoxon bei gepaarten Stichproben vorgenommen. Wenn nicht anders angezeigt, wurden zweiseitige Testcharakteristiken verwendet. Das Signifikanzniveau wurde mit $p=0,05$ angenommen. Korrelationen wurde mittels Pearson's-Produkt-Moment-Korrelationsanalyse untersucht.

2.10 Pharmakokinetische Analyse

Pharmakokinetische Größen wurden wie in der Formelsammlung nach Standardmethoden berechnet [43, 80, 127].

2.10.1 Nicht kompartmentgebundene Analyse

Hierzu sind keine Voraussetzungen hinsichtlich der Zahl oder genauen Zuordnung pharmakokinetischer Kompartimente nötig. Berechnungen beruhen auf der Analyse der Fläche unter der Konzentrations-Zeit-Kurve (AUC) und der Fläche unter dem ersten Moment der Konzentrations-Zeit-Kurve (AUMC). Hieraus lassen sich unabhängig von der Annahme einer bestimmten Anzahl pharmakokinetischer Kompartimente mittlere Verweilzeit im Organismus (MRT), Verteilungsvolumen (V_d) und Clearance (Cl_{tot}) sowie die Eliminationskonstante (λ) errechnen. Siehe dazu die Formelsammlung im Anhang. Da für V_d und Cl_{tot} beim Metaboliten Phosphoramid Mustard die zur Berechnung benötigte Dosis prinzipiell nicht bekannt ist, sondern nur geschätzt werden kann, wurden diese Daten im Folgendem nicht weiter berücksichtigt. Zur Flächenberechnung fand die Trapezregel Verwendung, sie wurde ergänzt durch manuelle computergestützte Exploration der terminalen Eliminationsphase in der halblogarithmischen Darstellung [43]. Dadurch wurde

die terminale Halbwertszeit ermittelt. Dabei gilt für die hier verwendete AUC, die Analyse der Fläche unter der Konzentrations-Zeit-Kurve gemessener Werte plus der extrapolierten Fläche, die aus der terminalen Halbwertszeit berechnet wurde. Der Anteil der extrapolierten Fläche an der Gesamtfläche war in der Regel kleiner als 10%.

2.10.2 Kompartimentgebundene Analyse

Kompartimentgebundene Analysen sind klassische Verfahren der Pharmakokinetik, setzen aber die genaue Beschreibung der Verteilung einer Substanz in (fiktive) Körperkompartimente und die Festlegung von Eliminationskompartimenten voraus. Konzentrations-Zeit-Kurven müssen mittels nichtlinearer Regression iterativ an die angenommenen pharmakokinetischen Modelle angepasst werden. Bei Verwendung kompartimentgebundener und nicht kompartimenteller pharmakokinetischer Modelle wurden durchweg lineare pharmakokinetische Zusammenhänge angenommen, also beispielsweise direkte Proportionalität zwischen AUC und Dosis. Pharmakokinetische Berechnungen für Blut- und Serumspiegel wurden mit einem vom Großrechner [25] auf Personalcomputer übertragenen Programm vorgenommen, das den von Marquardt [102] beschriebenen modifizierten Gauss-Newton-Algorithmus zur nichtlinearen Optimierung von Differential-Gleichungssystemen benutzt. Simultane Analysen von Muttersubstanz und Metaboliten sowie Analysen kumulativer Urinkurven wurden mit einem kommerziellen Programmpaket vorgenommen, das ebenfalls den Marquardt-Algorithmus verwendet [67, 159]. Das kommerzielle Programmpaket "Top Fit" in der Version 2.0 diente auch zur Kontrolle des vorgenannten Verfahrens. In allen Fällen wurden nahezu identische Parameter ermittelt. Datenpunkte wurden in der Regel in der Datenanalyse mit dem Reziproken des jeweiligen Konzentrationswertes gewichtet [19].

3 Ergebnisse

Zunächst sollen die Messergebnisse der Serumspiegel und der sich daraus ergebenden pharmakokinetischen Daten der Muttersubstanz Cyclophosphamid aufgeführt werden [24]. Danach werden die Werte des Wirkmetaboliten Phosphoramid Mustard dargestellt, die die eigentliche Grundlage dieser Arbeit bilden. Die beiden Substanzen sollen zunächst getrennt betrachtet werden, da eine unterschiedliche Anzahl an Probanden vorliegt. Anschließend werden diese beiden Gruppen auf mögliche Hinweise zu gegenseitigen Wechselwirkungen untereinander untersucht. Dabei werden nur CP-Patienten berücksichtigt, bei denen auch PM bestimmt wurde. Zum Schluss werden Zusammenhänge mit Komedikation, Patientenmerkmalen oder dem weiteren Krankheitsverlauf u. a. untersucht. In der nachfolgenden Tabelle 03 wird gezeigt, bei welchen Patienten Konzentrationen von Cyclophosphamid und Phosphoramid Mustard bestimmt worden sind. Jede Spalte stellt einen Patienten dar. Die unterschiedliche Kennzeichnung ist historisch bedingt.

CP1	CP2	CP3	CP4	CP5	CP6	CP7	CP8	CP9	CP10	CP11	CP12	CP13	CP14	CP15	CP16	CP17
-	-	-	-	-	-	PM1	PM2	PM3	PM4	PM5	PM6	PM7	PM8	PM9	PM10	PM11
CP18	CP19	CP20	CP21	CP22	CP23	CP24	CP25	CP26	CP27	CP28	CP29	CP30	CP31	CP32	CP33	
PM12	PM13	PM14	PM15	PM16	PM17	PM18	PM19	PM20	PM21	PM22	PM23	PM24	PM25	PM26	-	

*Tab. 03: Darstellung der untersuchten Patientengruppe; 1. Reihe: Cyclophosphamid Patienten (CP)
2. Reihe: Phosphoramid-Mustard-Patienten (PM)*

3.1 Pharmakokinetische Daten von Cyclophosphamid

An beiden Therapietagen waren Cyclophosphamidserumspiegelkurven aller 33 Patienten und Patientinnen an ein pharmakokinetisches 1-Kompartiment-Modell anpassbar. Anhand der Residuen der Regressionsanalyse jedes Datensatzes war eine statistische Tendenz im Sinne verborgener tiefer pharmakokinetischer Kompartimente nicht nachzuweisen. Bei Studienplanung war von unterschiedlichem kinetischen Verhalten an den beiden Behandlungstagen auszugehen. Daten pharmakokinetischer Parameter werden deshalb im folgenden für die einzelnen Therapietage getrennt berichtet.

3.1.1 Eliminationskonstante und Halbwertzeit

Die Cyclophosphamideliminationskonstante lag am ersten Therapietag bei $0,14 \text{ h}^{-1}$, entsprechend einer Eliminationshalbwertzeit von im Mittel $5,34 \text{ h}$. Die individuelle Bandbreite der Eliminationskonstanten reichte von $0,08 \text{ h}^{-1}$ bis $0,23 \text{ h}^{-1}$, sodass die Halbwertzeit zwischen $3,07 \text{ h}$ und $8,81 \text{ h}$ lag. Am zweiten Therapietag wies die Eliminationskonstante ein Mittel von $0,26 \text{ h}^{-1}$ auf, entsprechend einer mittleren Halbwertzeit von $2,82 \text{ h}$. Auch am zweiten Tag waren größere Unterschiede zu verzeichnen. So fanden sich für die Eliminationskonstante Werte zwischen $0,15 \text{ h}^{-1}$ und $0,41 \text{ h}^{-1}$, die einer Halbwertzeit von $1,69 \text{ h}$ bis $4,67 \text{ h}$ gleichkam. Die Eliminationshalbwertzeit war an Tag 2 immer kürzer als an Tag 1 ($p < 0,0001$; Wilcoxon-Test). Sie betrug im Mittel $53,9 \pm 11,3\%$ des Wertes des ersten Tages. Maximal verringerte sie sich auf $32,0\%$, minimal auf $81,3\%$.

3.1.2 Körperclearance

Die beschriebenen Veränderungen der Cyclophosphamid Eliminationshalbwertzeit zwischen Therapietag 1 und 2 spiegeln im wesentlichen Veränderungen wider, die die Körperclearance von Cyclophosphamid erfährt. Es erhöhte sich die Cyclophosphamid-clearance von 106 ml/min am ersten Tag auf 195 ml/min am zweiten. Dies entspricht normierten Werten von im Mittel $59,1 \text{ ml/min/m}^2$ am ersten und 109 ml/min/m^2 am zweiten Tag. Nur bei CP-Patient 8 (entspricht PM-Patient 2) mit einem relativ hohen Wert am ersten Tag stieg die Clearance nur um $4,6\%$ an. Im Mittel betrug der Anstieg für den zweiten Tag $91,5 \pm 60,8\%$ ($p < 0,0001$; Wilcoxon-Test). Der maximale Anstieg betrug 331% . Einzelwerte lagen am ersten Tag zwischen $29,5 \text{ ml/min}$ und 269 ml/min bzw. $15,4 \text{ ml/min/m}^2$ und 143 ml/min/m^2 , am zweiten zwischen $35,1 \text{ ml/min/m}^2$ und 251 ml/min/m^2 .

3.1.3 Verteilungsvolumen

Das fiktive Verteilungsvolumen veränderte sich zwischen den Therapietagen mit im Mittel $45,1 \text{ l}$ (Tag 1) bzw. $44,1 \text{ l}$ (Tag 2) und $0,64 \text{ l/kg}$ bzw. $0,63 \text{ l/kg}$ Körpergewicht ($p > 0,20$; Wilcoxon-Test) nicht. Auch bei diesem Parameter bestand eine hohe Variabilität: 20 l bis 70 l bzw. $0,36 \text{ l/kg}$ bis $0,94 \text{ l/kg}$ an Tag 1 und $0,32 \text{ l/kg}$ bis $1,02 \text{ l/kg}$ an Tag 2.

3.1.4 Renale Elimination

Bei fünf Patienten (CP-Pat 28 bis 32) wurde die renal eliminierte Cyclophosphamidmenge berechnet. Sie lag zwischen $18,9\%$ und $31,6\%$ der applizierten Dosis an Tag 1 und zwischen $10,9\%$ und $26,6\%$ an Tag 2 und betrug somit zwischen $39,3\%$ und $97,8\%$ des Werts an Tag

1 ($n=5$; $p < 0,05$; Wilcoxon-Test mit einseitig exaktem Test). Die renale Clearance änderte sich zwischen den beiden Therapietagen nicht ($p > 0,5$; Wilcoxon-Test) und trug so nicht zur Änderung der renalen Cyclophosphamid Ausscheidung bei.

3.1.5 Metabolische Clearance

Die extrarenale Clearance ergab sich aus der Differenz von Gesamt- und renaler Clearance. Sie war bei den Patienten am zweiten Tag um 42,7% bis 148% größer als am ersten. Damit ist die Zunahme der Gesamtkörperclearance zwischen den Therapietagen ausschließlich durch die Zunahme der extrarenalen (metabolischen) Clearance zu erklären.

3.1.6 Fläche unter Konzentrations-Zeit-Kurve

Die AUC lag zwischen 309 $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{ml}$ und 2032 $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{ml}$ (1109 $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{ml}$ bis 7280 $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{ml}$) an Tag 1, an Tag 2 zwischen 201 $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{ml}$ und 1160 $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{ml}$ (720 $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{ml}$ bis 4158 $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{ml}$). CP-Patient 8 wies mit -12,4% einen nur geringen Abfall auf, das Maximum lag bei -69,5%.

3.2 Pharmakokinetische Daten von Phosphoramid Mustard

Phosphoramid Mustard wurde bei 26 Patienten gemessen. Bei allen Probanden lagen auch Werte für die Muttersubstanz vor. Für die pharmakokinetische Auswertung wurde eine nichtkompartimentelle Analyse verwendet.

3.2.1 Serumkonzentrationen von Phosphoramid Mustard

Die folgenden Diagramme (Abb. 09 bis 34) zeigen die gemessenen Serumkonzentrationen von Phosphoramid Mustard über die Zeit jeweils für den ersten und zweiten Behandlungstag. Maximalwerte wurden an Tag 1 im Mittel nach $3,09 \pm 1,25$ h (max.: 5,47 h; mind.: 1,35 h) erreicht. Für Tag 2 betragen die Werte $2,38 \pm 0,54$ h (max.: 3,18 h; mind.: 1,5 h). Die PM-Höchstwerte lagen am ersten Tag im Durchschnitt bei $13,0 \pm 5,59$ mg/l (max.: 25,0 mg/l; mind.: 1,35 mg/l), am zweiten Tag bei $38,4 \pm 11,4$ mg/l (max.: 76,6 mg/l; mind.: 19,0 mg/l). Die Höchstwerte lagen an Tag 2 immer über den Werten des ersten Tages. Die maximale Steigerung lag bei 1690%, im geringsten Fall bei 40,4% (Mittel: 287%; S. D.: 324%).

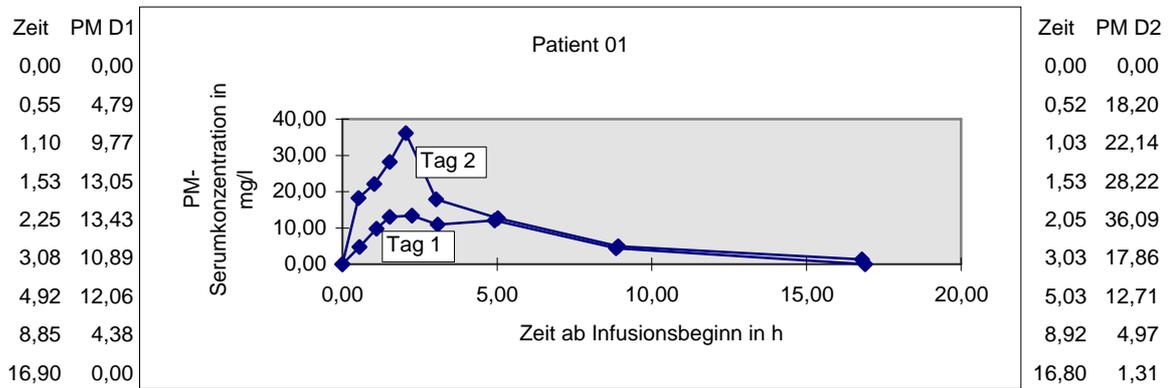


Abb. 09: Patient 01: Serumkonzentrationen von Phosphoramid Mustard (PM) für den ersten und zweiten Therapietag (D1 und D2)

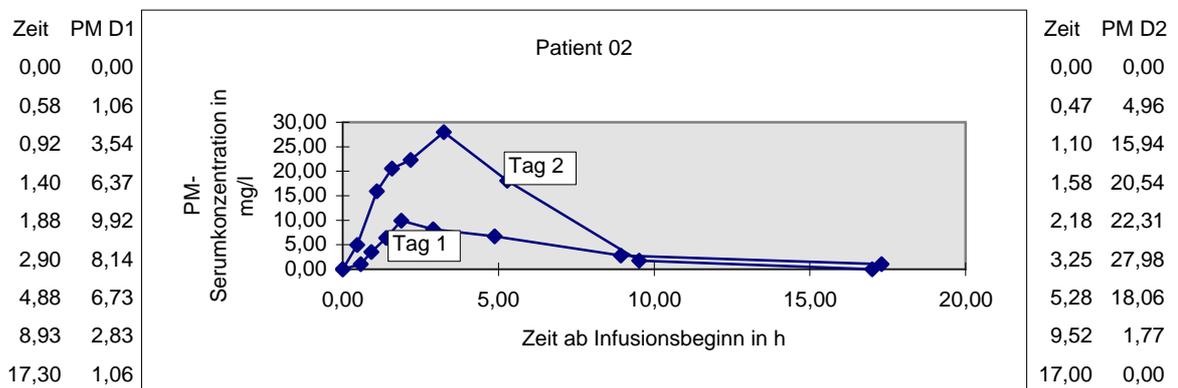


Abb. 10: Patient 02: Serumkonzentrationen von Phosphoramid Mustard (PM) für den ersten und zweiten Therapietag (D1 und D2)

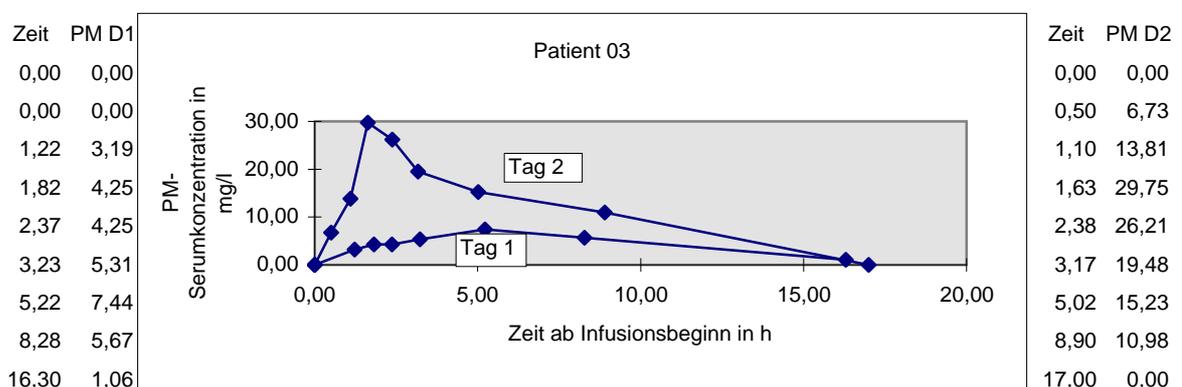


Abb. 11: Patient 03: Serumkonzentrationen von Phosphoramid Mustard (PM) für den ersten und zweiten Therapietag (D1 und D2)

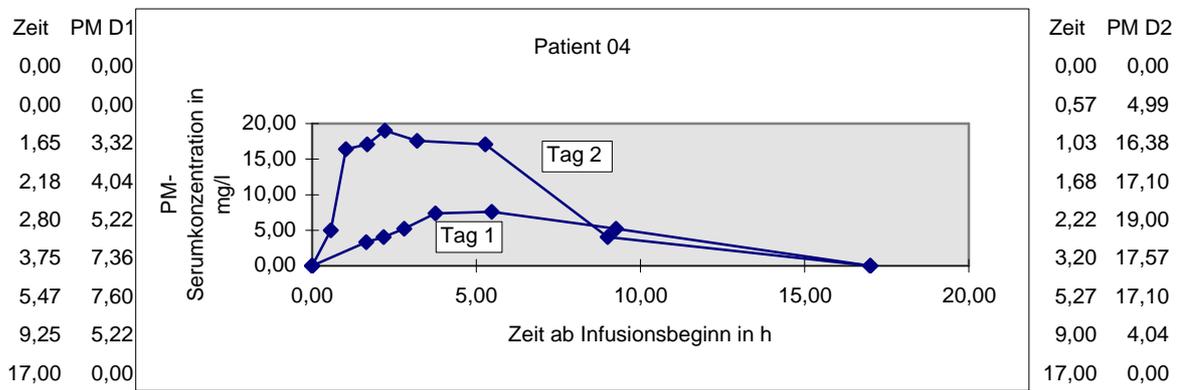


Abb. 12: Patient 04: Serumkonzentrationen von Phosphoramid Mustard (PM) für den ersten und zweiten Therapietag (D1 und D2)

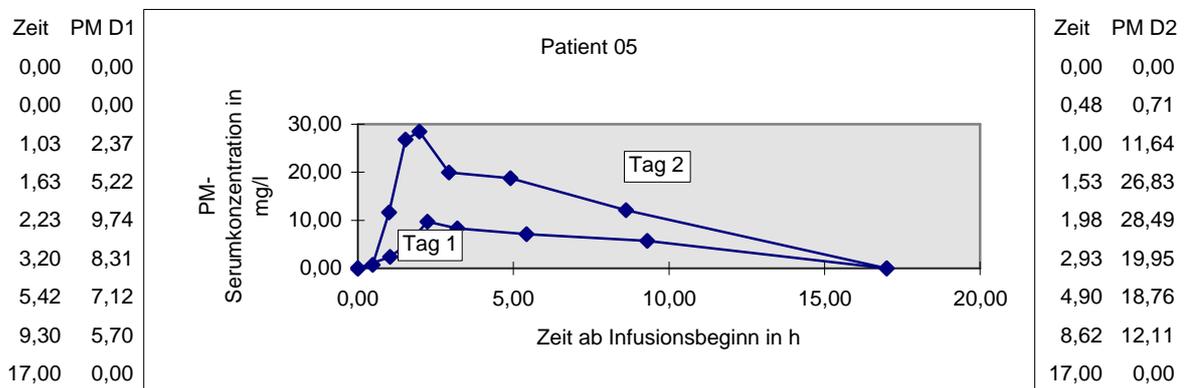


Abb. 13: Patient 05: Serumkonzentrationen von Phosphoramid Mustard (PM) für den ersten und zweiten Therapietag (D1 und D2)

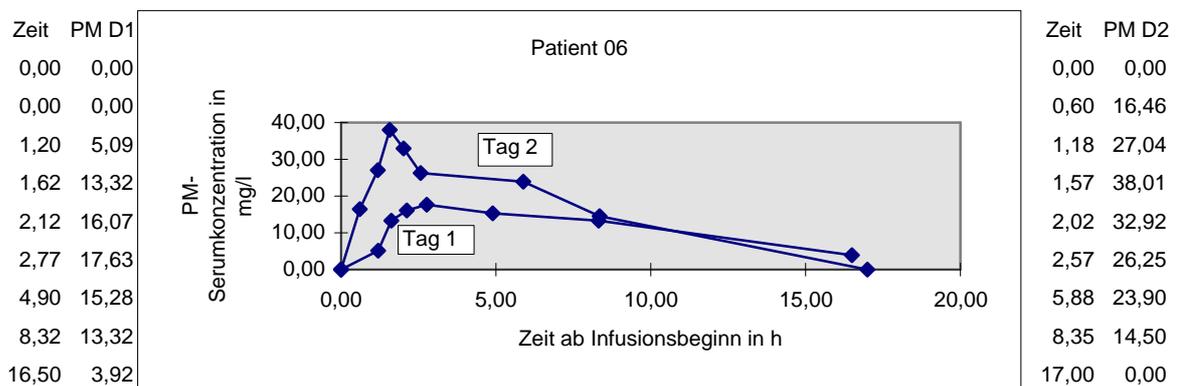


Abb. 14: Patient 06: Serumkonzentrationen von Phosphoramid Mustard (PM) für den ersten und zweiten Therapietag (D1 und D2)

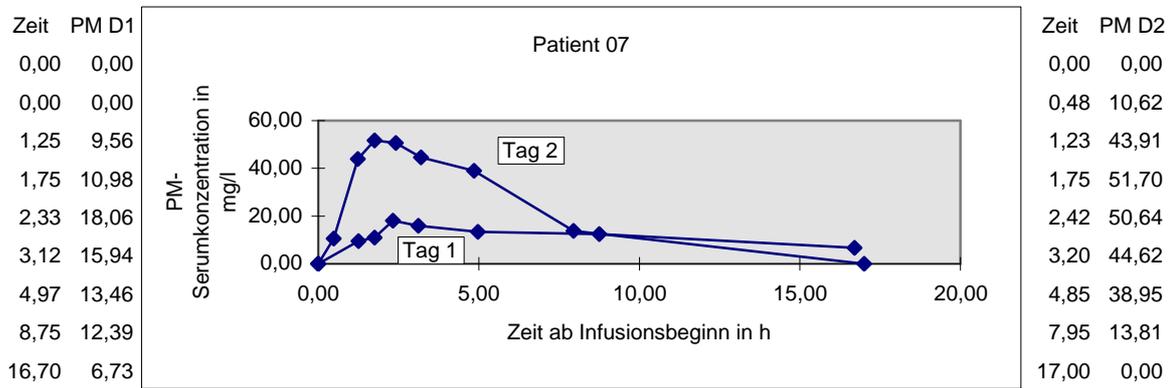


Abb. 15: Patient 07: Serumkonzentrationen von Phosphoramid Mustard (PM) für den ersten und zweiten Therapietag (D1 und D2)

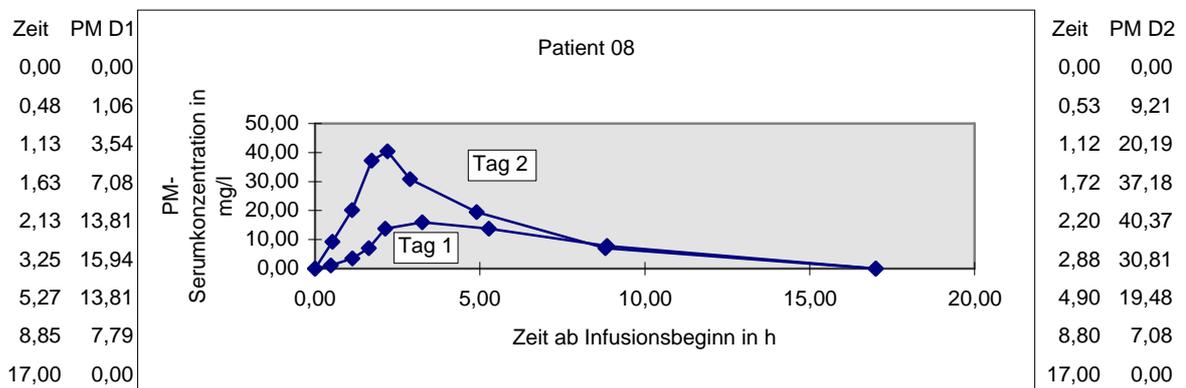


Abb. 16: Patient 08: Serumkonzentrationen von Phosphoramid Mustard (PM) für den ersten und zweiten Therapietag (D1 und D2)

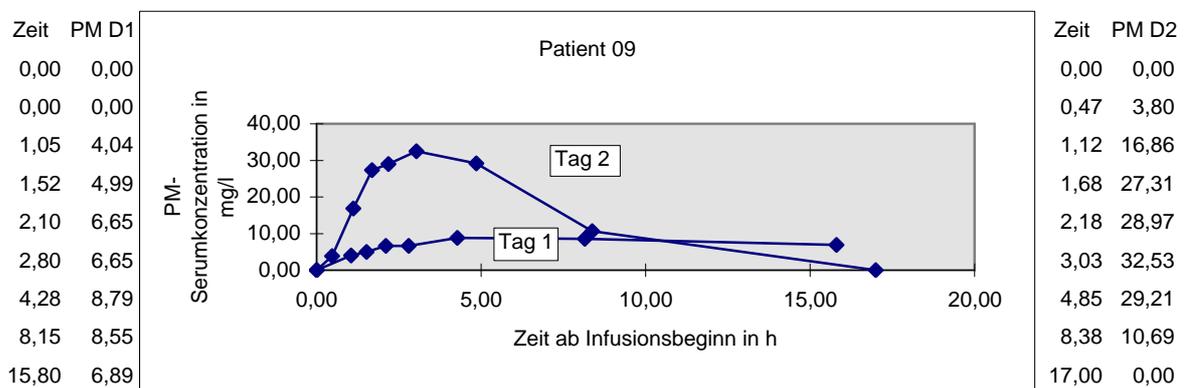


Abb. 17: Patient 09: Serumkonzentrationen von Phosphoramid Mustard (PM) für den ersten und zweiten Therapietag (D1 und D2)

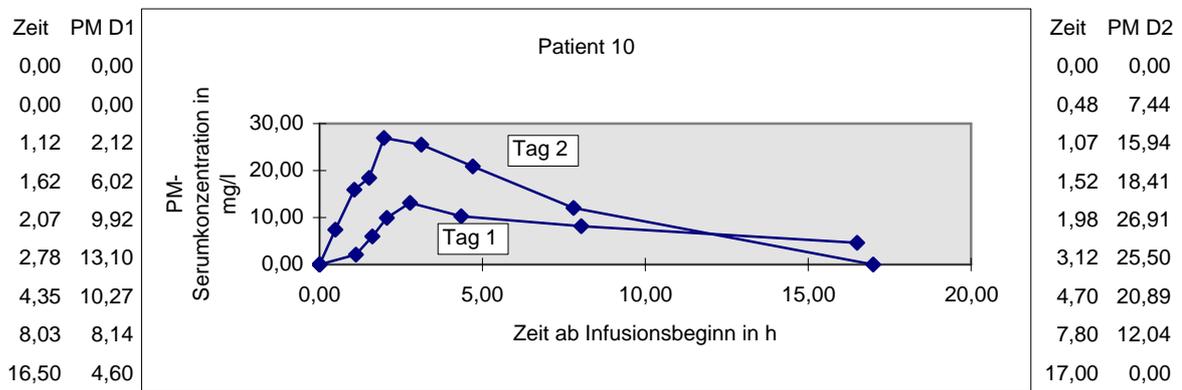


Abb. 18: Patient 10: Serumkonzentrationen von Phosphoramid Mustard (PM) für den ersten und zweiten Therapietag (D1 und D2)

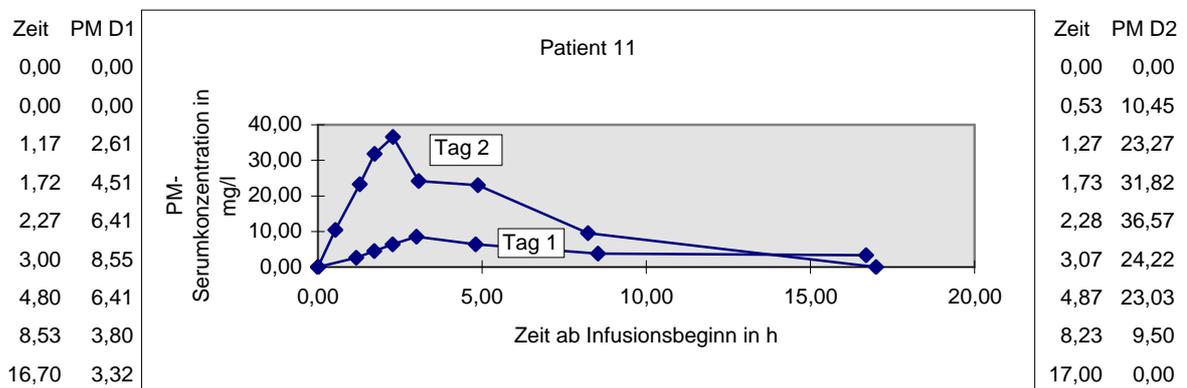


Abb. 19: Patient 11: Serumkonzentrationen von Phosphoramid Mustard (PM) für den ersten und zweiten Therapietag (D1 und D2)

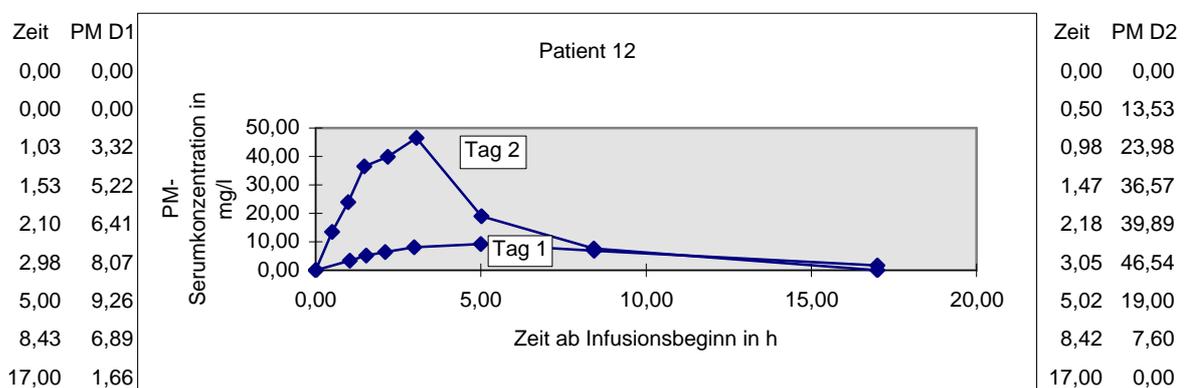


Abb. 20: Patient 12: Serumkonzentrationen von Phosphoramid Mustard (PM) für den ersten und zweiten Therapietag (D1 und D2)

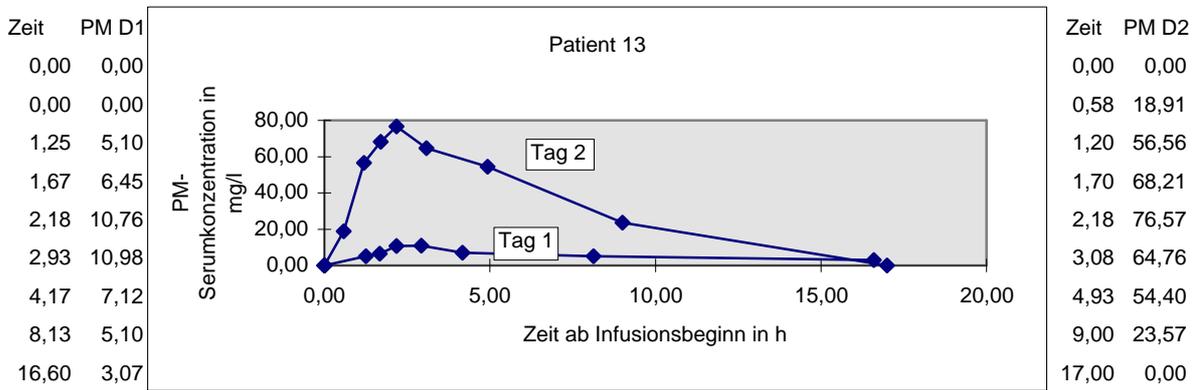


Abb. 21: Patient 13: Serumkonzentrationen von Phosphoramid Mustard (PM) für den ersten und zweiten Therapietag (D1 und D2)

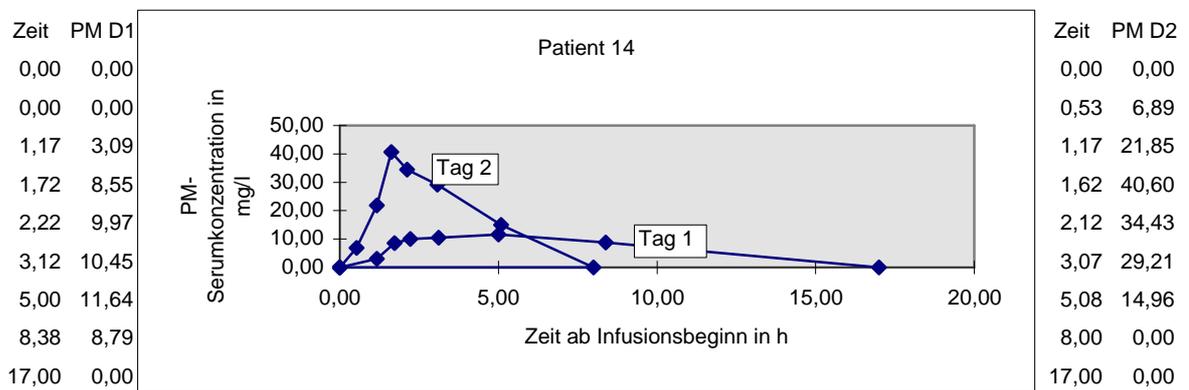


Abb. 22: Patient 14: Serumkonzentrationen von Phosphoramid Mustard (PM) für den ersten und zweiten Therapietag (D1 und D2)

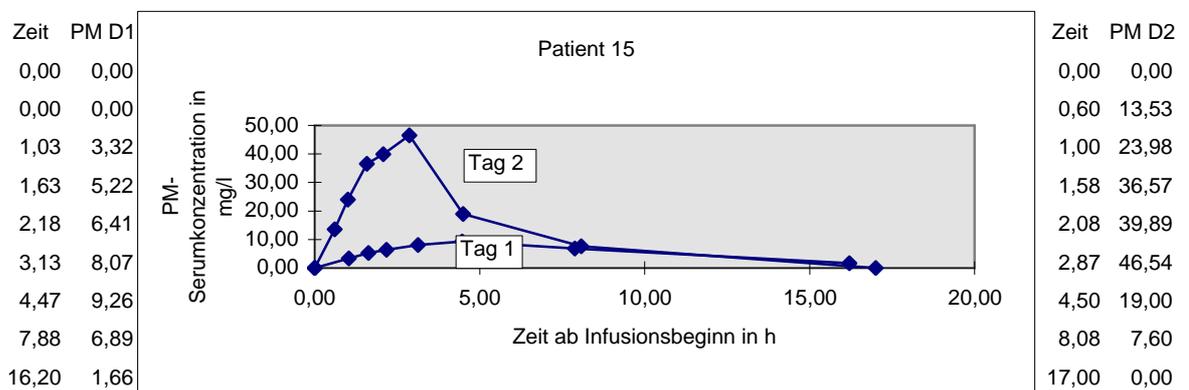


Abb. 23: Patient 15: Serumkonzentrationen von Phosphoramid Mustard (PM) für den ersten und zweiten Therapietag (D1 und D2)

