



**Die Exposition von Tacrolimus in gesunden
Erwachsenen und transplantierten Patienten unter
besonderer Berücksichtigung der Pharmakogenomik**

INAUGURAL-DISSERTATION

zur Erlangung des Doktorgrades der
Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät der
Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

vorgelegt von

Ralf Lüpken

aus Emden

Düsseldorf, November 2014

Aus dem Institut für Klinische Pharmazie und Pharmakotherapie
der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

Gedruckt mit der Genehmigung der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen
Fakultät der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

Referentin: Prof. Dr. med. Stephanie Lärer

Korreferentin: Prof. Dr. Heike Brötz-Österhelt

Tag der mündlichen Prüfung: 09.12.2014

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung.....	6
1.1	Kurzeinführung	6
1.2	Problemstellung	9
1.3	Fragestellung und Ziel.....	11
2	Systematische Literaturrecherche und Meta-Analyse.....	12
2.1	Einleitung	12
2.1.1	Hintergrund und Problemstellung.....	12
2.1.2	Tacrolimus Pharmakokinetik und seine Bedeutung für die klinische Praxis	14
2.1.3	Bedeutung der Pharmakogenomik für die Tacrolimus Pharmakokinetik.....	16
2.1.4	Bedeutung der Gesamtexposition von Tacrolimus bei Organtransplantationen.....	19
2.2	Fragestellung und Ziel.....	21
2.3	Methoden	22
2.3.1	Systematische Literaturrecherche	22
2.3.1.1	Literatursuche und Suchstrategie	22
2.3.1.2	Ein- und Ausschlusskriterien	24
2.3.1.3	Datenextraktion.....	27
2.3.2	Dosisnormierte Gesamtexposition	28
2.3.3	Dokumentation und Darstellung der dosisnormierten AUC.....	29
2.3.4	Meta-Analyse der genetischen Subgruppen	30
2.3.4.1	Random-Effects-Modell vs. Fixed-Effects-Modell	31
2.3.4.2	Effektgröße der Meta-Analyse	32
2.3.4.3	Korrektur der Effektgröße d und Berechnung der wahren Effektgröße g	34
2.3.4.4	Wichtung der Mittelwerte.....	34
2.3.4.5	Berechnung der inneren Varianz V_d	35
2.3.4.6	Korrektur der inneren Varianz V_d	36
2.3.4.7	Berechnung der Varianz τ^2 zwischen den Studien.....	36
2.3.4.8	Berechnung des gewichteten Mittelwerts.....	37
2.3.4.9	Varianz von gewichtetem Gesamtmittelwert und Standardfehler.....	37
2.3.4.10	Berechnung von Konfidenzintervallen für den gewichteten Mittelwert.....	38
2.3.4.11	Statistische Auswertung der gewichteten Mittelwerte	38
2.3.4.12	Dokumentation und Darstellung der Meta-Analyse	39
2.3.4.13	Fehlerbetrachtung der Meta-Analyse.....	40

2.4	Ergebnisse	41
2.4.1	Ergebnisse der systematischen Literaturrecherche	41
2.4.2	Ergebnisse der Dosisnormierung der AUC _{ss} in transplantierten Patienten	47
2.4.3	Ergebnisse der Meta-Analyse	49
2.4.4	Limitationen und Fehlerbetrachtung der Meta-Analyse	53
2.5	Diskussion	55
2.5.1	Interpretation	55
2.5.2	Fazit	62

3 Physiologiebasiertes pharmakokinetisches Modell von Tacrolimus in gesunden Erwachsenen63

3.1	Hintergrund des Einzelnukleotid-Polymorphismus des CYP3A5 --	63
3.2	Problemstellung	65
3.3	Fragestellung und Ziel	66
3.4	Methode	67
3.4.1	Prinzip und Aufbau des PBPK-Modells für Tacrolimus.....	67
3.4.1.1	Anwendung und Funktion des PBPK-Modells für Tacrolimus	67
3.4.1.2	Modellstruktur	67
3.4.1.3	Populationspharmakokinetische physiologiebasierte Simulationen	74
3.4.1.4	Parametrisierung der intrinsischen Clearance für die unterschiedlichen Genotypen des CYP3A5	75
3.4.1.5	Retrograde-Modell	76
3.4.2	Erstellung und Evaluation des PBPK-Modells für Tacrolimus.....	80
3.4.2.1	Workflow der Erstellung eines PBPK-Modells für Tacrolimus.....	80
3.4.2.2	Erstellen – Evaluieren – Lernen – Weiterentwicklungs - Schema	81
3.4.2.3	Modellerstellung.....	83
3.4.2.4	Auswertung und Modell-Evaluation	86
3.4.2.5	Auswertungen der Ergebnisse der nicht-kompartimentellen Analyse.....	87
3.5	Ergebnisse	89
3.5.1	Erläuterung zur Darstellung der Simulationsergebnisse	89
3.5.2	PBPK-Modell für Tacrolimus in gesunden Erwachsenen.....	90
3.5.2.1	Ergebnisse der Literanalyse zur Pharmakokinetik von Tacrolimus.....	90
3.5.2.2	Ergebnisse der Modellentwicklung für Tacrolimus.....	99
3.5.2.3	Ergebnisse für das PBPK-Modell nach intravenöser Applikation.....	100
3.5.2.4	Ergebnisse für das PBPK-Modell nach peroraler Applikation ...	108
3.5.2.5	Ergebnisse der Expresser- und Nicht-Expresser Genotypen.....	115
3.6	Diskussion	120

3.6.1	PBPK-Modell von Tacrolimus im Kontext mit der Literatur.....	120
3.6.2	PBPK-Modell von Tacrolimus hinsichtlich der Verteilungsprozesse in die Erythrozyten.....	122
3.6.3	PBPK-Modell von Tacrolimus hinsichtlich des Einzelnukleotid-Polymorphismus des CYP3A5.....	124
3.6.4	Limitationen des PBPK-Modells von Tacrolimus in gesunden Erwachsenen.....	125
3.6.5	Fazit und Ausblick.....	126

4 Zusammenfassung 128

4.1	Abstract.....	128
4.2	Zusammenfassung (deutsch)	129

5 Anhang I

5.1	Abbildungsverzeichnis	I
5.2	Tabellenverzeichnis.....	III
5.3	Abkürzungsverzeichnis	IV
5.4	Software.....	VII
5.5	Literaturverzeichnis	VIII
5.6	Publikationen.....	XIX
5.7	Curriculum vitae	XXI
5.8	Danksagungen.....	XXII
5.9	Erklärung zur Dissertation	XXIII

1 Einleitung

1.1 Kurzeinführung

Unter einer Organtransplantation versteht man in der Medizin die Verpflanzung von organischem Material; es können Organe von Menschen oder auch Tieren transplantiert werden (World Health Organisation 2014; Hautmann 2010).

Derzeit befinden sich insgesamt 11.000 Patienten¹ in der Bundesrepublik Deutschland auf der Warteliste für eine Organtransplantation (Deutsche Stiftung Organtransplantation 2014d; Eurotransplant International 2014). Zwei Drittel dieser Patienten, also etwa 7500, benötigen eine Nierentransplantation (Deutsche Stiftung Organtransplantation 2014d).

Der Rest der Organtransplantationen sind Leber-, Herz-, Darm- und Lungentransplantationen. Es wurden 970 Lebern transplantiert, davon 887 nach postmortaler Spende und 83 nach einer Lebendspende (Deutsche Stiftung Organtransplantation 2014b). Mit 313 transplantierten Organen sind etwas weniger Herztransplantationen als in den Vorjahren durchgeführt worden (Deutsche Stiftung Organtransplantation 2014a). Hingegen nahm der Trend bei Lungentransplantationen mit 371 Fällen zu (Deutsche Stiftung Organtransplantation 2014c).

Lebendspenden haben den Vorteil gegenüber den postmortalen Spenden, dass die Zeit der Minderdurchblutung des Organs (Ischämie) kürzer ist als bei postmortalen Spenden und die Funktionstüchtigkeit der transplantierten Organe dadurch im Verhältnis höher ist (Hautmann 2010; Krukemeyer und Lison 2006). Bei Nieren zum Beispiel liegt die Funktionalität des Transplantats nach Lebendspenden im Verhältnis zu postmortalen Spenden ca. 15 Prozentpunkte höher (85 % vs. 70,5 % Hautmann 2010; Deutsche Stiftung Organtransplantation 2014d; Fricke 2006).

¹ Im Rahmen dieser Arbeit wird aus Gründen der Lesbarkeit die männliche Form benutzt. Es können dabei aber sowohl männliche als auch weibliche Personen gemeint sein.

Der große Bedarf an Spenderorganen wird deutlich, wenn man die Anzahl an Spenderorganen für die Nierentransplantation aufführt. Im Jahr 2013 wurden laut Statistik von Eurotransplant in Deutschland 2.272 Nieren transplantiert; 1.547 nach postmortalen Spende und 725 in einer Lebendspende (Deutsche Stiftung Organtransplantation 2014d).

Das bedeutet, dass der Bedarf an Nierentransplantationen das Angebot an Spenderorganen um das Dreifache (Deutsche Stiftung Organtransplantation 2014d) übersteigt.

Die durchschnittliche Nierentransplantatsüberlebensrate beträgt im Mittel 11 Jahre (University of Heidelberg, Department of Transplantation Immunology 2012). Ein Patient braucht so je nach Alter und Transplantat zwischen 2 und 3 Transplantationen im Leben. Hat demnach ein Patient einmal ein Spenderorgan erhalten, sollte jede Anstrengung unternommen werden, um dieses Spenderorgan maximal lange nutzen zu können.

In Deutschland wird aufgrund des Allgemeinzustands eines Patienten und anderer Faktoren entschieden, ob dieser auf die Warteliste für eine Organtransplantation eingetragen werden darf. Es müssen Gründe für und gegen eine solche Aufnahme in die Warteliste dokumentiert werden (Transplantationsgesetz - TPG).

Die durchschnittliche Wartezeit auf ein Spenderorgan beträgt in Deutschland derzeit fünf bis sechs Jahre (Deutsche Stiftung Organtransplantation 2014d). Viele Patienten, die eine Niere transplantiert bekommen müssten, werden nach einiger Zeit von der Warteliste gelöscht, weil sich der klinische Zustand verschlechtert hat und Gründe gegen den Verbleib auf der Warteliste sprechen (Deutsche Stiftung Organtransplantation 2014d). Diese Patienten müssen sich dann für eine längere Zeit einer Hämodialyse unterziehen, was für sie selbst belastend und für das Gesundheitssystem ein Kostenfaktor ist (Kidney Disease Improving Global Outcomes 2009).

Bei Nierentransplantierten übersteigen die Kosten einer Hämodialyse über den Zeitraum von 2 Jahren denen einer Nierentransplantation (Laupacis et al. 1996). Bei

Leber- und Herztransplantationen versterben die Patienten häufig, bevor sie ein geeignetes Organ transplantiert bekommen können (Eurotransplant International 2014, Deutsche Stiftung Organtransplantation 2014b, 2014a).

Die Hauptproblematik jeder Organtransplantation ist die Immunreaktion der Empfänger gegen das Transplantat. Die genetische Ausstattung jedes Individuums ist unterschiedlich und die Oberflächenproteine MHC und HLA führen zur T-Zellaktivierung in den Empfängern (Shoskes und Wood 1994). Die ersten erfolgreichen Transplantationen sind daher bei Zwillingen praktiziert worden, deren genetische Ausstattung fast identisch ist (Merrill 1956; Vollmar und Gerbes 2005).

Für den Empfänger besteht ein lebenslanges Risiko einer Organabstoßung, die in akute und chronische Abstoßungen des Transplantats unterschieden werden (Medawar 1944, 1945). Für den Patienten bedeutet das, dass er sich lebenslang einer immunsuppressiven Arzneimitteltherapie unterziehen muss, um die Abwehrreaktion des Körpers gegen das fremde Organ zu unterdrücken. Eine vollständige Immuntoleranz im Rahmen des Transplantationsprozesses gibt es bis heute nicht.

Daher wird für die Unterdrückung der Immunreaktion eine Kombinationstherapie aus meist drei Immunsuppressiva wie Glukokortikoiden, Calcineurin-Inhibitoren (Tacrolimus, Ciclosporin) und Mycophenolatmofetil (MMF) bzw. Antikörper gegen den Interleukin-2-Rezeptor angesetzt (Kidney Disease Improving Global Outcomes 2009; Strassburg et al. 2008).

1.2 Problemstellung

In den letzten Jahren hat Tacrolimus Cyclosporin als Immunsuppressivum der ersten Wahl abgelöst und wird inzwischen weltweit in Erwachsenen und Kindern eingesetzt (Webster et al. 2005; McAlister et al. 2006; Plosker und Foster 2000).

Es ist für die Immunsuppression nach Organtransplantationen von Nieren, Lebern und Herzen zuerst in den USA seit 1994 zugelassen worden (Food and Drug Administration 2013).

Eine Überprüfung von Arzneistoffspiegeln von Tacrolimus vor der nächsten Medikation (Talspiegel) im Rahmen eines Therapeutischen Drug Monitoring ist essentielle klinische Routine (Kidney Disease Improving Global Outcomes 2009; Kahan et al. 2002; McMaster et al. 1995), um den Patienten zu schützen und das Risiko einer Organabstoßung zu minimieren. Zu hohe Talspiegel von Tacrolimus bergen die Gefahr von Neuro- bzw. Nephrotoxizität, zu geringe therapeutische Vollblutspiegel die Gefahr von Abstoßungsreaktionen des Transplantats (Cosio et al. 2007; Staatz 2001). Aufgrund der Kostenersparnis und der Handhabung des Personals werden in der klinischen Praxis häufig nur Talspiegel von Tacrolimus gemessen.

Ein wissenschaftlich fundierter Parameter zur Beschreibung der Tacrolimus-Pharmakokinetik ist die Gesamtexposition (AUC).² Die Arzneimittlexposition von Tacrolimus kann durch die Kenngröße „Area under the Curve“ (kurz: AUC, zu Deutsch „Fläche unter der Kurve“) beschrieben werden (Cawello 1998). Sie ist das Zeitintegral der Konzentrationen eines Arzneistoffs in einem physiologischen Medium (Cawello 1998).

Die pharmakokinetischen Teilprozesse Absorption, Verteilung, Metabolismus und Elimination haben direkten Einfluss auf diese pharmakokinetische Kenngröße (Cawello 1998). Das bedeutet, dass mit der Erfassung der Gesamtexposition auch von Tacrolimus alle Eigenschaften bezüglich seiner Absorption, Verteilung, seines

² In dieser Arbeit wird der Begriff „Fläche unter der Kurve“ (AUC) und Gesamtexposition synonym verwendet (Land 2006), solange nichts anderes ausdrücklich erklärt wird.

Metabolismus und seiner Elimination angemessen erfasst und beschrieben werden können.

Aufgrund des weltweiten Einsatzes von Tacrolimus sollte es zahlreiche Untersuchungen über seine Gesamtexposition in unterschiedlichen Ethnizitäten, Transplantationstypen sowie Erwachsenen und Kindern geben. Auch der besondere Einfluss des CYP3A5 Polymorphismus auf die Gesamtexposition von Tacrolimus sollte inzwischen Aufschluss geben, ob er zu Unterschieden in der Tacrolimus Exposition führen kann.

Tacrolimus wird über die Enzyme des Cytochrom-Komplexes P4503A4 (CYP3A4) und P4503A5 (CYP3A5) abgebaut, welche polymorph vorliegen (Sim 2014). Den Wildtyp von CYP3A5 stellt das Allel CYP3A5*1/*1 dar; die metabolische Aktivität ist normal ausgeprägt und Individuen mit diesem Genotyp gehören zur Gruppe der Expresser (Hesselink 2003; Dai et al. 2006). Die Enzymaktivität des CYP3A5 ist im Genotyp CYP3A5*3/*3 um einen Faktor drei niedriger als im Wildtyp-Allel (Hesselink 2003; Dai et al. 2006; Jonge et al. 2013). Individuen mit dieser genetischen Ausprägung haben eine verminderte Enzymaktivität und gehören zur Gruppe der Nicht-Expresser.

Aufgrund des großen Mangels an Spenderorganen und der klinischen Notwendigkeit einer pharmakokinetisch gesteuerten Therapieüberwachung ist eine systematische Übersicht über die oben genannten Einflussfaktoren auf die Gesamtexposition von Tacrolimus in den organtransplantierten Populationen notwendig. Darüber hinaus gibt es außer des klinischen Drug Monitorings auf der Basis einer einzigen gemessenen Tacrolimuskonzentration keine Hilfsmittel, die es erlauben, die Patienten zielgenau auf die notwendige Gesamtexposition von Tacrolimus einzustellen. Die Patienten sollten möglichst schnell und wenig invasiv im therapeutischen Bereich eingestellt werden, damit Patienten mit einem Spenderorgan eine effektive und sichere immunsuppressive Arzneimitteltherapie dauerhaft erhalten.