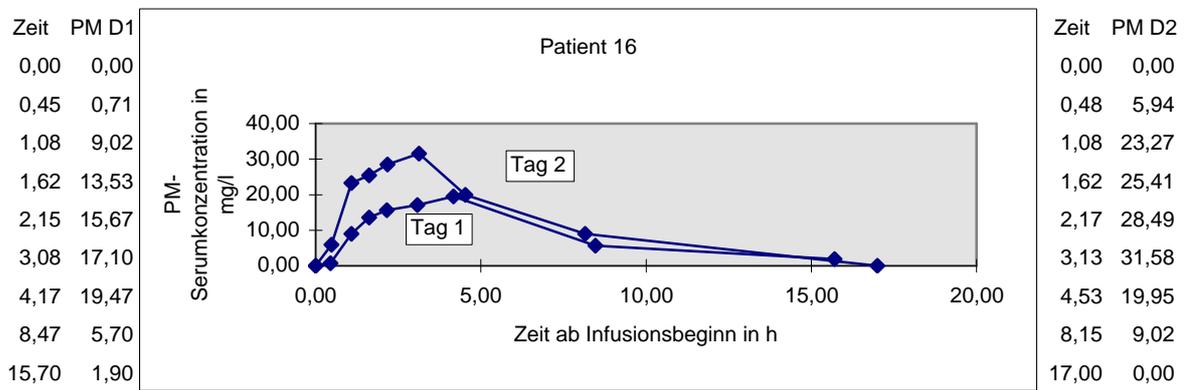


Abb. 24: Patient 16: Serumkonzentrationen von Phosphoramid Mustard (PM) für den ersten und zweiten Therapietag (D1 und D2)

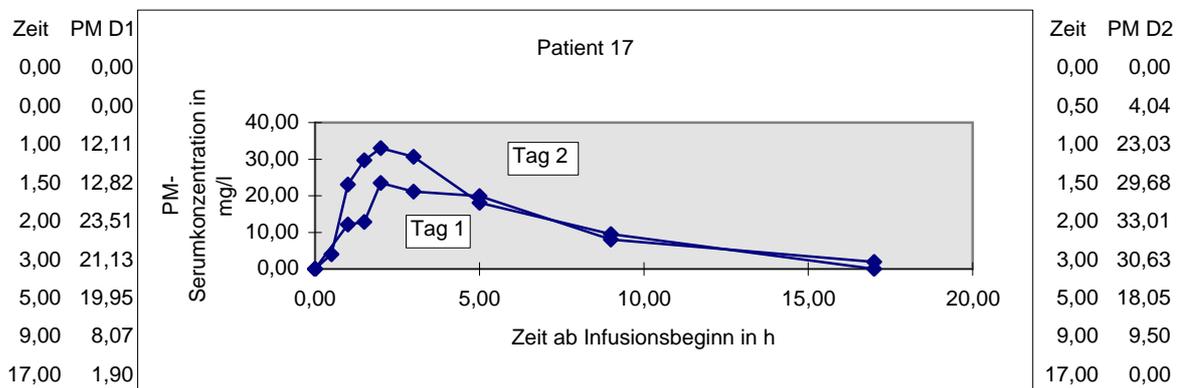


Abb. 25: Patient 17: Serumkonzentrationen von Phosphoramid Mustard (PM) für den ersten und zweiten Therapietag (D1 und D2)

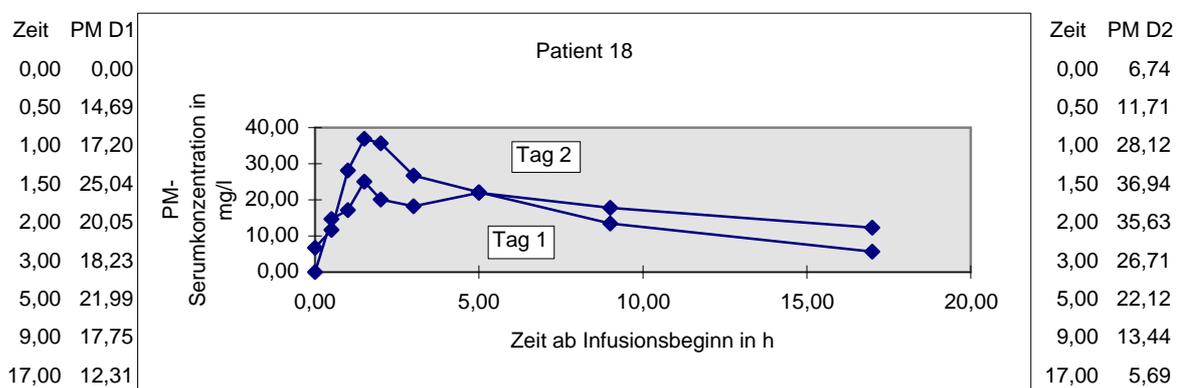


Abb. 26: Patient 18: Serumkonzentrationen von Phosphoramid Mustard (PM) für den ersten und zweiten Therapietag (D1 und D2)

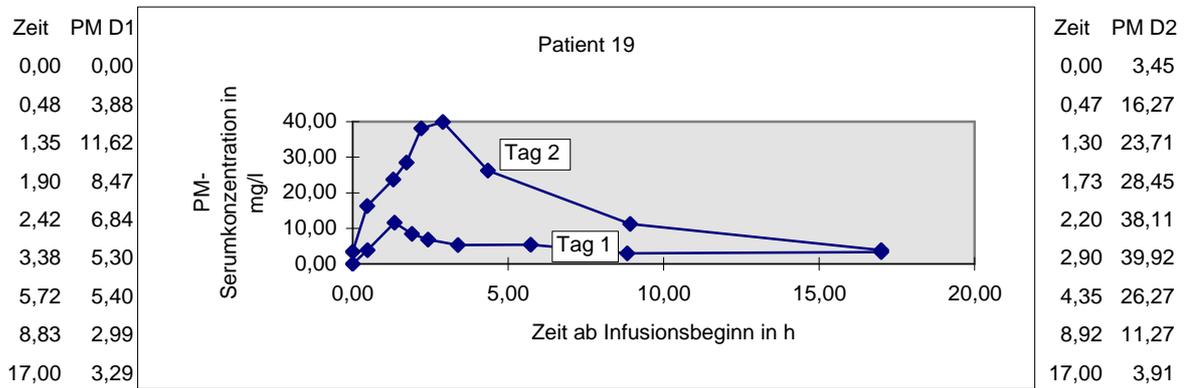


Abb. 27: Patient 19: Serumkonzentrationen von Phosphoramid Mustard (PM) für den ersten und zweiten Therapietag (D1 und D2)

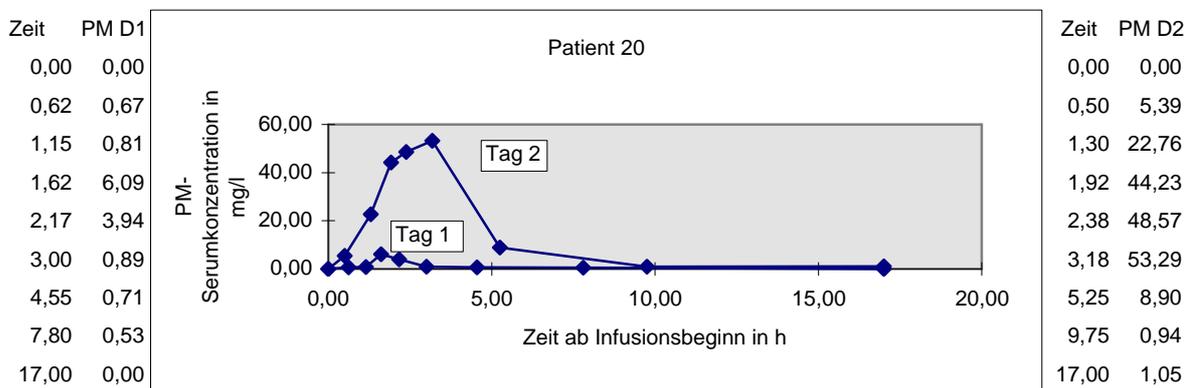


Abb. 28: Patient 20: Serumkonzentrationen von Phosphoramid Mustard (PM) für den ersten und zweiten Therapietag (D1 und D2)

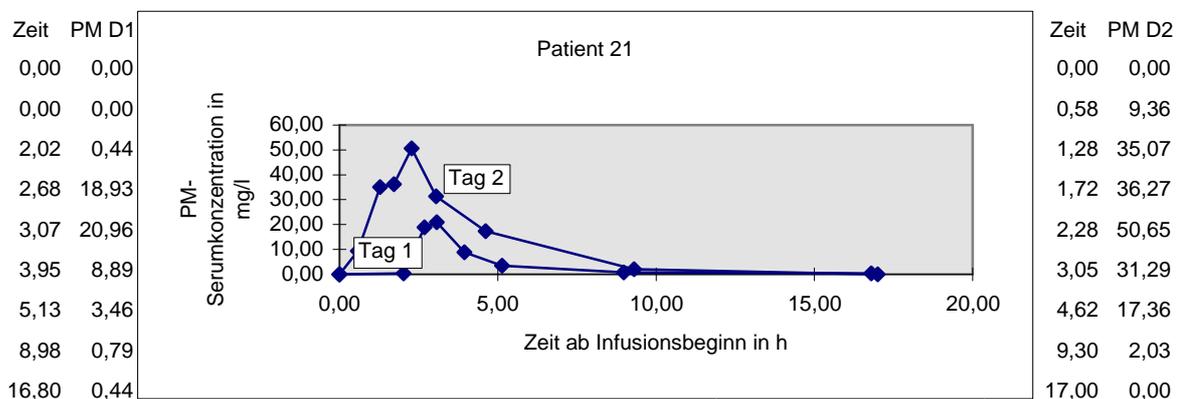


Abb. 29: Patient 21: Serumkonzentrationen von Phosphoramid Mustard (PM) für den ersten und zweiten Therapietag (D1 und D2)

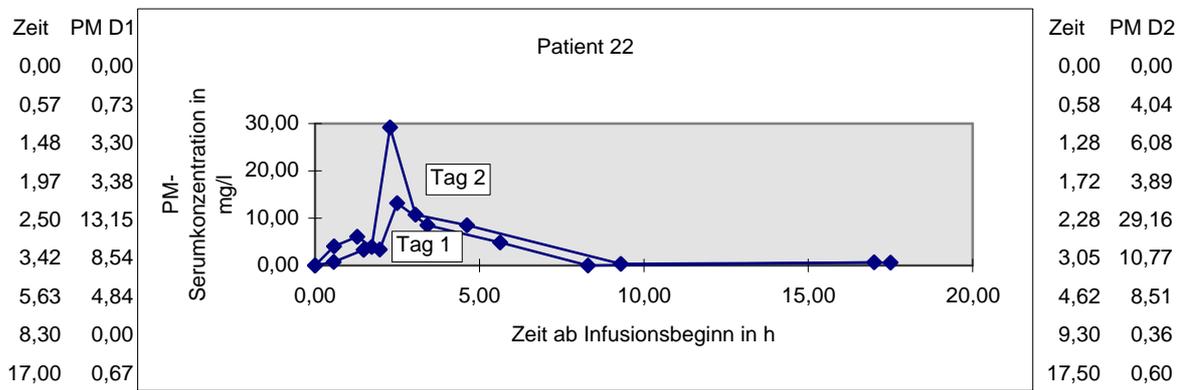


Abb. 30: Patient 22: Serumkonzentrationen von Phosphoramid Mustard (PM) für den ersten und zweiten Therapietag (D1 und D2)

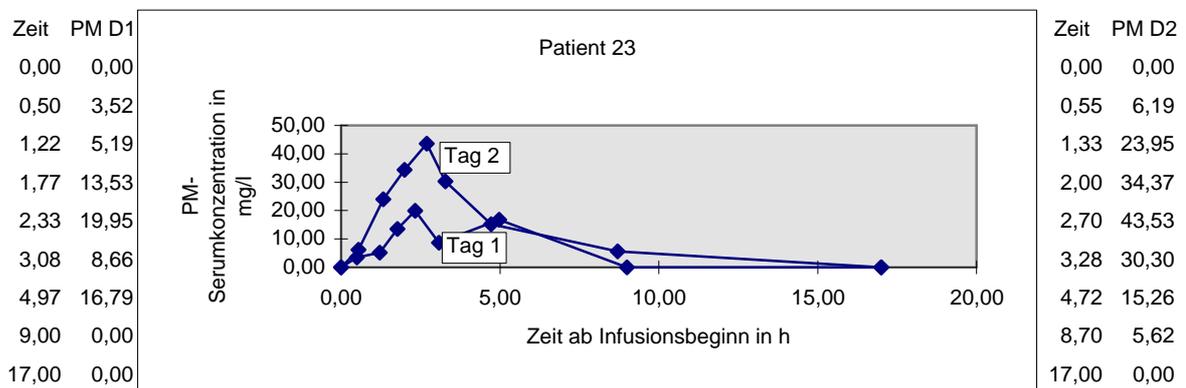


Abb. 31: Patient 23: Serumkonzentrationen von Phosphoramid Mustard (PM) für den ersten und zweiten Therapietag (D1 und D2)

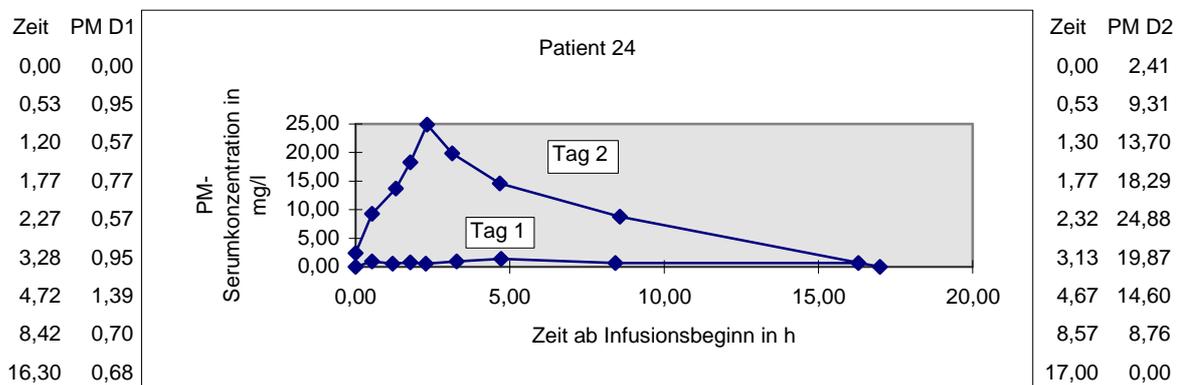


Abb. 32: Patient 24: Serumkonzentrationen von Phosphoramid Mustard (PM) für den ersten und zweiten Therapietag (D1 und D2)

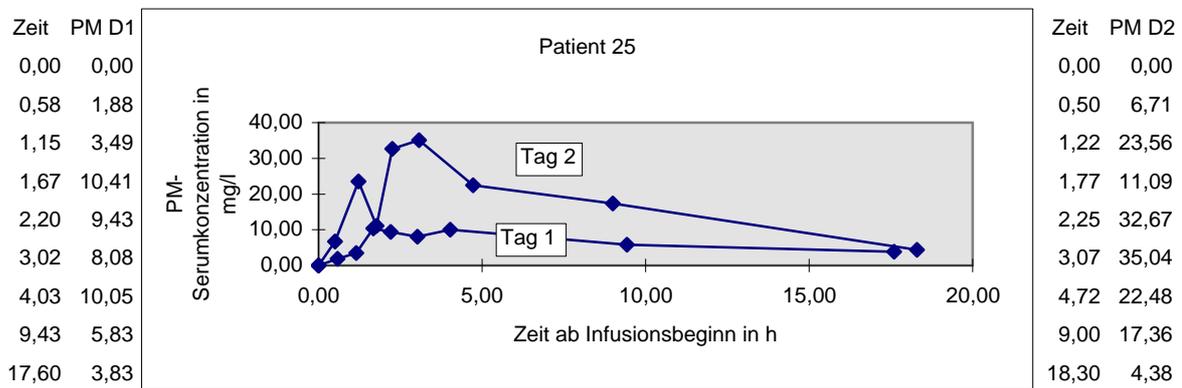


Abb. 33: Patient 25: Serumkonzentrationen von Phosphoramid Mustard (PM) für den ersten und zweiten Therapietag (D1 und D2)

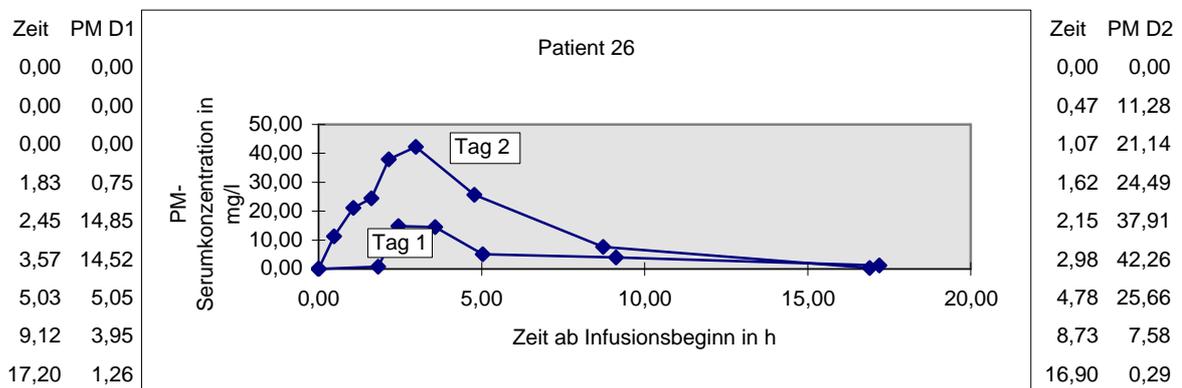


Abb. 34: Patient 26: Serumkonzentrationen von Phosphoramid Mustard (PM) für den ersten und zweiten Therapietag (D1 und D2)

3.2.2 Übersichtstabellen

In den nachfolgenden Tabellen werden die Ergebnisse der pharmakokinetischen Berechnungen von Phosphoramid Mustard für beide Behandlungstage einzeln dargestellt. Berechnet wurden für die beiden Cyclophosphamidbehandlungstage jeweils die Körperclearance (Cl_{tot}), die Fläche unter der Konzentrations-Zeit-Kurve (AUC), die Halbwertszeit (half-life), die Maximalkonzentration (C_{max}), die Zeit bis zum Erreichen der Maximalkonzentration (T_{max}), die Eliminationskonstante (λ) und das Verteilungsvolumen (V_d).

1. Tag	Cl _{tot}	AUC	C _{max}	T _{max}	lambda	half-life	Vd
Pat. Nr.	ml/min/m ²	mg·h/l	mg/l	h	h ⁻¹	h	l/kg
01	679	102	13,4	1,88	0,25	2,77	208
02	698	71,7	9,92	2,25	0,15	4,52	286
03	938	76,4	7,44	5,22	0,18	3,80	407
04	566	129	7,60	5,47	0,07	10,1	535
05	426	137	9,74	2,23	0,07	9,71	381
06	271	218	17,6	2,77	0,11	6,22	155
07	285	293	18,1	2,33	0,06	10,8	274
08	428	156	15,9	3,25	0,13	5,27	224
09	176	360	8,79	4,28	0,03	24,5	388
10	446	183	13,1	2,78	0,07	9,53	391
11	631	119	8,55	3,00	0,07	10,6	618
12	575	107	9,26	5,00	0,15	4,70	282
13	629	119	11,0	2,93	0,09	7,80	446
14	408	180	11,6	5,00	0,08	8,34	327
15	696	101	9,26	4,47	0,15	4,60	327
16	595	143	19,5	4,17	0,20	3,53	203
17	314	191	23,5	2,00	0,18	3,84	114
18	143	467	25,0	1,50	0,06	11,0	141
19	539	111	11,6	1,35	0,07	9,77	460
20	5725	15,1	6,09	1,62	0,11	6,59	2439
21	1066	50,2	21,0	3,07	0,16	4,27	333
22	875	68,6	13,2	2,50	0,19	3,63	282
23	1517	46,2	20,0	2,33	0,54	1,29	228
24	2798	25,0	1,39	4,72	0,05	13,20	3386
25	433	162	10,4	1,67	0,07	9,93	388
26	851	82,3	14,9	2,45	0,16	4,24	369
Mittel	873	143	13,0	3,09	0,16	7,49	523
S. D.	1098	99,9	5,59	1,25	0,17	4,62	712

2. Tag	Cl _{tot}	AUC	C _{max}	T _{max}	lambda	half-life	Vd
Pat. Nr.	ml/min/m ²	mg·h/l	mg/l	h	h ⁻¹	h	l/kg
01	391	177	36,1	2,18	0,19	3,68	111
02	356	141	28,0	3,03	0,49	1,43	70,3
03	330	217	29,8	1,63	0,13	5,17	155
04	517	141	19,0	2,22	0,23	3,01	150
05	233	250	28,5	1,98	0,11	6,09	130
06	183	322	38,0	1,57	0,12	5,80	93,6
07	243	343	51,7	1,75	0,21	3,24	71,6
08	332	201	40,4	2,20	0,26	2,69	85,9
09	263	241	32,5	3,03	0,22	3,17	84,1
10	372	219	26,9	1,98	0,16	4,26	151
11	348	216	36,6	2,28	0,21	3,33	108
12	276	224	46,5	3,05	0,33	2,10	61,3
13	131	572	76,6	2,18	0,17	4,05	48,6
14	426	172	40,6	1,62	0,29	2,43	101
15	341	205	46,5	2,87	0,33	2,08	74,8
16	442	192	31,6	3,13	0,24	2,85	125
17	272	221	33,0	2,00	0,19	3,65	92,0
18	207	322	36,9	1,50	0,12	5,79	102
19	229	263	39,9	2,90	0,20	3,40	73,4
20	475	182	53,3	3,18	0,62	1,13	71,9
21	305	181	50,7	2,28	0,45	1,54	50,7
22	817	73,4	29,2	2,28	0,21	3,25	182
23	405	173	43,5	2,70	0,33	2,12	89,1
24	404	173	24,9	2,32	0,16	4,31	162
25	211	332	35,0	3,07	0,13	5,31	102
26	298	235	42,3	2,98	0,36	1,91	71,0
Mittel	339	230	38,4	2,38	0,25	3,38	101
S. D.	133	91,7	11,4	0,54	0,12	1,38	35,2

Tab. 04: Pharmakokinetische Daten von Phosphoramid Mustard, 1. und 2. Therapietag; Maximalwerte und Minimalwerte hervorgehoben

3.2.3 Eliminationskonstante und Halbwertzeit

Die Eliminationskonstante betrug im Mittel $0,16 \pm 0,17 \text{ h}^{-1}$ für Tag 1 (max.: $0,83 \text{ h}^{-1}$; mind.: $0,03 \text{ h}^{-1}$). Das entspricht einer Halbwertzeit von im Mittel $7,49 \pm 4,62 \text{ h}$ (max.: $24,5 \text{ h}$; mind.: $1,30 \text{ h}$). Am Tag 2 betrug die entsprechenden Werte für λ $0,25 \pm 0,12 \text{ h}^{-1}$ (max.: $0,62 \text{ h}^{-1}$; mind.: $0,11 \text{ h}^{-1}$) und für die Halbwertzeit $3,38 \pm 1,38 \text{ h}$ (max.: $6,09 \text{ h}$; mind.: $1,13 \text{ h}$).

3.2.4 Körperclearance und Verteilungsvolumen

Da Phosphoramid Mustard nicht im Urin bestimmt wurde, konnte keine renale bzw. metabolische Clearance sondern nur die totale Körperclearance bestimmt werden. Zusätzlich kann die Körperclearance nur über die Dosis berechnet werden (Gl. 4 und Gl. 5, siehe Formelsammlung). Da der Anteil der Muttersubstanz, der in PM umgewandelt wird, aber nicht bekannt ist, kann die Dosis nicht exakt bestimmt werden. So werden diese Daten bei den vergleichenden, statistischen Berechnungen nicht berücksichtigt. Gleiches gilt für das Verteilungsvolumen, welches auch über die Dosis berechnet wird (Gl. 5, Formelsammlung) und ebenfalls nicht bei vergleichenden Untersuchungen verwendet wurde.

3.2.5 Fläche unter Konzentrations-Zeit-Kurve

Die nachfolgenden Werte beruhen auf Berechnungen der Serumkonzentrations-Zeitkurven mit der Trapezregel und anschließender Exploration. Die AUC-Werte lagen nach der ersten Infusion bei im Durchschnitt $143 \pm 99,9 \text{ mg}\cdot\text{h/l}$ (max.: $467 \text{ mg}\cdot\text{h/l}$; mind.: $15,1 \text{ mg}\cdot\text{h/l}$), nach der zweiten bei $230 \pm 92,0 \text{ mg}\cdot\text{h/l}$ (max.: $572 \text{ mg}\cdot\text{h/l}$; mind.: $73,4 \text{ mg}\cdot\text{h/l}$). Damit war die AUC von PM am zweiten Applikationstag bei fast allen Patienten und Patientinnen größer als am ersten. Der durchschnittliche Anstieg betrug $87,6 \pm 107 \text{ mg}\cdot\text{h/l}$ (max.: $453 \text{ mg}\cdot\text{h/l}$). Dies entspricht im Durchschnitt einer Zunahme gegenüber dem Ausgangswert von 172%. Bei zwei Behandelten (PM-Pat. 9 und 18) kam es allerdings zu einer Verminderung der AUC um jeweils ca. 30%. In zwei Fällen (PM-Pat. 14, PM-Pat. 22) waren die Werte für die beiden Tage in etwa übereinstimmend mit einer nur geringen Zu- bzw. Abnahme.

3.3 Statistische Zusammenhänge

Aufgrund der bei allen pharmakokinetischen Daten bestehenden starken interindividuellen Variabilität wurde untersucht, ob mit statistischen Berechnungen Faktoren, die Einfluss auf

die berechneten Daten zeigten, verifiziert werden konnten. Bezug genommen wurde zum einen auf die Muttersubstanz ausschließlich unter Berücksichtigung der Körperclearance ($CP\ Cl_{tot}$) und deren Anstieg an beiden Applikationstagen ($CP\ Cl_{diff}$; [24]). Zum anderen wurden die Phosphoramid-Mustard-Werte dahingehend untersucht, wieweit gegenseitige Wechselwirkungen mit Kofaktoren nachweisbar waren. Berücksichtigung erfuhren die maximalen Serumkonzentrationen von PM (C_{max}), die Flächen unter den Konzentrations-Zeit-Kurven (AUC) und die Differenz der AUC-Werte zwischen Tag 1 und Tag 2 (AUC_{diff}) als Maß für die Abweichung zwischen den beiden Applikationen. Das Verteilungsvolumen (V_d) und die totale Körperclearance (Cl_{tot}) wurden aus unter 3.2.4 genannten Gründen nicht berücksichtigt. In einzelnen Fällen wurde die Eliminationskonstante (λ) mitverwendet.

3.3.1 Wechselwirkungen zwischen Phosphoramid Mustard und Cyclophosphamid

An dieser Stelle wurde untersucht, ob pharmakokinetische Parameter von Phosphoramid Mustard einen statistischen Zusammenhang mit der totalen Körperclearance von Cyclophosphamid zeigten. Neben der $CP\ Cl_{tot}$ von Tag 1 und Tag 2 wurde die Differenz dieser beiden Werte $CP\ Cl_{diff}$ berücksichtigt. Hiermit sollte festgestellt werden, ob die pharmakokinetischen Parameter der Muttersubstanz anhand der $CP\ Cl_{tot}$ mit den Daten des Metaboliten in Verbindung standen. Dabei fiel eine positive Korrelation der Cyclophosphamidclearance an beiden Applikationstagen zur PM AUC von Tag 1 auf (Pearson, $p=0,049$; $r^2=0,39$ Tag 1 und $p=0,018$; $r^2=0,46$ Tag 2).

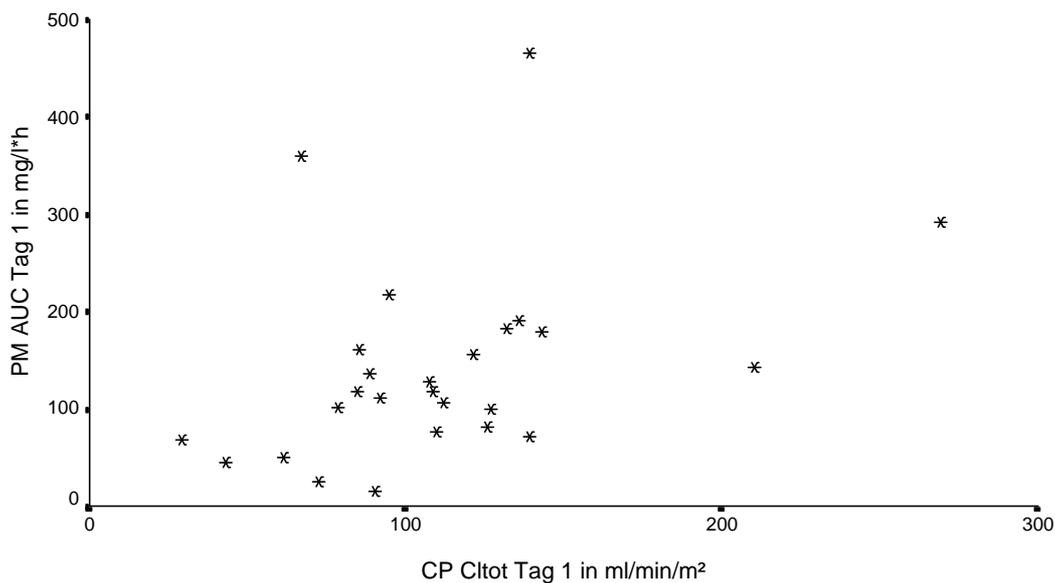


Abb. 35: Größere Phosphoramid-Mustard-Fläche unter Konzentrations-Zeit-Kurve (PM AUC) Tag 1 bei höherer Cyclophosphamidclearance ($CP\ Cl_{tot}$) Tag 1; Pearson, $p=0,049$

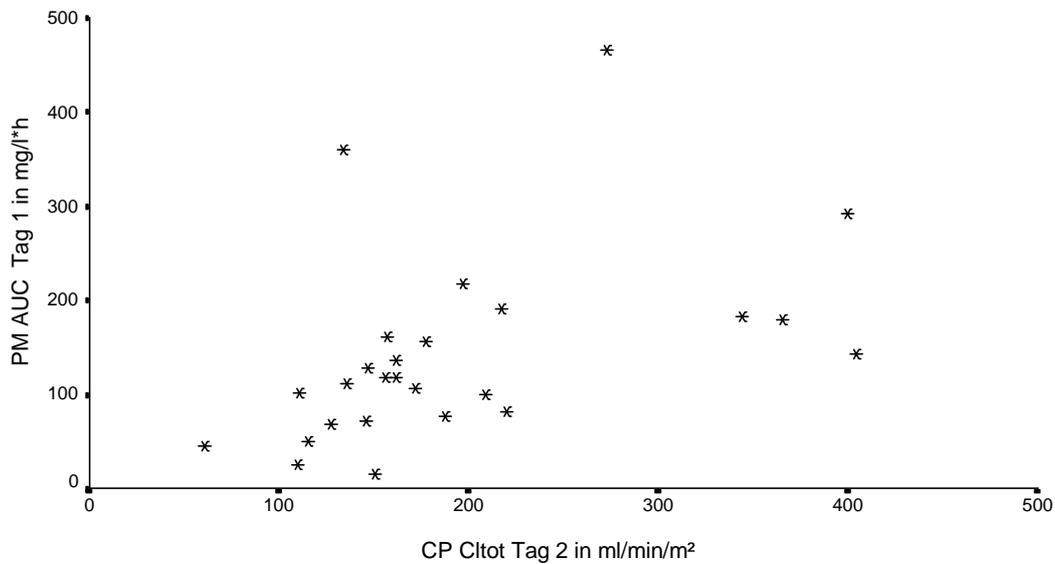


Abb. 36: Größere Phosphoramid-Mustard-Fläche unter Konzentrations-Zeit-Kurve (PM AUC) Tag 1 bei höherer Cyclophosphamidclearance (CP Cl_{tot}) Tag 2; Pearson, $p=0,018$

Somit war eine höhere PM AUC an Tag 1 mit einer größeren CP-Clearance des ersten Tages aber auch des zweiten verbunden. In den Abb. 35 und 36 wird dieses für die beiden Infusionstage getrennt dargestellt. Zwischen der PM AUC Tag 2 zeigte sich keine statistische Verbindung zur CP Cl_{tot} (Pearson, $p=0,206$; $r^2=0,26$ Tag 1 und $p=0,410$; $r^2=0,17$ Tag 2).

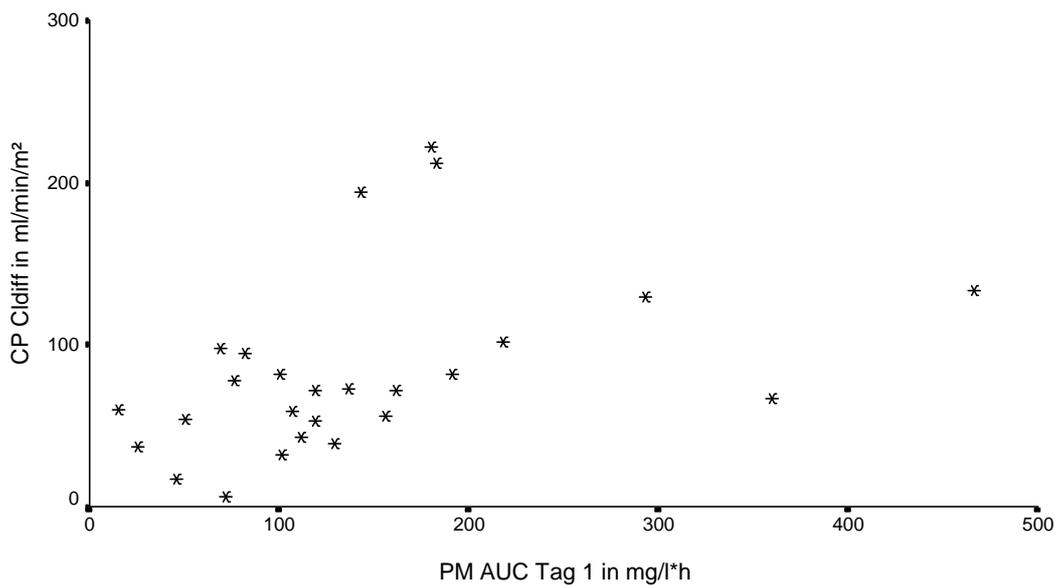


Abb. 37: Größere Phosphoramid-Mustard-Fläche unter Konzentrations-Zeit-Kurve (PM AUC) Tag 1 bei größerer Differenz der Cyclophosphamidclearance (CP Cl_{diff}) von Tag 1 auf Tag 2, Pearson, $p=0,035$

Eine Korrelation mit eingeschränktem Signifikanzniveau zeigte sich zu der PM-Maximalkonzentration an Tag 1 und der CP Cl_{tot} Tag 2 in dem Sinne, dass höhere PM C_{max} des ersten Tages mit einer höheren CP-Körperclearance an Tag 2 korrelierten (Pearson, $p=0,088$; $r^2=0,34$). Als Maß für die Induktion wurde die PM AUC Tag 1 mit der Differenz der Cyclophosphamidclearance beider Applikationstage korreliert. Hier zeigte sich, dass eine größere PM AUC des ersten Tages zu einem vermehrten Clearanceanstieg vom ersten auf den zweiten Applikationstag führte (Pearson, $p=0,035$; $r^2=0,41$), siehe dazu Abb. 37. CP Cl_{diff} und PM AUC_{diff} zeigten untereinander eine Korrelation mit eingeschränktem Signifikanzniveau. Dabei war ein höherer Anstieg der CP-Clearance von Tag 1 auf Tag 2 mit einem kleineren Anstieg der PM AUC_{diff} verbunden (Pearson, $p=0,084$; $r^2=-0,34$).

3.3.2 Alter

Hier wurde untersucht, ob sich bei den pharmakokinetischen Daten eine Altersabhängigkeit feststellen lies. Für jeweils den ersten und zweiten Therapietag wurde eine leichte positive Korrelation zwischen normierter Körperclearance von Cyclophosphamid und dem Alter der Patienten gefunden (Pearson, $p<0,01$; $r^2=0,26$). Wie in Abb. 38 und Abb. 39 für den ersten und zweiten Tag dargestellt, zeigten Patienten mit zunehmendem Alter höhere CP-Clearancewerte. Gleiches gilt dementsprechend für den CP-Clearanceanstieg von Tag 1 auf Tag 2 (Pearson, $p=0,006$; $r^2=0,53$).

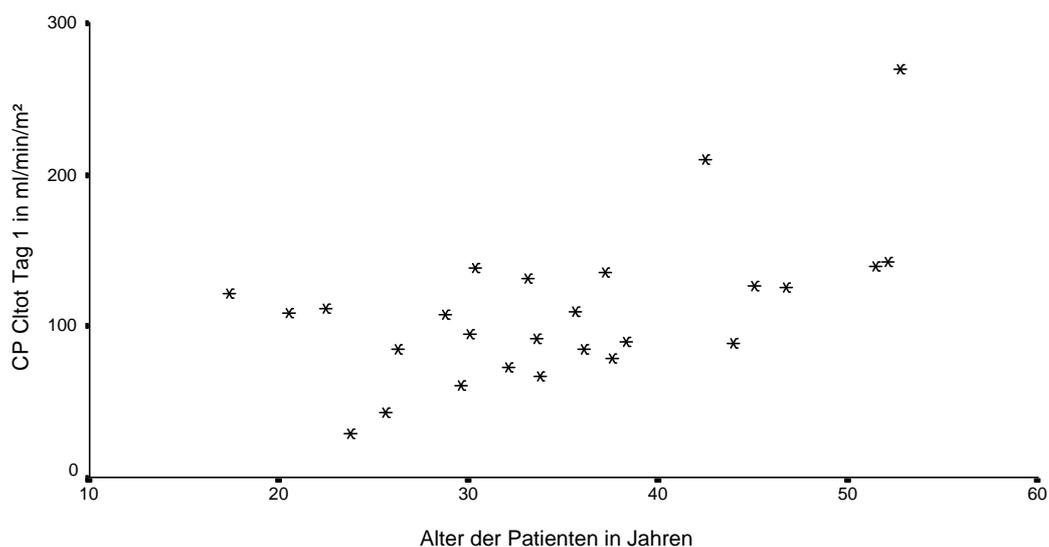


Abb. 38: Verteilung der Cyclophosphamidclearance (CP Cl_{tot}) Tag 1 nach dem Patientenalter, Pearson, $p<0,01$

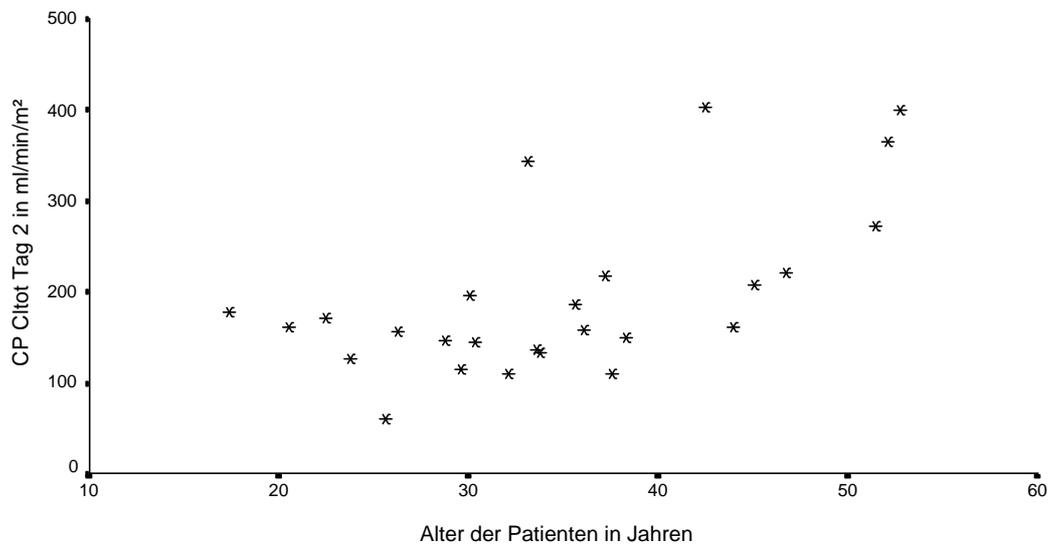


Abb. 39: Verteilung der Cyclophosphamidclearance ($CP Cl_{tot}$) Tag 2 nach dem Patientenalter
 Pearson, $p < 0,01$

Bezogen auf den Metaboliten zeigte sich zum Alter eine Beziehung zur PM AUC an Tag 1 (Pearson, $p = 0,039$; $r^2 = 0,41$) sowie eine negative Korrelation mit eingeschränkter Signifikanz zum Anstieg der AUC von Tag 1 auf Tag 2 (Pearson, $p = 0,086$; $r^2 = -0,34$), wie in Abb. 40 gezeigt. Somit war ein höheres Alter mit einer höheren AUC von Phosphoramid Mustard an Tag 1 verbunden, aber mit einem niedrigeren Anstieg der AUC von Tag 1 auf Tag 2. Bei PM C_{max} und λ bestand kein Zusammenhang mit dem Alter.

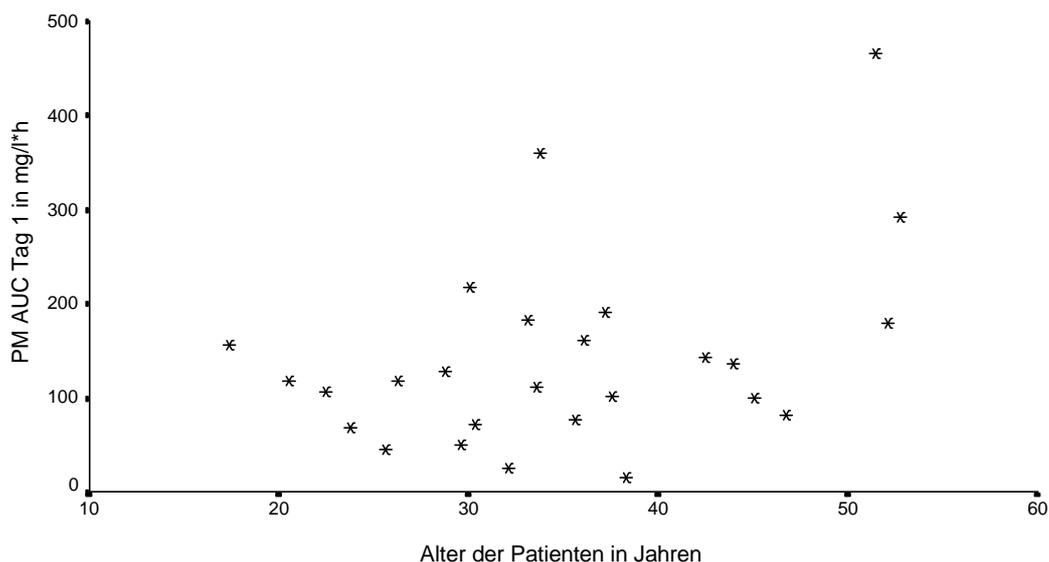


Abb. 40: Höhere Phosphoramid-Mustard-Fläche unter Konzentrations-Zeit-Kurve (PM AUC) Tag 1 bei höherem Patientenalter, Pearson, $p = 0,039$

3.3.3 Geschlecht

Bei allen pharmakokinetischen PM-Parametern fanden sich keine geschlechtsbezogenen Unterschiede, wie in Abb. 41 für die PM AUC exemplarisch dargestellt.

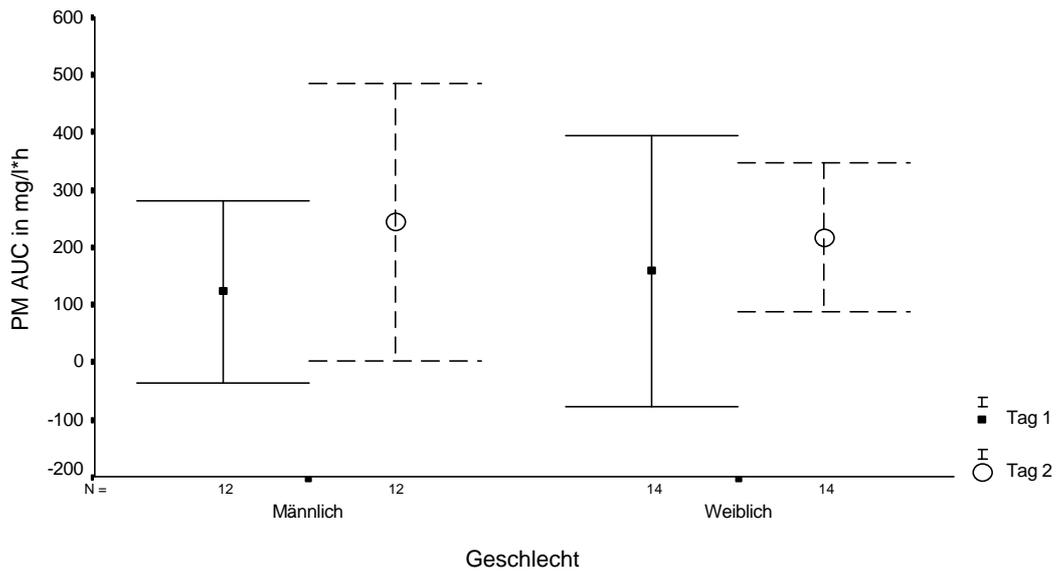


Abb. 41: Phosphoramid-Mustard-Fläche unter Konzentrations-Zeit-Kurve (PM AUC), Vergleich beider Applikationstage für männliche und weibliche Probanden, angegeben sind Mittelwerte und Standardabweichung, U-Test, $p > 0,05$

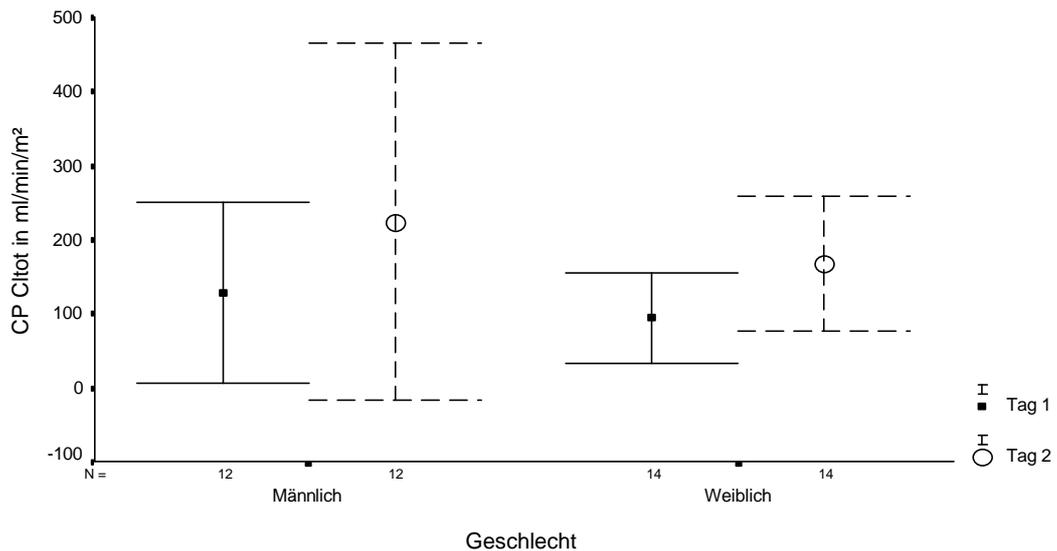


Abb. 42: Cyclophosphamidclearance ($CP Cl_{tot}$), Vergleich beider Applikationstage für männliche und weibliche Probanden, angegeben sind Mittelwerte und Standardabweichung, U-Test, $p < 0,01$

Bezogen auf Cyclophosphamid zeigte sich bei der Körperclearance ein statistisch signifikanter Unterschied zwischen den Geschlechtern jeweils für beide Behandlungstage ($p < 0,01$; Mann-Whitney-U-Test), wie Abb. 42 veranschaulicht. Bei männlichen Patienten betrug die Körperclearance am ersten Tag $76,5 \pm 30,1$ ml/min/m², bei weiblichen war sie deutlich niedriger mit $51,4 \pm 12,3$ ml/min/m². Bei den Männern stieg die Clearance am zweiten Tag auf $145,9 \pm 52,0$ ml/min/m². Patientinnen wiesen auch am zweiten Applikationstag mit $90,7 \pm 18,8$ ml/min/m² einen deutlich niedrigeren Wert auf.

3.3.4 Krankheitsverlauf vor und nach Knochenmarktransplantation

Diesem Punkt lag die Frage zugrunde, ob die Art der Grunderkrankung und Unterschiede des bisherigen Krankheitsverlaufs Einfluss auf die pharmakokinetischen Daten von Phosphoramid Mustard zeigten. Für die Grunderkrankung, Dauer der Erkrankung bis zum Transplantationsdatum und dem Remissionsstadium vor der Knochenmarktransplantation zeigten sich keine Verbindungen zu der AUC und den maximalen Serumkonzentrationen an beiden Behandlungstagen. Gleiches galt für die Cyclophosphamidclearance. Neben den Einflüssen des vorherigen Krankheitsverlaufes sollte auch überprüft werden, ob sich Unterschiede in den pharmakokinetischen Daten von PM und Cyclophosphamid im weiteren Krankheitsverlauf nach KMT niederschlugen. Untersucht wurde der Einfluss auf die Dauer der myeloablativen Phase, die Dauer des stationären Aufenthaltes und das Überleben. Hier zeigten sich keine statistischen Zusammenhänge. Dagegen zeigte sich aber, dass eine längere myeloablative Phase mit einem längeren stationärem Aufenthalt verbunden war.

3.3.5 Nieren- und Leberfunktion

Alle Patienten wiesen bei Beginn der Konditionierungsbehandlung, gemessen an Serumkreatinin und endogener Kreatininclearance, eine normale Nierenfunktion auf. Anhalt für eine eingeschränkte Leberfunktion bestand ebenfalls nicht. Während der Cyclophosphamidinfusionstherapie zeigten sich keine Änderungen der Organfunktionen. In den Tagen nach der Konditionierung stieg allerdings bei allen Transplantierten der Bilirubin- und der Kreatininwert teils deutlich an. Der maximale Kreatininwert stieg in den ersten zehn Tagen nach KMT im Median um 71% an, der Höchstwert aller Patienten lag bei 4,5 mg/dl. Der Gipfel der Nierenfunktionseinschränkung wurde nach im Median sieben Tagen erreicht. Die Zeit nach mehr als zehn Tagen nach KMT wurde nicht berücksichtigt, da hier von einem zunehmendem Einfluss anderer Kofaktoren, wie z. B. GVHD oder Ciclosporingabe, ausgegangen werden muss. Ein Beispiel für den Verlauf der Kreatininwerte während der stationären Behandlung findet sich in Abb. 43.

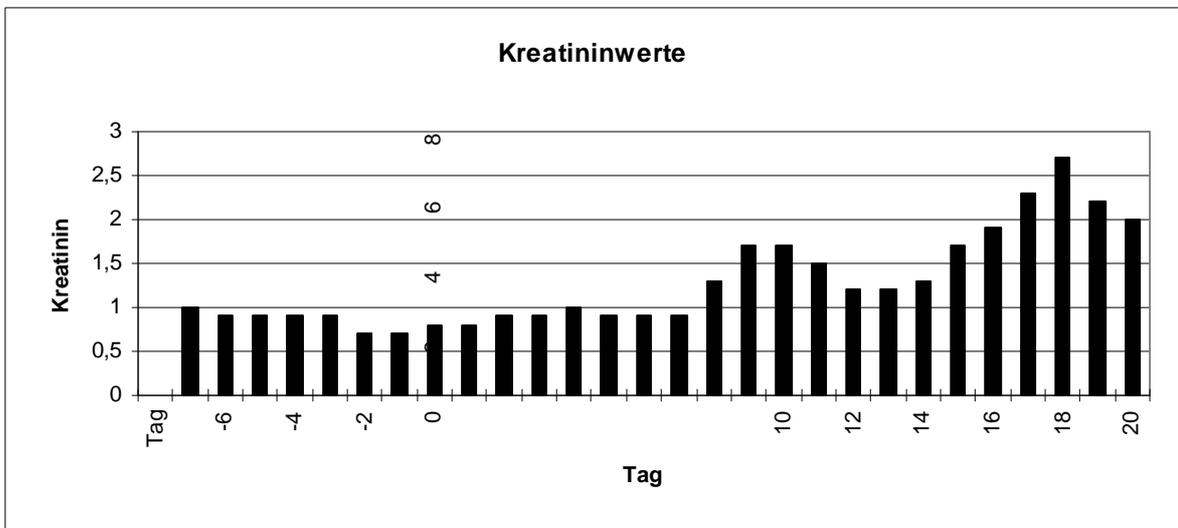


Abb. 43: Verlauf der Kreatininwerte während des stationären Aufenthaltes, Phosphoramid-Mustard-Patient 19 (Tag 0 = Tag der Knochenmarktransplantation)

Ein Zusammenhang zwischen der Körperclearance von Cyclophosphamid sowie deren Anstieg von Tag 1 auf Tag 2 und gemessener bzw. nach Cockcroft und Gault geschätzter endogener Kreatininclearance (Gl. 13, Gl. 14; Formelsammlung) fand sich nicht. Bei fünf Patienten mit direkter Messung der CP-Exkretion im Urin bestand ebenfalls zwischen Nierenfunktion und renaler Cyclophosphamidclearance kein Zusammenhang. Gleiches galt für die AUC von PM an Tag 1 und Tag 2 und dem Kreatininwert am Transplantationstag, dem maximalen Kreatininwert innerhalb zehn Tagen nach KMT und der Zeitdauer bis zum Erreichen des maximalen Kreatininanstiegs. Statistisch konnte aber herausgearbeitet werden, dass ein größerer Anstieg der AUC von Tag 1 auf Tag 2 mit einem erhöhten maximalen Kreatininwert verbunden war (Pearson'sche Korrelation, $p= 0,004$; $r^2= 0,55$), siehe Abb. 44. Ein nicht ganz so ausgeprägter Zusammenhang bestand auch zur maximalen PM C_{max} Tag 1 (Pearson, $p= 0,073$; $r^2= 0,37$). Eine weitere positive Korrelation bestand zwischen der Krankheitsdauer bis zur KMT und dem Kreatininwert am Transplantationstag. Je länger der Zeitraum zwischen dem Krankheitsbeginn und dem TX-Datum war, desto höher war der Kreatininwert (Pearson, $p= 0,009$; $r^2= 0,50$). Zwischen maximalem Kreatininwert und der Zeitdauer bis zum Erreichen des maximalen Kreatininwertes bestand kein Zusammenhang.

Zur Überprüfung der Auswirkungen von unterschiedlichen pharmakokinetischen PM-Daten auf die Leberfunktion, wurden Korrelationen mit dem Bilirubinwert am Transplantationstag, dem maximalen Bilirubinwert und der Zeitdauer bis zum Erreichen des Maximalwertes untersucht. Einbezogen wurde dabei ein Zeitraum von 14 Tagen, danach ist von einer Überlagerung durch Kofaktoren, wie z. B. GVHD und Komedikation, auszugehen.

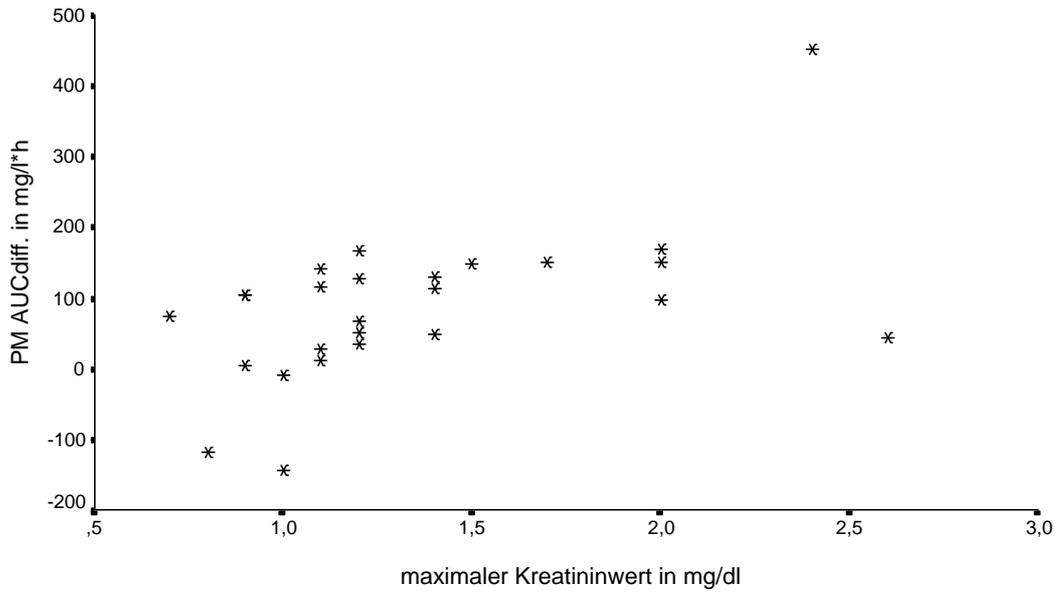


Abb. 44: Anstieg des maximalen Kreatininwertes mit zunehmender Differenz der Fläche unter Konzentrations-Zeit-Kurve von Phosphoramid Mustard beider Applikationstage (PM AUC_{diff}), angegeben sind Mittelwerte und Standardabweichung, Pearson, $p=0,004$

Das Gesamtbilirubin stieg im Median fünffach an. Der Median des zeitlichen Maximums lag bei zehn Tagen nach Transplantation. Vier Patienten der 33 der Gesamtstudie wiesen im Verlauf klinische Zeichen einer VOD (veno-occlusive disease) wie Gewichtszunahme oder Hepatomegalie auf, beginnend frühestens sieben Tage nach KMT. Dies waren die PM-Patienten 01, 06, 12 und 13. Kein Patient verstarb an dieser Komplikation. Bei weiteren kam es zu so ausgeprägter Bilirubinerhöhung, dass möglicherweise von abortiven Verläufen einer VOD auszugehen ist. Statistisch konnte bei den vier Patienten mit einer VOD kein Einfluss durch Komedikation, Alter und Geschlecht festgestellt werden.

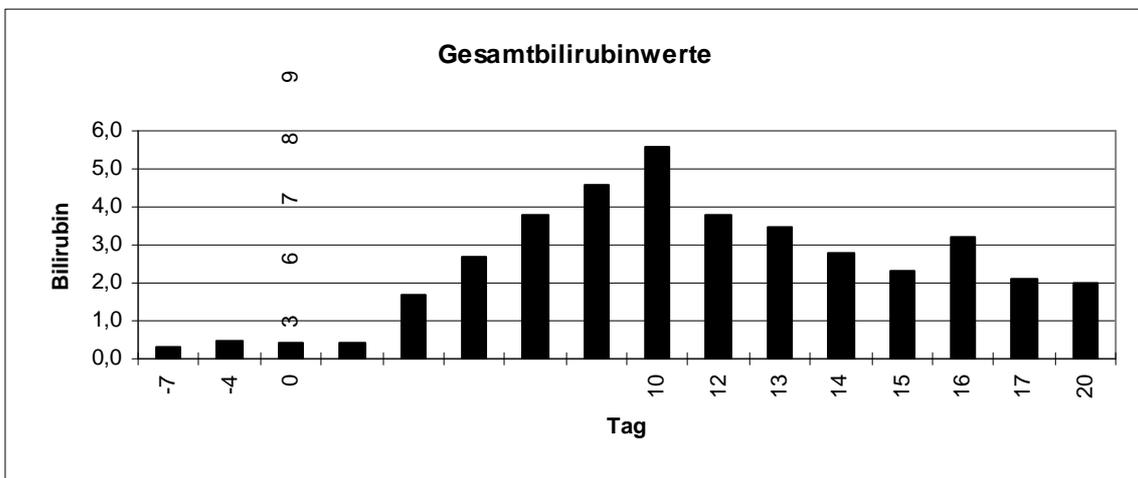


Abb. 45: Phosphoramid-Mustard-Patient 1: Verlauf der Gesamtbilirubinwerte während des stationären Aufenthaltes (Tag 0 = Tag der Knochenmarktransplantation)

Ebenso traten diese Patienten durch keine auffallenden pharmakokinetischen Parameter von Phosphoramid Mustard oder Cyclophosphamid hervor. In Abb. 45 ist ein Beispiel für einen Verlauf der vorliegenden Gesamtbilirubinwerte während des stationären Aufenthaltes für einen Patienten gegeben. Zwischen den Bilirubinwerten am Transplantationstag und dem Zeitraum bis zum Erreichen des maximalen Bilirubinwertes bestand eine negative Korrelation (Pearson'sche Korrelation, $p=0,01$; $r^2=-0,4939$). Entsprechend waren niedrigere Ausgangsbilirubinwerte mit einer längeren Zeitdauer bis zum Erreichen des maximalen Bilirubinwertes verbunden. Zwischen der CP-Clearance und den pharmakokinetischen Daten von Phosphoramid Mustard (C_{max} , λ , AUC und AUC_{diff}) beider Applikationstage und den Bilirubinparametern konnte keine statistisch signifikante Korrelation festgestellt werden.

3.3.6 Komedikation

Statistisch wurde untersucht, ob ein Einfluss auf pharmakokinetische Parameter von Cyclophosphamid und Phosphoramid Mustard durch zusätzliche Medikation zu beobachten war.

3.3.6.1 Medikamente

In den Tab. 05 bis 08 wird dargestellt, welche Medikamente von Patienten eingenommen wurden, bei denen Phosphoramid-Mustard-Konzentrationen gemessen wurden. Berücksichtigt wurden nur Medikamente, die von mindestens zwei Patienten im Zeitraum von einer Woche vor und während der Cyclophosphamidgabe eingenommen wurden. Nur wenn ein Patient ein Medikament einmalig erhalten hat, wird in den Tabellen der Einnahmetag genannt. Dabei gilt der Transplantationstag als Tag 0, entsprechend wird der erste Tag der Datenerfassung, also der Tag eine Woche vorher, mit Tag -7 und so weiter gekennzeichnet. Sonst gilt mehrmalige Gabe. Entsprechend sind die Tage -3 und -2 die Tage, an denen Cyclophosphamid gegeben wurde. Zusätzlich muss zwischen Medikamenten unterschieden werden, die allen Patienten in gleicher Dosierung gegeben wurden und solchen, die als Bedarfsmedikation und somit in völlig unterschiedlicher Menge eingenommen wurden.

Ondansetron (Zofran®) und Amphotericin B (Amphomoron®) werden nicht aufgeführt, da sie von allen Patienten in etwa gleicher Dosierung eingenommen wurden. Gleiches gilt für Mesna (Uromitexan®), das alle Patienten in dem Körpergewicht angepasster Dosierung erhalten haben. Magen-Darm-Mittel wie Antacida, Siliciumdioxid, Magaldrat und Laktulose, welche von allen Patienten und Patientinnen in unterschiedlichen Mengen ebenfalls eingenommen wurden, fanden wie auch alle Externa keine Berücksichtigung. Alle Probanden waren mit 10.000 I.E. Heparin-Natrium (Liquemin®) pro Tag heparinisiert.

	Humatin®	Colistin®	Baktrim forte®	Orgametril®	Benuron®	Valium®
	<i>Paromomycin</i>	<i>Colistinsulfat</i>	<i>Trimethoprim/ Sulfamethoxazol</i>	<i>Lynestrenol</i>	<i>Paracetamol</i>	<i>Diazepam</i>
	2 g/d	8 Mio. E	320/1600 mg/d	50 mg/d	Bei Bedarf	Bei Bedarf
1	+	+	+	-	+	55 mg
2	+	+	+	-	+	45 mg
3	+	+	-	+	+	30 mg
4	+	+	+	+	-	30 mg
5	+	+	+	+	-	30 mg
6	+	+	-	+	+	50 mg
7	+	+	+	-	-	25 mg
8	+	+	+	+	-	20 mg
9	+	+	+	+	-	30 mg
10	+	+	+	-	-	20 mg
11	+	+	+	+	+	20 mg
12	+	+	+	+	+	20 mg
13	+	+	+	-	+	35 mg
14	+	+	+	-	-	20 mg
15	+	+	+	+	-	30 mg
16	+	+	+	-	-	10 mg
17	+	+	+	+	-	-
18	+	+	+	+	-	20 mg
19	+	+	+	+	-	50 mg
20	+	+	+	-	-	35 mg
21	+	+	+	+	-	35 mg
22	-	-	+	+	-	20 mg
23	-	-	+	-	-	30 mg
24	-	-	+	-	-	55 mg
25	-	-	+	-	-	60 mg
26	-	-	+	-	-	-

Tab. 05: Patientenmedikation eine Woche vor und während der Konditionierung; + : Medikament erhalten, - : Medikament nicht erhalten, mg-Angaben: erhaltene Gesamtdosis, Zahlenangaben: Tag der Einzeldosis; Teil 1

	Paspertin®	Dopamin®	Lasix®	Psyquil®	Rohypnol®	Dolantin®
	<i>Metoclopramid</i>	<i>Dopamin</i>	<i>Furosemid</i>	<i>Triflupromazin</i>	<i>Flunitrazepam</i>	<i>Pethidin</i>
	Bei Bedarf	Nach Bedarf	Bei Bedarf	Bei Bedarf	Bei Bedarf	Bei Bedarf
1	+	+	-	-	-	-
2	+	+	+	-	-	-
3	(-2)	+	+	+	-	-
4	(-2)	-	+	-	-	-
5	-	+	+	-	+	(-2)
6	(-1)	-	+	(-2)	-	-
7	+	+	+	+	-	-
8	+	-	+	-	-	-
9	-	-	+	-	-	-
10	-	-	+	-	-	-
11	-	+	+	-	-	-
12	-	+	+	-	-	-
13	-	+	+	+	-	+
14	-	+	+	-	-	-
15	-	+	(-5)	+	-	-
16	-	-	(-2)	+	-	+
17	-	+	+	-	-	-
18	-	+	(-4)	(-2)	-	-
19	-	+	+	-	+	-
20	(-2)	-	+	-	-	-
21	-	-	+	-	-	+
22	-	-	+	-	-	-
23	-	+	+	-	-	-
24	-	-	+	-	-	-
25	-	+	+	-	-	-
26	-	+	+	(-2)	-	-

Tab. 07: Patientenmedikation, Teil 2

	Optalidon®	Optalidon N®	Vergentan®	Trental®	Etoposid®	Temgesic®
	<i>Ibuprofen</i>	<i>Propyphenazon</i> <i>Koffein</i>	<i>Alizaprid</i>	<i>Pentoxifyllin</i>	<i>VP 16</i>	<i>Buprenorphin</i>
	Bei Bedarf	Bei Bedarf	Bei Bedarf	1800 mg/d	40 mg/kg/KG	Bei Bedarf
1	-	-	-	-	-	-
2	-	-	-	-	-	-
3	-	-	-	-	-	-
4	-	-	-	-	-	-
5	-	-	-	-	-	-
6	+	-	-	-	-	-
7	-	-	-	-	-	-
8	+	-	+	-	-	-
9	-	+	-	+	(-4)	-
10	-	-	+	-	-	-
11	-	-	+	+	(-4)	-
12	-	+	+	+	(-4)	-
13	-	-	+	+	(-4)	+
14	-	-	(-2)	+	-	-
15	+	-	(-2)	+	-	-
16	+	-	+	+	-	-
17	+	-	+	+	-	-
18	-	-	(-7)	+	-	-
19	-	-	+	+	-	-
20	+	-	+	+	-	-
21	-	-	+	+	-	-
22	(-7)	-	+	+	-	-
23	-	-	+	+	-	+
24	-	-	+	+	-	+
25	-	-	+	+	-	-
26	-	-	+	+	-	-

Tab. 08: Patientenmedikation, Teil 3

	Antra®	Vomex®	Ciprobay®	Diflucan®	Clont®	Gastrozepin®
	<i>Omeprazol</i>	<i>Dimenhydrinat</i>	<i>Ciprofloxacin</i>	<i>Fluconazol</i>	<i>Metronidazol</i>	<i>Pirenzepin</i>
	Bei Bedarf	Bei Bedarf	1 bis 1,5 g/d	400 mg/d	1 bis 1,25 g/d	Bei Bedarf
1	-	-	-	-	-	-
2	-	-	-	-	-	-
3	-	-	-	-	-	-
4	-	-	-	-	-	-
5	-	-	-	-	-	-
6	-	-	-	-	-	-
7	-	-	-	-	-	-
8	-	-	-	-	-	-
9	-	-	-	-	-	-
10	-	-	-	-	-	-
11	-	-	-	-	-	-
12	-	-	-	-	-	-
13	-	-	-	-	-	-
14	-	-	-	-	-	-
15	-	-	-	-	-	-
16	-	-	-	-	-	-
17	+	-	-	-	-	-
18	+	+	-	-	-	-
19	+	+	-	-	-	-
20	+	-	-	-	-	-
21	-	+	-	-	-	-
22	+	+	+	+	+	+
23	-	-	+	+	+	-
24	-	-	+	+	+	+
25	-	-	+	+	+	-
26	-	-	+	-	+	-

Tab. 09: Patientenmedikation, Teil 4

Folgende Patienten erhielten zusätzliche Medikamente:

- PM-Patient 01: Targocid® (Teicoplanin), Penicillin® (Penicillin)
- PM-Patient 05: Minirin® (Desmopressin)
- PM-Patient 06: Tarivid® (Ofloxacin), Magnesium verla® (Magnesium)
- PM-Patient 13: Tramal® (Tramadol), Lopresor® (Metoprolol), Adalat® (Nifedipin)
- PM-Patient 15: Zovirax® (Aciclovir)
- PM-Patient 17: Otriveninhalationen® (Xylometazolin)
- PM-Patient 18: Insidon® (Opipramol)
- PM-Patient 22: Lexotani® (Bromazepam), Sobelin® (Clindamycin)
- PM-Patient 24: Anaesthesin® LT (Benzocain), Fluimucil® (Acetylcystein), Otriven® NT (Xylometazolin)
- PM-Patient 25: Zyloric® (Allopurinol)

3.3.6.2 Statistische Zusammenhänge mit der Komedikation

Statistische Aussagen konnten nur bei Medikamenten gemacht werden, die von mehreren Patienten eingenommen wurden. Statistische Verbindungen wurden bei den in Tab. 9 genannten Medikamenten festgestellt.

Paromomycin	PM AUC Tag 1, CP Cl _{tot} Tag 1, ~CP Cl _{tot} Tag 2
Colistinsulfat	PM AUC Tag 1, CP Cl _{tot} Tag 1, ~CP Cl _{tot} Tag 2
Ciprofloxacin	PM AUC Tag 1, CP Cl _{tot} Tag 1, ~CP Cl _{tot} Tag 2
Metronidazol	PM AUC Tag 1, CP Cl _{tot} Tag 1, ~CP Cl _{tot} Tag 2
Fluconazol	~PM AUC Tag 1, CP Cl _{tot} Tag 1, CP Cl _{tot} Tag 2
Pirenzepin	PM AUC Tag 1, PM AUC Tag 2, CP Cl _{tot} Tag 1, CP Cl _{tot} Tag 2
Triflupromazin	PM AUC Tag 2, CP Cl _{tot} Tag 1, CP Cl _{tot} Tag 2
Buprenorphin	PM AUC _{diff} , CP Cl _{tot} Tag 2
Diazepam	~PM AUC _{diff} , CP Cl _{tot} Tag 1, CP Cl _{tot} Tag 2, CP Cl _{diff}

Tab. 9: Medikamente, die statistische Auffälligkeiten mit pharmakokinetischen Werten von Phosphoramid Mustard und Cyclophosphamid zeigten, Mann-Whitney-U-Test, Pearson'scher Korrelationskoeffizient (Diazepam); Werte, die mit einem "~" gekennzeichnet sind, sind statistisch nicht ganz signifikant: $p < 0,085$; Abkürzungen siehe Abkürzungsverzeichnis

Patienten, die Colistinsulfat (Colistin®) oder Paromomycin (Humatin®) während der Vorbereitung zur KMT erhielten, zeigten statistisch signifikant höhere Werte der AUC von Phosphoramid Mustard am ersten Tag (Mann-Whitney-U-Test, $p = 0,047$) als Patienten ohne

diese Medikation. Die Cyclophosphamidkörperclearance zeigte für Tag 1 eine signifikante (U-Test, $p= 0,029$) und Tag 2 eine nicht ganz signifikante Korrelation mit Colistinsulfat- und Paromomycingabe (U-Test, $p= 0,085$). Patienten mit dieser Medikation hatten eine erhöhte CP-Clearance. Bis PM-Patient 21 erhielten alle Patienten Colistinsulfat und Paromomycin. Danach wechselte das Regime in der prophylaktischen, antibiotischen Therapie. Die letzten fünf Patienten (PM-Pat. 22 bis 26) erhielten Ciprofloxacin (Ciprobay®) und Metronidazol (Clont®). Also erhielten alle Patienten, die nicht Paromomycin und Colistinsulfat bekommen haben, Ciprofloxacin und Metronidazol. So entsprechen die berechneten statistischen Zusammenhänge für Ciprofloxacin und Metronidazol den Werten für Colistinsulfat und Paromomycin mit entgegengesetzter Auswirkung. Dementsprechend hatten die Patienten mit Ciprofloxacin- und Metronidazoleinnahme eine verminderte CP-Körperclearance und eine verminderte AUC von PM gegenüber den Patienten, die diese Medikation nicht erhielten. Zusätzlich erhielten vier der PM-Patienten 22 bis 26 Fluconazol (Diflucan®), und zwei dieser Patienten zusätzlich noch Pirenzepin (Gastrozepin®). Diese Gruppe zeigte ebenso für den ersten Applikationstag verminderte PM AUC mit vergleichbaren absoluten Werten für beide Tage und eine verminderte CP-Körperclearance (U-Test, $p= 0,006$ für Tag 1 und $p= 0,016$ für Tag 2). Bei Fluconazol waren die Werte für PM statistisch nicht ganz signifikant (U-Test, $p= 0,07$). Bei Pirenzepin zeigten sich zusätzliche Verbindungen im Sinne einer niedrigeren AUC für Tag 2 (U-Test, $p < 0,05$).