1.3 Fragestellung und Ziel

Im ersten Schritt dieser Doktorarbeit wird daher untersucht, inwieweit die Ethnizität, die Altersklasse, der Transplantationstyp und der Genotyp des CYP3A5 Einfluss auf die Arzneimittelexposition von Tacrolimus hatte. In einer systematischen Literaturrecherche werden zunächst pharmakokinetische Studien mit Daten über die Tacrolimus AUC_{ss} ermittelt und ausgewertet. Ein Vergleich nach den oben genannten vier Kriterien wird anhand einer dosisnormierten AUC_{ss} vorgenommen. Daraufhin wird in einer Meta-Analyse die Bedeutung des Einzelnukleotid-Polymorphismus auf die AUC_{ss} bei nierentransplantierten erwachsenen und pädiatrischen Patienten untersucht.

Im zweiten Schritt wird ein Ansatz gewählt, dieses aus der Literatur bekannte Wissen in Form eines Vorhersage-Tools für die klinische Praxis verfügbar zu machen. Dazu wird die *in silico*-Software Simcyp® benutzt, um ein physiologiebasiertes pharmakokinetisches Modell unter Berücksichtigung des Einzelnukleotid-Polymorphismus von Tacrolimus in gesunden Erwachsenen zu entwickeln. Dieses kann durch Vorhersage der Vollblutkonzentrations-Zeit-Kurven die Gesamtexposition (AUC) der jeweiligen Patienten im Voraus berechnen und dadurch Therapieentscheidungen der immunsuppressiven Arzneimitteltherapie absichern. Patienten, denen ein passendes Spenderorgan transplantiert wird, können dann schneller und sicherer solche Konzentrationsbereiche von Tacrolimus erreichen, die für die lebensnotwendige immunsuppressive Medikation unabdingbar sind.

2 Systematische Literaturrecherche und Meta-Analyse

2.1 Einleitung

2.1.1 Hintergrund und Problemstellung

Die Bezeichnung Area under the Curve (AUC) beschreibt die Fläche unter der Konzentrations-Zeit-Kurve eines Arzneimittels (Cawello 1998). Sie stellt die pharmakokinetische Kenngröße dar, die die Bioverfügbarkeit eines Arzneimittels charakterisiert (Cawello 1998) und eine Beurteilung der Gesamtexposition eines Arzneimittels ermöglicht. Die AUC ist proportional zu der bioverfügbaren Menge des Wirkstoffs.

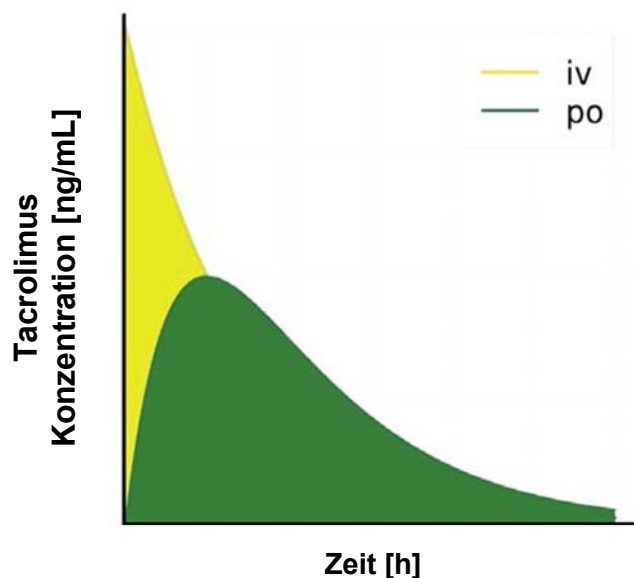


Abbildung 1 Gesamtexposition eines Arzneimittels

Dargestellt ist die „Fläche unter der Kurve“ (AUC) nach einer intravenösen Applikation (gelb) und nach einer peroralen Applikation (grün). Die Fläche stellt das Zeitintegral der gemessenen Konzentrationen eines Arzneimittels dar.

Per definitionem beträgt die Bioverfügbarkeit nach intravenöser (IV) Applikation 100 %. Bei peroraler (PO) Gabe von Arzneimitteln kann die Bioverfügbarkeit der intravenösen entsprechen, wenn die AUC_{po} und die AUC_{iv} gleich groß sind (Cawello 1998).

Zur Berechnung der AUC wird das Konzentrations-Zeit-Profil nach der jeweiligen Applikationsart gemessen. Die lineare Trapezregel ermöglicht die Bestimmung des pharmakokinetischen Parameters (Cawello 1998).

Aus Formel 1 (Cawello 1998) kann man entnehmen, dass die pharmakokinetischen Prozesse Absorption, Distribution, Metabolismus und Exkretion (ADME) Einfluss auf die Gesamtexposition haben.

$$AUC = \frac{f \cdot D}{CL} = \frac{f \cdot D}{k_e \cdot V_d} \quad \text{Formel 1}$$

AUC = Gesamtexposition, f = Bioverfügbarkeit, Cl = Clearance, D = Dosis, k_e = Eliminationskonstante, V_d = Verteilungsvolumen

In die Bioverfügbarkeit gehen maßgeblich Absorptionsprozesse ein, die mit den physikochemischen Eigenschaften des Wirkstoffs zusammenhängen und von physiologischen und anatomischen Gegebenheiten beeinflusst werden (Jamei et al. 2009).

Das Ausmaß der Gesamtexposition des Arzneimittels korreliert mit der Dosierung des jeweiligen Wirkstoffs.

Die Clearance eines Arzneimittels stellt das Blutvolumen dar, welches von einem Arzneistoff innerhalb einer definierten Zeit befreit wird. Sie setzt sich aus dem Produkt des Hybrid-Parameters der Eliminationskonstante und dem Verteilungsvolumen eines Arzneimittels zusammen. Nach fünf Eliminationshalbwertszeiten wird definitionsgemäß die AUC_{ss} im Gleichgewichtszustand erhalten, die mit der AUC nach einer Einzeldosierung in folgender Weise korreliert (Cawello 1998):

$$AUC_{ss(0-\tau)} = AUC_{single-dose(0-\infty)} \quad \text{Formel 2}$$

$AUC_{ss(0-\tau)}$ = Fläche unter der Konzentrations-Zeit-Kurve im Fließgleichgewicht (Steady-State) unter dem Zeitintervall τ ; $AUC_{single-dose(0-\infty)}$ = Fläche unter der Konzentrations-Zeit-Kurve von 0 bis unendlich nach einer Einzeldosierung.

2.1.2 Tacrolimus Pharmakokinetik und seine Bedeutung für die klinische Praxis

Das Universitätsklinikum Düsseldorf hat im Jahre 2006 eine Klinikanfrage an das Institut für Klinische Pharmazie und Pharmakotherapie der Heinrich-Heine-Universität in Düsseldorf gestellt (Sumner et al. 2006).

Hintergrund der Anfrage war ein 18-jähriger männlicher Patient mit einer allogenen Stammzelltransplantation bei frühem Rezidiv einer akuten myeloischen Leukämie.

Dieser Patient wurde aufgrund zunehmender Atemnot, Husten und Verschlechterung seines Allgemeinzustands stationär aufgenommen. Bei Einlieferung und zweimal während seines stationären Aufenthalts stiegen die Tacrolimus-Spiegel über den therapeutischen Bereich (Kidney Disease Improving Global Outcomes 2009) von 5 bis 15 ng/mL an.

Der Calcineurin-Inhibitor Tacrolimus ist ein Substrat für das P-Glykoprotein und das CYP3A4, die im Dünndarm und in der Leber vorwiegend für den Metabolismus verantwortlich sind (Wallemacq und Verbeeck 2001; Undre et al. 1994; Iwasaki et al. 1993; Iwasaki et al. 1995). P-Glykoprotein sorgt als Transportprotein über eine Effluxpumpe dafür, dass Arzneistoffe wie Tacrolimus vor der Absorption aus der Zelle transportiert werden. Der Wirkstoff Voriconazol gehört zur Wirkstoffklasse der Antimykotika und ist ein Inhibitor des P-Glykoproteins und des CYP3A4 (Theuretzbacher et al. 2006).

Ein Zusammenhang zwischen der Einnahme von Voriconazol und des Anstiegs des Vollblutspiegels von Tacrolimus konnte anhand der Labordiagnostik vermutet werden. Durch Hemmung des CYP3A4 und möglicherweise auch des P-Glykoproteins sind die Talspiegel von Tacrolimus über das Doppelte in den toxischen Bereich angestiegen. Toxische Talspiegel von 25 ng/mL korrelieren mit Unerwünschten Arzneimittelwirkungen (Laskow et al. 1998). Dieses Beispiel zeigt die Bedeutung des klinischen Drug Monitorings für eine sichere und wirksame Einstellung des Patienten nach einer Organtransplantation mit Tacrolimus und zeigt damit auch die Notwendigkeit als Basis dafür entsprechende pharmakokinetische

Hintergrundinformationen wie z.B. eine Gesamtexposition von Tacrolimus in der Population zu kennen.

Aufgrund des weitverbreiteten Einsatzes von Tacrolimus bei Erwachsenen und Kindern sind demnach pharmakokinetische Informationen als Basis für die Therapieeinstellung für den sicheren Einsatz von Tacrolimus erforderlich. Vermutlich gibt es aber schon Untersuchungen in unterschiedlichen Ethnizitäten, Transplantationstypen sowie Erwachsenen und Kindern und diese Informationen müssen damit nur übersichtlich zusammengestellt werden. Die häufigsten Transplantationstypen sind sicherlich Nieren-, Leber- oder Herztransplantationen (Deutsche Stiftung Organtransplantation 2014d, 2014b, 2014a) und sollten deswegen auch im Fokus der Betrachtung stehen.

2.1.3 Bedeutung der Pharmakogenomik für die Tacrolimus Pharmakokinetik

Pharmakogenomische Polymorphismen können Einfluss auf die pharmakokinetischen und die pharmakodynamischen Teilprozesse nehmen (s. Abbildung 2).

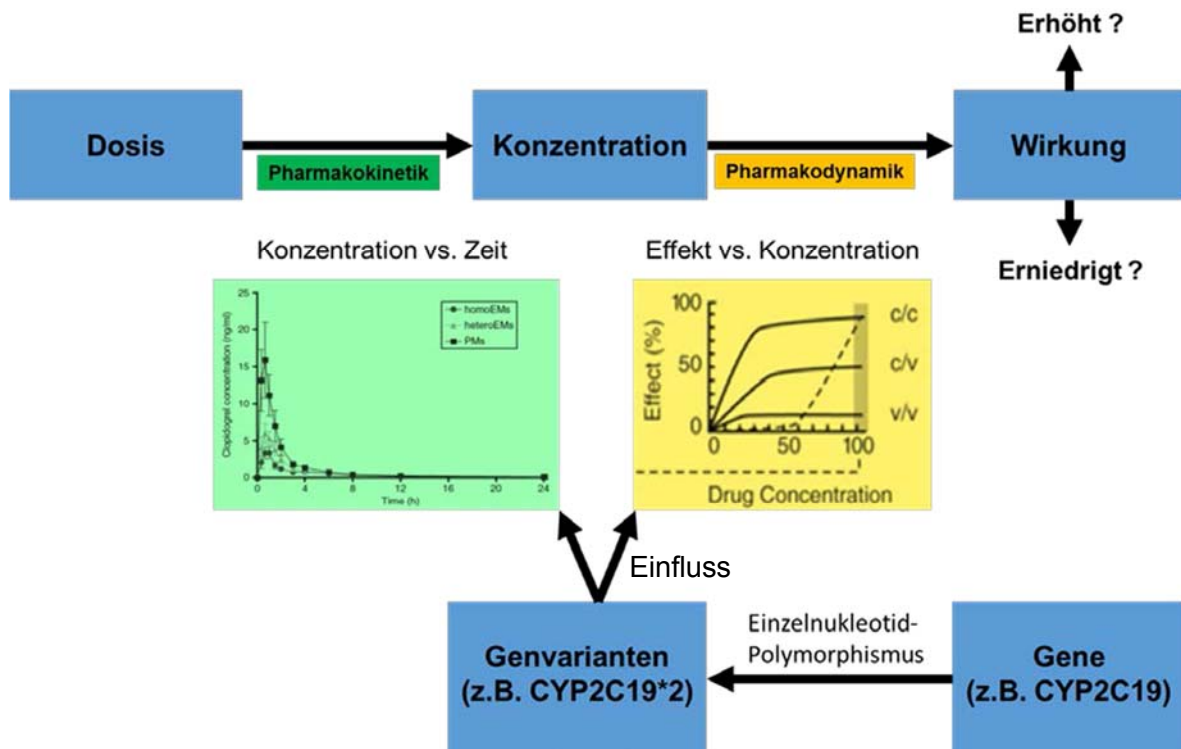


Abbildung 2 Einfluss der Pharmakogenomik auf die Pharmakokinetik und die Pharmakodynamik eines Arzneistoffs

Dargestellt ist die Beziehung zwischen Dosis, Konzentration und Wirkung. Pharmakogenomische Einflüsse können zu Genvarianten von z.B. metabolisierenden Enzymen wie dem CYP2C19 führen und auf die pharmakokinetischen Prozesse der Thrombozytenaggregationshemmung von Clopidogrel Einfluss nehmen oder z.B. beim ADRB2 – Rezeptor bei der Gabe von Albuterol, der sich in einer unterschiedlich hohen Bronchodilatation auswirkt.

Schon Hippokrates hat vor 25 Jahrhunderten festgestellt: „*Es ist wichtiger zu wissen, welche Person eine Krankheit hat als zu wissen, welche Krankheit eine Person hat!*“ (Pohlenz 1938). Das interindividuelle Ansprechen einer Arzneimitteltherapie bei gleichen klinischen Symptomatiken kann durch die pharmakokinetischen Prozesse (Absorption, Distribution, Metabolisierung und Exkretion) und die darauf folgenden pharmakodynamischen Prozesse (Ziel, Wirkmechanismus und Arzneimittelantwort) erklärt werden.

Der Metabolismus eines Arzneimittels ist aus pharmakogenomischer Sicht der wichtigste Prozess, weil etwa 80 % der genetisch bekannten Biomarker metabolisierende Phase-I- und Phase-II-Enzyme sind (European Medicines Agency, CHMP 2014). Einzelnukleotid-Polymorphismen („Single nucleotide polymorphisms“, SNPs) sind durch eine Basenpaar-Substitutionsmutation der DNS gekennzeichnet (Evans und Cardon 2004). Ihre Prävalenz in der Bevölkerung beträgt mindestens 1 % (Evans und Cardon 2004). Andere Arten von SNP sind charakterisiert durch Insertionen und Deletionen in der DNS-Sequenz (Evans und Cardon 2004). Das Cytochrom P450 sorgt für den größten Anteil an oxidativer Biotransformation von Xenobiotika (Evans und Cardon 2004).

Polymorph veränderte Enzyme können zu einer erhöhten oder erniedrigten Clearance von Wirkstoffen bzw. dessen Metaboliten führen oder zu einer erhöhten oder erniedrigten Umsetzung eines Prodrugs oder aber eine erhöhte bzw. erniedrigte Umsetzung des Wirkstoffs in toxische Metabolite hervorrufen (European Medicines Agency, CHMP 2014).

Beispiele sind in der Literatur zahlreich vorhanden. Eichelbaum et al. haben 1975 den Defekt in der N-Oxidation des Sparteins beschrieben (Eichelbaum et al. 1986). Ein Patient mit einem SNP zeigte um 20 % verminderte Werte für die Gesamt-Clearance im Verhältnis zu anderen Patienten auf (Eichelbaum et al. 1986).

Lennard et al. berichteten 1983 für die perorale Gabe des selektiven β_1 -Adrenorezeptorenblockers Metoprolol über Unterschiede im Metabolismus in Abhängigkeit vom CYP2D6-Genotyp. Sie unterteilten die Bevölkerung je nach Genotyp in langsame (poor) und schnelle (ultrarapid) Metabolisierer (PM und URM) (Lennard et al. 1983).

Codein kann bei CYP2D6-veränderten Genotypen nicht ausreichend in Morphin umgesetzt werden und unter Umständen seine analgetische Wirkung nicht stark genug entwickeln (Fagerlund und Braaten 2001).

Beim Protonenpumpenhemmer Omeprazol steht das CYP2C19 in Zusammenhang mit einem vom Genotyp abhängigen Metabolismus und damit der Überführung

eines Prodrugs in seine aktive Wirkform (Sugimoto et al. 2014).

Das Antitussivum Dextrometorphan führt bei langsamen Metabolisierern über CYP2D6 vermehrt zu Unerwünschten Arzneimittelwirkungen in Form von Halluzinationen, Verwirrtheitszuständen und im schlimmsten Fall zu Atemdepression, wie sie insbesondere bei der pädiatrischen Population schon zu schlimmen Vergiftungsfällen geführt hat (Röhm et al. 2009).

Der Calcineurin-Inhibitor Tacrolimus wird über die Monooxygenasen Cytochrom P4503A4 (CYP3A4) und Cytochrom P4503A5 (CYP3A5) im Darm und in der Leber metabolisiert, welche beide polymorph vorliegen (Sim 2014; Iwasaki et al. 1995). Das CYP3A4 ist ein Isoenzym der Cytochrom-P450-Superfamilie und kommt mengenmäßig am meisten in der Leber vor.

Es ist am Metabolismus zahlreicher Arzneimittel – ca. 40 % der Arzneistoffe (Anzenbacher und Anzenbacherova 2001) – und an vielen Arzneimittelinteraktionen beteiligt.

Derzeit sind mehr als 44 unterschiedliche Genotypen dieses Enzyms bekannt (Sim 2014), die sich teilweise in ihrer Aktivität unterscheiden, wie z. B. das CYP3A4*22, welches über eine verminderte Enzymaktivität verfügt (Sim 2014).

Das CYP3A5 ist ein Isoenzym der Cytochrom-P450-Superfamilie und kommt im Dünndarm und in der Leber vor. Aktuell sind mehr als 26 unterschiedliche Genotypen des Enzyms bekannt (Sim 2014).

Der Polymorphismus CYP3A5*3 führt an der Position 6986 zu einem Basenaustausch von Adenin zu Guanin (Sim 2014). Das führt zu einem Spleißfehler und endet in einem Stoppcodon. Homozygote CYP3A5*3/*3-Träger haben eine verminderte Enzymaktivität, während heterozygote CYP3A5*1/*3-Träger über eine normale Enzymaktivität verfügen (Hesselink 2003).

Die Gesamtmenge an Enzym kann bis zu dreifach erhöht sein in heterozygoten Genotypen und dem homozygoten CYP3A5*1/*1-Genotypen (Dai et al. 2006). Die Verteilung des homozygoten CYP3A5*3/*3 beträgt bei Kaukasiern 80 %, während

etwa 15 % heterozygot sind (Roy et al. 2005); der homozygote Wildtyp (CYP3A5*1/*1) kommt in der kaukasischen Bevölkerung unter 5 % vor. Je nach Genotyp wird die Population in Expresser (CYP3A5*1/*1 bzw. CYP3A5*1/*3) und Nicht-Expresser (CYP3A5*3/*3) eingeteilt. Die Genotypen führen zu einer anderen Dosierungsempfehlung während der Arzneimitteltherapie (Hesselink 2003; Jonge et al. 2013).

2.1.4 Bedeutung der Gesamtexposition von Tacrolimus bei Organtransplantationen

In der klinischen Praxis werden häufig nur Talspiegel von Tacrolimus aufgrund der Kostenersparnis und der Handhabung des klinischen Personals gemessen.

Ringe et al. (2001) und Laskow et al. (1998) konnten zeigen, dass eine Korrelation zwischen Talspiegeln und der Abstoßung eines Organs besteht. Bei Talspiegeln unter 5 ng/mL kam es bei 30 % der Nierentransplantationen zu Abstoßungen, Talspiegel über 25 ng/mL gehen in der Regel mit toxischen Erscheinungen einher (Laskow et al. 1998).

Bei Korrelationskoeffizienten zwischen Tacrolimus-Talspiegeln und der Gesamtexposition (AUC) mit einem Bestimmtheitsmaß (R^2) zwischen 0,11 und 0,92 wird immer wieder in Frage gestellt, ob die pharmakokinetische Überwachung von Tacrolimus alleine durch Talspiegel erfolgen kann (Laskow et al. 1998). Die als Standard herangezogene Gesamtexposition weist in Untersuchungen an z.B. lebertransplantierten Patienten mit nach 4 h gemessenen Tacrolimuskonzentrationen eine bessere Korrelation auf als mit dem Tacrolimus Talspiegel (Wong et al. 2000).

Auch eine Studie an nierentransplantierten Patienten berichtete ebenfalls über eine bessere Korrelation zwischen nach 2h bzw. 4h gemessenen Tacrolimuskonzentrationen zum Standard einer Gesamtexposition als im Vergleich zu Talspiegeln (Wong et al. 2000).

In der Literatur gibt es bisher zwei größere systematische Übersichtsarbeiten, die Informationen über die Gesamtexposition als AUC gemessen auflisten.

Venkataramanan et al. (1995) hat als erstes einen klinischen Review veröffentlicht. Dabei hat er seine Übersicht in pädiatrische und erwachsene Studien aufgeteilt, ist aber nicht systematisch hinsichtlich der Ethnizität und der Pharmakogenomik vorgegangen.

Staatz et al. (2004) hat die pharmakokinetischen Kenngrößen von Tacrolimus aktualisiert und die Pharmakodynamik bzw. Pharmakogenomik von Tacrolimus einbezogen. Es gibt noch eine Studie von Mancinelli et al. (2001), die die Gesamtexpositionen von Tacrolimus in drei unterschiedlichen Ethnizitäten (Afro-Amerikaner, Lateinamerikaner und Kaukasiern) gesunder Probanden vergleicht. In einigen anderen Studien wird die AUC in einem Zeitintervall je nach Studiendesign gemessen. Es fehlt aber eine Übersichtsarbeit, die die Gesamtexposition von Tacrolimus in organtransplantierten Patienten unterschiedlicher Ethnizität, Transplantationsart bzw. der Altersklasse und der Pharmakogenomik differenziert und beurteilt.

Wenn man demnach weitere Erkenntnisse über Einflussfaktoren auf eine Tacrolimustherapie in Organtransplantierten Patienten weltweit gewinnen möchte, sollte man demnach Informationen über den Standardparameter der Tacrolimus Pharmakokinetik, die Gesamtexposition von Tacrolimus, sammeln und systematisch zusammenstellen und dabei Studien über singular gemessene Tacrolimuskonzentrationen nicht berücksichtigen.

Aufgrund des großen Mangels an Spenderorganen und der klinischen Notwendigkeit einer pharmakokinetisch gesteuerten Therapieüberwachung ist eine systematische Übersicht über Einflussfaktoren auf die Gesamtexposition von Tacrolimus in einer Organtransplantierten Population notwendig.

2.2 Fragestellung und Ziel

Es wurde eine systematische Literaturrecherche durchgeführt mit dem Ziel, die Tacrolimus-Gesamtexpositionen zu ermitteln und vier bedeutende Einflusskriterien wie Ethnizität, Altersklasse, Transplantationstyp und genetische Subgruppen von Expressern und Nicht-Expressern für CYP3A5 zu beschreiben.

2.3 Methoden

2.3.1 Systematische Literaturrecherche

2.3.1.1 Literatursuche und Suchstrategie

Die Literaturrecherche richtet sich nach den Empfehlungen gemäß dem PRISMA-Statement, das für das Erstellen von systematischen Literaturrecherchen und Meta-Analysen einen strukturierten Leitfaden mitsamt Kommentaren erstellt hat (Liberati et al. 2009; Moher et al. 2009) und wurde modifiziert.

Sie wurde in den elektronischen Literaturdatenbanken MEDLINE (PubMed) und EMBASE (DIMDI) gleichermaßen durchgeführt bis Februar 2014.

Die Wahl fiel aus zwei Gründen auf diese beiden elektronischen Datenbanken: In ihnen wurden zahlreiche pharmakokinetische Daten veröffentlicht und das „Cochrane Handbook for Systematic Reviews“ (Higgins 2010) empfiehlt systematische Literaturrecherchen in mindestens diesen beiden Datenbanken.

Der letzte Suchvorgang wurde am 10. Februar 2014 vorgenommen. Es wurden die in Tabelle 1 und Tabelle 2 aufgeführten Suchbegriffe für die Literatursuche verwendet.

Keine weiteren Suchbegriffe wurden definiert, um die Anzahl der Treffer nicht weiter einzuschränken. Für die Literatursuche wurden keine Limitationen bezüglich der Sprache, des Publikationsstatus oder der Studienpopulation definiert.

Tabelle 1 Suchstrategie in MEDLINE (PubMed)

Medical Subject Headings und Suchbegriffe im Titel/Abstract	
#1	""tacrolimus""[MeSH Terms]) OR tacrolimus[Title/Abstract]) OR fk506[Title/Abstract]) OR fk-506[Title/Abstract]) OR fk 506[Title/Abstract]"
#2	""tacrolimus/pharmacokinetics""[MeSH Terms]) OR Drug Kinetics[Title/Abstract]) OR Kinetics,Drugs[Title/Abstract]) OR Toxikinetiks[Title/Abstract]) OR pharmacokinetics[MeSH Terms]) OR pharmacokinetic*[Title/Abstract]"
#3	""pharmacogenetics""[MeSH Terms]) OR pharmacogenetics[Title/Abstract]) OR pharmacogenomics[Title/Abstract]) OR ""cytochrome p 450 cyp3a""[MeSH Terms]) OR cytochrome p 450 cyp3a[Title/Abstract]) OR ""p glycoprotein""[MeSH Terms]) OR p glycoprotein[Title/Abstract]"
#4	""adult""[MeSH Terms]) OR adult*[MeSH Terms]) OR ""pediatrics""[MeSH Terms]) OR paediatric*[Title/Abstract]) OR pediatric*[Title/Abstract]) OR ""infant""[MeSH Terms]) OR infant*[Title/Abstract]) OR newborn*[Title/Abstract]) OR toddler*[Title/Abstract]) OR preschool child*[Title/Abstract]) OR school child*[Title/Abstract]) OR ""adolescent""[MeSH Terms]) OR adolescent*[Title/Abstract]"
#5	#1 und #2 und #3 und #4
#6	#5

Tabelle 2 Suchstrategie in EMBASE (DIMDI)

Medical Subject Headings und Suchbegriffe im Titel/Abstract	
#1	""tacrolimus""[MeSH Terms]) OR tacrolimus[Title/Abstract]) OR fk506[Title/Abstract]) OR fk-506[Title/Abstract]) OR fk 506[Title/Abstract]"
#2	""tacrolimus/pharmacokinetics""[MeSH Terms]) OR Drug Kinetics[Title/Abstract]) OR Kinetics,Drugs[Title/Abstract]) OR Toxikinetiks[Title/Abstract]) OR pharmacokinetics[MeSH Terms]) OR pharmacokinetic*[Title/Abstract]"
#3	""pharmacogenetics""[MeSH Terms]) OR pharmacogenetics[Title/Abstract]) OR pharmacogenomics[Title/Abstract]) OR ""cytochrome p 450 cyp3a""[MeSH Terms]) OR cytochrome p 450 cyp3a[Title/Abstract]) OR ""p glycoprotein""[MeSH Terms]) OR p glycoprotein[Title/Abstract]"
#4	""adult""[MeSH Terms]) OR adult*[MeSH Terms]) OR ""pediatrics""[MeSH Terms]) OR paediatric*[Title/Abstract]) OR pediatric*[Title/Abstract]) OR ""infant""[MeSH Terms]) OR infant*[Title/Abstract]) OR newborn*[Title/Abstract]) OR toddler*[Title/Abstract]) OR pre school child*[Title/Abstract]) OR school child*[Title/Abstract]) OR ""adolescent""[MeSH Terms]) OR adolescent*[Title/Abstract]"
#5	#1 und #2 und #3 und #4
#6	#5
#7	NOT SU = MEDLINE

2.3.1.2 Ein- und Ausschlusskriterien

Die pharmakokinetischen Studien wurden in die Auswertung eingeschlossen, wenn sie die folgenden Einschlusskriterien erfüllten:

- Pharmakokinetische Studien, die Daten über die AUC im Steady-State (AUC_{ss}) in Form von berechneten Werten bzw. Vollblutkonzentrations-Zeit-Profilen enthielten, die eine Berechnung mittels der linearen Trapezregel ermöglichten. Die AUC_{ss} innerhalb eines Zeitintervalls τ nach einer Mehrfachdosierung bzw. die unendliche $AUC_{0-\infty}$ nach einer Einzeldosierung (s. Kapitel 2.1.1) waren für die weitere Auswertung geeignet. Das Fließgleichgewicht (Steady-State) von Tacrolimus wird nach etwa 7 Tagen erreicht, weil die Eliminationshalbwertszeit von Tacrolimus bei 35 h liegt und man *per definitionem* annimmt, dass 5 Halbwertszeiten zum Erreichen des Steady-State-Zustands von Arzneimitteln in Menschen benötigt werden. Die Mindestdauer der Applikation von Tacrolimus in den Studien musste 7 Tagen entsprechen.
- Tacrolimus sollte auf peroralem Wege appliziert worden sein. Dies liegt daran, dass die meisten Daten über diesen Applikationsweg bestehen und eine Vergleichbarkeit der AUC_{ss} -Werte im Vordergrund steht. Zudem handelt es sich bei der peroralen Anwendung um die in der Praxis häufiger verwendete Administration.
- Die Messung der pharmakokinetischen Kenngröße in den Studien sollte nach mindestens einem Monat oder nach längerer Zeit nach der Organtransplantation erfolgen, damit die Funktionalität des Organs nach Transplantation voll ausgeprägt war und die Variabilität der Werte geringer ausfiel.
- Es wurden nur pharmakokinetische Studien eingeschlossen, die auf einem primär auf Tacrolimus basierenden Immunregime bestanden, um eine Vergleichbarkeit der Einflüsse der Komedikation zu erhalten.

- Pharmakokinetische Studien, die für die genetischen Subgruppen der Expresser- und Nicht-Expresser-Gruppe einzelne Gesamtexpositionen berechnet bzw. gemessen hatten, wurden mit berücksichtigt.
- Tacrolimus wurde nach einer einzelnen Organtransplantation als Immunsuppressivum verwendet.

Studien, auf die folgende Kriterien zutrafen, wurden von einer weiteren Analyse ausgeschlossen:

- Fallberichte und Fallserien, in denen keine genauen Angaben über die Gesamtexposition von Tacrolimus enthalten waren
- Arzneimittelinteraktionsstudien zwischen Tacrolimus und einem anderen Wirkstoff
- Untersuchungen an gesunden Freiwilligen (Healthy Volunteers)
- Tacrolimus wurde für andere Erkrankungen (z.B. Psoriasis, Morbus Crohn) verwendet als zu einer Organtransplantation.
- Studien über multiple Transplantationen mehrerer Organe.
- Abstracts pharmakokinetischer Studien, die keine ausreichenden Informationen über die AUC_{ss} enthielten
- Literaturquellen, die unvollständige Daten für die Berechnung einer AUC_{ss} bereit stellten und bei denen eine Extrapolation der AUC nicht möglich war.
- Pharmakokinetische Literatur auf der Basis von Talspiegel-Messungen

Die Auswahl der einzuschließenden pharmakokinetischen Studien wurde unabhängig voneinander von zwei Wissenschaftlern getroffen und Unstimmigkeiten wurden dann durch Konsensus ausgeräumt.

Es wurde Citavi® Version 4 benutzt, um die meisten Duplikate der beiden Literaturdatenbanken zu löschen. Übrig gebliebene Duplikate wurden unter Betrachtung der Abstracts herausgefiltert. Die Volltextartikel wurden gelesen, um geeignete pharmakokinetische Studien zu identifizieren.

Die Übersicht der Literaturrecherche wurde im Flussdiagramm des PRISMA-Statements festgehalten (Liberati et al. 2009; Moher et al. 2009)

2.3.1.3 Datenextraktion

Die pharmakokinetischen Studien, die den Einschlusskriterien aus 2.3.1.2 entsprachen, wurden überprüft. Die Arzneimittelexposition von Tacrolimus im Steady-State war die primäre Größe, die zur Berechnung der dosisnormierten AUC notwendig war (den Buijsch, Robert AM Op et al. 2007). Die in den pharmakokinetischen Studien enthaltenen Daten entsprachen nicht den Einzelprofilen bzw. Originaldaten jedes einzelnen Patienten, sondern einem Mittelwert der Studienpopulation. Nach der Reihenfolge der Punkte wurden folgende Daten aus den eingeschlossenen Studien extrahiert und deskriptiv analysiert:

1. Es wurde die Ethnizität der Studienpopulation ermittelt (Asiaten oder Kaukasier), weil die genetische Prädisposition des Einzelnukleotid-Polymorphismus in unterschiedlichen Populationen eine andere Verteilung zeigt (CYP3A5*3/*3 bei Kaukasiern zu 80 % gegenüber anderen Asiaten mit 45 %) (Roy et al. 2005).
2. Der Transplantationstyp wurde in die drei Haupttransplantationsorgane Niere, Leber und Herz eingeteilt, für die die Hauptzahl der pharmakokinetischen Studien publiziert war.
3. Die Altersklasse der Studienpopulation wurde nach Erwachsenen und Kindern aufgeteilt, weil eine weitere Aufteilung der Kinder – wie sie nach der ICH-Klassifikation erfolgt (ICH 2000) – aufgrund der kleinen Anzahl der Kinder in den einzelnen Altersgruppen nicht näher erfolgen konnte.
4. Das mittlere Alter der Studienpopulation in Jahren gab Auskunft über die Vergleichbarkeit der Studienpopulationen untereinander in Abhängigkeit von der physiologischen anatomischen Entwicklung.
5. Die immunsuppressive Begleitmedikation war für die Bewertung der Therapieregime auf den klinischen Stationen notwendig, weil sie je nach Klinik variieren kann, aber Einfluss auf die Gesamtexposition von Tacrolimus nehmen kann; Glukokortikoide sind CYP3A4-Induktoren und bewirken einen schnelleren Abbau von Tacrolimus (Anglicheau et al. 2003) .

2.3.2 Dosisnormierte Gesamtexposition

Die eingeschlossenen pharmakokinetischen Studien enthielten Mittelwertdaten und Standardabweichungen der Arzneimittelexposition im Steady-State von Tacrolimus in transplantierten Patienten.

Um eine Vergleichbarkeit der Werte zu erreichen, wurden die Mittelwerts- und Standardabweichungsdaten gegen die Morgendosierung von Tacrolimus normiert.