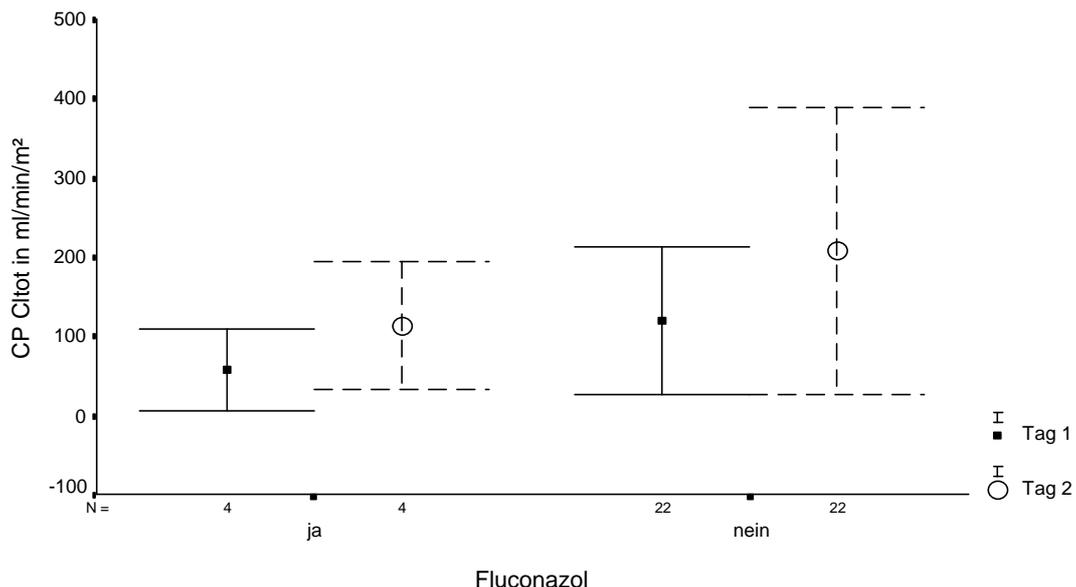


Abb. 46: Cyclophosphamidclearance ($CP Cl_{tot}$) Tag 1 und Tag 2 mit und ohne Fluconazol, angegeben sind Mittelwerte und Standardabweichung, U-Test, $p < 0,05$

Abb. 46 zeigt dies für die Cyclophosphamidclearance mit und ohne Fluconazolgabe. Für den ersten Therapietag lag für Probanden mit Ciprofloxacin-, Metronidazol- und Fluconazolmedikation die PM AUC um ca. 50% niedriger als bei Patienten ohne diese Medikation (76,8 mg·h/l versus 158,5 mg·h/l). Am zweiten Tag verminderte sich der Unterschied auf etwa 20%, sodass für Tag 2 keine statistische Signifikanz mehr vorlag (197,3 mg·h/l versus 238,2 mg·h/l). Bei der CP-Clearance lagen die Werte für Tag 1 um etwa 50% (71,21 ml/min/m² versus 119,63 ml/min/m²), an Tag 2 um etwa 35% unter den Daten der Patienten ohne diese Medikation (135 ml/min/m² versus 207,71 ml/min/m²).

Buprenorphin (Temgesic®) und Triflupromazin (Psyquil®) waren weitere Medikamente, die statistische Verbindungen zeigten. Bei Triflupromazin gibt es zwei unterschiedliche Gruppen. Fünf Patienten erhielten in der Woche vor KMT mehrmals Triflupromazin. Drei Patienten erhielten es nur einmalig am zweiten Infusionstag. Da diese Gruppe keinen Einfluss auf den ersten Chemotherapietag zeigen konnte, wurde sie getrennt statistisch untersucht. Diese drei Patienten zeigten für sich keinen signifikanten Einfluss auf die pharmakokinetischen Daten des zweiten Tages. Betrachtet man die Patientengruppe, die Triflupromazin mehrmals erhalten hat, zeigten sich höhere PM-AUC-Werte für Tag 2 und eine höhere C_{max} für den zweiten Infusionstag mit grenzwertiger Signifikanz (U-Test, p= 0,057). Die absoluten Werte für die PM AUC waren im Mittel für Tag 1 in etwa gleich (141,9 mg·h/l bei Patienten ohne, 146,4 mg·h/l mit Triflupromazin). An Tag 2 lagen die Werte um etwa ein Drittel höher bei Patienten mit Triflupromazinmedikation (212,3 mg·h/l versus 306,0 mg·h/l). Siehe dazu Abb. 47.

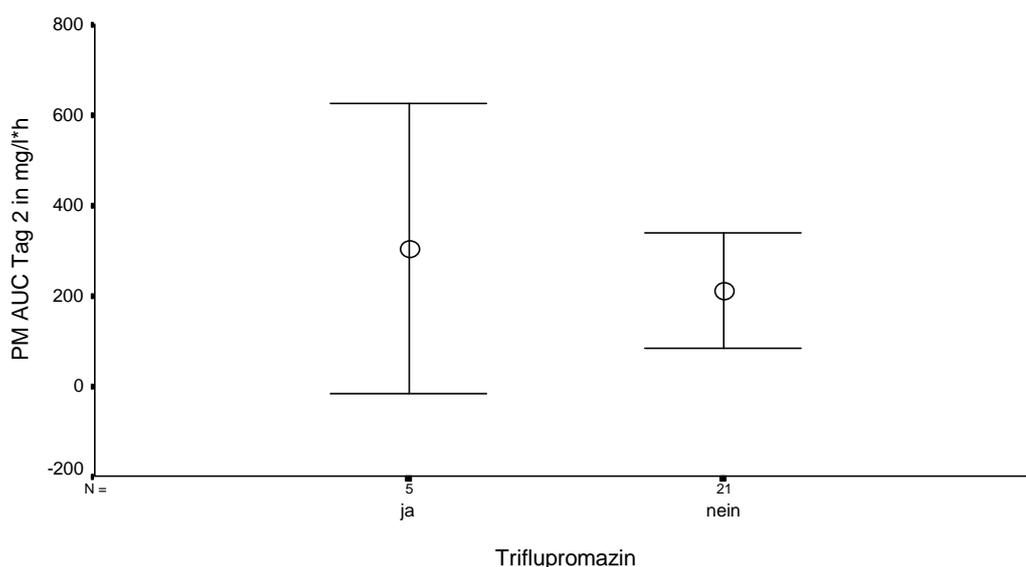


Abb. 47: Phosphoramid-Mustard-Fläche unter Konzentrations-Zeit-Kurve (PM AUC) Tag 2 mit und ohne Triflupromazin, angegeben sind Mittelwerte und Standardabweichung, U-Test, p=0,057

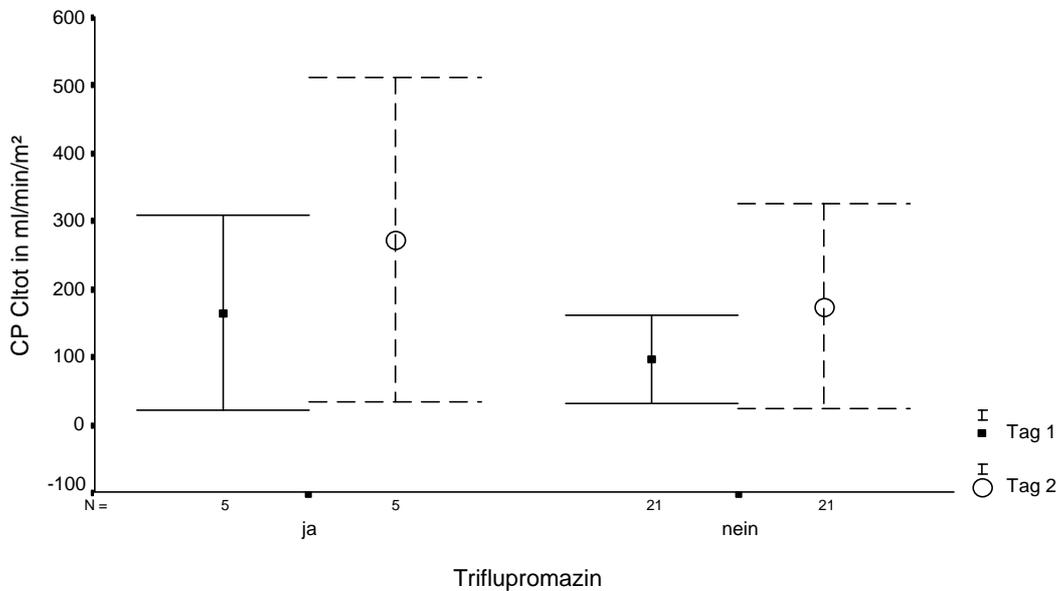


Abb. 48: Cyclophosphamidclearance ($CP Cl_{tot}$) für Tag 1, Tag 2 mit und ohne Triflupromazin, angegeben sind Mittelwerte und Standardabweichung, U-Test, $p=0,015$ Tag 1; $p= 0,003$ Tag 2

Die CP-Körperclearance zeigte mit Triflupromazin signifikant höhere Werte für beide Applikationstage (U-Test, $p= 0,015$ Tag 1 und $p= 0,003$ Tag 2). Am ersten Tag betrug die CP-Clearance im Mittel $97,34 \text{ ml/min/m}^2$ für Patienten ohne Triflupromazin versus $164,82 \text{ ml/min/m}^2$ für Patienten mit dieser Medikation. An Tag 2 war das Verhältnis $175,07 \text{ ml/min/m}^2$ gegenüber $272,1 \text{ ml/min/m}^2$. Dies zeigt Abb. 48.

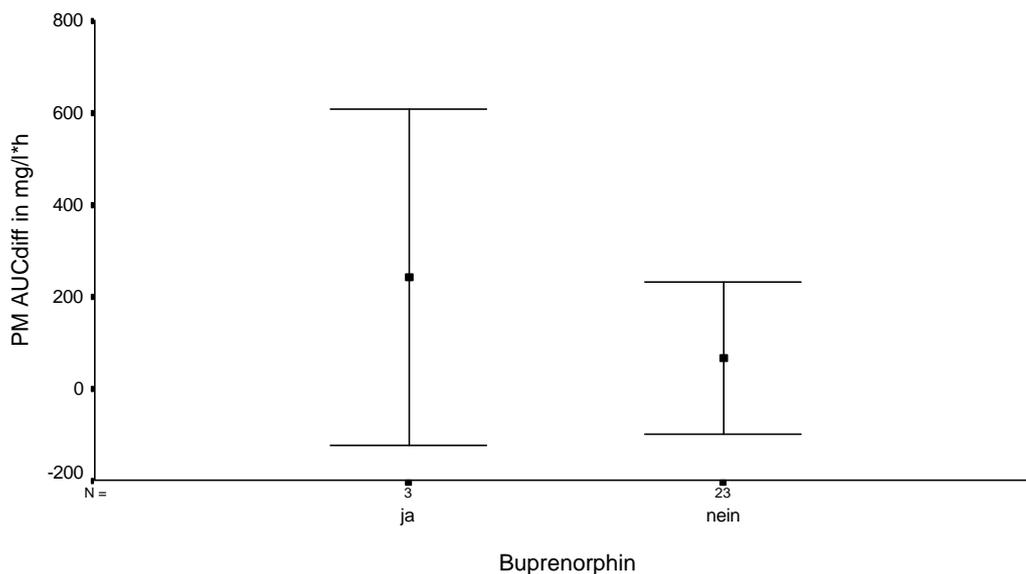


Abb. 49: Differenz der Flächen unter Konzentrations-Zeit-Kurven zwischen den Applikationstagen von Phosphoramid Mustard ($PM AUC_{diff}$) mit und ohne Buprenorphin, angegeben sind Mittelwerte und Standardabweichung, U-Test, $p= 0,049$

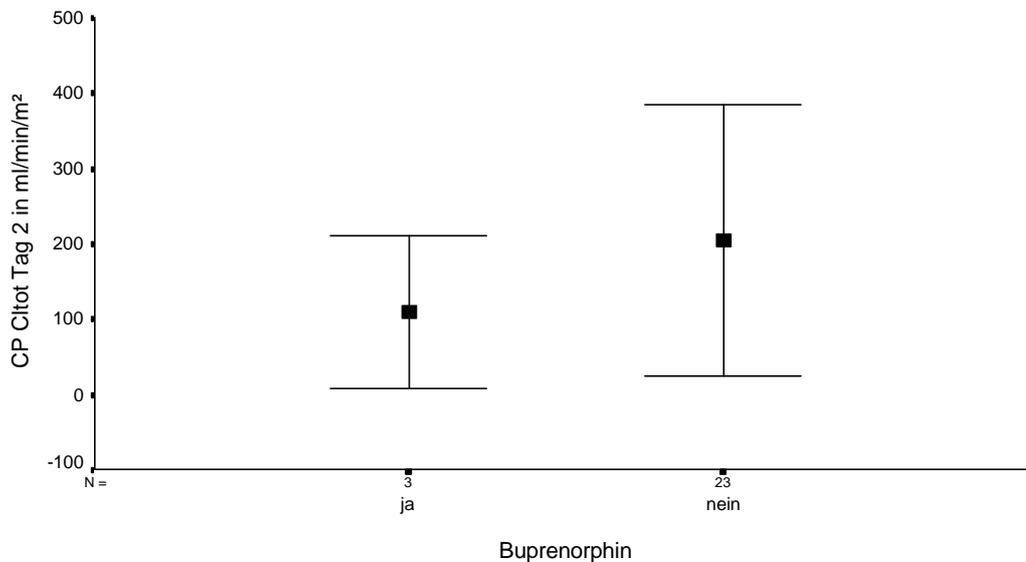


Abb. 50: Cyclophosphamidclearance ($CP Cl_{tot}$) Tag 2 mit und ohne Buprenorphin angegeben sind (Mittelwerte und Standardabweichung), U-Test, $p=0,049$

Probanden mit Buprenorphin zeigten einen vermehrten Anstieg der PM AUC von Tag 1 auf Tag 2 (U-Test, $p=0,049$; Abb. 49). Bei der CP-Clearance (Abb. 50) zeigte sich am zweiten Tag ein Zusammenhang mit niedrigeren Werten bei Medikamenteneinnahme (U-Test, $p=0,049$) und eine kleinere $CP Cl_{diff}$ (U-Test, $p=0,02$). Bei der CP-Clearance Tag 1 waren keine Zusammenhänge zur Buprenorphin nachweisbar (U-Test, $p=0,12$).

Weiterhin zeigte Diazepam, Valium®, statistischen Einfluss auf pharmakokinetische Parameter. Hier wurde die Gesamtdosis, die Patienten in der Woche vor KMT einnahmen mit den Werten von PM und CP korreliert. Dabei zeigte sich eine Verbindung zu der PM-Maximalkonzentration des ersten Tages. Je mehr Diazepam die Patienten in der Woche vor KMT eingenommen hatten, wie in Abb. 51 dargestellt, desto geringer war die PM C_{max} Tag 1 (Pearson, $p=0,029$; $r^2=-0,43$). Gleiches galt für die CP-Clearance des zweiten Applikationstages (Pearson, $p=0,013$; $r^2=-0,48$). Eine höhere Diazepamgabe führte somit zu einer verminderten $CP Cl_{tot}$ an Tag 2. Für den ersten Cyclophosphamidinfusionstag war dieser Zusammenhang nur eingeschränkt signifikant (Pearson, $p=0,069$; $r^2=-0,36$). Für Tag 2 wird dieses in Abb. 52 veranschaulicht.

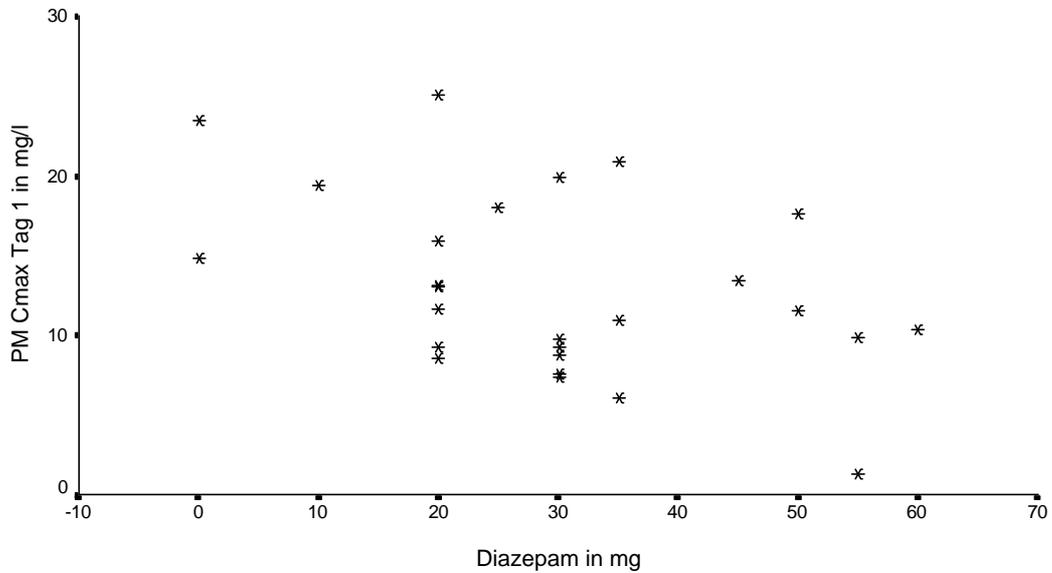


Abb. 51: Geringere Phosphoramid-Mustard-Maximalkonzentration Tag 1 ($PM C_{max}$) bei höherer Diazepamdosis, Pearson, $p=0,029$

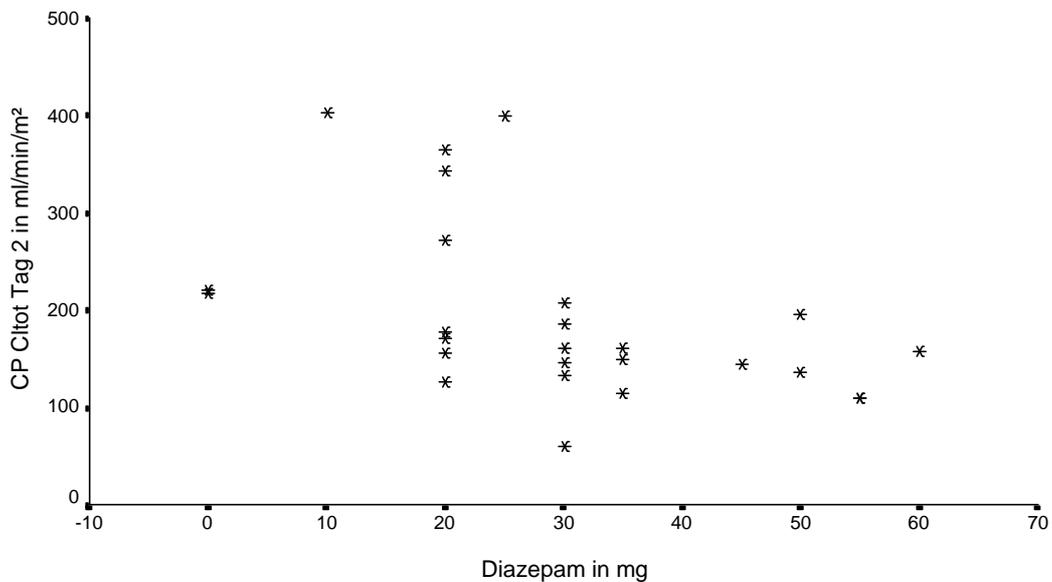


Abb. 52: Geringere Cyclophosphamidclearance ($CP Cl_{tot}$) Tag 2 bei höherer Diazepamdosis, Pearson, $p=0,013$

Die Differenz der Cyclophosphamidclearance zwischen Tag 1 und Tag 2 zeigte ebenfalls eine signifikante negative Korrelation (Pearson, $p=0,016$; $r^2= -0,47$). Eine höhere Diazepamdosierung führte also auch zu einem vermindertem Anstieg der CP-Clearancewerte vom ersten auf den zweiten Tag (Abb. 53).

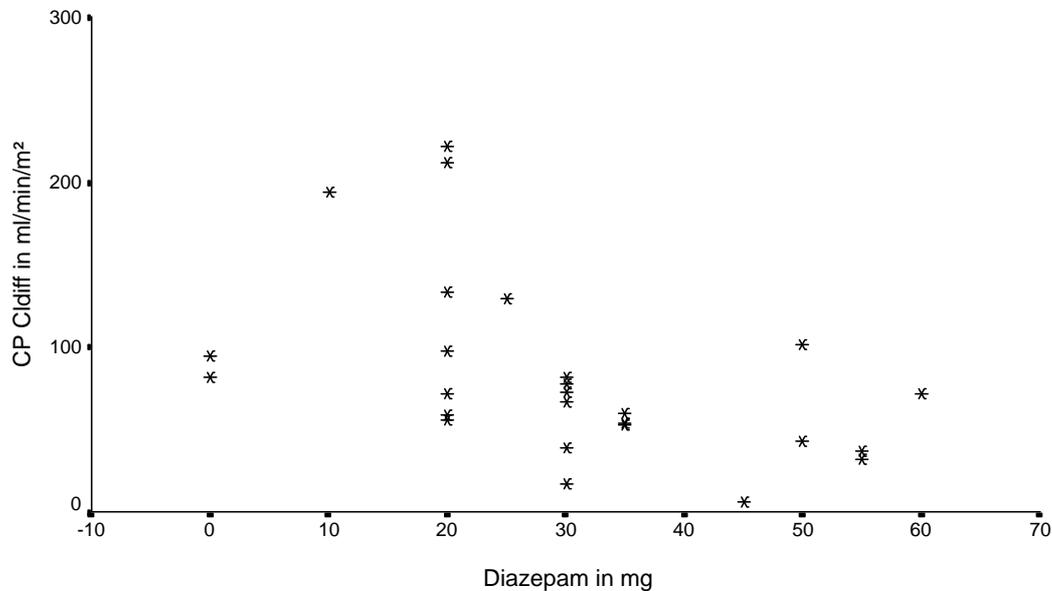


Abb. 53: Geringere Differenz der Cyclophosphamidclearance zwischen beiden Applikationstagen ($CP Cl_{diff}$) bei höherer Diazepamdosis, Pearson, $p=0,016$

3.3.6.3 Über das Cytochrom-P-450-Oxidasesystem metabolisierte Medikamente, ohne Einfluss auf pharmakokinetische Parameter

Insgesamt bekamen die Patienten dieser Studie zahlreiche Medikamente, von denen bekannt ist, dass sie über Cytochrom-P-450-Oxidasen verstoffwechselt werden. Keinen statistisch signifikanten Einfluss auf pharmakokinetische Parameter von Phosphoramid Mustard und Cyclophosphamidclearance zeigten die folgenden Medikamente (in Klammern die dazugehörigen Cytochrom-P-450-Isoenzyme):

- Omeprazol (2C10, 2C19, 2C18, 1A2)
- Ibuprofen (2C9)
- Koffein (1A1, 1A2, 2E1, 3A4)
- Paracetamol (1A2, 2E1)
- Etoposid (3A4, 3A5)
- Sulfamethoxazol (2C9)
- Trimethoprim (2C9)
- Metoprolol (2C, 2D6)
- Nifedipin (3A4)
- Tramadol (2D6)
- Ondansetron (2D6)

Metoprolol und Nifedipin sowie Tramadol wurden von nur einem Patienten eingenommen. Ondansetron bekamen alle Behandelten. Bei diesen Medikamenten sind somit keine statistischen Berechnungen möglich.

3.3.6.4 Komedikation und Geschlechtsunterschiede

Da sich die geschlechtsspezifischen Unterschiede für die Cyclophosphamidclearance nicht auf die Ebene des Metaboliten Phosphoramid Mustard übertragen ließen, wurde überprüft, ob dies durch den Einfluss der Komedikation zu erklären ist. So wurde untersucht, ob sich bei Patienten und Patientinnen ohne statistisch relevante Medikation, ein Geschlechtsunterschied bei den pharmakokinetischen Daten von Phosphoramid Mustard nachweisen ließ. Es wurde jeweils der Einfluss von Triflupromazin und Fluconazol allein sowie die Kombination beider Medikamente untersucht. Da Diazepam von allen Probanden bis auf zwei (PM-Pat. 17 und 26) eingenommen wurde, wurde es in diese Berechnungen nicht einbezogen, obwohl eine gewisse Beeinflussung nicht auszuschließen ist. Diese beiden Patienten zeigten für sich keine pharmakokinetische Auffälligkeit. Bei Triflupromazin wurden nur die Patienten ausgeschlossen, die das Medikament mehrmals erhielten.

Nach Ausschluss der Patienten mit Fluconazoleinnahme zeigte sich bei PM-Patienten eine Verbindung zu einer verminderten maximalen PM-Konzentration an Tag 2 bei weiblichem Geschlecht mit eingeschränktem Signifikanzniveau (einseitiger U-Test, $p=0,076$) und zu einer verminderten Eliminationskonstanten an Tag 2 (einseitiger U-Test, $p=0,044$; Abb. 54).

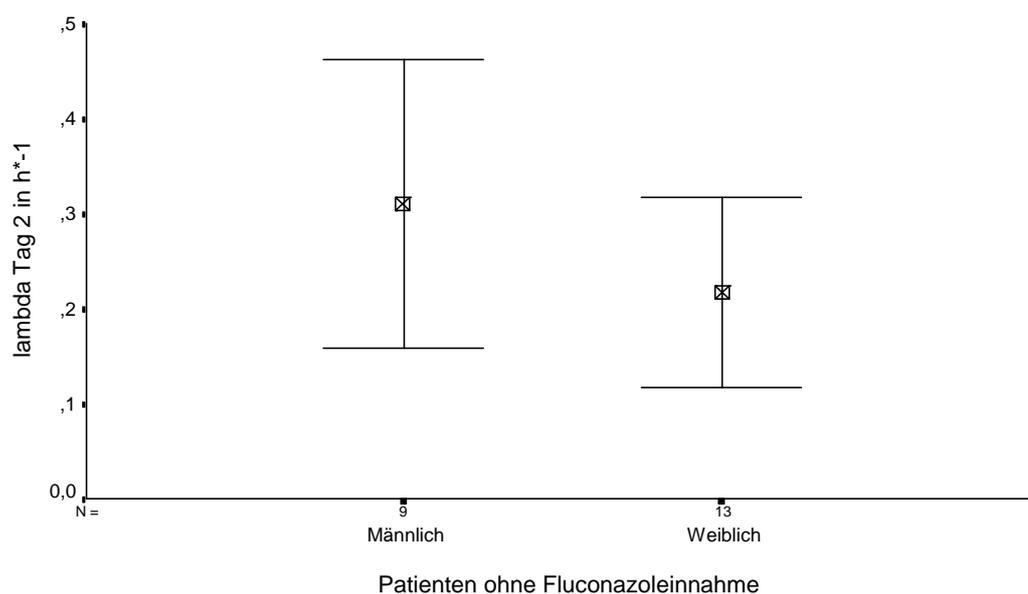


Abb. 54: Patienten ohne Fluconazol: niedrigere Eliminationskonstante (λ) Tag 2 bei weiblichen Probanden, angegeben sind Mittelwert und Standardabweichung, einseitiger U-Test, $p=0,044$

Bei den Patienten ohne Triflupromazinapplikation zeigten sich bei einseitiger Testung Verbindungen mit eingeschränktem Signifikanzniveau zur PM AUC_{diff} (U-Test, p= 0,078) und zu lambda Tag 2 (U-Test, p= 0,078). Dies entspricht einer niedrigeren AUC_{diff} und einer kleineren Eliminationskonstanten am zweiten Tag bei weiblichem Geschlecht.

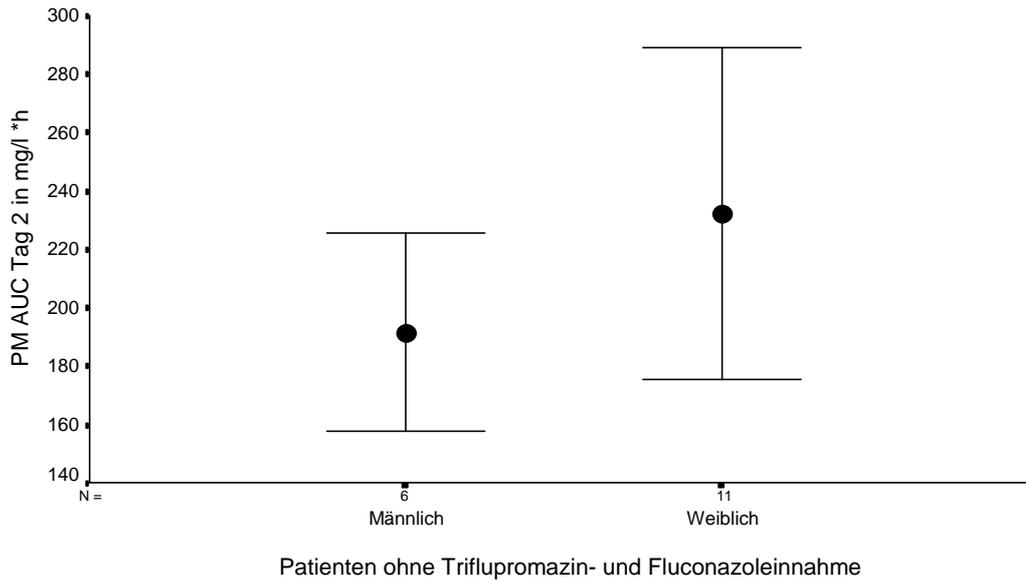


Abb. 55: Patienten ohne Triflupromazin- und Fluconazol: größere Phosphoramid-Mustard-Fläche unter Konzentrations-Zeit-Kurve (PM AUC) für Tag 2 bei weiblichen Probanden, angegeben sind Mittelwert und Standardabweichung, einseitiger U-Test, p= 0,053

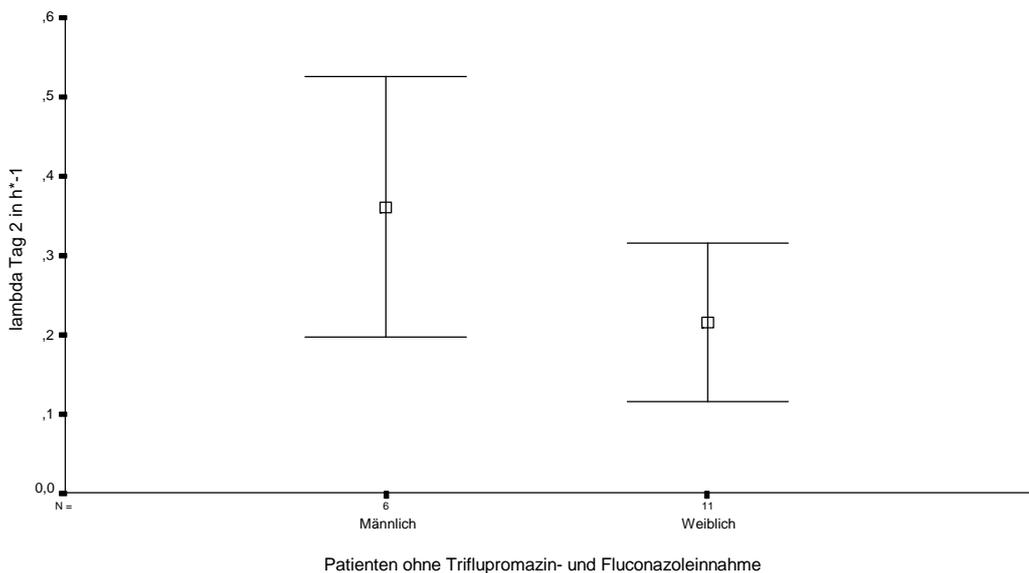


Abb. 56: Patienten ohne Triflupromazin und Fluconazol: niedrigere Eliminationskonstante (lambda) Tag 2 bei weiblichen Probanden, angegeben sind Mittelwert und Standardabweichung, einseitiger U-Test, p= 0,022

Betrachtet man die Patientengruppe, die weder Fluconazol noch Triflupromazin einnahmen, ergeben sich bei λ des zweiten Tages (einseitiger U-Test, $p= 0,022$; $r^2= -0,511$) und nicht ganz signifikant bei der PM AUC Tag 2 (einseitiger U-Test, $p= 0,053$) statistische Verbindungen. Entsprechend zeigten Patientinnen im Gegensatz zu den männlichen Probanden ohne Fluconazol- und Triflupromazineinnahme eine größere PM AUC Tag 2 (Abb. 55) und eine niedrigere Eliminationskonstante am zweiten Tag (Abb. 56).

3.3.6.5 Pharmakokinetische Auffälligkeiten bei Einzelmedikation

Untersucht man die Patienten, die zusätzlich einzelne Medikamente bekommen haben, fällt auf, dass sich bei einigen besondere pharmakokinetische Daten von Phosphoramid Mustard und Cyclophosphamid zeigten. PM-Pat. Nr. 5 (Desmopressin, Minirin® ab Tag -4) zeigte am Tag 2 die niedrigste PM-Eliminationskonstante und die höchste Halbwertszeit. Am zweiten Applikationstag ergaben sich bei PM-Pat. 13 (Tramadol, Tramal® ab Tag -7; Nifedipin, Adalat® ab Tag -4 und Metoprolol, Lopresor® an Tag -2) Maximalwerte für die PM AUC sowie die höchste Maximalkonzentration. Am ersten Tag zeigten sich bei diesem Probanden nur durchschnittliche Werte. PM-Pat. Nr. 22 (Clindamycin, Sobelin® ab Tag -8, Bromazepam, Lexotanil® ab Tag -4) zeigte für Tag 1 die niedrigste CP Cl_{tot} und für Tag 2 die niedrigste PM AUC. Am ersten Cyclophosphamidinfusionstag hatte PM-Pat. 24 die niedrigste PM-Maximalkonzentration (Acetylcystein, Fluimucil® und Xylometazolin, Otriven® NT ab Tag -6 dazu Benzocain Anaesthesin® LT ab Tag -4).

3.3.7 Patienten mit Verminderung der Phosphoramid-Mustard-Fläche unter Konzentrations-Zeit-Kurve von Tag 1 auf Tag 2

Bei den PM-AUC-Werten fällt auf, dass bei zwei Patienten (PM-Pat. 9 und 18) eine Verminderung von Tag 1 auf Tag 2 stattfand. Bei PM-Pat. 14 blieben die Werte in etwa gleich mit einem geringen Abfall, bei PM-Pat. 22 kam es zu einem nur geringen Anstieg. Daher wurde untersucht, ob sich diese Patienten von den anderen unterschieden, die sonst einen zum Teil sehr deutlichen Anstieg der PM-AUC-Werte vom ersten auf den zweiten Tag aufwiesen. Berücksichtigt man nur die Patientengruppe, die einen Abfall der PM AUC von Tag 1 auf Tag 2 erbrachte, zeigt sich eine positive Korrelation mit dem Alter (Abb. 57). Diese Patienten waren im Mittel älter (Pearson, $p= 0,032$; $r^2= 0,42$). Erweitert man die Gruppe um den Patienten, der nur einen geringen Anstieg zeigte, ist dieser Zusammenhang nicht mehr signifikant (Pearson, $p= 0,235$; $r^2= 0,24$). Statistisch zeigte sich eine weitere Korrelation, da alle Patienten, die eine AUC-Verminderung oder nur einen geringen Anstieg zeigten, verstarben (Pearson, $p= 0,01$; $r^2= 0,498$). Ein Zusammenhang zu bestimmten Todesarten

oder zur Überlebensdauer ließ sich nicht feststellen. Einflüsse durch Komedikation, Geschlecht, Leber- und Nierenfunktion oder Vorerkrankungen zeigten sich nicht.