Die Dosisnormierung wurde wie folgt berechnet:

$$\text{Dosisnormierte } AUC_{0-t} = \frac{AUC_{0-t}}{\text{dose}} \quad \text{Formel 3}$$

AUC_{0-t} = Fläche unter der Kurve vom Zeitraum 0 bis zum Zeitpunkt t [ng·h/mL]; dose = morgendliche Gabe von Tacrolimus [µg/kg] (den Buisch, Robert AM Op et al. 2007)

$$\text{Dosisnormierte } SD = \frac{SD}{\text{dose}} \quad \text{Formel 4}$$

SD = Standardabweichung des Mittelwerts aus Formel 2 [ng·h/mL]; dose = morgendliche perorale Gabe von Tacrolimus [µg/kg] (den Buijsch, Robert AM Op et al. 2007)

2.3.3 Dokumentation und Darstellung der dosisnormierten AUC

Die mit Hilfe der Formeln 3 und 4 berechneten dosisnormierten AUC_{ss} wurden anhand der unterschiedlichen Studienpopulationen in acht Gruppen eingeteilt (s. Abbildung 4):

- Nierentransplantierte asiatische Erwachsene
- Nierentransplantierte asiatische Kinder
- Nierentransplantierte kaukasische Erwachsene
- Nierentransplantierte kaukasische Kinder
- Lebertransplantierte kaukasische Erwachsene
- Lebertransplantierte kaukasische Kinder
- Herztransplantierte kaukasische Erwachsene
- Herztransplantierte kaukasische Kinder

Die Literaturdaten bestanden aus Mittelwerten und Standardabweichungen für die jeweilige Studienpopulation. Patientenindividuelle Rohdaten fehlten und waren nicht zugänglich; eine Berechnung der Standardabweichung war für den Gesamtmittelwert nicht möglich. Bei den pädiatrischen Studien lagen patientenindividuelle Einzeldaten vor. Hier sind die Standardabweichungen berechnet worden.

Die Daten der pharmakokinetischen Kenngröße AUC_{ss} werden besser durch eine logarithmische Normalverteilung beschrieben als durch eine Standardnormalverteilung (Cawello 1998).

Infolge der mangelnden Einzeldaten konnten die Daten nicht logarithmisch transformiert werden und es wurde eine Normalverteilung angenommen, um mit dem Random-Effects-Modell die Daten auswerten zu können.

2.3.4 Meta-Analyse der genetischen Subgruppen

In der Arzneimittelforschung und der Arzneimitteltherapie bildet die Meta-Analyse einen wichtigen Eckpfeiler und kann die bestmögliche Behandlungsstrategie basierend auf den besten empirischen Daten herausfinden (Moher et al. 2009; Borenstein et al. 2011).

Pharmazeutische Firmen machen sich dieses Werkzeug beim Nachweis der Wirksamkeit eines neuen Arzneimittels zunutze, indem sie zahlreiche Studien zur Wirksamkeit durchführen und mit Hilfe einer Meta-Analyse die Wirksamkeit als einen Effekt betrachten und damit eine größere Präzision bei der Ermittlung des wahren Effekts erzielen (Borenstein et al. 2011).

Arzneimittelbehörden empfehlen für das Entwickeln eines pharmakogenomischen Studiendesigns *in silico* Methoden, um Einzelnukleotid-Polymorphismen und andere Besonderheiten bei der Auswahl des Designs adäquat zu berücksichtigen. Die Informationsgrundlage für die Einarbeitung der Polymorphismen bilden Meta-Analysen (European Medicines Agency, CHMP 2014). Durch Meta-Analysen wird ein Rahmen geschaffen, in dem die eingeschlossenen pharmakokinetischen Studien als Ganzes und nicht einzeln isoliert betrachtet werden.

In dieser Arbeit wurden die AUC_{ss} der genetischen Subgruppen extrahiert und mittels der Meta-Analyse einem Vergleich beider Gruppen mit größerer Präzision zugänglich gemacht.

2.3.4.1 Random-Effects-Modell vs. Fixed-Effects-Modell

Meta-Analysen werden entweder über das Fixed-Effects-Modell oder das Random-Effects-Modell bzw. einer Mischung aus beiden berechnet.

Beim Fixed-Effects-Modell (Borenstein et al. 2011; Alles et al. 2009) geht man von einer wahren Effektgröße für die eingeschlossenen Studien aus. Der aus den einzelnen Studien berechnete Gesamtmittelwert dient der Abschätzung der wahren Effektgröße. Unstimmigkeiten in den Beobachtungen der Daten erklärt man durch Probenfehler. Für die Auswertung bedeutet es, dass kleine Studien im Gegensatz zu größeren Studien mit dem gleichen Effekt ignoriert werden können (Borenstein et al. 2011).

Das Random-Effects-Modell (Borenstein et al. 2011; Alles et al. 2009) erlaubt eine Beurteilung der wahren Effektgröße von Studie zu Studie, indem es nicht einen wahren Effekt für alle Studien annimmt, sondern für jede Studie einen Effekt, der höher oder niedriger als der der anderen Studien sein kann. Es betrachtet den Mittelwert der Verteilung der jeweiligen Effektgrößen. In diesem Fall darf der Effekt von kleinen Studien nicht außer Acht gelassen werden, auch wenn er nicht präzise ist. Andererseits darf der Effekt von größeren Studien auch nicht überbewertet werden.

Die in dieser Meta-Analyse eingeschlossenen Studien haben sich in den demographischen Charakteristika der Studienteilnehmer und anderen mit der Studienpopulation oder dem durchführenden Personal zusammenhängenden Faktoren unterschieden. Die daraus berechnete Effektgröße konnte sich dadurch von den tatsächlich vorliegenden Effektgrößen differenzieren. Hierfür war die Anwendung eines Random-Effects-Modells besser geeignet.

Finden die klinischen Studien hingegen an ein und demselben Ort mit der gleichen Population und durch dieselben Wissenschaftler statt, ist ein Fixed-Effects-Modell für die Auswertung einer Meta-Analyse das Modell der Wahl, weil man annehmen kann, dass die Studien in gleicher Art und Weise durchgeführt werden. Fehler im Verlaufe der Studie sind dann eher vergleichbar als wenn unterschiedliche Personen mit anderen Methoden Daten erheben.

Jeweils drei der in dieser Arbeit extrahierten pharmakokinetischen eingeschlossenen Studien wurden in der asiatischen bzw. kaukasischen Bevölkerung durchgeführt. Die Untersuchung von Gijsen et al. (2011) enthielt pädiatrische pharmakokinetische Daten. Deshalb war das Kollektiv der eingeschlossenen Studien für die Meta-Analyse heterogen.

In der vorliegenden Meta-Analyse wurde das Random-Effects-Modell für die Berechnung der Meta-Analyse verwendet. Eine wichtige Voraussetzung für die Anwendung des Random-Effects-Modells ist, dass die pharmakokinetischen Daten einer Normalverteilung folgen (Borenstein et al. 2011).

Der pharmakokinetische Parameter der Gesamtexposition (AUC) wird durch Konzentrations-Zeit-Kurven beschrieben. Der Verlauf wird besser durch eine Logarithmische-Normalverteilung als durch eine Standardnormalverteilung repräsentiert (s. Abschnitt 2.1.4) (Cawello 1998).

Limitierend bei der Extraktion der pharmakokinetischen Daten war der Fakt, dass die pharmakokinetischen Studien keine Rohdaten der Patienten enthielten. Es konnte somit nur auf Mittelwertsdaten und Standardabweichungen der gemessenen Gesamtexpositionen von Tacrolimus zurückgegriffen werden, die nicht log-transformiert worden sind.

2.3.4.2 Effektgröße der Meta-Analyse

Die Effektgröße der Meta-Analyse gibt die Größenordnung an, inwieweit sich die Expresser-AUC_{ss} von denen der Nicht-Expresser in nierentransplantierten Patienten unterscheiden. Dabei wurde ermittelt, ob die dosisnormierten Arzneimittel Expositionen in den genetischen Subgruppen unterschiedlich hoch ausfallen. Es wurde überprüft, ob die Effektgrößen konsistent für die einzelnen Studien sind, und es wurde ein Gesamteffekt aus allen Effektgrößen berechnet (Borenstein et al. 2011).

In der vorliegenden Arbeit wurde als Effektgröße eine standardisierte Mittelwertsdifferenz genommen, die den Unterschied der AUC_{ss} in den Subgruppen aufzeigt. Falls die Standardisierte Mittelwertsdifferenz den Wert „Null“ angenommen hat, war kein Unterschied zwischen der Expresser- und der Nicht-Expresser-Gesamtexposition ableitbar. Sollte der Wert negativ sein, war die AUC in

Expressern niedriger als bei Nicht-Expressern. Umgekehrt zeigten positive Werte eine höhere AUC in Expressern im Vergleich zu Nicht-Expressern.

Die Präzision der Effektgröße wird in der Meta-Analyse durch die Konfidenzintervalle aufgezeigt, die um die Effektgröße eingebunden sind. Je enger ein Konfidenzintervall ist, desto größer ist die Präzision.

Die in der Literatur berichteten Daten waren Mittelwertsdaten der totalen Gesamtexposition vom Zeitraum 0 bis 12 Stunden und Standardabweichungen, die jeweils für CYP3A5-Expressionstypen und jeweils für Nicht-Expressionstypen angegeben wurden. Die Standardisierte Mittelwertsdifferenz ergab sich aus dem Quotient der Differenz der Mittelwerte der Expresser- und Nicht-Expresser-AUC_{ss} einer pharmakokinetischen Studie und der inneren Standardabweichung s_{within} .

$$d = \frac{\bar{x}_1 - \bar{x}_2}{s_{within}} \quad \text{Formel 5}$$

\bar{x}_1 und \bar{x}_2 waren die Mittelwerte der Gesamtexposition in Expressern und Nicht-Expressern und s_{within} stellte die gepoolte innere Standardabweichung dar, die man aus Formel 6 berechnet.

$$s_{within} = \sqrt{\frac{(n_1 - 1)s_1^2 + (n_2 - 1)s_2^2}{n_1 + n_2 - 2}} \quad \text{Formel 6}$$

Die Symbole n_1 und n_2 waren die absoluten Anzahlen der jeweiligen Expresser und Nicht-Expresser der jeweiligen Studie und s_1 und s_2 die Standardabweichungen der Gesamtexpositionen der jeweiligen genetischen Subgruppe einer Studie. Die Standardabweichungen der beiden genetischen Subgruppen waren nicht gleich. Dies wurde von der gepoolten inneren Standardabweichung (siehe Formel 6) berücksichtigt; die somit für die Anwendung geeigneter war.

2.3.4.3 Korrektur der Effektgröße d und Berechnung der wahren Effektgröße g

Kleine Stichprobengrößen führen bei der Berechnung der Effektgröße d zu einer Überschätzung der Werte, daher empfiehlt es sich hier, einen Korrekturfaktor zu bestimmen, der den Wert der Effektgröße d korrigiert.

Die erhaltene wahre Effektgröße g wurde aus dem Produkt der Standardisierten Mittelwertsdifferenz d und des Korrekturfaktors J (Hedge-Faktor) kalkuliert (Hedges 2009). Die Korrektur der Effektgröße d wird in Formel 8 beschrieben.

$$g = d \cdot J \quad \text{Formel 7}$$

Der Hedge-Korrekturfaktor wurde mittels der Formel 8 berechnet, in der df für die Freiheitsgrade (degree of freedom) der Stichprobe steht. Weil es sich um zwei unabhängige Stichproben handelte, ergab sich die Anzahl der Freiheitsgrade durch: $n_1 + n_2 - 2$.

$$J = 1 - \frac{3}{4 \cdot df - 1} = 1 - \frac{3}{4 \cdot (n_1 + n_2) - 1} \quad \text{Formel 8}$$

Je höher die Anzahl der Personen sind, desto größer wird der Korrekturfaktor J .

2.3.4.4 Wichtung der Mittelwerte

Das primäre Ziel der Meta-Analyse war es, den Einfluss des Genotyps des CYP3A5 auf die totale Arzneimittelexposition in Form der AUC_{ss} von Tacrolimus aufzuzeigen. Für eine präzise Abschätzung des Populationseffekts bietet sich die Berechnung eines gewichteten Mittelwerts an.

Die Wichtung W_i^{*3} wurde über die Berechnung des Kehrwerts der Varianz W^* vorgenommen, so dass Studien mit einer höheren Varianz ein geringeres Gewicht bekommen.

Beim Random-Effects-Modell wurde die Varianz über die Summe zweier einzelner Varianzen, der innerhalb einer Studie V_d und der Varianz zwischen den Studien τ^2 ,

³ „*“ markiert, dass die Parameter für die Berechnung des Random-Effects-Modell sind.

berechnet.

$$W_i^* = \frac{1}{V_{Yi}^*} = \frac{1}{V_d + \tau^2} \quad \text{Formel 9}$$

$$V_{Yi}^* = V_d + \tau^2 \quad \text{Formel 10}$$

W_{Yi}^* beschreibt die Wichtung, die durch den Kehrwert der Summe der Varianzen V_d und τ^2 ermittelt werden und V_{Yi}^* die zu berechnende Varianz. Die Berechnung ist in den folgenden Abschnitten ausführlich beschrieben.

2.3.4.5 Berechnung der inneren Varianz V_d

Die innere Varianz V_d einer Studie berechnete sich aus der Summe zweier Terme, die zum einen die Effektgröße und zum anderen die innere Standardabweichung berücksichtigen.

$$V_d = \frac{(n_1 + n_2)}{(n_1 \cdot n_2)} + \frac{d^2}{2 \cdot (n_1 + n_2)} \quad \text{Formel 11}$$

n_1 und n_2 sind die Anzahl der Expresser und Nicht-Expresser der Studien und d ist die in Formel 4 berechnete Effektgröße, die Standardisierte Mittelwertsdifferenz. Der erste Term auf der rechten Seite der Gleichung berücksichtigt die Unsicherheit in der Effektgröße und der zweite die Unsicherheit in der inneren gepoolten Standardabweichung (Borenstein et al. 2011).

2.3.4.6 Korrektur der inneren Varianz V_d

In Anlehnung an die Korrektur der Effektgröße d wird zur Korrektur die Varianz V_d mit dem quadrierten Hedge-Faktor J multipliziert (s. Formel 12).

$$V_g = J^2 \cdot V_d \quad \text{Formel 12}$$

2.3.4.7 Berechnung der Varianz τ^2 zwischen den Studien

Die tatsächlich abgeschätzte Effektgröße g wurde in Formel 7 berechnet. Wenn diese Effektgrößen g für die einzelnen Studien bekannt sind und dafür die Varianz zwischen den Studien ermittelt wird (über eine gegen unendlich gehende Anzahl von Studien) liegt die Varianz τ^2 vor. Sie beschreibt die Varianz zwischen den Studien; die Varianz der Effektgröße zwischen der Studienpopulation.

Die Berechnung dieser Varianz kann mittels der Methode nach DerSimonian und Laird erfolgen. Im Folgenden wird diese Methode ausführlich erklärt. Die Varianz τ^2 lässt sich durch Formel 13 ermitteln.

$$\tau^2 = \frac{(Q-df)}{c} \quad \text{Formel 13}$$

$Q-df$ beschreibt die Streuung des wahren Effekts. Sie berechnet sich aus der Differenz der Summe der Produkte aus Wichtung und quadrierter Effektgröße jeder Studie und dem Bruch aus der quadrierten Summe der Produkte aus Wichtungen und Effektgröße der einzelnen Studien dividiert durch die Summe der Wichtungen jeder einzelnen Studie.

$$Q = \sum_{i=1}^k W_i^* g_i^2 - \frac{(\sum_{i=1}^k W_i^* g_i)^2}{\sum_{i=1}^k W_i^*} \quad \text{Formel 14}$$

Die Freiheitsgrade df ergibt sich aus Anzahl k der Studien minus 1.

$$df = k - 1 \quad \text{Formel 15}$$

Der Divisor C aus der Formel 13 führt die Werte in die originale Metrik zurück und macht aus dem Term einen Mittelwert der quadrierten Abweichungen. Er berechnet sich aus einer Differenz der Summe der Wichtungen W und dem Quotienten aus der Summe der quadrierten Wichtungen und der Summe der Wichtungen.

$$C = \sum_{i=1}^k W_i^* - \frac{\sum_{i=1}^k W_i^{*2}}{\sum_{i=1}^k W_i^*}$$

Formel 16

2.3.4.8 Berechnung des gewichteten Mittelwerts

Das gewichtete Mittel der korrigierten Effektgröße ergab sich, indem man die Summe aus dem Produkt der Wichtungen und den tatsächlichen Effektgrößen $W_i^*g_i$ durch die Summe der Wichtungen W_i^* dividiert.

$$M^* = \frac{\sum_{i=1}^k W_i^* g_i}{\sum_{i=1}^k W_i^*}$$

Formel 17

2.3.4.9 Varianz von gewichtetem Gesamtmittelwert und Standardfehler

Der Gesamtmittelwert wird wie bei der Wichtung der einzelnen Studien über die Varianz gewichtet. Diese berechnet sich aus dem Kehrwert der Summe der einzelnen Wichtungen der eingeschlossenen Studien (s. Formel 18).

$$V_{M^*} = \frac{1}{\sum_{i=1}^k W_i^*}$$

Formel 18

Der abgeschätzte Standardfehler des Gesamteffekts ist die Wurzel aus der Varianz. Er wurde im Folgenden für die Berechnung von Konfidenzintervallen benutzt.

$$SE_{M^*} = \sqrt{V_{M^*}}$$

Formel 19

2.3.4.10 Berechnung von Konfidenzintervallen für den gewichteten Mittelwert

Die Konfidenzintervalle des Gesamtmittelwerts M^* beschreiben die Präzision der Abschätzung des Gesamteffekts.

Die Berechnung der unteren bzw. oberen Grenze des 95%-Konfidenzintervalls (confidence interval, CI) ergab sich aus der Differenz bzw. Summe des Gesamtmittelwerts mit dem Produkt aus 1,96 und dem Standardfehler des Gesamtmittelwerts. Der Faktor 1,96 ist das 97,5%-Quantil der Standardnormalverteilung.

$$LL_{M^*} = M^* - 1,96 \cdot SE_{M^*} \quad \text{Formel 20}$$

$$UL_{M^*} = M^* + 1,96 \cdot SE_{M^*} \quad \text{Formel 21}$$

2.3.4.11 Statistische Auswertung der gewichteten Mittelwerte

In dieser Meta-Analyse gibt es zwei Gruppen, die der Expresser- und der Nicht-Expresser-Gruppe. Um statistisch zu testen, ob es in der Meta-Analyse einen Unterschied in der AUC_{ss} zwischen den beiden Gruppen gibt, wurde ein Gauß-Test verwendet. Er gehört zu den Hypothesentest mit standardnormalverteilter Testprüfgröße unter der Nullhypothese.

In einer einzelnen Studie wird der Mittelwert zweier Gruppen durch einen t-Test statistisch beurteilt.

Der Unterschied zum t-Test ist, dass die Varianzen und damit die Standardabweichungen der Grundgesamtheit bekannt sein müssen.

Durchführung des Gauß-Tests:

- **Schritt 1 : Generierung der Nullhypothese:**

Der Gesamteffekt M^* ist null. Das bedeutet in Bezug auf die genetischen Subgruppen, dass die AUC_{ss} der Expresser und Nicht-Expresser sich nicht unterscheiden.

- **Schritt 2: Berechnung der Testprüfgröße:**

Für eine Beurteilung der Signifikanz wird dann der Z-Wert ermittelt, indem man den Gesamteffekt M^* durch den Standardfehler SE_{M^*} dividiert.

$$Z^* = \frac{M^*}{SE_{M^*}} \quad \text{Formel 22}$$

$$p^* = 2[1 - (\phi(|Z^*|))] \quad \text{Formel 23}$$

Der p-Wert des zweiseitigen Tests wird durch p^* repräsentiert und $\phi(Z^*)$ die Funktion der Standardnormalverteilung. Diese war in MS Excel® unter der Formel =STANDNORMVERT(Z^*) hinterlegt.

Es hat sich hier in diesem Fall angeboten, einen zweiseitigen Gauß-Test durchzuführen, weil die Gesamtexposition von Tacrolimus in den genetischen Subgruppen sowohl zum Niedrigen (links verschoben) als auch nach höher hin (rechts verschoben) sein kann.

2.3.4.12 Dokumentation und Darstellung der Meta-Analyse

Abbildung 6 illustriert die Ergebnisse der Meta-Analyse, in der die AUC_{SS} von Expressern und Nicht-Expressern gegenüber gestellt wird. Die Effektgröße für jede einzelne Studie ist die standardisierte Mittelwertsdifferenz und wird durch die Kreise, Dreiecke bzw. Quadrate dargestellt. Die Präzision wird über die 95% Konfidenzintervalle beschrieben. Die große Raute stellt den Gesamteffekt der Meta-Analyse dar mit den zugehörigen Konfidenzintervallen, die die Variation des gewichteten Mittels näher beschreiben.

2.3.4.13 Fehlerbetrachtung der Meta-Analyse

Der Publikationsbias ist die verzerrte Darstellung der wissenschaftlichen Literatur über ein Thema; durch beispielsweise die Veröffentlichung nur positiver und signifikanter Ergebnisse zu einem Thema kann die tatsächliche Situation verzerrt präsentiert werden. Bei der Literaturrecherche in den Datenbanken nach Gesamtexpositionen in den genetischen Subgruppen konnte es aus folgenden Gründen zu einem Publikationsbias kommen:

- Die Literaturrecherche fand in den zwei größten und für die Pharmakokinetik bedeutsamen Literaturdatenbanken statt; möglicherweise hat man durch diese Auswahl wichtige Literatur anderer Datenquellen vergessen.
- Nicht publizierte Literatur, die wichtige Informationen enthalten kann, wie z.B. Poster oder Vorträge auf Kongressen, werden durch die systematische Literaturrecherche nicht erfasst.

Eine Methode, das Verhältnis zwischen der Studiengröße und der Effektgröße zu beschreiben, ist das Erstellen von Funnel-Plots. Im Funnel-Plot wird die Effektgröße auf der X-Achse gegen die Stichprobengröße bzw. Varianz auf der Y-Achse aufgetragen (Borenstein et al. 2011). Studien mit einer großen Stichprobengröße befinden sich meist oberhalb in der Darstellung in der Nähe des Gesamteffekts.

Die Verwendung des Standard-Fehlers bzw. des Kehrwerts des Standardfehlers verteilt die kleinen Studien auf der unteren Hälfte besser und eine Beurteilung der Asymmetrie der Studien ist leichter möglich (Borenstein et al. 2011).

Sind die Studien asymmetrisch um die Effektgröße verteilt, kann ein Publikationsbias in der Meta-Analyse vorliegen.

2.4 Ergebnisse

2.4.1 Ergebnisse der systematischen Literaturrecherche

Die Ergebnisse der systematischen Literaturrecherche in den zwei Literaturdatenbanken MEDLINE und EMBASE wurde als Flussdiagramm gemäß dem PRISMA-Statement (Moher et al. 2009) erstellt. Insgesamt ergab sich nach Eingabe aller „MeSH-Terms“ und Suchbegriffe eine Gesamtzahl von 256 publizierten Artikeln nach Entfernung der Duplikate in den beiden Datenbanken.

Davon wurden 204 Artikel ausgeschlossen, weil sie den in 2.4.1.2 definierten Einschlusskriterien nicht entsprochen haben. Hierbei handelte es sich um Fallberichte, Arzneimittelinteraktionsstudien, primär auf Ciclosporin basierenden Therapieregimen, Studien an gesunden Erwachsenen, intravenösen Dosierungsregimen, anderen Erkrankungen als Organtransplantationen, multiplen Organtransplantationen, Einzeldosis-Studien, Talspiegelmessungen bzw. Volltexte, die nicht verfügbar waren.

52 Artikel wurden zur näheren Plausibilitätsprüfung betrachtet. Die Hälfte wurde unter Angabe von Gründen (s. Abbildung 3) ausgeschlossen, davon lagen bei 12 Artikeln keine gemessenen AUC_{ss} -Mittelwertsdaten bzw. Standardabweichungswerte vor bzw. keine auswertbaren Vollblutkonzentrations-Zeit-Profile, aus denen eine Berechnung dieser möglich war. Bei weiteren 14 Studien waren die Daten unzureichend: So war beispielsweise keine Dosierung erwähnt, die für die Dosisnormierung nach 2.4.2 unabdingbar war.

Sechszwanzig pharmakokinetische Studien blieben übrig, von denen 19 Studien AUC_{ss} -Werte bei Nierentransplantationen, vier bei Lebertransplantationen und drei bei Herztransplantationen gemessen hatten. Diese 26 pharmakokinetischen Studien stellten die Datengrundlage für die Dosisnormierung dar, indem aus ihnen dosisnormierte AUC_{ss} -Mittelwerte gemäß der in 2.4.2 beschriebenen Methode berechnet worden sind.

Sechs dieser 26 Studien wurden in die Meta-Analyse eingeschlossen, weil sie aufgeteilt nach den genetischen Subgruppen Expresser und Nicht-Expresser

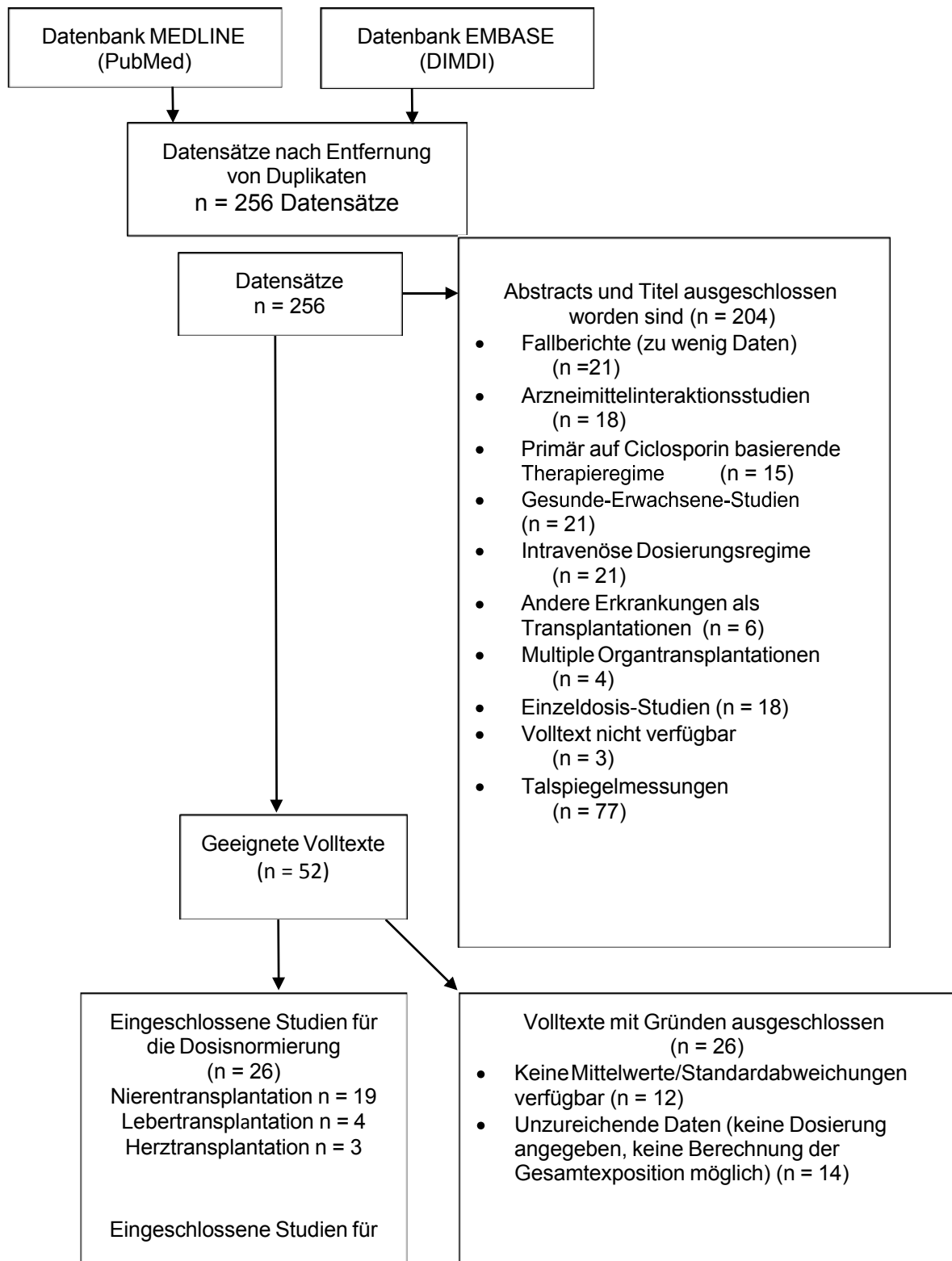


Abbildung 3 Systematische Literaturrecherche gemäß dem PRISMA-Statement

Dargestellt ist das Flussdiagramm der systematischen Literaturanalyse; es sind die eingeschlossenen und ausgeschlossenen pharmakokinetischen Studien zu erkennen unter Angabe der Gründe des Ausschlusses.

gemessene AUC_{ss}-Werte enthielten.

Die extrahierten pharmakokinetischen Datensätze sind in den Tabellen 3 bis 5 aufgelistet.

Neunzehn pharmakokinetische Studien enthielten Daten der AUC_{ss} bei Nierentransplantationen (Tabelle 3). Davon wurden elf in der kaukasischen Bevölkerung erhoben und acht in der asiatischen Population. Unter den elf kaukasischen Studien gab es eine Studie mit Daten über die pädiatrische Bevölkerung. Eine von acht asiatischen Studien berechnete die AUC_{ss} in der pädiatrischen Population. In 13 von 19 Studien wurde als immunsuppressive Begleitmedikation neben der Gabe von Tacrolimus Glukokortikoide und/oder Mycophenolatmofetil appliziert. Die Altersspannweite lag bei der transplantierten erwachsenen Population in den Studien zwischen 32 und 55,6 Jahren, bei den kaukasischen und asiatischen Kindern bei 9,3 bzw. 9,9 Jahren. Sechs von 19 pharmakokinetischen Studien in nierentransplantierten Patienten enthielten stratifizierte AUC_{ss}-Werte für Expresser und Nicht-Expresser und wurden für die Meta-Analyse benutzt.

Es wurden vier pharmakokinetische Studien mit AUC_{ss}-Werten in lebertransplantierten Patienten gefunden (Tabelle 4). Jeweils zwei wurden in der pädiatrischen und der erwachsenen transplantierten Bevölkerung durchgeführt. Die Spannweite der Altersgruppen bei den zwei Erwachsenen-Studien lag bei 52 und 55 Jahren, während die Kinderstudien zwischen 0,3 und 13 Jahren lagen. Die immunsuppressive Begleitmedikation bestand, soweit gelistet, meist aus Glukokortikoiden.

Drei pharmakokinetische Studien mit AUC_{ss}-Werten in herztransplantierten Patienten wurden ermittelt (Tabelle 5). Zwei davon stellten Erwachsenen-Studien, eine eine pädiatrische Studie dar. Die erwachsenen Patienten waren im Schnitt 55,8 und 74 Jahre alt, hingegen lagen die Kinder bei 8,3 Jahren Altersdurchschnitt. Die immunsuppressive Begleitmedikation bestand in einer Antikörpergabe, Mycophenolatmofetil-Applikation bzw. Glukokortikoidegabe.

Tabelle 3 Neunzehn pharmakokinetische Studien in Nierentransplantierten

Studie	n	Alter [Jahre]	Genotyp CYP3A5	Dosisnormierte AUC ₀₋₁₂ [ng·h/mL per µg/kg]	Begleitmedikation
Nierentransplantierte Kaukasier					
(Hardinger et al. 2004)	18	43 (A)	n.a.	1.82 ± 0.36	n.a.
(Haufroid et al. 2006)	19	51.8 (A)	*1/*3 and *1/*1	0.99 ± 0.35	n.a.
			3/*3	1.94 ± 0.85	
(Kuypers, Dirk R. J. et al. 2004)	90	55 ± 11.2 (A)	*1/*3 and *1/*1	1.20 ± 0.40	MMF und/oder Steroide
			*3/*3	1.29 ± 0.38	
(Kuypers et al. 2007)	91	51.4 ± 13.8 (A)	*1/*3 and *1/*1	0.70 ± 0.18	MMF und/oder Steroide
			*3/*3	1.38 ± 0.38	
(Gijssen, Mital et al. 2011)	5	9.9 ± 5.5 (P)	n.a.	0.69	n.a.
(Pirsch et al. 2000)	18	40.5 (A)	n.a.	1.76 ± 0.42	MMF und/oder Steroide
(Renders et al. 2006)	134	55.6 ± 12.4 (A)	*1/*3 and *1/*1	1.59 ± 0.50	MMF und/oder Steroide
			*3/*3	1.27 ± 0.21	
(Velickovic-Radovanovic et al. 2010)	18	40.11 ± 8.7 (A)	n.a.	1.58 ± 0.51	MMF und/oder Steroide und/oder Basiliximab
(Velicković-Radovanović et al. 2011)	10	36.2 ± 9.7 (A)	n.a.	1.16 ± 0.47	MMF und/oder Steroide und/oder Basiliximab
(Velickovic-Radovanovic et al. 2014)	20	38.2 ± 9.7	n.a.	1.32 ± 0.52	MMF und/oder Steroide und/oder Basiliximab
Włodarczyk et al. 2009	59	43.6 (A)	n.a.	0.83 ± 0.32	MMF und/oder Steroide

A = Erwachsene; MMF = Mycophenolatmofetil; n = Studienpopulation; n.a. = nicht angegeben; Alter ist angegeben als Mittelwert und Standardabweichung; P = Kinder; Dosisnormierte AUC₀₋₁₂ = Mittelwerte und Standardabweichungen der Area under the Curve im Zeitintervall 0 bis 12 Stunden

Tabelle 3 Fortsetzung

Studie	n	Alter [Jahre]	Genotyp CYP3A5	Dosisnormierte AUC ₀₋₁₂ [ng·h/mL per µg/kg]	Begleitmedikation
<i>Asiaten</i>					
(Li et al. 2008)	6	37.4 ± 17.3 (A)	n.a.	1.32 ± 0.21	DTZ
(Miura et al. 2008)	95	43.65 (A)	*1/*3 and *1/*1 *3/*3	1.87 ± 0.76 3.11 ± 1.34	MMF und/oder Steroide MMF und/oder Steroide
(Shishido et al. 2001)	22	9.3 ± 3.7 (P)	n.a.	0.35 ± 0.08	Mizolibin und/oder Steroide
(Tada et al. 2005)	39	42.7 ± 11.5 (A)	*1/*3 and *1/*1 *3/*3	0.78 ± 0.19 1.24 ± 0.27	MMF und/oder Steroide
(Tsuchiya et al. 2004)	30	41.1 ± 11.5 (A)	*1/*3 und *1/*1 *3/*3	1.55 ± 0.25 2.53 ± 0.54	MMF und/oder Steroide
(Wong et al. 2000)	18	42.6 (A)	n.a.	1.89 ± 0.39	
(Mathew et al. 2008)	29	32 (A)	n.a.	1.65 ± 0.32	MMF und/oder Steroide
(Mendonza et al. 2007)	9	39 (A)	n.a.	1.27 ± 0.29	n.a.