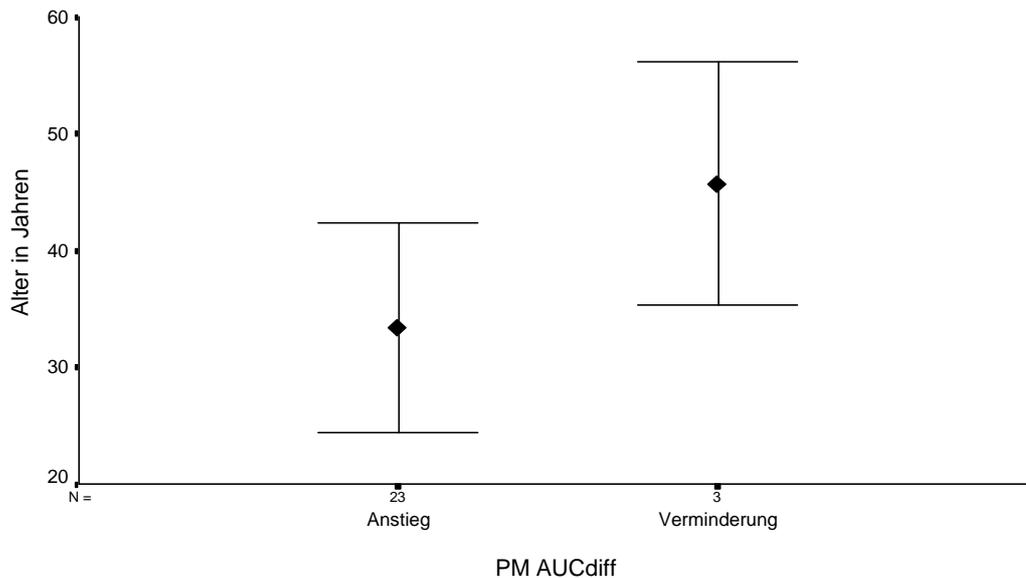


Abb. 57: Höheres Patientenalter bei Verminderung der Phosphoramid-Mustard-Fläche unter Konzentrations-Zeit-Kurve (PM AUC_{diff}) von Tag 1 auf Tag 2, Pearson, $p=0,032$

Betrachtet man die absoluten Werte dieser Patientengruppe, zeigt sich sowohl für die PM AUC als auch die zugehörigen Cyclophosphamidclearancewerte kein einheitliches Bild. Bei den PM-Patienten 9 und 18, die einen Abfall der PM AUC von Tag 1 auf Tag 2 um etwa ein Drittel zeigten, waren die PM AUC-Werte für Tag 1 mit 359,7 mg/l*h und 466,5 mg/l*h als die beiden höchsten Werte des Gesamtkollektivs besonders auffällig. Die PM AUC Tag 2 dieser beiden Patienten waren durchschnittlich. Auch die Patienten mit nur geringem Abfall (PM-Pat. 14) oder geringem Anstieg (PM-Pat. 22) zeigten kein einheitliches Verhalten. PM-Pat. 14 zeigte mit den PM AUC eher durchschnittliche Werte: 180,0 mg/l*h für Tag 1 und 172,1 mg/l*h für Tag 2. PM-Pat. 22 dagegen hatte relativ niedrige Werte mit 68,6 mg/l*h für den ersten und 73,4 mg/l*h für zweiten Tag als niedrigste PM AUC Tag 2 unter allen Patienten. Bei den CP-Clearancewerten, fällt nur bei PM-Pat. 22 die niedrigste CP Cl_{tot} für Tag 1 (29,3 ml/min/m²) auf, die anderen Clearancewerte waren durchschnittlich.

4 Diskussion

Die vorliegende Arbeit nimmt den Gedanken auf, durch Individualisierung einer zytostatischen Therapie therapeutische Effekte zu optimieren und Nebenwirkungen zu minimieren. Im Rahmen der vorgestellten Untersuchung werden einige klinisch-pharmakologische Probleme beleuchtet, die beim Einsatz von Cyclophosphamid Berücksichtigung finden sollten. Obwohl Cyclophosphamid ein wesentlicher Bestandteil wirksamer und etablierter Behandlungskomplexe hämatologischer und solider Neoplasien darstellt [47], sind mit dessen Anwendung viele offene Fragen verbunden.

Zahlreiche zytoreduktiv wirksame Substanzen binden irreversibel an zelluläre Strukturen. Man kann in solchen Fällen davon ausgehen, dass die antitumoröse Wirkung unmittelbar proportional der Gesamtfläche unter der Konzentrations-Zeit-Kurve (AUC) für diese Substanz ist [133]. Die AUC ist direkt proportional der applizierten bzw. der bioverfügbaren Dosis [58]. Vor diesem Hintergrund kann ein Standardbemühen in der Onkologie erklärt werden, bessere Resultate durch Intensivierung der Therapie zu erzielen. Naheliegend ist die Erhöhung der Dosierung über Erhöhung der Einzeldosis. Ein alternativer Weg ist die Dosisintensivierung über Verkürzung der Therapieabstände. Die Entwicklung hämatopoetischer Wachstumsfaktoren sowie die Verbesserung der supportiven Therapie, wie z. B. die Entwicklung neuer Antiemetika erleichtern dieses. Eine Dosisindividualisierung findet hingegen nur im Rahmen der Anpassung an Körpergewicht und Körperoberfläche statt. Individuelle Charakteristika in Verteilung, Exkretion oder Metabolismus werden nur in Ausnahmefällen erfasst, beispielsweise für Methotrexat. Dessen renale Elimination wird durch die eigene Nephrotoxizität beeinflusst, so wird die Abklingrate mit Serumspiegeln überwacht, um gegebenenfalls mit dem Antidot Folinsäure entgegenzusteuern [47, 79].

Die Körperclearance bleibt in modernen zytostatischen Behandlungsprotokollen in den meisten Fällen praktisch unberücksichtigt, sieht man von allgemein gehaltenen Regeln zur Dosisanpassung bei Einschränkung der Nieren- oder Leberfunktion ab. Carboplatin wird als erstes Zytostatikum nicht mehr an den traditionellen Kenngrößen, Körpergewicht und Körperoberfläche, dosiert, sondern nach der individuell bestimmten Nierenfunktion [27]. Weitere pharmakokinetische Einflussgrößen wie z. B. genetische Faktoren, Enzymfunktion, Eiweißbindung oder Medikamenteninteraktionen finden in der Regel keine Berücksichtigung. Um eine weitere Therapieindividualisierung zu ermöglichen, sind analog zu Antibiotika,

Digitalisglykosiden oder Antikonvulsiva Messungen der einzelnen Wirkstoffspiegel notwendig. Überprüfung von Pharmakonzentrationen im Fließgleichgewicht sind auf Zytostatika im allgemeinen nicht anwendbar, da im Gegensatz zu z. B. einer Herzinsuffizienztherapie keine fortlaufende Medikation gegeben, sondern im Intervall oder als Stoßtherapie appliziert wird. So verwundert es nicht, dass zwar viel versprechende Verfahren zur Optimierung der individuellen Dosisfindung erprobt werden, aber diese aufgrund der oft fehlenden Beweisbarkeit von Überlebensvorteilen bei oft noch bestehendem erheblichem Aufwand durch komplizierte Nachweismethodik der Substrate, keine Anwendung finden. Das liegt wohl auch daran, dass generell bei Zytostatika gegenüber anderen Medikamenten besondere Maßstäbe angelegt werden. Weil es sich um Krebstherapie handelt, nimmt man ein höheres Maß an Nebenwirkungen, Toxizität und therapeutischem Misserfolg in Kauf als man dieses bei herkömmlichen Therapien, z. B. bei einer Antibiotikagabe, tun würde. Dies geschieht natürlich aus einem gewissen therapeutischen Dilemma heraus, das es bei der Therapie von malignen Neoplasien noch immer gibt. Bezogen auf Cyclophosphamid existiert bisher nur eine Studie, die direkt pharmakokinetische Parameter mit Antitumorwirkung und Toxizität korreliert [7].

4.1 Cyclophosphamidtherapie

Cyclophosphamid ist eine selbst zytostatisch inaktive Vorsubstanz, die durch vorwiegend leberabhängige Stoffwechselschritte über das Cytochrom-P-450-Oxidasesystem in die eigentliche Wirksubstanz metabolisiert werden muss. Seit 1979 wird eine Selbstinduktion der Cytochrom-P-450-Oxidase durch Cyclophosphamid vermutet [9, 44]. Bisher herrscht aber nur dahingehend Einigkeit, dass die Selbstinduktion des Stoffwechsels allein zu einer beschleunigten Clearance der Muttersubstanz führt [167]. Da gleichzeitig keine nennenswerten Änderungen im Verteilungsvolumen eintreten, beobachtet man am zweiten oder an späteren Applikationstagen eine bis zu 50% verkürzte Halbwertszeit von Cyclophosphamid [63]. Die Hydroxylierungsprodukte an der 4-Position sind gegenüber dem ersten Behandlungstag an den folgenden in höherer Konzentration nachweisbar [167]. Umstritten ist allerdings, ob aus veränderter Metabolisierungsrate ebenso Veränderungen der AUC des aktiven Metaboliten Phosphoramid Mustard und damit der Toxizität und der zytostatischen Wirkung resultieren [112, 146, 152].

4.2 Pharmakokinetische Erkenntnisse

In der vorliegenden Arbeit wurde die bisher größte einheitlich therapierte und analysierte Patientengruppe untersucht. Trotz klinisch größtmöglicher Homogenität überrascht die Varianz der pharmakokinetischen Parameter. Bei der Cyclophosphamidgesamtklearance schwankten die Werte bei den untersuchten Probanden um das zehnfache, bei der AUC von PM sogar um das dreißigfache. Methodische Fehler können für den überwiegenden Teil der Varianz nicht verantwortlich gemacht werden. Pharmakokinetische Berechnungen stützen sich auf Kurvenverläufe mit sechs bis neun Messpunkten, eine für ein 1-Kompartiment-System ausreichende Zahl [166]. Die HPLC-Analytik wies akzeptable methodische Fehler auf. So muss vielmehr davon ausgegangen werden, dass interindividuelle Unterschiede als Ursache für die erheblichen Abweichungen zu sehen sind [15, 79]. Mögliche Einflussfaktoren sollen später noch aufgeschlüsselt werden.

Diese interindividuellen Unterschiede reduzierten sich für Cyclophosphamid am zweiten Therapietag leicht. Insgesamt fand sich eine Zunahme der Körperclearance um fast 50% vom ersten auf den zweiten Behandlungstag. Die renale Clearance blieb an beiden Tagen in etwa gleich. Als Zeichen der erhöhten metabolischen Verfügbarkeit war die metabolische Clearance gesteigert. Die ermittelten Werte zum renal ausgeschiedenen Anteil der CP-Dosis betrugen zwischen 19% und 31% und lagen damit überraschend hoch. Joqueviel maß in ihrer Studie eine renale Cyclophosphamidausscheidung von 17% an Tag 1 und 16% an Tag 2 [75]. Unter der Annahme einer dosisabhängigen Kinetik könnte dies auf die kurze Infusionsdauer von 1 h zurückzuführen sein. Bei Joqueviel wurde Cyclophosphamid etwa in gleicher Dosierung über 3 h appliziert [75]. Abhängigkeiten zwischen Metabolisierungsrate und Infusionsdauer wurden für CP nicht berichtet [112], allerdings gibt es Hinweise auf eine Sättigbarkeit des Metabolisierungsschrittes, wie Chen feststellte [34]. In dieser Untersuchung an Brustkrebs erkrankter Frauen erhielten die Patientinnen CP in einer Dosierung von 4 g/m² über 90 min. Hier zeigte sich bei einigen Probanden eine verzögerte nicht lineare Clearance als Hinweis auf eine Sättigung des Metabolisierungsschrittes. Die renale Exkretion betrug hier für den ersten Tag 17% unverändertes CP. Eine weitere mögliche Erklärung für die relativ hohe Ausscheidung unveränderten Cyclophosphamids in der hier vorgelegten Untersuchung ist, dass die hier untersuchten Patientinnen zu einer Gruppe gehörten, die aufgrund anderer Einflussfaktoren eine eher niedrigere Metabolisierungsrate zeigten.

In dieser Arbeit wird deutlich gezeigt, dass der am zweiten Therapietag gesteigerte Metabolismus von CP im Durchschnitt beinahe zu einer Verdopplung der Phosphoramid-Mustard-AUC führt. Unter der Maßgabe, dass Serumkonzentrationen und Gewebe- bzw.

Tumorkonzentrationen proportional zueinander sind, ist davon auszugehen, dass die Exposition gegenüber dem Wirkmetaboliten in etwa verdoppelt wird. Dies müsste eine Zunahme von Antitumorwirkung oder aber auch eine vermehrte Toxizität bedeuten. Eine mögliche Erklärung für die Erhöhung der PM AUC ist in einem erhöhten Metabolismus und damit in einer Reduktion des unverändert renal eliminierten Cyclophosphamids zu sehen. Weitere Möglichkeiten sind prozentuale Verschiebungen verschiedener CP-Metabolismuswege. Wenig wahrscheinliche Gründe, die aber aufgrund der Nachweismethodik nicht auszuschließen sind, bestehen in der Veränderung der Eiweißbindung oder in erheblichen Verschiebungen des Verteilungsvolumens. Leider sind die Stoffwechselprodukte im Urin in der vorgelegten Untersuchung nicht bestimmt worden, sodass diese Frage offen bleiben muss. Joqueviel [75] hat in ihrer Untersuchung neben der Muttersubstanz auch die Metabolite im Urin gemessen. Sie stellte eine Zunahme der phosphorylierten Metabolite von 20% an Tag 1 auf 37% an Tag 2 fest, sodass eine erhöhte Verstoffwechslung wahrscheinlich ist, zumal die Ausscheidung von CP nach Einmalgabe innerhalb von 24 h nahezu abgeschlossen war [179]. Schlüsselt man die Zunahme auf, beruht diese hauptsächlich auf dem vermehrten Ausscheiden des Hauptnachweisprodukts Carboxyphosphamid. Bei Phosphoramid Mustard kommt es zu einer Verdopplung der Exkretion bei allerdings sehr geringen Anteilen an der Gesamtausscheidung von 0,3% auf 0,6% [75]. Der PM-Nachweis im Urin ist aber aufgrund der großen Instabilität schwierig.

4.3 Wechselwirkungen zwischen Phosphoramid Mustard und Cyclophosphamid

Um zu überprüfen, wie sich die Muttersubstanz Cyclophosphamid und ihr Stoffwechselprodukt Phosphoramid Mustard wechselseitig verhalten, wurden statistische Zusammenhänge untersucht. Auf der Seite der Metaboliten wurden die PM AUC der beiden Applikationstage und deren Differenz $PM\ AUC_{diff}$, bei Cyclophosphamid die Clearance CP Cl_{tot} beider Tage und die Differenz dieser beiden Werte $CP\ Cl_{diff}$ berücksichtigt. Zusammenhänge zeigten sich zwischen der CP-Clearance an beiden Applikationstagen und der AUC von Phosphoramid Mustard an Tag 1, wobei eine höhere PM AUC des ersten Tages jeweils mit einer höheren CP-Clearance an Tag 1 und an Tag 2 verbunden waren. Eine entsprechende Verbindung zur PM AUC des zweiten Tages fand sich nicht.

Untersucht man diese Datenkonstellation, lässt sich erstens feststellen, dass am ersten Tag eine erhöhte Cyclophosphamidclearance mit einer erhöhten PM AUC verbunden war. Da Phosphoramid Mustard Folgeprodukt von Cyclophosphamid ist, könnte somit die CP-Clearanceerhöhung durch eine vermehrte Metabolisierung zu Phosphoramid Mustard erklärt

werden, da eine CP-Clearancebeschleunigung zu einer erhöhten Phosphoramid Mustardexposition führte. Erhöhte PM AUC-Werte des ersten Tages waren zweitens aber ebenso mit einer vermehrten CP-Clearance an Tag 2 verbunden. Diese Auswirkung von Phosphoramid Mustard auf die Werte des folgenden Tages lässt einen möglichen Einfluss des alkylierenden Substrats PM auf die Enzyminduktion und somit auf die Metabolisierung von Cyclophosphamid vermuten, da eine erhöhte PM-Exposition am ersten Tag zu einer gleichsinnigen Clearancebeschleunigung am zweiten Tag führte. Genauso zeigte die PM-Maximalkonzentration des ersten Tages eine Verbindung zur CP-Clearance des zweiten Tages, allerdings mit eingeschränktem Signifikanzniveau. Das könnte auf eine besondere Rolle der PM C_{max} in der Enzyminduktion hinweisen. Drittens zeigte sich für die CP Cl_{tot} Tag 2 und für die PM AUC vom zweiten Tag kein statistischer Zusammenhang. Also lässt sich eine erhöhte Clearance von Cyclophosphamid am zweiten Tag vermutlich nicht allein durch eine vermehrte Metabolisierung zu Phosphoramid Mustard erklären, da eine erhöhte CP- Cl_{tot} am zweiten Tag eben nicht zu einer entsprechend erhöhten PM-Exposition an Tag 2 führte.

Als mögliches Maß für die Induktion des Cyclophosphamidmetabolismus steht die CP Cl_{diff} , die Differenz der Cyclophosphamidclearancewerte beider Applikationstage. Da die CP-Clearance am zweiten Tag immer größer war als am ersten, ist die CP Cl_{diff} auch ein Maß für den Clearanceanstieg von Tag 1 auf Tag 2. Deshalb wurde untersucht, ob die PM AUC Tag 1 hier auch eine statistische Verbindung zeigte. Es fand sich eine positive Korrelation, sodass eine höhere PM AUC des ersten Tages zu einem vermehrten Clearanceanstieg vom ersten auf den zweiten Applikationstag führte. Dies könnte den möglichen Einfluss des Metabolisierungsprodukts PM auf die CP-Induktion untermauern. Berücksichtigt man, dass die renale Clearance für beide Infusionstage in etwa gleich blieb, muss die in dieser Studie festgestellte Erhöhung der CP Cl von Tag 1 auf Tag 2 durch eine Zunahme der metabolischen Clearance erfolgen. Joqueviel findet in ihrer Untersuchung einen Anstieg der Metabolisierungsprodukte im Urin [75], und auch in dieser Studie kommt es schließlich zu einer Zunahme der Phosphoramid-Mustard-AUC an Tag 2. Für den zweiten Tag scheinen nach Enzyminduktion, möglicherweise sogar durch PM selbst, somit noch alternative Metabolisierungsschritte außer dem Abbau zu PM von Bedeutung zu sein; da die CP-Clearanceerhöhung nicht zu einer entsprechenden Erhöhung der PM AUC führt. So ist an eine zusätzliche Induktion von Enzymen, die zu einer vermehrten CP-Resistenz führen, wie z. B. der Aldehyddehydrogenase zu denken, die für die CP-Clearancebeschleunigung an Tag 2 mitverantwortlich sind. Unterstützend ist hier die Tatsache zu sehen, dass sich auch die CP Cl_{diff} und die AUC_{diff} nicht gleichsinnig verhielten. So bestand zwischen der Differenz der PM AUC und der Differenz der CP-Clearance beider Tage eine negative Korrelation mit allerdings eingeschränkter Signifikanz. Das heißt, dass ein größerer CP-Clearanceanstieg

mit einem verminderten Anstieg der PM AUC verbunden war. Eine CP-Clearancebeschleunigung von Tag 1 auf Tag 2 führte also zu einem geringeren Anstieg der PM-Bildung.

4.4 Einflussfaktoren auf pharmakokinetische Daten von Cyclophosphamid und Phosphoramid Mustard

Ein wesentlicher Teil dieser Arbeit bestand darin, festzustellen, welche Faktoren einen statistischen Einfluss auf pharmakokinetische Daten von Cyclophosphamid und Phosphoramid Mustard zeigten.

4.4.1 Einfluss über die Metabolisierung

Da Cyclophosphamid als wichtigsten Aktivierungsschritt die Metabolisierung an Cytochrom-P-450-Oxidasen erfährt, soll in dieser Arbeit besonders eine mögliche Beeinflussung der Verstoffwechslung untersucht werden.

4.4.1.1 Das Cytochrom-P-450-Oxidasesystem

Als Cytochrom P-450 bezeichnet man eine Gruppe von Enzymen, bei denen es sich um Monooxygenasen handelt. Sie sind dadurch gekennzeichnet, dass sie ein Sauerstoffatom von O_2 auf ihr Substrat übertragen und dabei das zweite Sauerstoffatom zu Wasser reduzieren. Bei der Umwandlung eines Substrats wird dieses zunächst an dreiwertiges Eisen in der Hämgruppe gebunden, dabei entsteht zweiwertiges Eisen, welches molekularen Sauerstoff bindet. Diese Übertragung geschieht unter Oxidation von NADPH mit Hilfe der NADPH-Cytochrom-P-450-Reduktase (Abb. 49; [148]). Nach Anlagerung des Sauerstoffs wird ein weiteres Elektron aufgenommen. Danach zerfällt der ternäre Komplex unter Regeneration von Cytochrom P-450 mit dreiwertigem Eisen in das hydroxylierte Substrat und Wasser [54, 119]. Die Beteiligung von P-450-abhängigen Enzymsystemen an Hormonbiosynthesen z. B. dem Steroidmetabolismus, sowohl an der Biotransformation von Arzneimitteln, als auch an der Umwandlung von untoxischen Substanzen in toxische oder gar kanzerogene Verbindungen machen die Anstrengung zur Aufklärung von Reaktionsmechanismen, zur Analyse von Metaboliten- und Isoenzymmustern sowie zur Aufdeckung von Korrelationen zwischen Induktion und Toxizität verständlich [141]. Das Cytochrom-P-450-System umfasst beim Menschen mehr als 20 Isoenzyme, die sich in ihren physikalisch chemischen Eigenschaften teilweise beträchtlich unterscheiden.

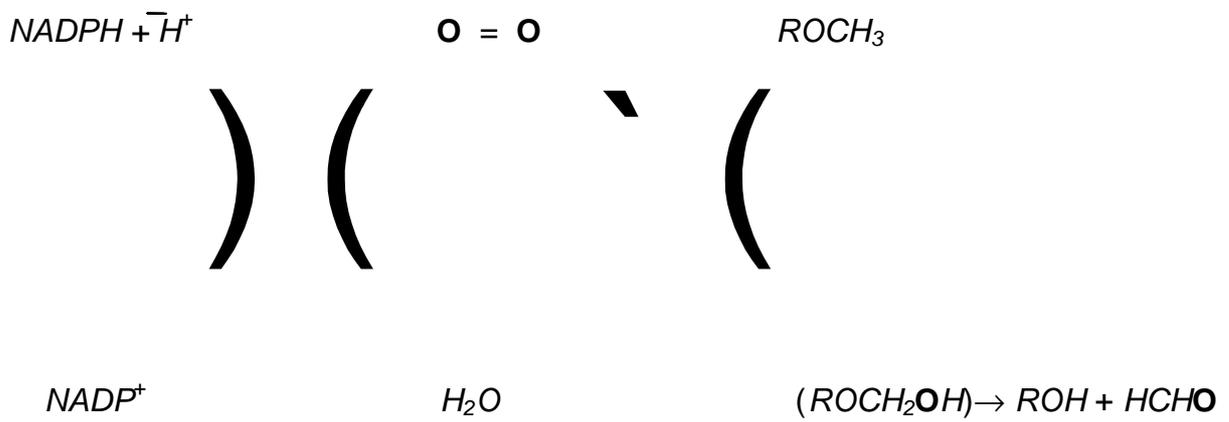


Abb. 49: Oxidation durch Monoxygenasen [38]

Isoenzyme innerhalb einer Genfamilie weisen in ihrer Aminosäuresequenz eine Übereinstimmung von mindestens 36% auf. Isoenzyme innerhalb der gleichen Subfamilie sind zumindest zu 68% homolog. Die erste arabische Zahl steht für die Genfamilie, der lateinische Buchstabe für die jeweilige Subfamilie, die nachfolgende Zahl für das jeweilige Gen [51, 96, 170]. So unterscheidet man bei Cyp 3A vier Isoenzyme nämlich die Isoenzyme Cyp 3A3, 3A4, 3A5 und 3A7 [62]. Cyp 3A4 stellt die größte Gruppe an der Gesamtmenge der Cyp-3A-Isoenzyme [71]. Cyp 3A3 und 3A4 sind zu 98% identisch. In menschlichen Leberproben konnte 3A3 bisher nicht nachgewiesen werden, sondern nur in gezüchteten humanen Leberzellen, sodass es sich entweder um ein sehr seltenes Allel oder um einen Klonierungseffekt handelt. Cyp 3A5 entspricht zu 84% Cyp 3A4. Nur ca. 20% bis 30% der Menschen trägt Cyp 3A5, bei diesen entspricht dieses Allel etwa 15% bis 30% der Cyp-3A-Gesamtmenge. Cyp 3A5 zeigt ein teilweise unterschiedliches enzymatisches Verhalten gegenüber Cyp 3A4. Cyp 3A7 ist das Hauptenzym dieser Gruppe in der fetalen Leber. So ist dessen Metabolisierungsmuster und Bedeutung noch weitgehend unklar. Nach neueren Untersuchungen gibt es bei Cyp 3A4 zwei Unterformen, die unterschiedliche enzymatische Eigenschaften und Konformation besitzen [82]. Wie für die Cyp-3A-Gruppe schon ausgeführt, sind die einzelnen Isoenzyme in individuellem Maße ausgeprägt. Bei den sogenannten "poor metabolizer" - langsamen Metabolisierern - besteht eine verminderte genetische Anlage für das entsprechende Enzym. Die bekanntesten sind der Cyp-2D6- und der Cyp-2C-Polymorphismus. So besteht bei 5% bis 10% der Westeuropäer ein Cyp-2D6-Defizit aber zu nur 0,05% bei Japanern [7, 10, 96]. Bei dem Cyp-2D6-Metabolismus hat man neben den langsamen auch besonders schnelle "rapid metabolizer" entdeckt, die eine weitere Untergruppe neben der größten Gruppe mit einer normalen Enzymaktivität darstellen. Auch von Cyp 2B6 ist bekannt, dass es in sehr unterschiedlicher Menge in uninduzierter Leber vorkommt [79, 109] und generell nur weniger als 1% der Gesamtmenge des Cytochrom-P-450-Systems stellt [149].

P-450-Genfamilie	Spezies	Vorkommen	Selektive Substrate	Induktoren	Inhibitoren
1	1A1	Extrahepatisch, (hepatisch ?)	PAH, Ethoxyresorufin	PCDD, PAH	Ellepticin
	1A2	Hepatisch	Arylamine, Phenazetin, Theophyllin, Koffein	PCDD, PAH, Omeprazol	Furafyllin, Chinolone
2	2A6	Hepatisch	Cumarin		
	2B6	Hepatisch	Cyclophosphamid	Cyclophosphamid. PB	
	2C8, 2C9, 2C10	Hepatisch, intestinal	Tolbutamid, Phenytoin, Hexobarbital	Rifampicin, Barbiturate	Sulfaphenazol
	2C18	Hepatisch	Mepheytoin, Warfarin, Omeprazol, Proguanil	Phenytoin	Cimetidin
	2D6	Hepatisch, intestinal, renal	Sparteïn, Debrisoquin, Codein, Imipramin		Chinidin
	2E1	Hepatisch, intestinal, Leukozyten	Ethanol, Chlorzoxazon, Dimethylnitrosamin	Ethanol, Isoniazid (?)	Disulfiram
	2F1	Lunge	Skatol		
3	3A3, 3A4, 3A5, 3A7	Hepatisch, gastrointestinal	Ciclosporin, Nifedipin, Ethinylestradiol	Rifampicin, Phenobarbital	Azolantimykotika
4	4B1	Lunge			

Tab. 10: Gruppe 1: Biotransformation durch Cytochrom-P-450-Oxidase (PB: Phenobarbital, PAH: polyzyklische, aromatische Kohlenwasserstoffe, PCDD: polychlorierte Dibenzo-p-dioxine; [96])

In Tab. 10 und 11 wird ein Überblick über bekannte humane Isoenzyme und dessen Substrate dargestellt. Eine strenge Einteilung in folgende Gruppen ist nach neueren Erkenntnissen nicht mehr zulässig, da z. B. auch Isoenzyme der Gruppe 1 an der Hydroxylierung von Testosteron und Progesteron beteiligt sind [177]. Außerdem fehlt das Isoenzym 2C19, das dem hier vorgestellten 2C18 entspricht [12].

P-450-Genfamilie	Spezies	Vorkommen	Intrazellulär	Katalysierte Reaktion
7	7	Hepatisch	Endoplasmatisches Retikulum	Cholesterol-7 α -Hydroxylase
11	11A1	Steroid*	Mitochondrien	Pregnenolonsynthese
	11B1	Steroid*	Mitochondrien	Aldosteron- und Cortisol-synthese
17	17	Steroid*	Endoplasmatisches Retikulum	Steroid-17 α -Hydroxylase
19	19	Steroid*	Endoplasmatisches Retikulum	Aromatase
21	21A2	Steroid*	Endoplasmatisches Retikulum	Steroid-21-Hydroxylase
27	27	Hepatisch	Endoplasmatisches Retikulum	Cholesterol-27-Hydroxylase

Tab. 11: Gruppe 2: Metabolismus des Cholesterols und dessen Folgeprodukte durch Cytochrom-P-450-Oxidase (Steroid* = an der Steroidbiosynthese beteiligte Gewebe; [96])

4.4.1.2 Inhibitoren und Induktoren des Cytochrom-P-450-Oxidasesystems

Genetischer Polymorphismus ist nur ein Grund für unterschiedliches Vorkommen der Isoenzyme. Je nach "Angebot und Nachfrage" zu metabolisierender Stoffe sind die einzelnen Isoenzyme in unterschiedlicher Menge vorhanden. Alle möglichen Einflussfaktoren sind sicher noch nicht gefunden. Von einigen Medikamenten, chemischen Substanzen, Hormonen und Nahrungsbestandteilen ist aber bekannt, dass sie zu einer Induktion oder Inhibition bestimmter Cyp-Enzyme führen. Diese sind in Tabelle 12 und 13 dargestellt. Cyclophosphamid fehlt in der Tabelle 12, könnte aber ergänzt werden, da es seinen eigenen Stoffwechsel, wie das allerdings auch für andere Substrate gilt, über das Cytochrom-P-450-System induziert [34, 44, 167].

1 A2	2 C19	2 C9	2 D6	2 E1	3 A4,5,7
Brokkoli	Carbamazepin	Rifampicin	Dexamethason	Ethanol	Barbiturate
Insulin	Norethistheron	Secobarbital	Rifampin	Isoniazid	Carbamazepin
Methylcholantren	Prednison				Glucocorticoide
Nafcillin	Rifampicin				Phenobarbital
Betanaphthoflavon					Phenytoin
Omeprazol					Rifampin
Tabak					
Rosenkohl					

Tab. 12: Induktoren des Cytochrom-P-450-Oxidasesystems [53]

1 A2	2 C19	2 C9	2 D6	2 E1	3 A4,5,7
Amiodaron	Cimetidin	Amiodaron	Amiodaron	Diethyl-	Amiodaron
Cimetidin	Felbamat	Fluconazol	Chlorpheniramine	Dithiocarbamate	Cimetidin
Fluoro-	Fluoxetin	Fluvastatin	Ritonavir	Disulfiram	Ciprofloxacin
quinolone	Fluvoxamin	Isoniazid	Cimetidin		Clarithromycin
Fluvoxamin	Indometacin	Lovastatin	Clomipramin		Diethyl-
Furafyllin	Ketokonazol	Paroxetin	Kokain		Dithiocarbamate
Interferon	Lansoprazol	Probenecid	Doxorubicin		Erythromycin
Methoxsalen	Omeprazol	Sertalin	Fluoxetin		Fluconazol
Mibefradil	Paroxetin	Sulfaphenazol	Halofantrin		Fluvoxamin
Ticlopidin	Probenecid	Trimethoprim	Indinavir		Gestagen
	Ticlopidin	Zafirlukast	Haloperidol		Grapefruit Saft
	Topiramate	Phenylbutazon	Levopromazin		Itroconazol
	Progesteron	Progesteron	Methadon		Ketokonazol
			Mibefradil		Norfluoxetin
			Moclobemid		Mibefradil
			Paroxetin		Ritonavir
			Chinidin		Chinidin
			Ranitidin		

Tab. 13: Inhibitoren des Cytochrom-P-450-Oxidasesystems [53, 82]

4.4.1.3 Cyclophosphamidmetabolismus

Cyclophosphamid ist eine selbst inaktive Substanz. Erst nach Umwandlung in der Leber entfaltet es seine alkylierende und zytotoxische Wirkung. Zunächst erfolgt die Hydroxylierung zu Hydroxycyclophosphamid über das Cytochrom-P-450-Oxidasesystem. Phosphoramid Mustard entsteht nach spontanem Zerfall von Aldophosphamid, dem Tautomer von Hydroxy-CP. Oxazaphosphorine werden nach einer Untersuchung von Chang an menschlichen Lebermikrosomen [31] durch die Isoenzyme Cyp 2A6, 2B6, 2C8, 2C9 und 3A4 metabolisiert. Cyp 1A1, 1A2, 2D6 und 2E1 zeigten keine Enzymkompetenz gegenüber Cyclophosphamid oder dem noch untersuchten Ifosphamid. Diese Erkenntnisse nutzte man, indem man Cyp 2B1 aus Rattenleber gewonnen hat, welches dem humanen 2B6 entspricht, in Tumorzellen einbaute, um deren Empfindlichkeit gegenüber Oxazaphosphorinen zu steigern. In vitro kam es so zu einer größeren Empfindlichkeit dieser Zellen gegenüber Cyclophosphamid [33, 35, 68]. Man versucht, dies bei der Gentherapie zu nutzen.

Nach Chang wird Cyclophosphamid hauptsächlich über das Isoenzym 2B6 und Ifosphamid über 3A4 verstoffwechselt. Wobei aber Ifosphamid, wenn auch in vermindertem Maße, ebenfalls von Cyp 2B6 metabolisiert wird. Cyp 3A4 soll nach dieser Darstellung aber eher nicht oder nur in geringem Ausmaß, auch Cyclophosphamid metabolisieren. Eine Mitbeteiligung in der katalytischen Aktivierung zeigen Cyp 2A6, 2C8 und 2C9. Cyp-2C-Enzyme haben dabei eine schwächere Wirkung. Chang beschreibt in seiner Arbeit eine sehr unterschiedliche Metabolisierungsrate in den untersuchten Leberproben mit einer neunfach stärkeren Hydroxylierung der höchsten gegenüber der niedrigsten Enzymaktivität, was einer vorbestehenden Enzyminduktion oder einer genetischen Disposition zugeschrieben wird. Bestimmend für die Variabilität sollen die Enzyme Cyp 2C8 und 2C9 sein [31]. Bohnenstengel dagegen vermutet in seiner Arbeit, dass ein großer Teil der Aktivierung von CP über Cyp 3A4 stattfindet. Zudem wird die Detoxifikation über die Seitenkettenreaktion zu Dechlorethylcyclophosphamid hauptsächlich über Cyp 3A4, weniger über Cyp 1A2 vollführt [16]. Andere Quellen berichten von Beteiligung der Cyp 2C19 an der Hydroxylierung von CP, wenn auch in einem geringeren Maße [32, 53]. Eine hauptsächliche Aktivierung von Cyclophosphamid über Cyp 2B6 macht ebenso die Tatsache unwahrscheinlich, dass dieses Isoenzym nur in einem eher geringen Teil von menschlichen Leberproben unterschiedlicher Donatoren überhaupt nachgewiesen werden kann [79, 109] und maximal 1% der Cytochrom-P-450-Menge stellt [149].

Nach Anwendung von Cyclophosphamid wird bei mehrmaliger Gabe eine Enzyminduktion von Cytochrom-P-450 beschrieben [44, 167]. Bagley et al. beschrieb schon 1973 nach einer CP-Therapie mit 6 bis 80 mg/kg Körpergewicht pro Tag eine Zunahme des Stoffwechsels

nach zwei Tagen und ein Anhalten dieses Zustands bis zum fünften Tag [9]. Chang schließlich wies erhöhte Cyp-3A4-, 2C8-, 2C9-Konzentrationen vier Tage nach CP-Gabe nach, was diesen Isoenzymen eine wesentliche Rolle bei der Selbstinduktion von CP zuschreiben würde. Cyp 3A5 und Cyp 2B6 zeigten dagegen keine Zunahme nach Cyclophosphamidgabe. Die Cyp-2A6-Aktivität wurde nicht untersucht [32]. Betrachtet man bei Ratten den Enzymverlauf über mehrere Tage, so kommt es zu einer Verminderung der Cyp-Enzyme [30, 84, 104, 105]. Dieser Vorgang erfährt sein Maximum nach etwa sieben Tagen und erstreckt sich noch auf andere Enzymsysteme und Hormone [4, 76, 89]. Ähnliches wird z. B. auch von Cisplatin beschrieben [76, 90]. Bei Menschen scheint aber dieses Phänomen nicht im gleichen Ausmaß zum Tragen zu kommen [9, 32].