A = Erwachsene; DTZ = Diltiazem; MMF = Mycophenolatmofetil; n = Studienpopulation; n.a. = nicht angegeben; Alter ist angegeben als Mittelwert und Standardabweichung; P = Kinder; Dosisnormierte AUC₀₋₁₂ = Mittelwerte und Standardabweichungen der Area under the Curve im Zeitintervall 0 bis 12 Stunden

Tabelle 4 Vier pharmakokinetische Studien in Lebertransplantierten

Studie	N	Alter [Jahre]	Genotyp CYP3A5	Dosisnormierte AUC ₀₋₁₂ [ng·h/mL per µg/kg]	Begleitmedikation
Lebertransplantierte					
<i>Kaukasier</i>					
(Fischer et al. 2011)	62	52.4 (A)	n.a.	4.02 ± 2.53	MMF und Steroide
(Gijssen, Mital et al. 2011)	3	11.3 ± 8.9 (P)	n.a.	0.37	n.a.
(Wallemacq et al. 1998)	16	0.7-13 (P)	n.a.	1.66 ± 1.10	n.a.
(Yano et al. 2012)	13	58 ± 6 (A)	n.a.	4.23 ± 1.54	Steroide

A = Erwachsene; MMF = Mycophenolatmofetil; n = Studienpopulation; n.a. = nicht angegeben; Alter ist angegeben als Mittelwert und Standardabweichung; P = Kinder; Dosisnormierte AUC₀₋₁₂ = Mittelwerte und Standardabweichungen der Area under the Curve im Zeitintervall 0 bis 12 Stunden

Tabelle 5 Drei pharmakokinetische Studien in Herztransplantierten

Studie	N	Alter [Jahre]	Genotyp CYP3A5	Dosisnormierte AUC ₀₋₁₂ [ng·h/mL per µg/kg]	Begleitmedikation
Herztransplantierte					
<i>Kaukasier</i>					
(Gijssen, Mital et al. 2011)	3	8.4 ± 7.17	n.a.	0.75	n.a.
(Rubio et al. 2003)	25	55.8	n.a.	2.21 ± 0.75	AZA/MMF/Steroide
				1.32 ± 0.49	
(Undre und Stevenson 2002)	10	74 ± 14	n.a.	2.48 ± 0.92	ATG/OKT3

A = Erwachsene; ATG/OKT3 = Anti-Thymozyten-Globulin/Muromonab-CD3; AZA = Azathioprin; MMF = Mycophenolatmofetil; n = Studienpopulation; n.a. = nicht angegeben; Alter ist angegeben als Mittelwert und Standardabweichung; P = Kinder; Dosisnormierte AUC₀₋₁₂ = Mittelwerte und Standardabweichungen der Area under the Curve im Zeitintervall 0 bis 12 Stunden

2.4.2 Ergebnisse der Dosisnormierung der AUC_{ss} in transplantierten Patienten

Die Abbildung 4 vergleicht die dosisnormierte Tacrolimus-Gesamtexposition in Form von Mittelwerten in unterschiedlichen Transplantationsarten und Altersklassen.

Bei der pädiatrischen Population gab es aufgrund von vorliegenden Einzelprofilen neben den Mittelwerten auch Standardabweichungen, die aus den Einzelprofilen berechnet werden konnten. Die dosisnormierten Mittelwerte der Tacrolimus-Gesamtexposition betragen für die Nieren-, Leber- bzw. Herztransplantation 1,36, 6,49 und 1,90 ng·h/mL per $\mu\text{g}/\text{kg}$ in kaukasischen Erwachsenen. Der Trend der Analyse zeigte, dass die dosisnormierte AUC_{ss} bei Nieren- und Herztransplantationen in der Höhe vergleichbar waren, die AUC_{ss} der Lebertransplantation dagegen war 3,4- bis 4,7-fach höher. Bei der pädiatrischen Population ist dieselbe Tendenz in nieren-, leber- und herztransplantierten Patienten zu sehen mit jeweils 0,69, 1,02 und 0,44 ng·h/mL per $\mu\text{g}/\text{kg}$.

In asiatischen nierentransplantierten Erwachsenen betrug die die AUC_{ss} 1,77 ng·h/mL per $\mu\text{g}/\text{kg}$ und war mit den dosisnormierten Mittelwerten der kaukasischen Bevölkerung (1,36 ng·h/mL per $\mu\text{g}/\text{kg}$) vergleichbar.

Die kaukasischen Erwachsenen hatten im Vergleich zu pädiatrischen Kaukasiern bei Nieren-, Leber und Herztransplantation zwei-, vier- bzw. sechsfach so hohe Gesamtexpositionen an Tacrolimus. In der asiatischen Bevölkerung war die dosisnormierte AUC_{ss} fünffach höher als in der pädiatrischen asiatischen Population.

Diese Ergebnisse veranschaulichen, dass die dosisnormierte Arzneimittelexposition von Tacrolimus in transplantierten Patienten sowohl durch das Alter als auch der Transplantationsart beeinflusst werden.

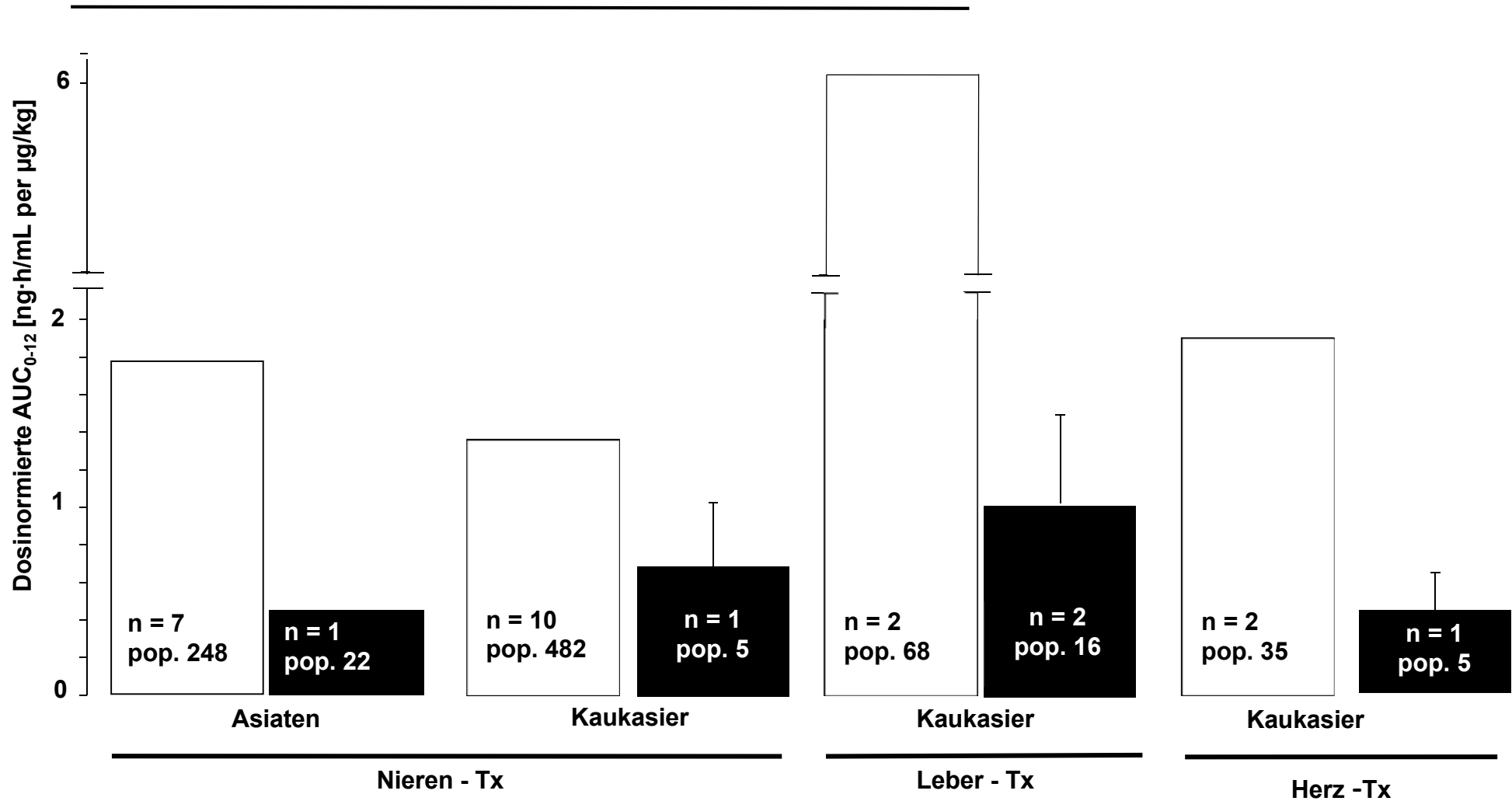


Abbildung 4 Dosisnormierung der Gesamtexposition von Tacrolimus in unterschiedlichen Transplantationen

Dargestellt ist die dosisnormierte Gesamtexposition von Tacrolimus in den unterschiedlichen Ethnizitäten, Transplantationstypen und Altersklassen (weiße Balken = Erwachsenen-Daten und schwarze Balken = Kinder-Daten). AUC_{0-12} = Area under the Curve im Zeitintervall von 0 bis 12 Stunden; n = Anzahl der pharmakokinetischen Studien; pop. = Anzahl der gesamten Studienpopulation einer Gruppe; Tx = Transplantation

2.4.3 Ergebnisse der Meta-Analyse

Der Forest-Plot in Abbildung 5 beschreibt die Ergebnisse der Meta-Analyse. Die Effektgröße ist in dieser Meta-Analyse die Standardisierte Mittelwertsdifferenz der zwei genetischen Subgruppen und ist gegen die jeweilige Studie aufgetragen. Die Raute charakterisiert den Gesamteffekt und die Variation in Form der 95% Konfidenzintervalle, die mittels des Random-Effects-Modells berechnet worden sind und in diesem Fall bei -1,15 (-2,17 – -0,31) liegen. Dies bedeutet, dass die AUC_{ss} der Expresser-Gruppe niedriger sind als die der Nicht-Expresser-Gruppe.

Für die Präzision sind die jeweiligen Konfidenzintervalle der einzelnen Studien berechnet worden (s. Abbildung 6). Für den Fall, dass die 0 von einem Konfidenzintervall eingeschlossen wird, bedeutet es, dass es zwischen der Arzneimittelexposition gemessen als AUC_{ss} zwischen Expressern (CYP3A5*1/*1 bzw. *1/*3) und Nicht-Expressern (CYP3A5*3/*3) keinen Unterschied gibt. Ist der Wert samt Konfidenzintervall nach links von 0 verschoben, sind die Expresser- AUC_{ss} im Verhältnis zu denen der Nicht-Expresser kleiner. Umgekehrt zeigen nach rechts verschobene Werte größere Gesamtexpositionen in Expressern im Vergleich zu Nicht-Expressern an.

Alle sechs eingeschlossenen pharmakokinetischen Studien in nierentransplantierten Erwachsenen zeigen signifikante Effekte. Fünf von sechs Studien zeigen, dass die AUC_{ss} in Expressern niedriger ist als in Nicht-Expressern. Renders et al. (2007) zeigt als einzige Studie den umgekehrten Effekt, dass die AUC_{ss} in Expressern im Vergleich zu Nicht-Expressern höher ausfällt.

Gjisen et al. (2011) enthält pharmakokinetische Daten über transplantierte Kinder. Es konnte aufgrund der geringen Anzahl an pharmakokinetischen Daten ($n=5$) kein signifikantes Ergebnis ermittelt werden. Die Effektgröße von der Studie liegt bei -0,79. Es müssen mehrere Daten über nierentransplantierte Kinder erhoben werden, um eine Beurteilung abgeben zu können. Ein Trend, dass die Expresser AUC_{ss} niedriger ist als die der Nicht-Expresser, ist erkennbar. Ein größeres Patientenkollektiv wird benötigt, um diese Hypothese zu stützen.

Insgesamt wurde eine Anzahl von 126 Expressions-Genotypen gegenüber 287 Nicht-Expressions-Genotypen untersucht.

Die standardisierte Mittelwertsdifferenz der beiden genetischen Gruppen wurde mittels eines Gauß-Test (s. Abschnitt 2.3.4.11) untersucht. Als Nullhypothese wurde kein Unterschied zwischen den beiden Gruppen aufgestellt. Der berechnete p-Wert betrug 0,027 und hat bestätigt, dass Expresser signifikant niedrigere dosisnormierte Gesamtexpositionen von Tacrolimus haben vergleichsweise zu Nicht-Expressern des CYP3A5.

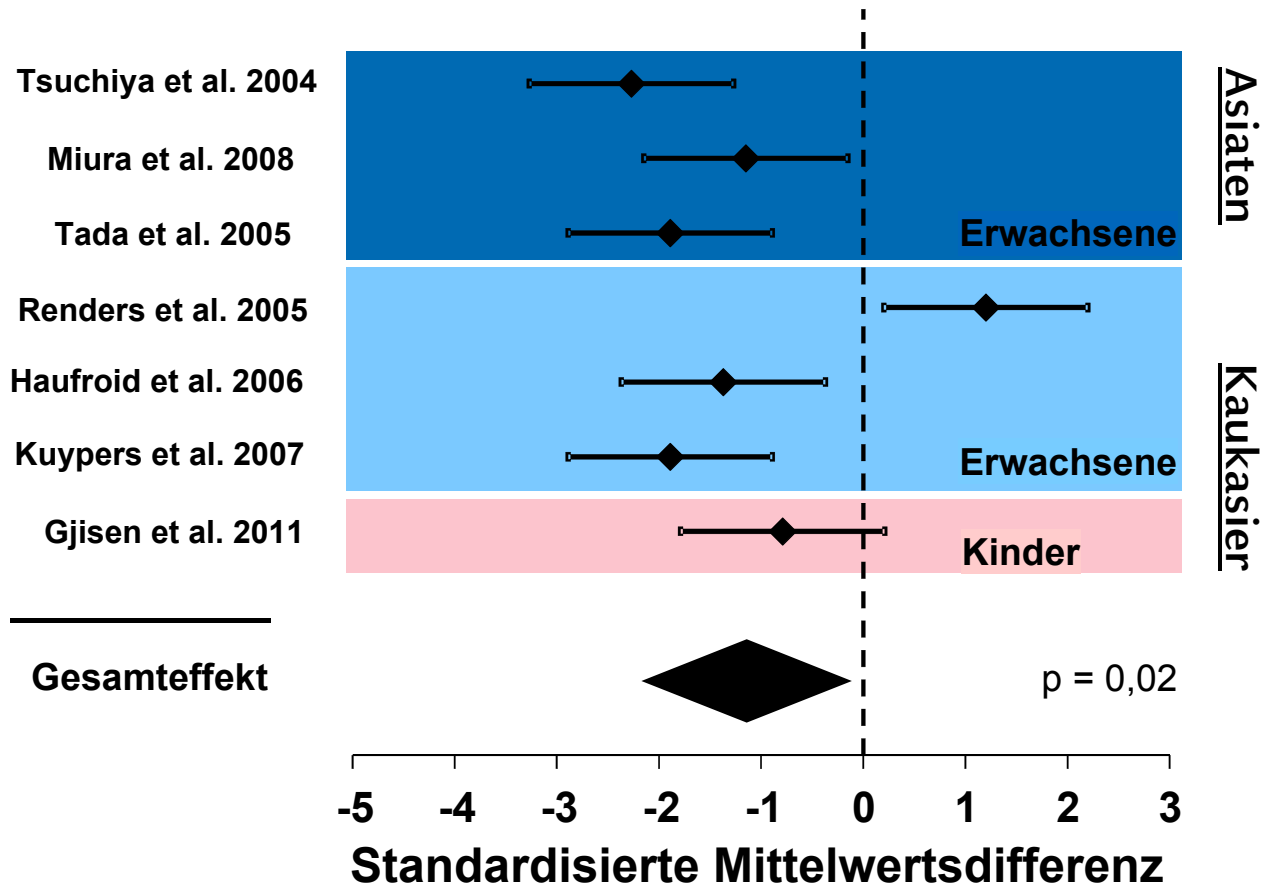


Abbildung 5 Forest-Plot der Meta-Analyse

Dargestellt sind die sieben pharmakokinetischen Studien, von denen sechs Erwachsenen – Studien und eine pädiatrische Daten Gjisen et al 2011 enthält. KI = Konfidenzintervall; Tx = Transplantation

Studie	CYP3A5*1/*1 and *1/*3 (Expresser)			CYP3A5*3/*3 (Nicht-Expresser)			Mittelwertsdifferenz		Jahr
	Mittelw. [ng h/ml per µg/kg]	SD [ng h/ml per µg/kg]	N	Mittelw. [ng h/ml per µg/kg]	SD [ng h/ml per µg/kg]	N	Random, 95%		
Tsuchiya et al.	1.55	0.25	15	2.53	0.54	15	-2.27 [-3.17, -1.36]		2004
Miura et al.	1.87	0.76	50	3.11	1.34	45	-1.15 [-1.58, -0.71]		2008
Tada et al.	0.78	0.19	17	1.24	0.27	22	-1.89 [-2.64, -1.14]		2005
Renders et al.	1.59	0.50	18	1.27	0.21	116	1.20 [0.68, 1.71]		2006
Haufroid et al.	0.99	0.35	9	1.94	0.85	10	-1.37 [-2.33, -0.40]		2006
Kuypers et al.	0.70	0.18	15	1.38	0.38	76	-1.89 [-2.51, -1.28]		2007
Mital et al.	0.46	0.099	2	0.82	0.4	3	-0.79 [-2.18, 0.60]		2011
Total (95%)			126			287	-1.15 [-2.17, -0.31]		

Test auf gesamten Effekt: Z = -2.22 (p = 0.027)
Mittelwerte und SD-Werte sind dosisnormiert; N = Anzahl der Nierentransplantierten;
Random = Random-effects model wurde berechnet

Abbildung 6 Effektgröße und Konfidenzintervalle

Dargestellt sind die Daten, die im Forest-Plot in Abbildung 5 visualisiert sind. KI = Konfidenzintervall, Mittelw. = Mittelwert, N = Anzahl der Studienpopulation, SD = Standardabweichung,

2.4.4 Limitationen und Fehlerbetrachtung der Meta-Analyse

Bei der Literaturrecherche in Literaturdatenbanken gibt es „Graue“ Literatur. Dies sind Literaturdatensätze, die potentiell eingeschlossen werden können, aber noch nicht publiziert wurden, beispielsweise Poster oder Vorträge auf wissenschaftlichen Kongressen.