4.4.2 Einfluss des Alters

Der Cyclophosphamidstoffwechsel erwies sich in dieser Untersuchung als altersabhängig. Bezogen auf CP zeigte sich an beiden Infusionstagen für die Körperclearance eine Korrelation mit dem Alter. Das heißt, höheres Alter war mit einer höheren CP Cl_{tot} für beide Tage vereinbar. Gleiches galt auch für den Anstieg der CP-Körperclearance von Tag 1 auf Tag 2. Bei PM zeigte sich eine positive Korrelation zur AUC Tag 1. Dies könnte z. B. der bei höherem Alter stärkeren Induziertheit von Enzymen entsprechen, da bereits eine größere Exposition zu Xenobiotika stattgefunden hat. Eine andere denkbare Erklärung wäre ein generell altersabhängiges Vorkommen von bestimmten Enzymen z. B. auch aufgrund unterschiedlicher Hormonmuster in verschiedenen Altersabschnitten. Für den zweiten Behandlungstag nach Enzyminduktion durch Cyclophosphamid war dieser Zusammenhang mit der PM AUC nicht mehr nachweisbar. Stattdessen zeigte sich eher eine Verringerung der sonst beschriebenen ausgeprägten Zunahme der Metabolisierungsrate von Tag 1 auf Tag 2, also eine kleinere PM AUC_{diff} mit eingeschränktem Signifikanzniveau, was einem verminderten Anstieg der Metabolisierung zu PM zum zweiten Tag bei älteren Patienten entsprechen würde. Dies steht im Gegensatz zum vermehrten Anstieg der CP Cl_{diff} . Das heißt, dass mit zunehmenden Alter zwar ein vermehrter Abbau des Cyclophosphamids von Tag 1 auf Tag 2 erfolgt, dies aber nicht zu PM, was dem entspricht, was für alle Patienten bereits altersunabhängig festgestellt wurde. Eine mögliche Ursache ist der höhere PM-Ausgangswert bei zunehmendem Alter, vielleicht spricht dies aber auch für eine vermehrte Toxizität bei erhöhter Empfindlichkeit der Enzymsysteme mit Zunahme des Alters. Nicht zuletzt steht hier die Möglichkeit der vermehrten Induktion alternativer Stoffwechselwege mit höherem Alter.

Zunächst widersprüchlich gegenüber den hier gefundenen Daten, berichtet Satoniemi in seiner Arbeit von einer Verminderung des Stoffwechsels über die Cytochrom-P-450-

Oxidasen mit zunehmenden Alter. Untersucht wurde dies anhand der Verstoffwechslung von Phenazon, das über alle wichtigen Isoenzyme metabolisiert wird. Allerdings berichtet Satoniemi bis zum 40. Lebensjahr von einer Zunahme der Aktivität. In der vorgelegten Studie liegt eine verminderte Altersvariabilität vor. Das Alter lag im Mittel bei 34,86 Jahre, der älteste Behandelte war 52, der jüngste 17 Jahre alt, sodass die hier untersuchten Patienten im Durchschnitt dieser mittleren Altersklasse zuzurechnen sind. Nach dem 40. Lebensjahr kommt es nach Satoniemi nur zu einer langsamen Verminderung der Enzymaktivität. Erst nach dem 70. Lebensjahr kommt es zu einem deutlichen Abfall um ca. ein Drittel. Die Gesamtmenge an Cytochrom bleibt mit dem Alter unverändert [149, 154].

4.4.3 Einfluss des Geschlechts

Die vorgelegten Untersuchungen geben erstmals Hinweise, dass die Verstoffwechslung von Cyclophosphamid geschlechtsabhängig ist. Die Körperclearance ist bei Frauen wesentlich niedriger als bei Männern. Die CP-Clearance stieg zwar wie bei den männlichen Patienten ebenso um circa 50% der Absolutwerte an, liegt aber bei Frauen sowohl am ersten als auch am zweiten Tag um ein Drittel unter den Werten der männlichen Patienten. Obwohl bei Frauen keine renale CP-Exkretion bestimmt wurde, ist es unwahrscheinlich, dass gegenüber der bei Männern an den Applikationstagen konstanten renalen Clearance, bei Patientinnen eine Erhöhung der renalen Clearance zum zweiten Tag von etwa zwei Dritteln stattgefunden hat. Auf der Ebene des Metaboliten PM ließ sich der Geschlechtsunterschied zunächst nicht nachweisen. Dies könnte zum Beispiel einer Aktivierung alternativer hepatischer Cytochrom-P-450-Isoenzyme aber auch anderer Enzymsysteme entsprechen, die mit geringerer Geschwindigkeit für Männer und Frauen unterschiedliche metabolische Verfügbarkeit von Cyclophosphamid ermöglichen. Bei einigen Cyp-Isoenzymen steht fest, dass sie bei beiden Geschlechtern unterschiedlich ausgeprägt sind, dies ist sowohl für den Menschen bekannt [149, 170], als auch in Tierversuchen nachgewiesen worden [124].

Einbezogen werden muss, dass alle Patientinnen, mit einer Ausnahme, zur Prophylaxe einer gynäkologischen Blutung mit Lynesterol (Orgametril®) behandelt wurden. Diese eine Patientin (PM-Pat. 1) war hysterektomiert. Diese Probandin zeigte dem ganzen Kollektiv gegenüber durchschnittliche pharmakokinetische Werte. In den statistischen Berechnungen zeigte sich kein wesentlicher Unterschied nach Ausschluss der Patientin. Die Annahme einer Interaktion von Lynesterol und Cyclophosphamid kann aus der hier vorgestellten Arbeit nicht endgültig widerlegt oder bewiesen werden. Hier sind weitere Untersuchungen abzuwarten. Hinweise bestehen für eine Inhibition von Cytochrom-P-450-Oxidasen durch Progesteron z. B. Cyp 3A [53, 128]. Progesteron ist ein Substrat von Cyp 3A, 2C19 und 2C9 und zeigt somit ein ähnliches Isoenzymmuster wie die Cyclophosphamid verstoffwechselnden

Isoenzyme [96, 178]. Nach Yamazaki sind die Isoenzyme Cyp 2C19 und im geringeren Maße auch Cyp 2C9 nicht jedoch Cyp 3A4 durch Progesteron- und weniger durch Testosterongabe hemmbar [178]. Somit ist nicht auszuschließen, dass doch durch Lynesterolgabe eine Beeinflussung der Cyclophosphamid Verstoffwechslung im Rahmen einer Inhibition des Cytochrom-P-450-Systems stattgefunden hat [160].

Zur Cyclophosphamidpharmakokinetik gibt es nur eine Studie, die geschlechtsbezogene Daten liefert, da nur Patientinnen untersucht wurden [34]. Gestagene wurden hier nicht verabreicht. Die mediane CP-Körperclearance lag in dieser Untersuchung bei 101 ml/min und entspricht damit in etwa den Werten bei den Frauen dieser Arbeit. Allerdings wurde dort eine Dosis von 4 g/m² über 90 min verabreicht, sodass die Daten nicht ganz vergleichbar sind. Eine andere Studie belegt die unterschiedliche Wirksamkeit von Oxazaphosporinen bei männlichen und weiblichen Patienten [162]. Ob diese Frauen mit Hormonen behandelt wurden, wird in der Studie nicht berichtet, sodass es offen bleiben muss, ob nicht ebenso eine Inhibition der Cytochrom-P-450-Oxidasen über exogen zugeführte Hormone ursächlich war. Somit ist es unklar, ob eher von einem geschlechtsspezifischen Phänomen, z. B. auch durch körpereigenes Progesteron, oder von einem reinen Medikamenteneffekt durch zugeführtes Gestagen auszugehen ist. Auch von Estradiol ist eine Einflussnahme auf die Verstoffwechslung von Medikamenten bekannt. Fluconazol, ebenfalls ein Substrat von Cyp 3A, zeigt auch eine Beeinflussung durch Estradiol [12], genau wie Prednisolon und Benzodiazepine, die unterschiedliche Serumspiegel nach Estradiolgabe aufwiesen [123]. Bei einem rein geschlechtsspezifischen Phänomen müsste dann von einem generell unterschiedlichen Vorkommen der beteiligten Isoenzyme oder zumindest einer unterschiedlichen Syntheseleistung bei den Geschlechtern ausgegangen werden, welches von den an der Cyclophosphamidaktivierung nachweislich beteiligten Cyp-Isoenzymen aber nicht bekannt ist.

4.4.4 Krankheitsverlauf vor und nach Knochenmarktransplantation

Untersucht wurde, ob die Art der Grunderkrankung sowie die Dauer der Erkrankung und das Remissionsstadium vor der KMT einen Einfluss auf die pharmakokinetischen Daten von PM zeigten. In dieser Untersuchung zeigte sich diesbezüglich keine statistische Verbindung. Ein Zusammenhang mit der Applikation bestimmter Chemotherapien im bisherigen Behandlungsverlauf [121], wie z. B. für vorherige Mitoxantrongabe beschrieben [42], wäre denkbar gewesen. Auch ein Einfluss der pharmakokinetischen Daten auf den Verlauf nach KMT, anhand der Dauer der myeloablativen Phase [37, 140], der Dauer des stationären Aufenthaltes und des Überlebens konnte nicht nachgewiesen werden. Ein statistischer Zusammenhang zeigte sich lediglich insofern, dass eine längere myeloablative Phase mit

einem längerem stationären Aufenthalt verbunden war, was in soweit nicht überrascht. So war auch in dieser Studie ein unmittelbarer Zusammenhang unterschiedlicher pharmakokinetischer Daten auf die Prognose nicht nachweisbar. Hier erscheint die Menge an Einflussfaktoren z. B möglicher Komplikationen [91, 176] zu groß, sodass Erhebungen an wesentlich größeren Patientengruppen abgewartet werden müssen.

4.4.5 Einfluss der Nieren- und Leberfunktion

Pharmakokinetische Daten von Phosphoramid Mustard und Cyclophosphamid zeigten mit den Bilirubinwerten am Transplantationstag, dem Maximalwert und der Zeitdauer bis zum Erreichen des maximalen Bilirubinwertes keinen statistischen Zusammenhang. Ein Einfluss auf die Leberfunktion ließ sich also nicht nachweisen.

Um eine Verbindung zwischen pharmakokinetischen Daten und der Nierenfunktion festzustellen, wurde nach Korrelationen mit dem Kreatininwert am Transplantationstag, dem maximalen Kreatininwert und der Zeitdauer bis zum Erreichen der maximalen Kreatininkonzentration gesucht. Dabei fand sich bei der Cyclophosphamidclearance und deren Anstieg von Tag 1 auf Tag 2 kein Zusammenhang. Also zeigte CP selbst keinen Einfluss auf die Nierenfunktion. Für PM zeigte sich, dass eine größere AUC_{diff} zu einer Erhöhung des maximalen Kreatininwertes führte ($p=0,004$; $r^2=0,55$). Ein Trend bestand auch zur maximalen Phosphoramid-Mustard-Konzentration des ersten Applikationstages ($p=0,073$; $r^2=0,37$). Höhere PM-Maximalwerte an Tag 1 und ein größerer Anstieg der PM-AUC-Werte zwischen den beiden Behandlungstagen waren also im Trend mit höheren Kreatininwerten verbunden. Das würde für einen direkten toxischen Effekt von PM an der Niere sprechen, der sich in der Erhöhung der Kreatininwerte zeigte. Bemerkenswert dabei ist, dass nicht die PM AUC der einzelnen Tage sondern die Maximalwerte von Tag 1 und der vermehrte Anstieg der PM AUC zwischen den beiden Applikationstagen die toxische Komponente darstellen. Da die renale Clearance von PM nicht bestimmt wurde, kann keine Aussage über eine Einflussnahme gemacht werden. Die PM AUC_{diff} ist allerdings auch als Maß für die Enzyminduktion zu sehen. Bei Patienten mit vermehrter Enzyminduktion des PM-Metabolismus kam es offensichtlich zu einer vermehrten Nephrotoxizität. Also ist einerseits ein direkter toxischer Einfluss durch PM ggf. auch über die direkte Bildung der renalen Cytochrom-P-450-Oxidasen wie z. B. 3A4 denkbar [11]. Andererseits besteht die Möglichkeit einer additiven Wirkung durch ein verändertes Cytochrom-P-450-Oxidasenmuster, z. B. durch einen veränderten Abbau nephrotoxischer Substanzen. Von einem allgemein toxischen Effekt muss ausgegangen werden, da es bei allen Patienten zu einem Kreatininanstieg kam. Hier ist aber somit eine gewisse Linearität nachzuweisen.

4.4.6 Einfluss der Komedikation

Bei gleichzeitiger Gabe mehrerer Medikamente muss immer mit Wechselwirkungen zwischen ihnen gerechnet werden. Generell unterscheidet man zwischen pharmakodynamischen und pharmakokinetischen Interaktionen [61, 127]. Unter pharmakodynamischen Interaktionen versteht man z. B. die Konkurrenz zwischen Agonist und Antagonist am gleichen Rezeptor. Ein weiteres Beispiel wäre ein Medikament, das zu Hypokaliämie führt und so die Toxizität von Digitalispräparaten erhöht. Bei pharmakokinetischen Wechselwirkungen kann es zu Beeinflussungen auf verschiedenen Ebenen kommen. Dazu zählen Interaktionen bei Absorption, Exkretion, Eiweißbindung, Verteilungsvolumen und Metabolismus. Auf allen diesen Ebenen kann es auch zu Wechselwirkungen mit Cyclophosphamid und seinen Metaboliten kommen. Da CP aber als wichtigsten Aktivierungsschritt die Metabolisierung an Cytochrom-P-450-Oxidasen erfährt, soll besonders eine mögliche Beeinflussung dieses Stoffwechselschrittes untersucht werden.

Ist in der Literatur anerkannt, dass Cyclophosphamid durch Selbstinduktion seinen eigenen Stoffwechsel beschleunigt, so fehlen bisher Angaben, ob diese Induktion auch zu Stoffwechsellerschiebungen anderer Medikamente führt [79]. Nur eine Studie berichtet von Dexamethasonclearancebeschleunigung nach CP-Gabe [113]. Insgesamt existieren nur wenige Berichte von Wechselwirkungen über das Cytochrom-P-450-System mit vorheriger Komedikation, die zu Veränderungen des CP-Stoffwechsels führen. Yule findet eine CP-Clearancebeschleunigung nach Dexamethason [179]. In Rattenleber führt Phenobarbital zu einer vermehrten CP-Aktivierung [143]. Chang berichtet von einer größeren CP-Clearance nach Phenobarbital, Dexamethason und Rifampicin über eine Erhöhung der Isoenzyme Cyp 3A4, 2B6, 2C8 und 2C9 [31, 32]. Hinweise für einen Einfluss von Prednisolon und Phenytoin bestehen [32, 34]. In dieser Untersuchung zeigten die folgenden Medikamente eine statistisch relevante Einwirkung auf pharmakokinetische Parameter:

- Humatin®, Paromomycin
- Colistin®, Colistinsulfat
- Ciprobay®, Ciprofloxacin
- Clont®, Metronidazol
- Diflucan®, Fluconazol
- Gastrozepin®, Pirenzepin
- Psyquil®, Triflupromazin
- Temgesic®, Buprenorphin
- Valium®, Diazepam

4.4.6.1 Einfluss von Metronidazol, Fluconazol und Ciprofloxacin

Die Medikamente, die einen Einfluss auf pharmakokinetische Daten von Cyclophosphamid und Phosphoramid Mustard zeigten, sind nicht isoliert zu betrachten, da sie teilweise in festen Kombinationen appliziert wurden. Alle Patienten bis PM-Pat. Nr. 21, die Colistinsulfat erhielten, bekamen gleichzeitig Paromomycin. Danach wurde die prophylaktische antibiotische Therapie geändert. Diesen Patienten (PM-Pat. 22 bis 26) wurde dann stattdessen Metronidazol und Ciprofloxacin verabreicht. Entsprechend zeigten diese Patientengruppen (Colistinsulfat/Paromomycin versus Ciprofloxacin/Metronidazol) Auffälligkeiten in den gleichen pharmakokinetischen Parametern nur mit entgegengesetzter Auswirkung. Die Kombination Metronidazol und Ciprofloxacin zeigte also eine verminderte AUC von PM (mit eingeschränkter Signifikanz für den zweiten Tag) und eine verminderte Clearance von CP für beide Applikationstage gegenüber der Kombination Paromomycin und Colistinsulfat, die zu einer erhöhten PM AUC und einer erhöhten CP-Clearance führte. Von den fünf Patienten und Patientinnen der Gruppe Metronidazol/Ciprofloxacin erhielten vier zusätzlich Fluconazol (PM-Pat. 22 bis 25). Diese vier Patienten zeigten im Prinzip das gleiche Beeinflussungsmuster mit etwas verändertem Signifikanzniveau. Unter diesen vier Patienten wiederum bekamen zwei Pirenzepin. Auch hier zeigen sich die gleichen Zusammenhänge mit zusätzlicher Signifikanz zu verminderter PM AUC an Tag 2.

Die PM AUC am ersten Applikationstag war für Patienten mit Ciprofloxacin, Metronidazol und Fluconazolmedikation am ersten Tag um etwa 50% niedriger als bei Patienten ohne diese Medikation. An Tag 2 lagen die Werte noch etwa 20% unter den Werten der anderen Gruppe, sodass keine statistische Signifikanz mehr bestand. Betrachtet man die Probanden, die Fluconazol bekamen, zeigten sich in etwa gleiche Prozentzahlen bei vergleichbaren absoluten Zahlen. Bei der CP-Clearance waren die Werte für Tag 1 um etwa 50% an Tag 2 um etwa 35% unter den Daten der Patienten ohne diese Medikation. Bei den Patienten, die Fluconazol bekamen, lagen die Werte am ersten Tag um 52% und am zweiten Tag um 45% niedriger. Eine verminderte PM AUC bei verminderter CP-Clearance spricht bei konstanter renaler Clearance für eine herabgesetzte Metabolisierung bei PM Pat. 22 bis 26. Dies könnte auch die Erklärung dafür sein, warum in dieser Untersuchung im Literaturvergleich verhältnismäßig hohe Werte für die renale Clearance mit hoher Ausscheidung unveränderten Cyclophosphamids gefunden wurden. Die Patienten, bei denen die renale CP-Ausscheidung gemessen wurde, entstammen zufällig zum größten Teil der Ciprofloxacin/Metronidazolgruppe. Eine verminderte Metabolisierung von CP führte also zu einer vermehrten renalen Ausscheidung.

Die Überlegung schließt sich an, welches der verabreichten Medikamente für diese Einwirkung verantwortlich ist. Paromomycin wird genau wie das Peptidantibiotikum Colistinsulfat enteral nicht resorbiert [115]. Bei ganzkörperbestrahlten Patienten und somit sicher affektiertem Darm ist eine doch stattfindende Resorption nicht ganz auszuschließen. Es ist aber fraglich, ob in solchen Mengen, dass eine effektive Beeinflussung der Metabolisierung von CP stattfinden kann. Zumal Paromomycin wie alle Aminoglykosidantibiotika eine fast ausschließlich renale Elimination ohne vorherige Verstoffwechslung erfährt [54, 119]. Daher ist also anzunehmen, dass die statistisch signifikanten Veränderungen der pharmakokinetischen Parameter nicht durch eine Zunahme des Cyclophosphamidstoffwechsels nach Colistinsulfat- und Paromomycingabe bedingt sind. Gleiches gilt für das für M₁-Rezeptoren selektive Anticholinergikum Pirenzepin, welches zur Magensäurereduktion eingesetzt wird. Dieses wird zum größten Teil ohne Metabolisierung renal ausgeschieden [119]. Ein Einfluss auf den CP-Metabolismus ist somit unwahrscheinlich.

Betrachtet man die verbleibenden Medikamente Ciprofloxacin, Metronidazol und Fluconazol stellt man fest, dass sie alle mit den Cytochrom-P-450-Oxidase in Zusammenhang stehen. Von Fluconazol, einem Azolmykotikum [20], ist bekannt, dass es zu einer Inhibition von Cyp 3A4 und Cyp 2C9 führt [12, 77, 111], nach Bertz auch zu einer Aktivitätsminderung von Cyp 2C19 und möglicherweise auch von Cyp 2A6 [11], obwohl es nur zu ca. 20% durch diese Enzyme metabolisiert wird und sonst unverändert ausgeschieden wird. Bei Patienten mit Leberzirrhose zeigt sich aber doch eine Eliminationseinschränkung [60]. Wechselwirkungen von Fluconazol sind mit folgenden Medikamenten bekannt, die aber nur teilweise auf eine Interaktion mit dem Cytochrom-P-450-System beruhen: Ciclosporin, Lorsatan, Cumarin, Terfenadin, Phenytoin, Rifampicin, Sulfonylharnstoffe, Cimetidin, Thiazide, Zidovudin, Rifabutin, Nortryptilin, Theophyllin [12, 60, 77, 111].

Ciprofloxacin gehört als Antibiotikum zu der Gruppe der Fluoroquinolone. Weil diese hemmend auf die bakterielle DNA-Gyrase wirken, werden sie auch als Gyrase-Hemmer bezeichnet [3, 122, 158, 169]. Eine Besonderheit dieses Antibiotikums ist, dass es aktiv intestinal eliminiert wird [164]. Schon vor einigen Jahren ist festgestellt worden, dass Ciprofloxacin zu einer Erhöhung des Serumtheophyllinspiegels führt [137, 145]. Da Theophyllin über das Cytochrom-P-450-System verstoffwechselt wird, lag eine Interaktion in diesem Bereich nahe, zumal Cimetidin, ein bekannter Cyp-Inhibitor, zu einer gesteigerten Wirkung von Ciprofloxacin führt [98]. Weitere medikamentöse Wechselwirkungen werden für folgende Medikamente beschrieben: Koffein, Antazida, Eisenpräparate, Ranitidin, Fenbufen, Probenecid [73]. Wechselwirkungen mit Rifampicin, Ciclosporin und Omeprazol bestehen nicht [61, 157]. In seiner Studie veröffentlichte Fuhr, dass Quinolone in vitro und in vivo zu

einer Inhibition der Cytochrom-P-450-Isoform Cyp 1A2 führen. Nach Ciprofloxacingabe wird eine Verminderung der Aktivität dieses Isoenzym von bis auf 30% beschrieben [56, 101]. Ob Ciprofloxacin und andere Quinolone auch durch Cyp 1A2 metabolisiert werden, ist weiter unbekannt. Flockhart vermutet eine Beteiligung von Cyp 3A und gibt zusätzlich eine Hemmbarkeit der Cyp-3A-Isoenzyme durch Ciprofloxacin an [53].

Metronidazol gehört zu der Gruppe der Nitroimidazol-Nitrofurant-Chemotherapeutika. Die Anaerobierwirkung und ein immunsuppressiver Effekt macht es zu einem oft eingesetztem Therapeutikum bei Morbus Crohn [54]. Dosisabhängig ist Metronidazol gentoxisch und damit potentiell kanzerogen [103]. Es wird nur zu etwa 10 bis 20% unverändert renal ausgeschieden, der überwiegende Teil wird in der Leber umgewandelt [50, 138]. Einschränkungen des Leberstoffwechsels führen zu einer verminderten Verstoffwechslung von Metronidazol [118] und gleichzeitig zu einer Verminderung der Gentoxizität [103]. Die Metabolisierung wird dem Cytochrom-P-450-System zugeschrieben, obwohl bisher noch keine genaue Zuordnung zu bestimmten Isoenzymen gelungen ist [11, 81, 118]. Es besteht der Verdacht, dass bei biphasischer Kinetik mindestens zwei Isoenzyme involviert sind. Da Phenazetin beim Menschen zu einer Verminderung der Hydroxylierung von Metronidazol führt und 3-Methylcholantrene bei Ratten zu einer Steigerung, werden Cyp 1A1 und Cyp 1A2 als mitbeteiligte Enzyme vermutet. Bei sich teilweise widersprechenden Ergebnissen müssen weitere Untersuchungen abgewartet werden [97]. Insgesamt sind sicherlich auch andere Enzymsysteme neben dem Cytochrom-P-450-System beteiligt [88].

Eine einwandfreie Klärung, welches dieser drei Medikamente nun für die verminderten Wirkstoffspiegel verantwortlich zu machen ist, lässt sich nach derzeitigem Wissenstand nicht geben. Jedoch ist zu vermuten, dass die Hauptwirkung Fluconazol zugeschrieben werden muss. Nur von diesem Medikament ist eindeutig nachgewiesen, dass es nicht nur über das Cytochrom-P-450-System verstoffwechselt wird, sondern ebenso einen Inhibitor dreier am Cyclophosphamidmetabolismus beteiligter Enzyme Cyp 3A4, Cyp 2C9 und Cyp 2C19 darstellt [77, 110]. Eine Wirkung von Ciprofloxacin über Cyp 1A2 ist eher zu vernachlässigen, da es nur zu einem geringen Maße an der Seitenkettendetoxifikation zu Dechloroethylcyclophosphamid beteiligt ist, nicht aber an der CP-Aktivierung. Eine mögliche additive Wirkung über Cyp-3A-Inhibition [53] ist jedoch nicht auszuschließen. Auch Metronidazol wird eine Cyp-inhibierende Wirkung zugeschrieben [11], hier ist eine Zuordnung zu bestimmten Isoenzymen nicht bekannt. Gerade die nachgewiesene Einflussnahme über drei Isoenzyme und diese potenzierende Wirkung macht also Fluconazol als Hauptverursacher wahrscheinlich. Eine endgültige Klärung über eine Mitbeteiligung der anderen Medikamente kann nur durch weitere Untersuchungen erfolgen,

insbesondere durch vollständige Identifikation, der für die Verstoffwechslung von Metronidazol und Ciprofloxacin verantwortlichen Isoenzyme.

4.4.6.2 Einfluss von Buprenorphin und Triflupromazin

Jeweils unabhängig von den oben genannten Medikamenten zeigen Buprenorphin und Triflupromazin statistische Verbindungen zu bestimmten pharmakokinetischen Parametern von Cyclophosphamid und Phosphoramid Mustard. Das Thebainderivat Buprenorphin ist ein synthetisches Morphinanalogon mit teilweise agonistischer und antagonistischer Wirkung am Morphinrezeptor. Es wirkt etwa 30mal stärker als Morphin, zeichnet sich durch eine lang anhaltende Wirkung aus und kann sublingual verabreicht werden [54, 93, 129]. Buprenorphin wird sowohl desalkyliert als auch glukuronidiert, zu zwei Dritteln mit der Fäzes und zu einem Drittel renal ausgeschieden [119]. Die N-Demethylierung wird vom Cytochrom-P-450-Isoenzym Cyp 3A4 katalysiert. Die Metabolisierung von Buprenorphin ist durch Ketoconazol hemmbar. Hemmstoffe der Isoenzyme Cyp 1A, 2C, 2D6 und 2E1 zeigen keine Wirkung [72]. Umgekehrt wird keine Enzyminhibition oder -induktion durch Buprenorphin beschrieben. Buprenorphin führte in dieser Untersuchung zu einem vermehrten Anstieg der PM AUC von Tag 1 auf Tag 2 und zu einer Verminderung der Eliminationskonstanten am ersten Tag. Die Clearance von CP an Tag 2 war vermindert, die CP Cl_{diff} war kleiner. Einschränkend ist zu sagen, dass Buprenorphin nur von 3 Patienten eingenommen wurde. Dabei nahm PM-Pat. 13 zusätzlich noch Triflupromazin und die PM-Pat. 23 und 24 noch Fluconazol, Ciprofloxacin und Metronidazol ein. Es ist also fraglich, ob diese statistischen Korrelationen allein durch Buprenorphin zu erklären sind. Da eine Enzyminduktion nicht beschrieben wird, ist diese eher unwahrscheinlich. Eine mögliche Einwirkung über das Isoenzym Cyp 3A4 ist aber nicht gänzlich auszuschließen. Durch Konkurrenz am verstoffwechselnden Enzym wäre die verminderte Elimination über einen verlangsamten CP-Abbau zu erklären. Die erhöhten PM AUC vom ersten auf den zweiten Tag würden dann für eine additive Wirkung bei der PM-Enzyminduktion sprechen.

Triflupromazin ist ein Neuroleptikum vom Chlorpromazintyp, ein Abkömmling von Phenothiazin. Es gehört zu der Gruppe der mittelstarken Neuroleptika und wird oft als Antiemetikum eingesetzt. Der Abbau erfolgt vorwiegend über die Leber in teilweise noch wirksame Metabolite [69]. Von Triflupromazin ist bekannt, dass der Abbau durch Phenobarbital hemmbar ist, und es selbst zu einer Induktion vom Phenobarbitaltyp führt [6, 11, 21, 119], was für eine Beteiligung der Cyp-3A- und 2C-Isoenzyme sowie Cyp 2B6 und 2A6 sprechen würde. Von Chlorpromazin und Mequitazin, beides Abkömmlinge der gleichen Medikamentengruppe, ist bekannt, dass sie, da ihre Hydroxylierung durch Chinidin hemmbar ist, durch Cyp 2D6 metabolisiert werden [116, 120]. Da aber für Chlorpromazin z. B. mehr

als 75 verschiedene Metaboliten bekannt sind, erscheint es nicht abwegig, dass mehrere Isoenzyme beteiligt sind. Murray entdeckte in Rattenleber in vivo durch Promazin und Chlorpromazin eine Induktion von Cyp 2B1, das dem humanen 2B6 entspricht [117]. Cashman beschrieb für andere Phenothiazinderivate eine Mitbeteiligung von Cyp 3A, 2A6 und 2C8 [28]. Eine Inhibition der Hydroxylierung von Midazolam, welches über Cyp 3A verstoffwechselt wird, durch Phenothiazinabkömmlinge ist bekannt [57]. Zudem stellte Nakamura in seiner Arbeit ein Inhibition von Cyp 3A durch Mequitazin fest [120].

In dieser Untersuchung war mehrmalige Triflupromazingabe mit einer höheren AUC von PM an Tag 2 und einer erhöhten CP-Clearance an beiden Applikationstagen korreliert. Dies ist nur durch eine vermehrte Metabolisierung zu erklären, was aber wiederum den oben genannten Quellen teilweise widerspricht. Triflupromazin kann nicht, wie bei anderen Medikamenten dieser Stoffgruppe beschrieben, zu einer Inhibition von Cyp 3A führen. Die Daten dieser Untersuchung sind nur durch eine Enzyminduktion zu erklären. Berücksichtigt man die Aussagen von Mutschler, Breyer und Murray [21, 117, 119] könnte das einer Induktion vom Phenobarbitaltyp entsprechen, weil dies die Isoenzyme sind, deren Mitwirkung beim Cyclophosphamidmetabolismus nachgewiesen ist [31]. Da zwar die CP-Clearance für beide Tage, die PM AUC aber nur an Tag 2 erhöht ist, scheint es besonders auf die Enzyme zu wirken, die für die Phosphoramid-Mustard-Bildung verantwortlich sind, und dabei eine zusätzlich additive Wirkung auf die Cyclophosphamidinduktion auszuüben, wie das ähnlich auch von Phenobarbital beschrieben wird [34]. Da Triflupromazin nur als Bedarfsmedikation gegeben wurde, muss es sich dabei um einen sehr potenten Induktor handeln, da es teilweise in relativ niedriger Dosierung verabreicht wurde (von 10 bis 200 mg). PM-Pat. 13, der die höchste Dosis von insgesamt 200 mg erhielt, hatte auch die größte PM AUC an Tag 2, bei allerdings eher durchschnittlichen Clearancewerten von CP. Da dieser Patient aber auch Medikamente erhielt, die nur von ihm eingenommen wurden, ist unklar, ob der Einfluss allein auf Triflupromazin beruht. Leider sind neuere Studien dieser Stoffgruppe nicht mit Triflupromazin durchgeführt worden, sodass in der neueren Literatur eine Enzyminduktion nicht belegt werden kann. Vielleicht wird es in der Zukunft Untersuchungen geben, die diese Fragen klären. Eine einmalige Triflupromazineinnahme am zweiten CP-Infusionstag führte zu keiner statistisch signifikanten Einflussnahme auf die pharmakokinetischen Parameter von PM und CP an Tag 2.

4.4.6.3 Einfluss von Diazepam

Diazepam gehört zu den langwirksamen Benzodiazepinen und wird als Tranquilizer eingesetzt. Es wirkt spannungs- und erregungsdämpfend, anxiolytisch, hypnotisch-sedierend, antikonvulsiv und muskelrelaxierend. Auch seine Metaboliten besitzen noch eine

pharmakologische Potenz [119]. Da Diazepam bis auf PM-Patienten 17 und 26 von allen eingenommen wurde, wurde in der statistischen Berechnung die Gesamtmenge, die die Probanden in der Woche vor KMT eingenommen hatten, berücksichtigt. Je mehr Diazepam eingenommen wurde desto niedriger war die CP-Clearance an beiden Tagen, gleiches galt für die PM AUC Tag 1. Aufgrund der Datenlage wäre dies durch eine Enzyminhibition zu erklären. Diazepam wird über das Cytochrom-P-450-Oxidasesystem verstoffwechselt, durch Cyp 2C19 und weniger auch durch Cyp 3A [11]. Diese beiden Enzyme sind auch an der Metabolisierung von Cyclophosphamid beteiligt, eine Enzyminhibition durch Diazepam ist aber bisher nicht bekannt. Eine leichte Induktion von Leberenzymen wird beschrieben, bestimmte Isoenzyme sind jedoch nicht definiert [119]. Das Abbauprodukt Nordiazepam wird ebenfalls durch die beiden Cyp-Enzyme verstoffwechselt. Die beiden anderen aktiven Metabolite Oxazepam und Temazepam werden über die Glucuronyltransferase abgebaut [11]. So kann die, in dieser Studie gefundene dosisabhängige enzyminhibierende Wirkung und eine dadurch bestehende Verminderung des CP-Abbaus, in der Literatur nicht bestätigt werden. Da aber auch hier die gleichen Cyp-Isoenzyme betroffen sind wie beim Cyclophosphamidabbau, kann eine Wirkung über Enzymkonkurrenz bei sättigbarem Metabolismus im CP-Hochdosisbereich nicht ausgeschlossen werden [34].

4.4.6.4 Medikamente ohne Einfluss auf pharmakokinetische Parameter, die über das Cytochrom-P-450-Oxidasesystem metabolisiert werden

Die Patienten und Patientinnen dieser Untersuchung erhielten alle noch weitere Medikamente, von denen bekannt ist, dass sie über Cytochrom-P-450-Oxidasesystem verstoffwechselt werden, wobei sich aber kein statistisch signifikanter Einfluss auf die pharmakokinetischen Parameter von Cyclophosphamid und Phosphoramid Mustard zeigte [96, 170]. Nachfolgend die Substanzen mit den beteiligten Isoenzymen: Omeprazol (2C19, 2C18, 2C10, 1A2; [126]), Ibuprofen (2C9; [161]), Koffein (1A1, 1A2, 2E1, 3A4; [160]), Paracetamol (1A2, 2E1; [11]), Etoposid (3A4, 3A5; [79, 135]), Sulfamethoxazol (3A4, 2C9; [110]) und Trimethoprim (3A4, 2C9 möglw. auch Inhibition; [53, 110]).

Nur ein Patient bekam Metoprolol (2C, 2D6; [49, 139]) und Nifedipin (3A4, möglw. auch Inhibition; [11, 82, 177]) gemeinsam mit Tramadol (2D6; [11]). Hier sind keine statistischen Berechnungen möglich. Ondansetron (u. a. 2D6; [5, 52]) bekamen alle Behandelten, ein Einfluss ist somit nicht sicher zu beurteilen. Da aber die Messdaten insgesamt denen vergleichbarer Studien entsprach, ist eine Beeinflussung nicht zu vermuten. Sicherlich müssten noch einige Medikamente hinzugefügt werden, da bei vielen Medikamenten, die genauen Metabolisierungsschritte nicht bekannt sind. So bleibt es offen, ob noch andere

Substanzen über die Cytochrom-P-450-Oxidase verstoffwechselt werden, die von den Probanden dieser Untersuchung eingenommen wurden.

Einige der oben aufgeführten Medikamente werden nur über Isoenzyme verstoffwechselt, die keinen Einfluss auf den Cyclophosphamidmetabolismus zeigten. Andere wiederum, die z. B. über Cyp 2C und 3A abgebaut werden und mit Trimetoprim ebenso ein möglicher Inhibitor von 2C9, zeigten allerdings ebenfalls keine Beeinflussung [53, 110]. Eine mögliche Erklärung für diesen scheinbaren Widerspruch könnte in der überlappenden Substratspezifität des Cytochrom-P-450-Systems liegen. Die Spezifität gegenüber bestimmten Substraten hängt in den meisten Fällen von der Substratkonzentration ab: Je höher diese ist, desto mehr Isoenzyme sind an der Umsetzung dieses Substrats beteiligt [95]. Sind also Isoenzyme "belegt", werden andere mit hinzugezogen. Wieweit bei Dosissteigerung der einzelnen Medikamente nicht doch eine Einflussnahme festzustellen wäre, kann an dieser Untersuchung nicht belegt werden. Einige Medikamente wurden nur als Bedarfsmedikation, also in unregelmäßigen Abständen in unterschiedlicher Dosierung gegeben, sodass bei verschiedenen Voraussetzungen für einzelne Patienten nicht unbedingt von einer statistisch messbaren Beeinflussung auszugehen ist. Eine Ausnahme bildet Etoposid, welches von allen Patienten in gleicher, dem Körpergewicht angepasster Dosierung eingenommen worden ist. Also ist bei der hier verabreichten Dosierung von 40 mg/kg Körpergewicht nicht von einer gegenseitigen Beeinflussung mit Cyclophosphamid im Bereich der Metabolisierung über das Cytochrom-P-450-Oxidasesystem auszugehen.

4.4.6.5 Komedikation und Geschlechtsunterschiede

Unter 4.4.3 wurde berichtet, dass die Clearance von Cyclophosphamid für beide Applikationstage eine deutliche Geschlechtsspezifität zeigte, also bei Patientinnen deutlich niedriger lag als bei den männlichen Probanden. Diese Unterschiede ließen sich auf der Ebene des Metaboliten Phosphoramid Mustard zunächst nicht nachweisen. Durch zusätzliche statistische Berechnungen wurde untersucht, ob dieses Phänomen durch die Komedikation erklärt werden kann, indem nur Patienten berücksichtigt wurden, die keine statistisch relevante Komedikation erhielten. Für Probanden ohne Triflupromazin- und Fluconazoleinnahme zeigte sich ein signifikanter geschlechtlich bedingter Unterschied. Patientinnen ohne Medikation hatten am zweiten Tag eine größere PM AUC und eine niedrigere Eliminationskonstante gegenüber den männlichen Probanden. Damit scheint also ein gewisser Einfluss auf die Geschlechtsspezifität durch die Komedikation zu bestehen. Hiermit mag eine niedrigere Eliminationskonstante mit den niedrigeren CP-Clearancewerten bei weiblichem Geschlecht im Einklang stehen, eine größere PM AUC Tag 2 überrascht dagegen. Die relevante Komedikation scheint also gerade zu einem vermehrten

Metabolismus am zweiten Tag zu führen. Betrachtet man nun die beiden Substanzen für sich, findet man bei Patienten und Patientinnen ohne Fluconazolmedikation eine Verbindung zur PM C_{max} mit eingeschränkter Signifikanz und zu λ am zweiten Tag. Frauen hatten danach niedrigere Eliminationskonstanten und Maximalkonzentrationen als Männer. Ohne Triflupromazin hatten die Frauen ebenfalls eine niedrigere Eliminationskonstante Tag 2 und eine niedrigere PM AUC_{diff} (beides grenzwertig signifikant). Zeigt sich also bei den Eliminationskonstanten für Tag 2 für die Einzelsubstanzen ein gleichsinniges Bild, widerspricht die niedrigere PM C_{max} Tag 2 bei Patientinnen ohne Fluconazoleinnahme der größeren PM AUC Tag 2 nach zusätzlichem Ausschluss der Patienten mit Triflupromazineinnahme. Hier zeigt sich offensichtlich, dass diese Medikamente zwar einen geschlechtspezifischen Einfluss gerade am zweiten Tag haben, aber diese beiden Substanzen wie auch beim Gesamtkollektiv nicht gleichsinnig wirken. Außerdem lässt der fehlende Geschlechtsunterschied bei der PM AUC sich eben nicht allein durch diese Komedikation erklären, da auch der Zusammenhang zu den PM-Daten des ersten Tages fehlt. Somit bestehen noch andere Einflussfaktoren. Hier ist nicht zuletzt an Diazepam zu denken, das ebenfalls Einfluss auf pharmakokinetische Parameter zeigte, aber nur von zwei Probanden nicht eingenommen wurde und deshalb statistische Berechnungen hier nicht sinnvoll erscheinen. Insgesamt muss noch hinzugefügt werden, dass die relevante Komedikation nicht von Männern und Frauen in gleichem Maße eingenommen wurde. Bei geringer Patientenzahl sollten diese Daten also mit Vorsicht interpretiert werden.

4.4.6.6 Einfluss von Einzelmedikation

Bei Medikamenten, die nur von Einzelpersonen eingenommen wurden, können keine statistischen Berechnungen mit pharmakokinetischen Daten von Cyclophosphamid und Phosphoramid Mustard durchgeführt werden. Auffallend ist, dass aber gerade bei diesen Patienten Extremwerte bei einzelnen pharmakokinetischen Daten auftraten. Betrachtet man z. B. PM-Pat. 13, der durch Maximalwerte für die PM AUC und C_{max} an Tag 2 auffiel, erhielt dieser zusätzlich Tramadolol ab Tag -7, Nifedipin ab Tag -4 und Metoprolol an Tag -2. Insgesamt erhielt dieser Patient damit dreizehn Medikamente, von denen bekannt ist, dass sie über das Cytochrom-P-450-Oxidasesystem verstoffwechselt werden. Dabei scheint nicht verwunderlich, dass hier Interaktionen auf Stoffwechselebene stattfinden können. Auch bei PM-Pat. 22 (Clindamycin ab Tag -8, Bromazepam ab Tag -4) mit der niedrigsten PM AUC an Tag 2 könnte eine Einflussnahme über Cytochrom-P-450-Oxidase möglich sein. Für Clindamycin sowie Bromazepam ist eine Verstoffwechslung über das Cytochrom-P-450-System gesichert, die beteiligten Isoenzyme sind allerdings nicht bekannt [11]. PM-Pat. 5, der die niedrigste Eliminationskonstante an Tag 2 aufwies, erhielt ab Tag -4 Desmopressin. Hier erscheint ein Einfluss über die Verstoffwechslung wie bei PM-Pat. 24 unwahrscheinlich.

Dieser nahm ab Tag -6 Acetylcystein und Xylometazolin NT und Benzocain LT ab Tag -4 ein. Acetylcystein wird nicht über Cytochrom-P-450-Oxidasen metabolisiert, eine systemische Beeinflussung der Nasentropfen scheint unwahrscheinlich. Ein Einfluss von Benzocain ist nicht auszuschließen.

4.4.7 Patienten mit Verminderung der Phosphoramid-Mustard-Fläche unter Konzentrations-Zeit-Kurve von Tag 1 auf Tag 2

Betrachtet man die PM-AUC-Werte, fällt auf, dass bei zwei Patienten (PM-Pat. 9 und 18) eine Verminderung von Tag 1 auf Tag 2 stattfand. Bei zwei Patienten blieben die Werte in etwa gleich, PM-Pat. 14 mit einem nur geringem Abfall, PM-Pat. 22 mit einem geringen Anstieg. Daher wurde untersucht, ob sich diese Patienten von den anderen unterschieden, die sonst einen zum Teil sehr deutlichen Anstieg der PM-AUC-Werte vom ersten auf den zweiten Applikationstag aufwiesen. Berücksichtigt man nur die Patientengruppe, die einen Abfall der PM AUC von Tag 1 auf Tag 2 erbrachte, zeigt sich, dass diese Patienten im Mittel älter waren. Erweitert man diese Gruppe um den Patienten, der nur einen geringen Anstieg zeigte, ist diese Korrelation nicht mehr signifikant. Statistisch zeigte sich ein weiterer Zusammenhang, da alle vier Patienten, die eine AUC-Verminderung oder nur einen geringen Anstieg zeigten, verstarben. Insgesamt starben bis Oktober 1995 elf der 26 Phosphoramid-Mustard-Patienten. Ein Zusammenhang zu bestimmten Todesarten oder zur Überlebensdauer ließ sich nicht feststellen. Einflüsse durch Komedikation, Geschlecht, Leber- und Nierenfunktion oder Vorerkrankungen zeigten sich ebenfalls nicht.

Betrachtet man allerdings die absoluten Werte dieser Patientengruppe, fällt auf, dass sowohl die AUC von Phosphoramid Mustard als auch die zugehörigen CP-Clearancewerte kein gleichsinniges Bild zeigten. Nur bei den PM-Patienten 9 und 18, die einen Abfall der PM AUC von Tag 1 auf Tag 2 um etwa ein Drittel zeigten, waren die PM-AUC-Werte für Tag 1 als die beiden höchsten Werte der Gruppe besonders auffällig. Die PM AUC Tag 2 waren dagegen durchschnittlich. Auch die Patienten mit nur geringem Abfall (PM-Pat. 14) oder geringem Anstieg (PM-Pat. 22) zeigten kein einheitliches Verhalten. PM-Pat. 14 zeigte mit den PM AUC eher durchschnittliche Werte, PM-Pat. 22 dagegen hatte relativ niedrige Werte mit 68,6 mg/l*h für den ersten und 73,4 mg/l*h für den zweiten Tag als niedrigste PM AUC Tag 2 unter allen Patienten. Vergleicht man zusätzlich die dazugehörigen CP-Clearancewerte, fällt nur bei PM-Pat. 22 die niedrigste CP Cl_{tot} für Tag 1 auf, die anderen Clearancewerte waren durchschnittlich. Es lässt sich also vermuten, dass diese Patientengruppe nicht einheitlich zu sehen ist und der fehlende PM-AUC-Anstieg nicht allein durch das Alter zu erklären ist. Welche Ursachen zugrunde liegen, lässt sich bei der geringen Patientenzahl nur vermuten. PM-Pat. 22 gehört zu der Gruppe der Patienten mit

auffälliger Einzelmedikation, der als einziger Sobelin und Bromazepam erhielt, was bei Bromazepam ähnlich wie bei Diazepam zu einer Enzyminhibition führen könnte. PM-Pat. 14 war der älteste Patient. Für die PM-Patienten 9 und 18 konnte für sich keine Besonderheit gefunden werden. So ist die statistisch signifikante Korrelation mit dem Überleben vorsichtig zu interpretieren, sollte aber zum Anlass genommen werden, weitere Studien anzustreben.

4.5 Variabilität der pharmakokinetischen Parameter

Durch hier vorgelegte statistische Berechnungen können verschiedene Faktoren ausgemacht werden, die bei dieser Patientengruppe Einfluss auf pharmakokinetische Parameter zeigten. Diese sind erstens das Alter (höheres Alter führte zu einer größeren CP-Clearance, größeren CP Cl_{diff} , zu einer höheren PM AUC an Tag 1 und einer niedrigeren AUC_{diff}) zweitens das Geschlecht (weibliches Geschlecht zeigte niedrigere CP-Clearancewerte) und drittens die Komedikation mit unterschiedlichen Auswirkungen. Zudem zeigte sich noch eine Beeinflussung von Phosphoramid Mustard und Cyclophosphamid untereinander. Betrachtet man diese Einflussfaktoren im Zusammenhang, fällt auf, dass Veränderungen der Clearancewerte von CP nicht immer mit einer Zunahme des aktiven Metaboliten vereinbar waren. Bei der Geschlechtsspezifität gilt dieses für beide CP-Infusionstage, beim Alter und bei Fluconazolmedikation nur für die PM AUC des ersten Tages, bei Triflupromazinmedikation nur für Tag 2. Besonders auffällig wird dieser Zusammenhang, wenn man die PM AUC_{diff} und die CP Cl_{diff} vergleicht. Hier zeigt sich, dass eine größere Zunahme des CP-Clearanceanstieges zu einem verminderten Anstieg der PM AUC von Tag 1 auf Tag 2 führte.

Insgesamt muss man sich verdeutlichen, dass eine Clearancebeschleunigung von CP nicht nur eine Zunahme der Aktivierung zu Phosphoramid Mustard bedeutet, sondern dass gleichzeitig eine Detoxifikation z. B. zu Dechloroethylcyclophosphamid stattfindet. Gerade dieser Stoffwechselschritt wird ebenso über das Cytochrom-P-450-System ausgeführt, hauptsächlich über Cyp 3A4. Eine Beeinflussung von Cyp 3A4 wirkt sich also auf Aktivierung und Detoxifikation gleichermaßen aus. Zumal auch der Abbau zu 4-Ketocyclophosphamid mit dem Cytochrom-P-450-Oxidasensystem in Verbindung gebracht wird [179]. Da die Hydroxylierung von CP zu 4-Hydroxycyclophosphamid als ersten Schritt der Aktivierung zu PM aber auch von anderen Isoenzymen als nur 3A4 durchgeführt wird, ist doch eine unterschiedliche Beeinflussbarkeit gegeben. So wird Fluconazol als Inhibitor von Cyp 3A und 2C die Hydroxylierung mehr hemmen als die Dechloroethylcyclophosphamidbildung.

Neben den Cytochrom-P-450-Oxidasen sind jedoch noch andere Enzymsysteme beteiligt. So vermutet Boddy [32] neben genetischen Faktoren in seiner Studie über die individuelle Aktivierung und Inaktivierung von Cyclophosphamid eine Ursache in der unterschiedlichen Ausprägung von Aldehyddehydrogenasen, welche beim Menschen in unterschiedlichem Maße vorkommen [15]. Besonders bei ALDH1 ist bekannt, dass es von einigen Menschen nur in geringem Maße gebildet wird [179]. Joqueviel weist in ihrer Arbeit bei der Hochdosiscyclophosphamidgabe an zwei aufeinander folgenden Tagen neben der Verdoppelung der renalen PM-Exkretion (bei sehr geringen absoluten Werten) ein vermehrtes Vorkommen von Carboxyphosphamid am zweiten Tag nach, 11,5% und 23% an Tag 1 und Tag 2. Carboxyphosphamid war damit an Tag 2 das hauptsächliche Ausscheidungsprodukt und überholte damit das unverändert ausgeschiedene Cyclophosphamid, das am ersten Tag die größte Fraktion bildete [75]. Dies spricht dafür, dass CP-Gabe nicht nur zu einer Aktivierung des eigenen Stoffwechsels führt sondern ebenso zu einer Aktivierung anderer gegenläufiger Enzymsysteme, insbesondere auch der Aldehyddehydrogenasebildung. Dies würde den Feststellungen dieser Arbeit entsprechen, dass gerade die Linearität zwischen CP-Clearance und der PM AUC am zweiten Tag nicht mehr gegeben ist und sich deren Differenzen von Tag 1 auf Tag 2 gegensinnig verhalten. Da diese Linearität bei den Geschlechtsunterschieden auch am ersten Tag nicht gegeben war, müssen hier noch andere Einflussfaktoren vorliegen. Bei Frauen wurden zwar niedrigere CP-Clearancewerte nachgewiesen, aber diese waren eben nicht in gleichem Maße mit niedrigeren PM-AUC-Werten verbunden. Durch die Komedikation allein ließ sich, wie oben ausgeführt, dieses Phänomen nicht vollständig erklären. So muss vermutet werden, dass es gerade bei Männern Mechanismen gibt, die eine Umwandlung von Cyclophosphamid zu Phosphoramid Mustard in besonderem Maße verhindern, bzw. dass hier gegenüber Frauen gegenläufige Maßnahmen besonders ausgebildet sind. Oder umgekehrt: die gegenläufigen Wirkweisen bei Frauen generell oder nach Gestagengabe ebenso in geringerem Maße ausgeprägt sind. Welche Mechanismen hier zugrunde liegen, ist bei dem jetzigen Wissensstand nicht eindeutig zu klären. Neben den oben genannten Enzymen ist an eine Beteiligung anderer Cytochrom-P-450-Isoenzyme zu denken, die ein unterschiedliches Vorkommen bei den Geschlechtern zeigen. Die von Chang entdeckten Isoenzyme (2A6, 2B6, 2C8, 2C9, 2C19, 3A4) sind bei beiden Geschlechtern primär gleich vertreten. Cyp 2C11 wäre hier ein eventueller Kandidat, da von diesem Enzym ein stärkeres Vorkommen bei Männern bekannt ist [31]. Neben der Beteiligung eines bisher unbekanntes Isoenzym von Cytochrom P-450 könnte die Mitbeteiligung eines von den Cytochrom-P-450-Enzymkomplexen unabhängigen Enzyms ebenso eine Erklärung für mögliche Abweichungen der CP- und PM-Messwerte sein. So ist z. B. eine Mitbeteiligung von Cytochrom b₅ an der Oxidation von Testosteron und Nifedipin über Cyp 3A4 gesichert [177]. Neuerdings gibt es Vermutungen, dass die Phosphoramid-Mustard-Entstehung aus

Aldophosphamid, dem Tautomer von 4-Hydroxycyclophosphamid, nicht durch spontane β -Elimination sondern ebenfalls enzymatisch durch Phosphodiesterasen geschieht [165]. Sollte sich dieses beweisen, muss man diesen Schritt ebenfalls als Ursache zusätzlicher Variabilität und Beeinflussbarkeit in Betracht ziehen.

Die in dieser Arbeit gefundenen Einflussfaktoren können helfen, interindividuelle Variabilität zu verstehen, obwohl sie diese wohl nicht ausreichend erklären. Auch Patienten mit gleichen, hier in der Untersuchung gefundenen Beeinflussungsmustern zeigten unterschiedliche pharmakokinetische Werte. Sicherlich bestehen noch eine Vielzahl zusätzlicher Einflussfaktoren, von denen nur einige bisher bekannt sind, wie z. B. Nahrungsmittel und genetische Voraussetzungen. Zudem darf man Wechselwirkungen außerhalb des hier besonders berücksichtigten Bereichs der Metabolisierung, wie die Eiweißbindung, um nur ein Beispiel zu nennen, nicht vergessen [11].

4.6 Mögliche Konsequenzen aus oben genannten Daten

Betrachtet man die vorgestellten Daten, stellt sich die Frage, welche Konsequenzen für die Therapie mit Cyclophosphamid gezogen werden könnten. Diese Studie hat nachgewiesen, dass bei Cyclophosphamidhochdosistherapie an zwei aufeinander folgenden Tagen zur Konditionierung vor Knochenmarktransplantation am zweiten Therapietag deutlich höhere Maximalkonzentrationen und bei fast allen Probanden auch deutlich höhere AUC-Werte der Wirksubstanz Phosphoramid Mustard vorliegen. Langjährige Erfahrungen mit dem hier angewandten Konditionierungsprotokoll zur KMT haben dieses Regime weltweit zu einer Standardmethode gemacht [152]. Die verwendete Dosis und Applikationsweise garantieren Obergrenzen für Toxizität, ein ausreichendes Niveau an Immuntoleranz und ein gutes Maß an kurativer Chance. Dabei ist zu prüfen, durch verlängerte Infusionsraten am ersten Behandlungstag die Cyclophosphamidwirkung über verbesserte metabolische Verfügbarkeit zu erhöhen und am zweiten Tag maximale Blutspiegel aktiver Metabolite zu reduzieren, zumal der Cyclophosphamidmetabolismus im Hochdosisbereich sättigbar ist [34].

Allgemein kann aber nur die Überprüfung geänderter Behandlungsprotokolle in klinischen Studien als Maßstab für Effekte einer Therapie akzeptiert werden. Hier ist von Bedeutung, dass auch im Hochdosisbereich für Cyclophosphamid noch eine relativ steile Dosis-Wirkungskurve angenommen werden muss, und die Dosissteigerung von 2 x 60 mg/kg auf 4 x 50 mg/kg einen deutlichen Behandlungsvorteil verspricht [108]. Eine Verteilung der Pharmakonmenge über vier Tage hätte eine gleichmäßigere Exposition und eine bessere

Ausschöpfung der applizierten Dosis, möglicherweise ebenso einen Angleich der vor allem am ersten Therapietag großen pharmakokinetischen Unterschiede einzelner Patienten zur Folge. Zusätzlich wäre der steile Anstieg der PM-Verfügbarkeit zwischen den Applikationstagen abgemildert, was zu einer Abschwächung der Nierentoxizität führen könnte. Höhere Anstiege waren schließlich mit höheren Kreatininwerten korreliert. Klinischer Erfolg wie auch Krankheitsanamnese standen bei den hier untersuchten Patienten nicht in statistischem Zusammenhang mit pharmakokinetischen Daten. Dies überrascht nicht, da angesichts eines sehr komplexen Behandlungsablaufs bei KMT die Toxizität multifaktoriell erklärt werden muss. Konditionierungsbedingungen wie Bestrahlungstherapie oder zusätzliche Zytostatika interagieren mit klinischen Problemen wie Graft-versus-Host-Erkrankung oder Infektionen, die eine zum einen intensive immunsuppressive zum anderen antibiotische, antivirale oder antimykotische Therapie notwendig machen. So ist jeder Patient unterschiedlichen Belastungen ausgesetzt, die ein individuelles Toxizitätsspektrum beinhalten.

Aus den vorgelegten Untersuchungen lässt sich Handlungsbedarf ableiten, ein als Standardregime angesehenes Protokoll experimentell erneut zu überprüfen. Durch Variablen wie Zeitdauer der Cyclophosphamidinfusion ließen sich Parameter wie metabolische Verfügbarkeit oder die Höhe maximal tolerierter Metabolitenspiegel steuern. Dies würde Messungen von Medikamentenspiegeln entweder von Cyclophosphamid oder eines seiner Metaboliten erfordern. Eine Interaktion von Begleitmedikation würde sofort auffällig, geschlechtsspezifische Unterschiede könnten direkt ausgeglichen werden. Entgegen steht diesem "drug-monitoring" bisher die teilweise aufwendigen Bestimmungsmethoden und vor allem die hohe Anzahl an benötigten Proben. Hier müsste in größeren Studien gezeigt werden, ob eine Reduzierung der Datenmenge möglich ist [40].

Eine andere Überlegung sollte sein, wie man den Verlauf der Wirkmetabolitenspiegel berechenbarer machen kann [41]. Ein Weg sollte der Ausschluss von Einflussfaktoren auf den Metabolismus von Cyclophosphamid sein, so z. B. relevanter Komedikation. Dieses beinhaltet natürlich die Auffindung zusätzlicher Beeinflussungsmechanismen. Unter Berücksichtigung dieser Faktoren können Rechenverfahren eingesetzt werden, die entwickelt worden sind, um z. B. Enzyminduktion und daraus resultierende Clearanceveränderungen im voraus zu berechnen [11, 79]. Manche Autoren wollen diese Wirkmechanismen zur Therapieintensivierung beispielsweise durch Einsatz von Enzyminduktoren nutzen. Umgekehrt könnte sich der Einsatz von Enzyminhibitoren insofern positiv darstellen, als nach ihrem Einsatz die interindividuelle Variabilität abnimmt [11]. Insgesamt erscheint dieses Vorgehen jedoch nicht sehr sinnvoll. Die Menge an Einflussfaktoren sollte möglichst gering gehalten werden, da sonst die Möglichkeiten

abnehmen, pharmakokinetisches Verhalten vorauszusagen. Zudem sollte man genetische Dispositionen schon vor Beginn der Hochdosistherapie erforschen [32]. Insbesondere ist hier an beim Patienten vorliegende Enzymmuster nicht nur des Cytochrom-P-450-Oxidasesystems zu denken. Entweder könnte dieses durch Entnahme einer Leberprobe und der direkten Enzymmessung erfolgen, oder man gibt Markersubstanzen, die nach Messung der Metabolisierungsprodukte über bestimmte Enzymaktivitäten Aufschluss geben. Natürlich sind diese Methoden ebenfalls sehr aufwendig und würden die individuelle Variabilität z. B. durch unterschiedliches Induktionsvermögen nicht vollständig ausschließen. Aber so könnten z. B. u. a. "2C poor metabolizer" identifiziert oder Patienten ohne Cyp-2B6-Aktivität aufgedeckt werden. Nicht zuletzt sollten Überlegungen stattfinden, in wieweit die gemessenen Blut- bzw. Serumspiegel auch auf die intrazellulären Wirkspiegel besonders im tumorösen Gewebe übertragbar sind [79], sodass ein zukünftiges Augenmerk auf die Messung intrazellulärer Spiegel zu richten ist. Schließlich gibt es Hinweise, dass Phosphoramid Mustard nur schlecht die Zellmembran überwindet und hier auf Vorläuferstoffe, wie z. B. 4-Hydroxycyclophosphamid oder Aldophosphamid angewiesen ist [151, 179]. Zudem gibt es Tumoren, die in ihren Zellen Cytochrom-P-450-Oxidasen bilden, was zu einer zusätzlichen Modifikation führen kann [79].

Trotzdem wird das Problem erhalten bleiben, dass eine interindividuelle Empfindlichkeit der Tumorzellen bleibt. Selbst Tumoren gleicher Herkunft und etwa gleichen Malignitätsgrades zeigen ein unterschiedliches Ansprechen auf Zytostatika gleicher Dosierung [147]. Hier wird klar, dass eine individuelle Therapieanpassung nicht durch Messung von Serumspiegeln allein gelöst werden kann und beim Patienten individuell weiterhin notwendig ist.

5 Zusammenfassung

Diese Arbeit weist für den Metabolismus von Cyclophosphamid (33 Patienten) bei Hochdosistherapie vor Knochenmarktransplantation an zwei aufeinander folgenden Tagen nach, dass bei der Messung der Muttersubstanz und des Metabolisierungsproduktes Phosphoramid Mustard (26 Patienten) große interindividuelle pharmakokinetische Unterschiede auftreten. Die beiden Therapietage müssen getrennt betrachtet werden, da die Konzentrationen für den zweiten Applikationstag in der Regel um ein Mehrfaches höher waren als am ersten Tag.

5.1 Cyclophosphamid

Die Cyclophosphamidclearance erhöhte sich von im Mittel 105,9 ml/min am ersten Tag auf 195,2 ml/min am zweiten. Im Mittel betrug der Anstieg 91,5% \pm 60,8%. Da sich gleichzeitig das Verteilungsvolumen (45,1 l bzw. 44,1 l) nicht wesentlich änderte, resultiert eine bis zu 50% reduzierte Halbwertszeit am zweitem Tag. Eine Zunahme der renalen Clearance konnte nicht nachgewiesen werden, so dass von einer gesteigerten Metabolisierungsrate auszugehen ist.

5.2 Phosphoramid Mustard

Die AUC Tag 1 lag im Mittel bei 142,76 \pm 99,93 mg·h/l für Tag 2 bei 230,31 \pm 91,97 mg·h/l. Bei fast allen Patienten hat am zweiten Tag eine vermehrte Exposition mit dem Wirkmetaboliten stattgefunden. Bei zwei Probanden kam es zu einem Abfall um etwa ein Drittel, bei zwei anderen waren die Werte in etwa gleich.

5.3 Statistische Zusammenhänge

Statistische Zusammenhänge pharmakokinetischer Parameter zeigten sich beim Alter, Geschlecht, bei bestimmten Medikamenten, bei der Kreatininclearance und bei den pharmakokinetischen Daten von Phosphoramid Mustard und Cyclophosphamid untereinander. Dabei war eine höhere Phosphoramid Mustard AUC Tag 1 mit einer größeren Cyclophosphamidkörperclearance des ersten und zweiten Applikationstages verbunden. Eine größere Phosphoramid-Mustard-AUC der ersten Tages führte zu einem vermehrten

Cyclophosphamidclearanceanstieg vom ersten auf den zweiten Applikationstag. Ein höherer Anstieg der Clearance war mit einem kleineren Anstieg der PM AUC von Tag 1 auf Tag 2 verbunden.

Ein höheres Alter zeigte einen statistischen Zusammenhang mit einer erhöhten Körperclearance von Cyclophosphamid und zur AUC von Phosphoramid Mustard an Tag 1.

Bei Frauen war die Cyclophosphamidkörperclearance wesentlich niedriger als bei Männern. Ein statistischer Zusammenhang mit den pharmakokinetischen Daten von Phosphoramid Mustard konnte nicht festgestellt werden. Ein enzyminhibierender Effekt durch exogen zugeführtes Gestagen (Lynesterol) ist hier zu diskutieren.

Ein erhöhter Anstieg der AUC-Werte von Phosphoramid Mustard zwischen den beiden Behandlungstagen führte zu einem erhöhten maximalen Kreatininwert. Im Trend zeigte sich dieses auch für die Maximalkonzentration Tag 1.

Folgende Medikamente zeigten einen Einfluss auf pharmakokinetische Parameter: Ciprofloxacin, Fluconazol und Metronidazol zusammen zeigten eine Verminderung der Cyclophosphamidclearance und eine Abnahme der Phosphoramid-Mustard-AUC an Tag 1. Vermutlich ist aufgrund der bekannten enzyminhibierenden Wirkung Fluconazol für die Wechselwirkungen über das Cytochrom-P-450-Oxidasesystem verantwortlich. Triflupromazin bewirkte eine erhöhte Cyclophosphamidclearance und Phosphoramid-Mustard-AUC an Tag 2, was für eine enzyminduzierende Wirkung spricht. Diazepam zeigte bei höherer Gesamtdosierung eine geringere AUC von Phosphoramid Mustard an Tag 1 und niedrigere Cyclophosphamidclearancewerte.

Omeprazol, Ibuprofen, Koffein, Paracetamol, Etoposid, Sulfamethoxazol und Trimethoprim zeigten keinen statistischen Zusammenhang zu pharmakokinetischen Parametern, obwohl diese Medikamente über das Cytochrom-P-450-Oxidasesystem metabolisiert werden. Ebenso keinen Zusammenhang zeigten die Art der Grunderkrankung, Dauer der Erkrankung und das Remissionsstadium vor KMT. Ein Einfluss auf die Dauer der myeloablativen Phase, des stationären Aufenthaltes sowie auf das Überleben konnte nicht nachgewiesen werden. Es bestand kein Zusammenhang mit den Bilirubinwerten am Transplantationstag, dem maximalen Bilirubinwert und der Dauer bis zum Erreichen des Maximalwertes.

Zusammenfassend wird die Frage aufgeworfen, ob die Praxis, Cyclophosphamid nach Körpergewicht oder -oberfläche zu dosieren, wirklich adäquat ist. Zur Gewährleistung einer einheitlichen Exposition muss besonders die Komedikation streng indiziert werden.

6 Literaturverzeichnis

1. Adair FE, Bagg HJ: Experimental and clinical studies on the treatment of cancer by dichloroethyl sulfide (mustard gas). *Ann Surg* (1931), 93: 190
2. Andersson BS, Mroue M, Britten RA, Farquhar D, Murray D: Mechanisms of cyclophosphamide resistance in a human myeloid leukemia cell line. *Acta Oncol* (1995), 34: 247-251
3. Andriole VT: The future of the Quinolones. *Drugs* (1993), 45 (Suppl): 1-7
4. Angley MT, Sansom LN, Smeaton TC, Stupans I: The effects of cyclophosphamide on the pharmacokinetics of triiodothyronine in the male rat. *J Pharm Pharmacol* (1996), 48: 386-389
5. Ashforth EL, Palmer JL, Bye A, Bedding A: The pharmacokinetics of ondansetron after intravenous injection in healthy volunteers phenotyped as poor or extensive metabolisers of debrisoquine. *Br J Clin Pharmacol* (1994), 37: 389-391
6. Aurori KC, Vesell ES: Comparative stimulatory effects of four phenothiazines on hepatic microsomal enzymes. *Drug Metab Dispos* (1974), 2: 566-572
7. Ayash LJ, Wright JE, Tretyakov O et al.: Cyclophosphamide pharmacokinetics: correlation with cardiac toxicity and tumour response. *J Clin Oncol* (1992), 10: 995-1000
8. Bach JF: Immunosuppressive therapy of autoimmune diseases. *Trends Pharmacol Sci* (1993), 14: 213-216
9. Bagley CM, Bostick PW, Devita TV: Clinical pharmacology of cyclophosphamide. *Cancer Res* (1973), 33: 226-233
10. Barham HM, Lennard MS, Tucker GT: An evaluation of cytochrome P-450 isoform activities in the female Dark Agouti Rat: relevance to its use as a model of the Cyp 2D6 poor metabolizer phenotype. *Biochem Pharmacol* (1994), 47(8): 1295-1307
11. Bertz RJ, Granneman GR: Use of in vitro and in vivo data to estimate the likelihood of metabolic pharmacokinetic interactions. *Clin Pharmacokinet* (1997), 32 (3):210-258
12. Bickers DR: Antifungal therapy: Potential interactions with other classes of drugs. *J Am Acad Dermatol* (1994), 31: S87-S90

13. Blomgren H, Hallstrom M: Possible role of acrolein in oxazaphorine-induced enhancement of immunological reactivity. *Cancer Immunol Immunother* (1990), 31(4): 221-225
14. Blomgren H, Hallstrom M: Possible role of acrolein in 4-hydroperoxycyclophosphamide-induced cell damage in vitro. *Methods Find Exp Clin Pharmacol* (1991), 13 (1): 11-14
15. Boddy AV, Furtun Y, Sardas S, Sardas O, Idle JR: Individual variation in the activation and inactivation of metabolic pathways of cyclophosphamide. *J Natl Cancer Inst* (1992), 85: 1744-1748
16. Bohnenstengel F, Hofman U, Eichelbaum M, Kroemer HK: Characterization of the Cytochrome P450 involved in side-chain oxidation of cyclophosphamide in humans. *Eur J Clin Pharmacol* (1996), 51: 297-301
17. Borch RF, Canute GW: Synthesis and antitumor properties of activated cyclophosphamide analogues. *J Med Chem* (1991), 34 (10): 3044-3052
18. Borch RF, Valente RR: Synthesis, activation and cytotoxicity of aldophosphamide analogues. *J Med Chem* (1991), 34 (10): 3052-3058
19. Boxenbaum HG, Riegelmann S, Elashoff RM: Statistical estimations in pharmacokinetics. *J Pharmacokinet Biopharm* (1974), 2: 123-148
20. Brammer KW, Coakley AJ, Jesequel SG, Tarbit MH: The disposition and metabolism of (14C)-fluconazole in human. *Drug Metab Dispos* (1991), 19: 764
21. Breyer U, Junginger W, Villumsen D: Phenobarbital-induced prolongation of half-life and alteration of distribution of a phenothiazine drug metabolite in the rat. *Biochem Pharmacol* (1976), 25: 2623-2629
22. Brock N: The history of the oxazaphorine cytostatics. *Cancer* (1996), 78(3): 542-547
23. Bunting KD, Townsend AJ: De novo expression of transfected human class I aldehyde dehydrogenase (ALDH) causes resistance to oxazaphorine anti-cancer alkylating agents in hamster V79 cell lines. Elevated class I ALDH activity is closely correlated with reduction in DNA interstrand cross-linking and lethality. *J Biol Chem* (1996), 17: 11884-11890
24. Burk M: Klinisch-pharmakokinetische Untersuchungen bei Hochdosis-Chemotherapie. Habilitationsschrift, Heinrich-Heine-Universität, 1997
25. Burk M, Peters U: Dysopyramide kinetics in renal impairment: determinants of interindividual variability. *Clin Pharmacol Ther* (1983), 34: 331-340

26. Burton LC, James CA: Rapid method for determination of ifosphamide and cyclophosphamide in plasma by high-performance liquid chromatography with solid-phase extraction. *J Chromatogr* (1988), 431: 450-454
27. Calvert AH, Newell DR, Gumbrell LA et al.: Carboplatin dosage: prospective evaluation of a simple formula based on renal function. *J Clin Oncol* (1989), 7: 1748-1756
28. Cashman JR, Yang L, Wrighton SA: Stereo- and regioselective N- and S- oxidation of tertiary amines and sulfides in the presence of adult human liver microsomes. *Drug Metab Dispos* (1993), 21 (3): 492-501
29. Chang TK, Chen H, Waxman DJ: 1-(2-chlorethyl)-3-cyclohexyl-1-nitrosourea (CCNU) modulates rat liver microsomal cyclophosphamide and ifosphamide activation by suppressing cytochrome P 450 2C 11 messenger RNA levels. *Drug Metab Dispos* (1994), 22: 673-679
30. Chang TK, Waxman DJ: Cyclophosphamide modulates rat hepatic cytochrome P-450 2C11 and steroid 5 α -reductase activity and messenger RNA levels through the combined action of acrolein and phosphoramidate mustard. *Cancer Res* (1993), 53: 2490-2497
31. Chang TK, Weber GF, Crespi CL, Waxman DJ: Differential activation of cyclophosphamide and ifosphamide by cytochrome P-450 2B and 3A in human liver microsomes. *Cancer Res* (1993), 53: 5629-5637
32. Chang TK, Yu L, Maurel P, Waxman DJ: Enhanced cyclophosphamide and ifosfamide activation in primary human hepatocyte cultures: response to cytochrome P-450 inducers and autoinduction by oxazophosphorines. *Cancer Res* (1997), 57: 1946-1954
33. Chen L, Waxman DJ, Chen D, Kufe DW: Sensitization of human breast cancer cells to cyclophosphamide and ifosfamide by transfer of a liver cytochrome P450 gene. *Cancer Res* (1996), 56: 1331-1340
34. Chen TL, Passos Coelho JL, Noe DA et al.: Nonlinear pharmacokinetics of cyclophosphamide in patients with metastatic breast cancer receiving high-dose chemotherapy followed by autologous bone marrow transplantation. *Cancer Res* (1995), 55: 810-816
35. Chiocca EA: Brain tumor gene therapy in mice with a novel suicide gene: the cyclophosphamide-activating CYP2B1 gene. *Clin Neurosurg* (1995), 42: 370-382
36. Cockcroft DW, Gault MH: Prediction of creatine clearance from serum creatinin. *Nephron* (1979), 16: 31-41