Dieses Phänomen wird auch als Publikationsbias bezeichnet, weil beim Einschluss von Literatur Publikationen vergessen werden. Um zu überprüfen, ob die Literaturrecherche einem Publikationsbias unterliegt, bietet sich die Erstellung eines Funnel-Plots an.

Hierbei wird der Standardfehler gegen die Effektgröße, hier die standardisierte Mittelwertsdifferenz, aufgetragen. Wenn sich ein asymmetrisches Verteilungsbild der eingeschlossenen Studien ergibt, besteht die Möglichkeit, dass ein Publikationsbias vorliegt. In Abbildung 7 ist für die Meta-Analyse der Funnel-Plot

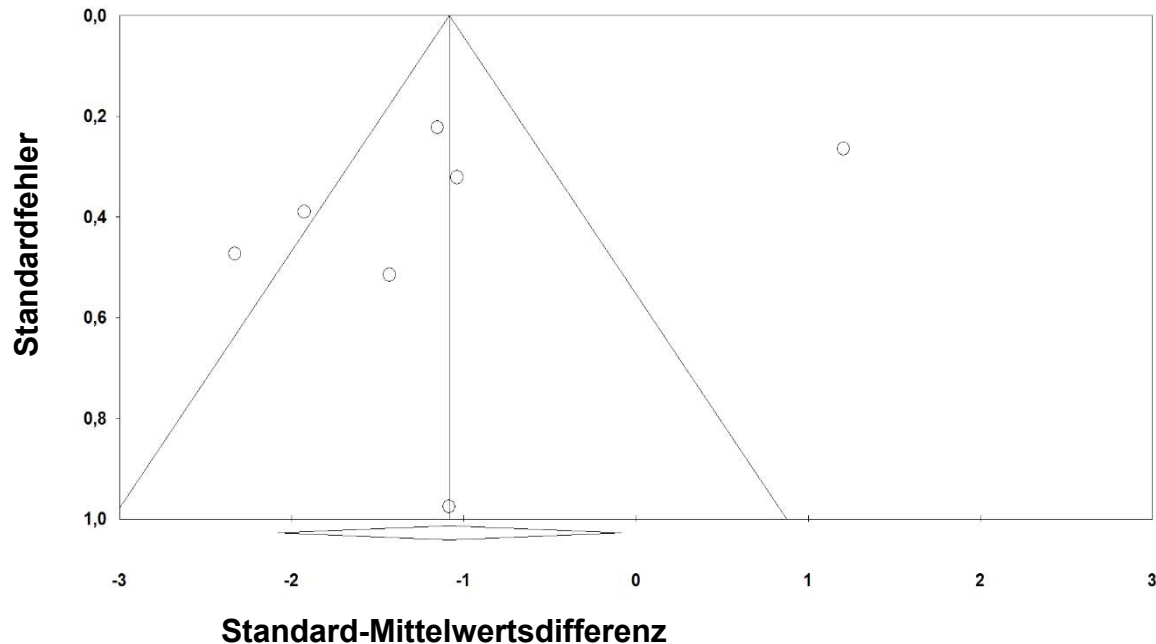


Abbildung 7 Funnel-Plot, Publikationsbias der Meta-Analyse

Dargestellt ist der Standardfehler der Effektgröße gegen die Standard-Mittelwertsdifferenz. Der Gesamteffekt samt seiner Variation wird durch die Raute dargestellt.

erstellt worden. Aufgetragen ist der Standardfehler gegen die Effektgröße, um die Verteilung der Studien mit kleinen Stichprobengrößen besser zu visualisieren.

Die gedachte Linie bei -1,15 stellt das berechnete gewichtete Mittel dar und die Raute gibt die Variation des gewichteten Mittels an. Die Studie Renders et al. (2007), ist im rechten Teil des Bildes außerhalb des Dreiecks zu sehen. Insgesamt wirkt das Bild durch diese Studie asymmetrisch.

Für die Auswertung des Funnel-Plot ist limitierend zu berücksichtigen, dass der Funnel-Plot keine Aussage über die Güte der eingeschlossenen Studien machen kann.

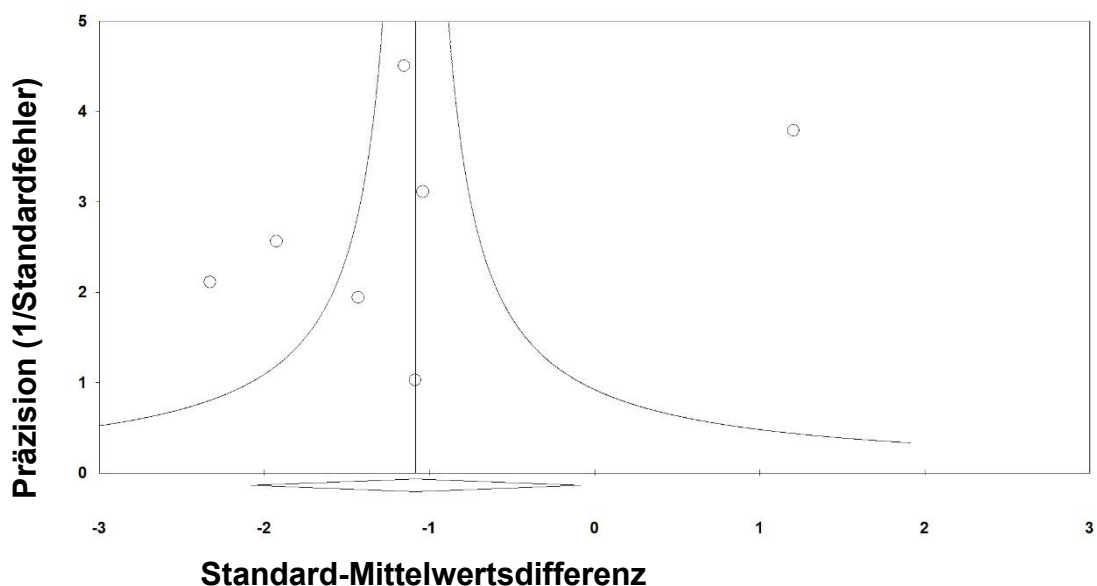


Abbildung 8 Funnel-Plot, Publikationsbias der Meta-Analyse

Dargestellt ist die Präzision gegen die Effektgröße.

Die Studie Renders et al. ganz rechts im Funnel-Plot in Abbildung 8 zu sehen und ist dafür verantwortlich, dass ein asymmetrisches Bild entsteht. Die Literaturanalyse wurde nach bestem Wissen des Autors durchgeführt. Nichtsdestotrotz kann nicht ausgeschlossen werden, dass bei der Literatursuche möglicherweise noch weitere Studien nicht gefunden worden sind.

2.5 Diskussion

2.5.1 Interpretation

- **Einfluss der Ethnizität auf die Gesamtexposition**

Die Ethnizität stellt einen Faktor dar, der eine Erklärung für mögliche Unterschiede der Pharmakokinetik und Pharmakodynamik von Arzneimitteln ist und für eine Variabilität im Ansprechen einer Arzneimitteltherapie verantwortlich sein kann (Yasuda et al. 2008). Sie wird beeinflusst durch extrinsische Faktoren wie Lebensmittengewohnheiten und Komedikation einer Arzneimitteltherapie und intrinsische Faktoren wie Rasse, Geschlecht, Alter, Gewicht, renale und hepatische Funktion sowie der Unterschiede in der genetischen Ausstattung bezüglich der metabolisierenden Enzyme.

Die dosisnormierte AUC_{ss} ist bei gesunden Erwachsenen asiatischer Herkunft mit 1,77 ng·h/mL per $\mu\text{g/kg}$ gegenüber der von Kaukasiern (1,36 ng·h/mL per $\mu\text{g/kg}$) vergleichbar. Dieses Ergebnis ist mit den in der Literatur beschriebenen Daten konsistent. MacPhee, Iain A. M. et al. 2005 et al. haben in der südasiatischen und kaukasischen Bevölkerung Gesamtexpositionen in Abhängigkeit des Einzelnukleotid-Polymorphismus CYP3A5*3 untersucht und keine unterschiedlichen Dosierungsempfehlungen in Abhängigkeit der Ethnizität der Tacrolimus-Gabe empfohlen.

In der Literatur werden Unterschiede in den Gesamtexpositionen von Tacrolimus zwischen Afro-Amerikanern und Kaukasiern/Lateinamerikanern/Asiaten beschrieben (Mancinelli et al. 2001). Mancinelli et al. 2001 et al. hat in gesunden Erwachsenen festgestellt, dass sich die Gesamtexposition nach einer intravenösen Applikation von Tacrolimus in Afro-Amerikanern, Lateinamerikanern und Kaukasiern nicht signifikant unterscheidet.

Bei einer peroralen Applikation haben gesunde Afro-Amerikaner im Verhältnis niedrigere Gesamtexpositionen gegenüber den beiden anderen Ethnizitäten gezeigt (Mancinelli et al. 2001). Dies wird auf die unterschiedliche Verteilung des Einzelnukleotid-Polymorphismus und die Aktivität des P-Glykoproteins

zurückgeführt (Mancinelli et al. 2001). Zahlreiche Studien belegen, dass der Genotyp, der die Expresser kodiert, in Afro-Amerikanern häufiger auftritt als in anderen Ethnizitäten (Hesselink 2003; Roy et al. 2005).

In vielen Studien werden daher Dosierungsregime empfohlen, die die Ethnizität berücksichtigen und bei Afro-Amerikanern eine höhere Dosis empfehlen (Hesselink 2003; Jonge et al. 2013; Mancinelli et al. 2001).

Für die Ethnizität der Afro-Amerikaner gab es in der Literatur keine geeigneten Gesamtexpositionen, die mit in die Dosisnormierung der Gesamtexposition einfließen konnten. Daher war der Vergleich der Ethnizitäten auf die asiatische und kaukasische Bevölkerung begrenzt.

- **Einfluss der Transplantationsart auf die Gesamtexposition**

Die dosisnormierten Gesamtexpositionen von Lebertransplantierten sind im Vergleich zu Nieren- bzw. Herztransplantierten um Faktor 3,4 bis 4,7 in Erwachsenen und in ähnlicher Höhe auch in der pädiatrischen Population erhöht.

Es wurden in die Literaturanalyse nur pharmakokinetische Studien eingeschlossen, die nach einem Monat oder mehr postoperativ Daten erhoben haben, damit zum einem die Funktionalität der Leber wiederhergestellt ist und vergleichbar ist und zum anderen die Variabilität der pharmakokinetischen Kenngröße der AUC_{ss} niedriger wird. Die metabolische Aktivität der Leber, mit der Tacrolimus oxidativ über die Cytochrome P4503A4 und P4503A5 verstoffwechselt wird, findet nach diesem Zeitraum wieder statt. Die dosisnormierten AUC_{ss} weisen darauf hin, dass neben dem Einfluss des Phase-I-Enzyms CYP3A5 auch andere Leberparameter einen möglichen Einfluss auf die Gesamtexposition von Tacrolimus haben können. Diese Informationen werden aber in den Studien nicht näher beschrieben.

Eine weitere Erklärung für die hohen Werte kann auch mit der Zeit der Ischämie bei der Organtransplantation und der dadurch beeinflussten Organfunktion zusammenhängen.

Analytische Fehlmessungen über die verwendeten Immuno-Assays könnten auch die höheren Werte erklären.

- **Einfluss der Altersklasse auf die Gesamtexposition**

Die Werte der Gesamtexpositionen fallen in den pädiatrischen Populationen deutlich niedriger aus vergleichsweise mit denen der erwachsenen Daten. Je nach Ethnizität und Transplantationsart sind die Unterschiede zwischen Faktor 2 und 6.

Dies kann durch die Unterschiede der Gesamtkörper-Clearance in den Altersklassen erklärt werden. Kinder haben gegenüber Erwachsenen eine erhöhte Gesamtkörper-Clearance (Wallemacq et al. 1998; Wallemacq und Verbeeck 2001; Undre und Möller 1994).

In der Literatur werden für Lebertransplantierte Kinder auf das Körpergewicht

normierte Werte von 2,3mL/min/kg im Vergleich zu Erwachsenen 1,0mL/min/kg angegeben (Wallemacq et al. 1998; Wallemacq und Verbeeck 2001; Jusko et al. 1995).

Bei Nierentransplantierten ist das Verhältnis zwischen beiden Gruppen ähnlich (2,1mL/min/kg vs. 1,6mL/min/kg) (Trompeter et al. 2002).

Dieser klinisch bedeutsame Unterschied impliziert eine 1,5 – 2-fach höhere Dosierung der immunsuppressiven Arzneimitteltherapie bei Kindern im Vergleich zu Erwachsenen. Eine offene, randomisierte, multizentrische Studie an lebertransplantierten Kindern und Erwachsenen hat dies durch den Vergleich von Dosierungen und Talspiegeln von Kindern und Erwachsenen ermittelt (Wallemacq et al. 1998; Wallemacq und Verbeeck 2001; Undre und Möller 1994).

Infolge des Mangels der Gesamtexpositionen für die speziellen eingeteilten Altersklassen bei Kindern (Neugeborene, Säuglinge, Vorschulkinder, Schulkinder und Heranwachsende gemäß ICH konnte nicht weiter in die einzelnen Gruppen unterteilt werden. Dies ist für eine genauere Beurteilung der Daten notwendig, um die Unterschiede der Entwicklungspharmakologie mit einzubeziehen.

- **Einfluss des Genotyps des CYP3A5 auf die Gesamtexposition**

Der Einzelnukleotid-Polymorphismus des CYP3A5 hat auf die Gesamtexposition einen Einfluss. Expresser, die mindestens ein Allel *1 enthalten (CYP3A5*1/*1 bzw. CYP3A5*1/*3) haben eine niedrigere Exposition als Nicht-Expresser (CYP3A5*3/*3).

Dai et al. 2006 haben eine höhere Enzymaktivität des CYP3A5 für Tacrolimus Expresser um Faktor 2 bis 3 festgestellt, die auf das Ausmaß der oralen Clearance Einfluss nimmt. Die systematische Übersichtsarbeit von Barry et al. hat gezeigt, dass je nach Genotyp des CYP3A5 die orale Clearance bis zu 65% in Nicht-Expressern vermindert sein kann (Barry und Levine 2010).

Es gibt daher für die genetischen Subgruppen unterschiedliche Dosierungsempfehlungen (Hesselink 2003; Jonge et al. 2013). Dies wurde sowohl in zahlreichen Studien retrospektiv wie auch in einer prospektiven randomisiert kontrollierten Studie ermittelt (Kuypers, Dirk R J et al. 2010)

Je nach Genotyp lassen sich damit therapeutisch wirksame und sichere Wirkspiegel einstellen, um die lebensnotwendige immunsupprimierende Wirkung zu erreichen unter gleichzeitiger Kontrolle einer gefährlichen Organtransplantationsabstoßung.