37. Codacci-Pisanelli G, Franchi F, Afeltra A, Simone F, Bonomo L: Peripheral blood cell repopulation following high-dose cyclophosphamide. *Chemotherapy* (1992), 38: 267-270
38. Colvin M, Brundrett RB, Kan MN, Jardine I, Fenselau C: Alkylating properties of phosphoramidate mustard. *Cancer Res* (1976), 36: 1121-1126
39. Colvin M, Chabner BA: Alkylating agents. In: Chabner M und Collins P (Hrsg.): *Cancer Chemotherapy*. J.B. Lippincott, Philadelphia, 1990, 276-313
40. Cox LA: Simple relations between administered and internal doses in compartmental flow models. *Risk Anal* (1995), 15: 197-204
41. Crespi CL et al.: Use of cDNA-expressed human cytochrome P450 enzymes to study potential drug-drug interactions. *Adv Pharmacol* (1997), 43: 171-188
42. Damon LE, Rugo HS, Ries CA, Linker CA: Delayed engraftment of 4-hydroperoxycyclophosphamide-purged autologous bone marrow after induction treatment containing mitoxantrone for acute myelogenous leukemia. *Bone Marrow Transplant* (1996), 17: 93-99
43. Derendorf H, Garrett ER: *Pharmakokinetik: Einführung in die Theorie und Relevanz für die Arzneimitteltherapie*. 1. Auflage, Wiss. Verl.-Ges., Stuttgart, 1987
44. D'Incalci M, Bolis G, Facchinetti C, Magioni LM, Morazoni P, Salmona M: Decreased half-life of cyclophosphamide under continual treatment. *Eur J Cancer* (1979), 15: 7-10
45. Dirven HA, Ommen van B, Bladeren van PJ: Involvement of human glutathione S-transferase isoenzymes in the conjugation of cyclophosphamide metabolites with glutathione. *Cancer Res* (1994), 54 (23): 6215-6220
46. Dirven HA, Venekamp JC, Ommen van B, Bladeren van PJ: The interaction of glutathione with 4-hydroxycyclophosphamide and phosphoramidate mustard, studied by ³¹P nuclear magnetic resonance spectroscopy. *Chem Biol Interact* (1994), 93: 185-196
47. Dold U, Hermanek P, Höffken K, Sack H: *Praktische Tumorthherapie*. 4. Auflage, Thieme, Stuttgart, 1993
48. Dong Q, Barsky D, Colvin ME et al.: A structural basis for a phosphoramidate mustard-induced DNA interstrand cross-link at 5'-d(GAC). *Proc Natl Acad Sci USA* (1995), 92: 12170-12174
49. Ellis SW, Rowland K et al.: Influence of amino acid residue 374 of cytochrome P-450 2D6 on the regio- and enantio-selective metabolism of metoprolol. *Biochem J* (1996), 316: 647-654

50. Falagas A, Gorbach SL: Metronidazole. *Antimicrob Ther* (1995), 79 (4): 856-867
51. Farrell GC, Murray M: Human cytochrome P-450 isoforms - their genetic heterogeneity and their induction by omeprazol. *Gastroenterology* (1990), 99: 885-889
52. Fischer V, Vickers AEM, Heitz F et al.: The polymorphic cytochrome P-4502D6 is involved in the metabolism of both 5-hydroxytryptamine antagonists, topisetron and ondansetron. *Drug Metab Dispos* (1994), 22: 269-274
53. Flockhart DA: Cytochrome P450 drug interaction table. Dave Flockhart's Drug table (1998), flockhad @ medlib, georgetown, edu
54. Forth W: Allgemeine und spezielle Pharmakologie und Toxikologie. 6. Auflage, BI-Wiss.-Verl., Mannheim, Leipzig, Wien, Zürich, 1992
55. Fries KM, Borch RF: ³¹P NMR and chloride ion kinetics of alkylating monoester phosphoramidates. *J Med Chem* (1991), 34 (2): 565-569
56. Fuhr U, Strobl G et al.: Quinolone antibacterial agents: Relationship between structure and in vitro inhibition of the human cytochrome P 450 Isoform Cyp 1A2. *Mol Pharmacol* (1993), 43: 191-199
57. Gascon MP, Dayer P: In vitro forecasting of drugs which may interfere with the biotransformation of midazolam. *Eur J Clin Pharmacol* (1991), 41 (6): 573-578
58. Gibaldi M, Perrier D: Pharmacokinetics. 2nd edn. Marcel Dekker, New York, Basel, 1982
59. Gilman A, Philips FS: The biological actions and the therapeutic applications of b-chlorethyl amines and sulfides. *Science* (1946), 103: 409
60. Goa KL, Barradell LB: Fluconazole. *Drugs* (1995), 50 (4): 658-690
61. Goodman AG, Hardman JG, Limbird LE: The pharmacological basis of therapeutics. 9th edn. Mc Graw-Hill, New York, 1995
62. Gorski JC, Hall SD, Jones D et al.: Regioselective biotransformation of midazolam by members of the human cytochrome P450 3A (CYP3A) subfamily. *Biochem Pharmacol* (1994), 47: 1643-1653
63. Graham MI, Shaw IC, Souhami RL et al.: Decreased plasma half-life of cyclophosphamide during repeated high-dose administration. *Cancer Chemother Pharmacol* (1983), 10: 192-193
64. Gross WL, Reinhold-Keller E, Trabandt A: Konventionelle Immunsuppression chronisch-entzündlicher Systemerkrankungen. *Internist* (1997), 38: 520-531

65. Hardy RW, Erlichmann C, Soldin SJ: High-performance liquid chromatographic measurement of cyclophosphamide in serum. *Ther Drug Monit* (1984), 6: 313-318
66. Hardy RW, Moore MJ, Erlichmann C, Soldin SJ: Analysis of phosphoramidate mustard by reversed-phase ion pair high pressure liquid chromatography. *Ther Drug Monit* (1987), 9: 221-226
67. Heinzl G, Woloszczak R, Thomann P: Top Fit: Version 2.0; pharmacokinetic and pharmacodynamic data analysis system for the PC. Fischer G, Stuttgart, Jena, New York, 1993
68. Hengstler JG, Hengst A, Fuchs J et al.: Induction of DNA crosslinks and DNA strand lesions by cyclophosphamide after activation by cytochrome P450 2B1. *Mutat Res* (1997), 373: 215-223
69. Hubbard JW, Midha KK, Hawes EM et al.: Metabolism of phenothiazine and butyrophenone antipsychotic drugs. *Br J Psych* (1993), 163 (Suppl): 19-24
70. Infield GB: Disaster at Bari. The Macmillan Co., New York, 1971
71. Ingelman-Sundberg MI, Hagbjörk AL, Ueng YF, Yamazaki H, Guengerich FP: High rates of substrate hydroxylation by human cytochrome-P450 3A4 in reconstituted membranous vesicles: Influence of membrane charge. *Biochem Biophys Res Commun* (1996) 221: 318-322
72. Iribarne C, Picart D, Dréano Y, Bail JP, Berthou F: Involvement of cytochrome P-450 3A4 in N-dealkylation of buprenorphine in human liver microsomes. *Life Sci* (1997), 60: 1953-1964
73. Jaehde U, Sörgel F, Reiter A, Sigl G, Naber KG, Schunack W: Effect of probenecid on the distribution and elimination of ciprofloxacin in humans. *Clin Pharmacol Ther* (1995), 58: 532-541
74. Jardine I, Brundett R, Colvin M, Feselau C: Approaches to the pharmacokinetics of cyclophosphamide (NSC-26271): quantitation of metabolites. *Cancer Treat Rep* (1976), 60: 403-408
75. Joqueviel C, Martino R, Gilard V, Malet-Martino M, Canal P, Niemeyer U: Urinary excretion of cyclophosphamide in humans, determined by phosphorus-31 nuclear magnetic resonance spectroscopy. *Drug Metab Dispos* (1998), 26: 418-428
76. Kamal MA, Nasim FH, Jafari al AA: Investigation of the effect of anti-neoplastic drugs, cyclophosphamide, cisplatin and methotrexate on the turn-over kinetics of human erythrocyte acetylcholinesterase. *Biochem Mol Biol Int* (1996), 39: 293-302
77. Kaukonen KM, Olkkola KT, Neuvonen PJ: Fluconazole but not itraconazole decreases the metabolism of lorsatan to E-3174. *Clin Pharmacol* (1998), 53: 445-449

78. Kawabata TT, Chapman MY, Kim DH, Stevens WD, Holzapple MP: Mechanisms of in vitro immunosuppression by hepatocyte-generated cyclophosphamide metabolites and 4-hydroperoxycyclophosphamide. *Biochem Pharmacol* (1990), 40: 927-935
79. Kivistö KT, Kroemer HK, Eichelbaum M: The role of human cytochrome P450 enzymes in the metabolism of anticancer agents: implications for drug interactions. *Br J Clin Pharmacol* (1995), 40: 523-530
80. Klotz U: Einführung in die Pharmakokinetik. 1. Auflage, Govi, Frankfurt am Main, 1988
81. Kokwaro GO, Ismail S, Glazier AP, Ward SA, Edwards G: Effect of malaria infection and endotoxin-induced fever on the metabolism of antipyrine and metronidazole in the rat. *Biochem Pharmacol* (1993), 45: 1243-1249
82. Koley AP, Robinson RC, Markowitz A, Friedman FK: Rapid communication drug interactions: Effect of quinidine on nifedipine binding to human cytochrome P450 3A4. *Biochem Pharmacol* (1997), 53: 455-460
83. Körbling M, Fliedner TM, Holle R et al.: Autologous blood stem cell (ABSCT) versus purged bone marrow transplantation (pABMT) in standard risk AML: influence of source and cell composition of the autograft on hemopoietic reconstitution and disease-free survival. *Bone Marrow Transplant* (1991), 7: 343-349
84. Kraner JC, Morgan ET, Poet TS, Born SL, Burnett VL, Halpert JR: Suppression of rat hepatic microsomal cytochromes P-450 by cyclophosphamide is correlated with plasma thyroid hormone levels and displays differential strain sensitivity. *J Pharmacol Exp Ther* (1996), 276: 258-264
85. Krumbhaar EB, Krumbhaar HD: The blood and bone marrow in yellow cross gas (mustard gas) poisoning: Changes produced in the bone marrow and fatal cases. *J Med Res* (1919), 40: 497
86. Kwon CH, Moon KY, Baturay N, Shirota FN: Chemically stable, lipophilic prodrugs of phosphoramidate mustard as potential anticancer agents. *J Med Chem* (1991), 34: 588-592
87. Langford CA: Complications of cyclophosphamide therapy. *Eur Arch Otorhinolaryngol* (1997), 254: 65-72
88. Larson P, Wojchiech C, Tjälve H: Binding of ³H-metronidazole in olfactory, respiratory and alimentary epithelia in rats. *Pharmacol Toxicol* (1997), 81: 65-73
89. Lear L, Nation RL, Stupans I: Effect of cyclophosphamide and adriamycin on rat hepatic microsomal glucuronidation and lipid peroxidation. *Biochem Pharmacol* (1992), 44: 747-753

90. Le Blanc GA, Sundseth SS, Weber GF, Waxman DJ: Platinum anticancer drugs modulate P-450 mRNA levels and differentially alter hepatic drug and steroid hormone metabolism in male and female rats. *Cancer Res* (1992), 52: 540-547
91. Lee FY: Glutathione diminishes the anti-tumour activity of 4-hydroperoxycyclophosphamide by stabilising its spontaneous breakdown to alkylating metabolites. *Br J Cancer* (1991), 63: 45-50
92. Lee FY, Flannery DJ, Siemann DW: Prediction of tumour sensitivity to 4-hydroperoxycyclophosphamide by a glutathione-targeted assay. *Br J Cancer* (1991), 63: 217-222
93. Lehmann KA, Huttarsch H, Schröder B, Zech D: Entwicklung eines kontinuierlichen Monitorings der Spontanatmung in der postoperativen Phase. *Anästhesist* (1992) 41: 192-198
94. Lehnert S, Rybka WB: Amplifikation of the graft-versus-host reaction by cyclophosphamide: dependence on timing of drug administration. *Bone Marrow Transplant* (1994), 13: 473-477
95. Lenarsky C, Weinberg K, Petersen J, Nolta J, Brooks J, Annett G, Kohn D, Parkman R: Autologous bone marrow transplantation with 4-hydroperoxycyclophosphamide purged marrows for children with acute non-lymphoblastic leukemia in second remission. *Bone Marrow Transplant* (1990), 6: 425-429
96. Lipp HP, Schuler U: Die menschlichen Cytochrom-p450-Isoenzyme. *Arzneimitteltherapie* (1995), 13: 272-280
97. Loft S, Otton SV, Lennard MS, Tucker GT, Poulson HE: Characterization of metronidazole metabolism by human liver microsomes. *Biochem Pharmacol* (1991), 41: 1127-1134
98. Loi CM, Parker BM, Cusack BJ, Vestal RE: Individual and combined effects of cimetidine and ciprofloxacin on theophylline metabolism in male nonsmokers. *Br J Clin Pharmacol* (1993), 36: 195-200
99. Lorenz HM, Geiler T, Kalden JR: Immunsuppressive Therapiemodalitäten bei chronischen Polyarthritiden. *Internist* (1997), 38: 532-540
100. Magni M, Shamman S, Schiro R, Mellado W, Dalla-Favera R, Gianni AM: Induction of cyclophosphamide-resistance by aldehyde-dehydrogenase gene transfer. *Blood* (1996), 87: 1097-1103
101. Markowitz JS, Gill HS, Devane CL, Mintzer JE: Fluoroquinolone inhibition of clozapine metabolism. *Am J Psychiatry* (1997), 154 (6): 881
102. Marquardt DW: An algorithm for least-squares estimation of nonlinear parameters. *J Soc Indust Appl Math* (1963), 11: 431-441

103. Martelli A, Allavena A, Robbiano L et al.: Comparison of the sensitivity of human and rat hepatocytes to the genotoxic effects of metronidazole. *Pharmacol Toxicol* (1989), 66: 329-334
104. Mc Clure MT, Stupans I: Investigation of the mechanism by which cyclophosphamide alters cytochrome P-450 in male rats. *Biochem Pharmacol* (1992), 43: 2655-2658
105. Mc Clure MT, Stupans I: Hormonal perturbation as a possible mechanism for the alteration of cytochrome P-450 by cyclophosphamide. *Biochem Pharmacol* (1996), 49: 1827-1836
106. Mc Diarmid MA, Iype PT, Kolodner K et al.: Evidence for acrolein-modified DNA in peripheral blood leukocytes of cancer patients treated with cyclophosphamide. *Mutat Res* (1991), 248: 93-99
107. Mc Donald GB, Shulman HM, Sullivan KM, Spencer GD: Intestinal and hepatic complications of human bone marrow transplantation. Part I. *Gastroenterology* (1986), 90: 460-477
108. Michel G, Gluckman E, Esperou-Bourdeau H et al.: Allogenic bone marrow transplantation for children with acute myeloblastic leukemia in first complete remission: impact of conditioning regime without total body irradiation. *J Clin Oncol* (1994), 12: 1217-1222
109. Mimura M, Baba T, Yamazaki H et al.: Characterization of cytochrome P-450 2B6 in human liver microsomes. *Drug Metab Dispos* (1993), 21: 2761-2764
110. Mitra AK, Thummel KE, Kalhorn TF et al.: Inhibition of sulfamethoxazole hydroxylamine formation by fluconazole in human liver microsomes and healthy volunteers. *Clin Pharmacol Ther* (1996), 59: 332-340
111. Montero-Gei F: Flucanazole: pharmacokinetics and indications. *Arch Med Res* (1993), 24: 377-385
112. Moore MJ: Clinical pharmacokinetics of cyclophosphamide. *Clin Pharmacokinet* (1991), 20: 194-208
113. Moore MJ, Hardy RW, Thiessen JJ, Soldin SJ, Erlichman C: Rapid development of enhanced clearance after high-dose cyclophosphamide. *Clin Pharmacol Ther* (1988), 44: 622-628
114. Moreb J, Schweder M, Suresh A et al.: Overexpression of the aldehyde dehydrogenase class I results in increased resistance to 4-hydroxycyclophosphamide. *Cancer Gene Ther* (1996), 3: 24-30
115. Müller C, Behne M, Hanisch, E: Einsatz der selektiven Darmdekontamination mit nicht absorbierbaren Antibiotika. *Z Gastroenterol* (1995), 33: 685-686
116. Muralidharan G, Cooper JK et al.: Quinidine inhibits the 7-hydroxylation of chlorpromazine in extensive metabolisers of debrisoquine. *Eur J Clin Pharmacol* (1996), 50: 121-128

- 117.Murray M: Inhibition and induction of cytochrome P450 2B1 in rat liver by promazine and chlorpromazine. *Biochem Pharmacol* (1992), 44: 1219-1222
- 118.Muscara MN, Pedrazzoli J, Miranda EL et al.: Plasma hydroxy-metronidazole/metronidazole ratio in patients with liver disease and in healthy volunteers. *Br J Clin Pharmacol* (1995), 40: 477-480
- 119.Mutschler E: *Arzneimittelwirkungen: Lehrbuch der Pharmakologie und Toxikologie*. 6. Auflage, Wiss. Verl.-Ges., Stuttgart, 1991
- 120.Nakamura K, Yokoi T, Kodama T et al.: Oxidation of histamine H1 antagonist mequitazine is catalyzed by cytochrome P450 2D6 in human liver microsomes. *J Pharmacol Exp Ther* (1998), 284: 437-442
- 121.Neben S, Hemmann S, Montgomery M et al.: Hematopoietic stem cell deficit of transplanted bone marrow previously exposed to cytotoxic agents. *Exp Hematol* (1993), 21: 156-162
- 122.Oates JA, Wood AJ, Hooper DC, Wolfson JS: Fluoroquinolone antimicrobial agents. *N Engl J Med* (1991), 324: 384-394
- 123.O'Connell MB: Pharmacokinetic and pharmacologic variation between different estrogen products. *J Clin Pharmacol* (1995), 35: 18S-24S
- 124.Paolini M, Mesirca R, Pozzetti L, Sapone A, Cantelli-Forti G: Induction of Cyp 2B1 mediated pentoxyresorufin O-dealkylase activity in different species, sex, and tissue by prototype 2B1 inducers. *Chem Biol Interact* (1995), 95: 127-139
- 125.Peter HH: *Allgemeine Grundlagen der immunsuppressiven Therapie von Erkrankungen des rheumatischen Formenkreises*. *Internist* (1997), 38: 514-519
- 126.Petersen KU: Omeprazol und das Cytochrom P450. *Z Gastroenterol* (1993), 31: 486
- 127.Pfeifer S, Pfflegel P, Borchert HH: *Biopharmazie: Pharmakokinetik - Bioverfügbarkeit - Biotransformation*. 3. Auflage, Ullstein Mosby GmbH, Berlin, Wiesbaden, 1995
- 128.Pichard L, Fabre I, Fabre G et al.: Cyclosporin A drug interactions. Screening for inducers and inhibitors of cytochrom P-450 (cyclosporin A oxidase) in primary cultures of human hepatocytes and in liver microsomes. *Drug Metab Dispos* (1990), 18: 595-606
- 129.Pick CG, Peter Y, Schreiber S, Weizman R: Pharmacological characterization of buprenorphine, a mixed agonist-antagonist with k_3 analgesia. *Brain Res* (1997), 744: 41-46

130. Plowchalk DR, Mattison DR: Phosphoramidate mustard is responsible for the ovarian toxicity of cyclophosphamide. *Toxicol Appl Pharmacol* (1991), 107: 472-481
131. Povirk LF, Shuker DE: DNA damage and mutagenesis induced by nitrogen mustards. *Mutat Res* (1994), 318: 205-226
132. Powers JF, Sladek NE: Cytotoxic activity relative to 4-hydroxy-cyclophosphamid, phosphoramidate mustard concentration in the plasma of cyclophosphamide treated rats. *Cancer Res* (1983), 43: 1101-1106
133. Powis G, Reece P, Ahmann DL, Ingle JN: Effect of body weight on the pharmacokinetics of breast cancer patients. *Cancer Chemother Pharmacol* (1987), 20: 219-222
134. Pratt WB, Ruddon RW, Ensminger WD, Maybaum J: *The anticancer drugs*. 2nd edn. Oxford University Press, New York, Oxford, 1994
135. Relling MV, Nemec J, Schuetz EG et al.: O-demethylation of epipodophyllotoxins is catalyzed by human cytochrome P450 3A4. *Mol Pharmacol* (1994), 45: 352-358
136. Richardson ME, Siemann DW: DNA damage in cyclophosphamide-resistant tumor cells: the role of glutathione. *Cancer Res* (1995), 55: 1691-1695
137. Robson RA, Begg EJ, Atkinson HC et al. Comparative effects of ciprofloxacin and lomefloxacin on the oxidative metabolism of theophylline. *Br J Clin Pharmacol* (1990), 29: 491-493
138. Rosenblatt JE, Edson RS: Metronidazole. *Mayo Clin Proc* (1987), 62: 1013-1017
139. Rowland K, Yeo WW, Ellis SW et al.: Inhibition of Cyp 2D6 activity by treatment with propranolol and the role of 4-hydroxy propranolol. *Br J Clin Pharmacol* (1994), 38: 9-14
140. Rowley SD, Piantadosi S, Marcellus DC, Jones RJ et al.: Analysis of factors predicting speed of hematologic recovery after transplantation with 4-hydroxyperoxycyclophosphamide-purged autologous bone marrow grafts. *Bone Marrow Transplant* (1991), 7: 183-191
141. Ruckpaul K: Cytochrom P-450 abhängige Enzyme - Targetenzyme für die Arzneistoffentwicklung. *Pharm Unserer Zeit* (1993), 22: 296-304
142. Rustum AM, Hoffmann NE: Determination of cyclophosphamide in whole blood and plasma by reversed-phase high-performance liquid chromatography. *J Chromatogr* (1987), 422: 125-134
143. Ruzicka JA, Ruenitz PC: Cytochrome P450 mediated N-dechloroethylation of cyclophosphamide and ifosfamide in the rat. *Drug Metab Disp* (1992), 20: 770-772

- 144.Santos GW, Tutschka PJ et al.: Marrow transplantation for acute nonlymphocytic leukemia after treatment with busulfan and cyclophosphamide. *N Engl J Med* (1983), 309: 1347-1353
- 145.Sarkar M, Polk RE, Guzelian PS et al.: In vitro effect of fluoroquinolones on theophylline metabolism in human liver microsomes. *Antimicrob Agents Chemother* (1990), 34: 594-599
- 146.Schuler U, Ehninger G, Wagner T: Repeated high-dose cyclophosphamide administration in bone marrow transplantation: exposure to activated metabolites. *Cancer Chemother Pharmacol* (1987), 20: 248-252
- 147.Sevin BU, Perras JP: Tumor heterogeneity and in vitro chemosensitivity testing in ovarian cancer. *Am J Obstet Gynecol* (1997), 176: 759-768
- 148.Shet MS, Fisher CW, Holmans PL, Estabrook RW: Human cytochrome P-450 3A4: enzymatic properties of purified recombinant fusion protein containing NADPH-P-450-reductase. *Proc Natl Acad Sci* (1993), 90: 11748-11752
- 149.Shimada T, Yamazaki H, Mimura M, Inui Y, Guengerich P: Interindividual variations in human liver cytochrome P-450 enzymes involved in the oxidation of drugs, carcinogens and toxic chemicals: Studies with liver microsomes of 30 Japanese and 30 Caucasians. *J Pharmacol Exp Ther* (1994), 270: 414-423
- 150.Shpall EJ, Jones RB, Bast RC et al.: 4-hydroxycyclophosphamide purging of breast cancer from the mononuclear cell fraction of bone marrow support: a phase I trial. *J Clin Oncol* (1991), 9: 85-93
- 151.Shulman-Roskes EM, Noe DA et al.: The partitioning of phosphoramidate mustard and its aziridium ions among alkylation and P—N bond hydrolysis reactions. *J Med Chem* (1998), 41: 515-529
- 152.Sladek NE, Doeden D, Powers JF et al.: Plasma concentrations of 4-hydroxycyclophosphamide and phosphoramidate mustard in patients repeatedly given high doses of cyclophosphamide in preparation for bone marrow transplantation. *Cancer Treat Rep* (1984), 68: 1247-1254
- 153.Soiffer RJ, Dear K, Rabinowe SN et al.: Hepatic dysfunction following T-cell depleted allogeneic bone marrow transplantation. *Transplantation* (1991), 52: 1014-1019
- 154.Sotaniemi EA, Arranto AJ, Pelkonen O, Pasanen M: Age and cytochrome P450-linked drug metabolism in humans: An analysis of 226 subjects with equal histopathologic conditions. *Clin Pharmacol Ther* (1997), 61: 331-339
- 155.SPSS Inc. Chicago, Ill., USA (1994)

156. Struck RF, Kirk MC, Witt MH, Laster WR Jr: Isolation and mass spectral identification of blood metabolites of cyclophosphamide; evidence for phosphoramidate mustard as the biologically active metabolite. *Biomed Mass Spectrum* (1975), 2: 46-52
157. Stuht H, Lode H, Köppe P, Rost KL, Schaberg T: Interaction study of lomefloxacin and ciprofloxacin with omeprazole and comparative pharmacokinetics. *Antimicrob Agents Chemother* (1995), 39: 1045-1049
158. Suh B, Lorber B: Quinolones. *Antimicrob Ther* (1995), 79: 869-894
159. Tanswell P, Koup J: Top Fit: a PC-based pharmacokinetic/pharmacodynamic data analysis program. *Int J Clin Pharmacol Ther Toxicol* (1993), 31: 514-520
160. Tassaneeyakul W, Birkett DJ, Mc Manus ME et al.: Caffeine metabolism by hepatic cytochromes P450: Contributions of 1A2, 2E1 and 3A isoforms. *Biochem Pharmacol* (1994), 47: 1767-1776
161. Tracy TS, Rosenbluth BW, Wrighton S et al.: Role of cytochrome P450 2C9 and an allelic variant in the 4'-hydroxylation of (R)- and (S)-flurbiprofen. *Biochem Pharmacol* (1995), 49: 1269-1275
162. Uckun FM, Chandan-Langlie M, Dockham PA, Aeppli D, Sladek NE: Sensitivity of primary clonogenic blasts from acute leukemia patients to an activated cyclophosphamide, viz., mafosfamide. *Leuk Lymphoma* (1994), 13: 417-428
163. Uckun FM, Kersey JH, Valleria DA, Weisdorf D, Myers DE, Haake R, Ramsay NK: Autologous bone marrow transplantation in high-risk remission T-lineage acute lymphoblastic leukemia using immunotoxins plus 4-hydroperoxycyclophosphamide for marrow purging. *Blood* (1990), 76: 1723-1733
164. Viell B, Krause B, Vestweber KH, Schaaf S, Scholl H: Transintestinal elimination of ciprofloxacin in humans - concomitant assessment of its metabolites in serum, ileum and colon. *Infection* (1992), 20: 324-327
165. Voelcker G, Bielicki L, Hohorst HJ: Thiazolidinyl- and perhydrothiazinyl-phosphamidesters: toxicity and preliminary antitumor evaluation. *J Cancer Res Clin Oncol* (1997), 123: 623-631
166. Wagner JG: *Fundamentals of clinical pharmacokinetics*. Drug Intelligence Publications, Hamilton, Ill., 1975
167. Wagner T, Ehninger G: Self-induction of cyclophosphamide and ifosfamide metabolism by repeated high-dose treatment. *Contr Oncol, Basel*, (1987), 26: 69-75

168. Wagner T, Heydrich D, Voelcker G, Hohorst HJ: Über Blutspiegel und Urinausscheidung von aktiviertem Cyclophosphamid und seinen Deaktivierungsprodukten beim Menschen. *J Cancer Res Clin Oncol* (1980), 96: 79-92
169. Walker RC, Wright AJ: The Quinolones. *Mayo Clin Proc* (1987), 62: 1007-1012
170. Wandel C, Böhler H, Böcker R: Bedeutung der Cytochrom P-450-Superfamilie im Metabolismus anästhesierelevanter Pharmaka. *Anesthesiol Intensivmed Notfallmed Schmerzther* (1993), 28: 511-516
171. Watson E, Dea P, Chan KK: Kinetics of phosphoramidate mustard hydrolysis in aqueous solution. *J Pharm Sci* (1985), 74: 1283-1292
172. Weiss AJ, Manthei R: A hypothesis concerning the relationship of cellular pharmaco-kinetics to optimal scheduling of anti-cancer agents. *Oncology* (1988), 45: 418-424
173. Wiedemann G, Roszinski S, Biersack A et al.: Local hyperthermia enhances cyclophosphamide, ifosfamide and cis-diamminedichloroplatinum cytotoxicity on human-derived breast carcinoma and sarcoma xenografts in nude mice. *J Cancer Res Clin Oncol* (1992), 118: 129-135
174. Wilson VL, Foiles PG, Chung FL, Povey AC, Frank AA, Harris CC: Detection of acrolein and crotonaldehyde DNA adducts in cultured human cells and canine peripheral blood lymphocytes by ³²P-postlabeling and nucleotide chromatography. *Carcinogenesis* (1991), 12: 14883-14890
175. Wonigeit K: Immunsuppression bei Organtransplantation. *Internist* (1996), 37: 229-239
176. Xun CQ, Thompson JS, Jennings CD, Brown SA, Widmer MB: Effect of total body irradiation, busulfan-cyclophosphamide or cyclophosphamide conditioning on inflammatory cytokine release and development of acute and graft-versus-host disease in H-2-incompatible transplanted SCID mice. *Blood* (1994), 83: 2360-2367
177. Yamazaki H, Nakano M, Imai Y, Ueng YF, Güngerich FP, Shimada T: Roles of cytochrome b₅ in the oxidation of testosterone and nifedipine by recombinant cytochrome P-450 3A4 and by human liver microsomes. *Arch Biochem Biophys* (1996), 325: 174-182
178. Yamazaki H, Shimada T: Progesterone and testosterone hydroxylation by cytochromes P450 2C19, 2C9, and 3A4 in human liver microsomes. *Arch Biochem Biophys* (1997), 346: 161-169
179. Yule SM, Boddy AV et al.: Cyclophosphamide Metabolism in Children. *Cancer Res* (1995), 55: 803-809

VI Formelsammlung

1 Pharmakokinetik

Bei den unten angegebenen Formeln gilt: **C**: Konzentration zum Zeitpunkt t;

k₀: Infusionsrate, Konstante nullter Ordnung, als Substanzmenge bzw. Dosis pro Zeiteinheit;

T: Infusionsdauer; **k**: Eliminationskonstante, Konstante 1. Ordnung; **V_d**: scheinbares

Verteilungsvolumen; **Cl**: Körperclearance; **D**: Dosis; **C₀**: (fiktive) Konzentration zum

Zeitpunkt 0; **t_{1/2}**: Halbwertszeit der Elimination; **AUC**: Fläche unter Konzentrations-Zeit-Kurve

von 0 bis unendlich; **AUMC**: Fläche unter erstem Moment der Konzentrations-Zeit-Kurve von

0 bis unendlich; **U**: renal eliminierte Menge; **k_{ren}**: renale Eliminationskonstante; **U_∞**: im Urin

ausgeschiedene Gesamtmenge nach Abschluss der renalen Exkretion.

1.1 Offenes 1-Kompartiment-Modell mit Kurzzeitinfusion konstanter Rate

1.1.1 Konzentrationsverlauf während der Infusion

$$\text{Gl. 1} \quad C = \frac{k_0}{kV} [1 - \exp(-kt)]$$

1.1.2 Konzentrationsverlauf nach Beendigung der Infusion

$$\text{Gl. 2} \quad C = \frac{k_0}{kV} [1 - \exp(-kT)] * \exp(-k(t-T))$$

1.1.3 Renale Exkretion

$$\text{Gl. 3} \quad U = \frac{k_{\text{ren}}}{k} * D (1 - \exp(-kt)), \text{ bzw.: } U_{\infty} = \frac{k_{\text{ren}}}{k} * D$$

1.1.4 Weitere pharmakokinetische Beziehungen

$$\text{Gl. 4 } Cl = V \cdot k$$

$$\text{Gl. 5 } V = \frac{D}{C_0}$$

$$\text{Gl. 6 } t_{1/2} = \frac{\ln(2)}{k}$$

1.2 Nicht kompartmentelle Methoden

Zur Berechnung der AUC von Zeitpunkt 0 bis zur letzten Probenentnahme wurde die Trapezregel angewendet. Für die AUC vom letzten Probenentnahmepunkt bis unendlich wurde in halblogarithmischer Darstellung graphisch die terminale Halbwertszeit bzw. deren Konstante β geschätzt.

1.2.1 Trapezregel

$$\text{Gl. 7 } \int_{t_0}^{t_n} C(t) dt = \sum_{i=0}^{n-1} \frac{t_{i+1} - t_i}{2} (C_i + C_{i+1})$$

Die Gesamt-AUC ergibt sich aus der Addition von AUC der Gleichung 5 und der terminalen Fläche AUC_t , die sich mit der Konzentration C_t zum letzten Messpunkt als $AUC_t = C_t/\beta$ berechnet.

1.2.2 Körperclearance

$$\text{Gl. 8 } Cl = \frac{D}{AUC_{\infty}}$$

1.2.3 Verteilungsvolumen im "steady state"

$$\text{Gl. 9} \quad V_d = \frac{D \cdot \text{AUMC}_\infty}{\text{AUC}_\infty^2} \quad (\text{iv. Bolus})$$

$$\text{Gl.10} \quad V_d = \frac{D \cdot \text{AUMC}_\infty}{\text{AUC}_\infty^2} - \frac{D \cdot T}{2\text{AUC}_\infty} \quad (\text{iv. Infusion})$$

1.2.4 Mittlere Verweildauer

$$\text{Gl. 11} \quad \text{MRT} = \frac{D \cdot \text{AUMC}_\infty}{\text{AUC}_\infty}$$

2 Weitere mathematische Beziehungen

2.1 Kapazitätsfaktor k' zur Beschreibung chromatographischer Retention

$$\text{Gl. 12:} \quad k' = \frac{t_R - t_0}{t_0} \quad (t_R: \text{Retentionszeit Substanz}; t_0: \text{Totvolumenzeit})$$

2.2 Endogene Kreatininclearance (ECC) nach Cockcroft und Gault (35)

$$\text{Gl. 13:} \quad \text{ECC}_m = \frac{(140 - A) \cdot G}{72 \cdot \text{Cr}_S} \quad \text{Männer}$$

$$\text{Gl. 14:} \quad \text{ECC}_w = \text{ECC}_m \cdot (1 - 0,15) \quad \text{Frauen}$$

(A: Alter; G: Körpergewicht (kg); Cr_S : Serumkreatinin (mg/dl))

VI Danksagung

Bei meinem Betreuer Priv. Doz. Dr. med. M. Burk und der hämatologischen Klinik unter der Leitung von Prof. Dr. med. Schneider möchte ich mich für die Bereitstellung des Themas und die gute Betreuung bedanken. Besonders möchte ich mich bedanken, dass Priv. Doz. Dr. med. M. Burk trotz der Zeiten, in denen die Fortschritte dieser Arbeit eher langsam vorangingen, mich weiterhin unterstützt hat.

Herrn H. Kunecke möchte ich für die Hilfe bei der Probenentnahme, Herrn R. Görressen für die Bereitstellung seiner Cyclophosphamid Messergebnisse danken.

Mein weiterer Dank gilt allen Mitarbeitern der Knochenmarktransplantationsstation und der hämatologischen Labore der Universitätsklinik Düsseldorf, die mich in meiner Arbeit dort unterstützt haben. Nicht zuletzt gilt mein besonderer Dank den Patienten, die sich in der schwierigen und belastenden Situation ihrer Erkrankung für diese Studie zu Verfügung gestellt haben.

Weiterhin möchte ich meinen Eltern danken, die durch ihre Unterstützung mein Studium und somit diese Arbeit ermöglicht haben. Meinem Partner gilt der besondere Dank für entbehrte gemeinsame Zeit und Anregung zum Weitermachen.

VII LEBENS LAUF

persönliche Daten:

Name: Ursula Maria Althaus-Meißner
Geburtsdatum: 15. Juli 1969
Geburtsort: Arnsberg
Eltern: Marlies Althaus, praktische Ärztin
Wolfgang Althaus, Internist
niedergelassen in gemeinsamer Praxis in Arnsberg

Schulbildung:

1975 bis 1979: Adolf Sauer Grundschule in Arnsberg
1979 bis 1988: Mariengymnasium in Arnsberg

Studium:

ab Oktober 1988: Studium der Medizin an der Heinrich-Heine-Universität
Düsseldorf
ab April 1994: Praktisches Jahr an der Heinrich-Heine-Universität
Düsseldorf
1. Teil: Innere Medizin, Infektionsstation
2. Teil: Chirurgie, Universitätsklinik, Innsbruck
3. Teil: Radiologie, Strahlentherapie
8. Mai 1995: 3. Staatsexamen

medizinische Tätigkeit :

ab Oktober 1995: Evang. und Johanniterklinikum Duisburg, Dinslaken,
Oberhausen, Lehrkrankenhaus der Heinrich-Heine-
Universität Düsseldorf, Medizinische Klinik I,
Gastroenterologie Prof. Dr. med. M. U. Schneider,
ab Januar 1998: Marienhospital Arnsberg, Abteilung für Allgemeine Chirurgie
und Unfallchirurgie, Priv. Doz. Dr. med. W. O. Ruland
ab Juli 1998: Weiterbildung Allgemeinmedizin in Praxis M. Althaus, Arnsberg
13. Mai 2000: Fachärztin für Allgemeinmedizin, niedergelassen in Arnsberg