- **Tacrolimus und seine immunsuppressive Komedikation**

In der Regel wird neben der Gabe des Calcineurin-Inhibitors eine Kombination aus Glukokortikoiden, Mycophenolat-Mofetil und Tacrolimus zur Immunsuppression nach einer Organtransplantation gegeben.

Diese Komedikation kann mitunter Einfluss auf die Tacrolimus-Spiegel haben und damit die sichere und effektive Arzneimitteltherapie gefährden. Anglicheau et al. 2003 haben gezeigt, dass die Gabe von Glukokortikoiden, die zu den Standardtherapien einer Organtransplantation zählt, zu einer erhöhten Tacrolimus – Clearance und damit zu niedrigeren Wirkspiegeln führt (Anglicheau et al. 2003). Dieser Effekt wurde zuvor mit Ratten festgestellt (Shimada 2002).

Die gleichzeitige Gabe von Tacrolimus und Mycophenolat-Mofetil hat auf Seiten des Mycophenolat-Mofetils zu höheren Wirkspiegeln geführt, was für die Dosisfindung der Komedikation von Bedeutung ist (Zucker et al. 1997).

In dieser Dosisnormierung wurde nicht im Detail auf den Einfluss der immunsuppressiven Komedikation auf die Gesamtexposition von Tacrolimus eingegangen. Jedoch wurde sichergestellt, dass bei den eingeschlossenen Studien vergleichbare Arzneimittel für die Immunsuppression verwendet wurden.

- **Einordnung der Dosierungsregime mit Literaturangaben**

Die Initialdosierungen von Tacrolimus in den Organtransplantationen richten sich nach den Vollblutspiegeln der Patienten. Bei Nieren- und Lebertransplantationen werden in den ersten drei Monaten Spiegel zwischen 10 und 15µg/L eingestellt, während Herztransplantierte im therapeutischen Bereich von 10 bis 18µg/L titriert werden (Armstrong 2002).

Nach 3 Monaten werden als Erhaltungsdosis Blutspiegel von 5 und 10µg/L bei Nieren- und Lebertransplantierten empfohlen. Herztransplantierte werden auf Spiegel zwischen 8 und 15µg/L eingestellt.

Die Therapieregime der eingeschlossenen Studien beziehen sich auf Nieren-, Leber- und Herztransplantationen. Alle Studien haben Dosierungen betrachtet, die sich an die Richtlinien der Transplantationsgesellschaften orientieren.

- **Einordnung der Meta-Analyse in die Literatur**

Es gibt zwei Meta-Analysen in der Literatur, die den Effekt des Einzelnukleotid-Polymorphismus auf die Dosierungsempfehlung von Tacrolimus an 1.443 und 2.028 Patienten untersucht haben (Tang et al. 2011; Terrazzino et al. 2012). Beide haben festgestellt, dass Expresser-Genotypen signifikant niedrigere Dosierungen benötigen als Nicht-Expresser. Tang et al. (2011) hat die akute Organtransplantationsabstoßrate in Nieren- und Lebertransplantierten ausgewertet und Terrazzino et al. (2012) die akute Abstoßungsrate in Nierentransplantierten.

Das Ergebnis der in dieser Dissertation durchgeführten Meta-Analyse war

konsistent mit den bereits aus der Literatur beschriebenen Fakten. Der Unterschied zwischen den beiden genetischen Subgruppen konnte bestätigt werden. Ein wesentlicher Unterschied zu der von Terrazzino et al. (2012) beschriebenen Meta-Analyse war, dass als pharmakokinetische Kenngröße die Gesamtexposition von Tacrolimus berücksichtigt worden ist anstatt der Talspiegel/Dosis – Ratio.

2.5.2 Fazit

Die Dosisnormierung ist ein gutes Werkzeug, um Gesamtexpositionen von Tacrolimus verschiedener Transplantationstypen, Ethnizitäten und Altersklassen miteinander vergleichen zu können.

Lebertransplantierte scheinen auch noch nach einem Monat nach einer Transplantation eine deutlich höhere Tacrolimus-Exposition aufzuweisen als Nieren- bzw. Herztransplantierte.

Hingegen Kinder haben aufgrund einer erhöhten Clearance deutlich niedrigere Expositionen bei allen Transplantationsarten im Verhältnis zu Erwachsenen.

Die Ethnizitäten sind allerdings wohl so heterogen hinsichtlich ihres Metabolismus, dass sich kein Expositionsunterschied zwischen Asiaten und Kaukasiern darstellt. Man muss schon auf die Ebene des genetischen Einzelnukleotid-Polymorphismus gehen, hier am Beispiel vom CYP3A5 Expresser, um abhängig von der genetischen Disposition eine unterschiedliche Tacrolimus-Exposition zu erhalten.

Diese Ergebnisse legen nahe, dass Dosierungen nach Alter, Transplantationstyp und CYP3A5 Genotyp unterschiedlich ausgewählt werden müssen.

Im nächsten Kapitel der Dissertation wurde ein physiologiebasiertes pharmakokinetisches Modell in gesunden Erwachsenen unter Berücksichtigung des Einzelnukleotid-Polymorphismus entwickelt, um ein Vorhersage-Tool zu generieren, das in der Lage ist, das Therapeutische Drug Monitoring in der immunsuppressiven Arzneimitteltherapie auf Basis der Gesamtexposition darzustellen. Diese Optimierung kann dann für unterschiedliche Populationen hinsichtlich der Ethnizität, der Altersklasse und der genetischen Ausstattung und für verschiedene Transplantationstypen als Ausgangsbasis dienen, um die Dosisfindung einer effizienten und sicheren Arzneimitteltherapie für die Patienten schneller zu erreichen.

3 Physiologiebasiertes pharmakokinetisches Modell von Tacrolimus in gesunden Erwachsenen

3.1 Hintergrund des Einzelnukleotid-Polymorphismus des CYP3A5

In etwa 80 % aller in Packungsbeilagen von Arzneimitteln erwähnten pharmakogenomischen Besonderheiten sind genetische Veränderungen von metabolisierenden Enzymen (Food and Drug Administration 2013) aufgeführt.

Mutationen in den Phase-I- und Phase-II-Enzymen, die zu über 90 % durch Einzelnukleotid-Polymorphismen bedingt sind (Löffler et al.), führen bei den Wirkstoffen zu:

- einer erhöhten oder verminderten Arzneimittel-Clearance des Wirkstoffs oder seines Metaboliten
- einer erhöhten oder verminderten Umsetzung des Prodrugs in die aktive Wirkkomponente
- einer erhöhten oder verminderten Bildung des toxischen Metaboliten eines Wirkstoffs (European Medicines Agency, CHMP 2014)

Das Enzym des Cytochrom-Komplexes P4503A5 wird polymorph exprimiert und es sind derzeit mehr als 25 unterschiedliche Allele von ihm bekannt (Roy et al. 2005; Xie et al. 2004; Solus et al. 2004).

Der Einzelnukleotid-Polymorphismus im CYP3A5*3-Allel führt über einen Spleißfehler im Intron 3 zu einer um einen Faktor 2 bis 3 verminderten Enzymaktivität gegenüber dem Wildtypallel CYP3A5*1 (Hafroid et al. 2006; Kuehl et al. 2001; Liu et al. 2004).

Auf Basis dieser veränderten Enzymaktivitäten werden die Bevölkerungen in die genetischen Subgruppen der Expresser (CYP3A5*1/*1 bzw. CYP3A5*1/*3) und der Nicht-Expresser (CYP3A5*3/*3) eingeteilt (Hesselink et al. 2005).

Die Häufigkeit dieses Einzelnukleotid-Polymorphismus ist in den Ethnizitäten unterschiedlich stark ausgeprägt. Unter der kaukasischen Bevölkerung haben über

85 % der Bevölkerung den Genotyp CYP3A5*3/*3, hingegen beträgt bei Afrikanern die Häufigkeit 17 % (Roy et al. 2005). Bei Kaukasiern wiederum ist der Wildtyp unter 5 % vertreten, unter Afrikanern aber zwischen 10 und 25 % (Roy et al. 2005). Es konnte festgestellt werden, dass Expresser-Genotypen die doppelte Dosis von Tacrolimus im Verhältnis zu Nicht-Expresser-Genotypen benötigen, um gleiche therapeutische Wirkspiegel zu erreichen (Hesselink et al. 2005). Dieses Phänomen wurde auch bei Kindern gefunden (Gijssen et al. 2011).

Eine prospektiv randomisiert kontrollierte Studie konnte belegen, dass eine Genotyp-basierende Dosierempfehlung ein schnelleres Erreichen wirksamer und sicherer Wirkspiegel fördert, bei dem weniger Dosisanpassungen notwendig werden (Gijssen et al. 2011).

Die Europäische Arzneimittelagentur fordert die Durchführung pharmakokinetischer und pharmakogenomischer Studien, um eine altersgerechte und patientenindividuelle Dosisempfehlung für eine Arzneimitteltherapie geben zu können (European Medicines Agency, CHMP 2014).

Laut EMA soll die Pharmakogenomik früh in die Prozesse der Arzneistoffentwicklung und der klinischen Studien einbezogen werden, um Dosierungs- und Therapieempfehlungen machen zu können, die eine sichere und effiziente Arzneimitteltherapie garantieren (European Medicines Agency, CHMP 2014).

Das Studiendesign pharmakogenomischer Studien soll auf der Basis von pharmakokinetischen *in silico* Simulationen erfolgen, die genetische Besonderheiten wie Einzelnukleotid-Polymorphismen integrieren (European Medicines Agency, CHMP 2014).

Auch die EMA unterstreicht, dass Meta-Analysen einen wesentlichen Beitrag an der Gewinnung der bestmöglich bereits bekannten empirischen Daten haben. Ihre Ergebnisse über den Einzelnukleotid-Polymorphismus wie den des CYP3A5 soll für eine Erstellung eines physiologiebasierten pharmakokinetischen Modells nutzbar gemacht werden.

3.2 Problemstellung

Bisher veröffentlichte physiologiebasierte pharmakokinetische (PBPK-) Modelle des Calcineurin-Inhibitor Tacrolimus können Verteilungs- und Eliminationsprozesse von Tacrolimus im Vollblut nicht vollständig darstellen bzw. nutzen als Basis der Modellentwicklung Tacrolimus-Talspiegel bzw. Spiegel nach 2 Stunden (Barter et al. 2010; Gérard et al. 2014).

Tacrolimus verteilt sich durchschnittlich 15-fach höher im Vollblut als im Plasma durch eine reversible Bindung an ein Protein in den Erythrozyten (Venkataramanan et al. 1995; Staatz und Tett 2004). Dies führt zu einer besonderen Verteilung, die man insbesondere nach intravenösen Applikationen in einem zweiphasigen D_S -Zeitverlauf sieht (Astellas Pharma GmbH 2006).

Zusätzlich verhindert die Bindung an die Erythrozyten die Elimination von Tacrolimus (Chow et al. 1997; Jonge et al. 2012) Der Einzelnukleotid-Polymorphismus des CYP3A5 hat Einfluss auf den Metabolismus der Verbindung und somit auf den Eliminationsprozess (Dai et al. 2006).

Die Datengrundlage für die Erstellung des PBPK-Modells soll anstatt des bisher in der Literatur publizierten Modells (Gérard et al. 2014) keine Talspiegel nutzen, sondern die pharmakokinetische Kenngröße der AUC zur Basis haben, weil es auf der Basis eines Konzentration-Zeit-Verlaufs gegenüber der punktuellen Messung eines Spiegels die pharmakokinetischen Besonderheiten integriert und die Dosisfindung in Transplantierten richtiger treffen könnte.

Angesichts der langen Wartezeit auf ein Spenderorgan und der Besonderheit der genetischen Subgruppen durch den Einzelnukleotid-Polymorphismus des metabolisierenden Enzyms CYP3A5 ist die Erstellung eines PBPK-Modells für Tacrolimus von großer Bedeutung. Hiermit könnte die immunsuppressive Arzneimitteltherapie der gefährdeten Bevölkerungsgruppe der Organtransplantierten optimiert werden.

3.3 Fragestellung und Ziel

Im Rahmen dieser Dissertation wurde ein physiologiebasiertes pharmakokinetisches Modell für Tacrolimus unter Berücksichtigung des Einzelnukleotid-Polymorphismus des CYP3A5 erstellt.

Die aus der systematischen Literaturrecherche ermittelten physikochemischen und pharmakokinetischen Charakteristika der Substanz wurden als Datenbasis für die Software Simcyp® genutzt, um ein PBPK-Modell für gesunde Erwachsene zu entwickeln. Dies soll zuerst in gesunden Erwachsenen für intravenöse Dosierungsregime erstellt werden.

Im zweiten Schritt sollten dann die Ergebnisse aus dem PBPK-Modell nach intravenöser Administration auf die perorale Applikation übertragen werden, wofür die Absorptionsvorgänge in das Modell integriert werden mussten.

Das PBPK-Modell wurde mittels bereits vorhandener PK-Literaturdaten von gesunden Erwachsenen evaluiert, um die Eignung für die klinische Praxis zu überprüfen.

Insbesondere für die zwei aufgrund des genetischen Polymorphismus auftretenden Subgruppen in der Bevölkerung wurde die AUC für den jeweiligen Einzelnukleotid-Polymorphismus simuliert, um das Potential eines PBPK-Modells hinsichtlich der Berücksichtigung pharmakogenomischer Besonderheiten zu überprüfen und den Nutzen für den klinischen Alltag herauszustellen.

3.4 Methode

3.4.1 Prinzip und Aufbau des PBPK-Modells für Tacrolimus

3.4.1.1 Anwendung und Funktion des PBPK-Modells für Tacrolimus

Akute Abstoßungsepisoden treten bei der Mehrzahl von transplantierten Patienten innerhalb eines Jahres nach der Organtransplantation auf. Im Mittel haben herztransplantierte Patienten 1,3 Abstoßungsepisoden im ersten Jahr nach einer Herztransplantation (Kobashigawa et al. 1998; Kobashigawa und Meiser 2005; Hauptman und Mehra 2005).

PBPK-Modelle können die Quote einer sicheren und effizienten immunsuppressiven Arzneimitteltherapie durch die Vorhersage der menschlichen Dosis und der Entwicklung neuer Formulierungen optimieren. Der Einzelnukleotid-Polymorphismus im metabolisierenden Phase-I-Enzym CYP3A5 teilt die Bevölkerung in die genetischen Subgruppen der Expresser- und der Nicht-Expresser-Genotypen.

Der Expresser-Genotyp zeigt eine höhere Enzymaktivität als die andere Gruppe und bedarf einer angepassten immunsupprimierenden Tacrolimus-Dosis (Haufroid et al. 2006; Kuypers et al. 2007; Mourad et al. 2006).

Eine Vorhersage der pharmakokinetischen Teilprozesse Absorption, Distribution, Metabolisierung und Exkretion (ADME) mittels eines PBPK-Modells kann die Dosierungs- und Therapieempfehlungen patientenindividuell absichern.

3.4.1.2 Modellstruktur

Physiologiebasierte pharmakokinetische Modelle integrieren das Wissen über physiologische Prozesse mit den bereits bekannten physikochemischen Charakteristika bzw. gemessenen und bekannten pharmakokinetischen Informationen über eine Verbindung mit dem Ziel, die komplexen pharmakokinetischen ADME-Prozesse in Form der Konzentrations-Zeit-Profile zu simulieren.

Neben den physiologischen Eigenschaften (wie z.B. dem Hämatokritwert) werden anatomische Gegebenheiten (z.B. Wasser- und Fettanteil des Körpers) und physikochemische Eigenschaften der entsprechenden Verbindung (wie z.B. Lipophilie) berücksichtigt.

Hierin unterscheiden sich die PBPK-Modelle von rein mathematischen Ansätzen, die experimentell abgeleitete Konzentrations-Zeit-Profile in Form von mathematischen Funktionen beschreiben, um pharmakokinetische Kenngrößen (wie z. B. c_{max} , t_{max} , $t_{1/2}$) zu berechnen. PBPK-Modelle haben einen mechanistischen Ansatz, der die Disposition eines Arzneimittels im menschlichen Körper vorhersagt.

PBPK-Modelle haben das Ziel, die Wechselwirkung zwischen dem Arzneimittel und dem Organismus möglichst realistisch zu beschreiben und die Vorhersage von Konzentrations-Zeit-Verläufen auf physiologische und physikochemische Gegebenheiten zu stützen (Willmann et al. 2003).

Abbildung 9 gibt eine grobe Übersicht über die in das PBPK-Modell von Tacrolimus inkorporierten Teilprozesse.

Phase 1 beschreibt die Absorption von Tacrolimus. Für den Fall der intravenösen Applikation können die Absorptionsprozesse im Gastrointestinaltrakt unberücksichtigt bleiben, während diese für die perorale Applikation von Tacrolimus von großer Bedeutung waren, wie im Folgenden ausführlich beschrieben wird.

Phase 2 widmet sich der Verteilung von Tacrolimus aus dem zentralen Blutkompartiment in die roten Blutzellen.

Phase 3 zeigt die Verteilung von Tacrolimus an seinen Wirkort, die T-Zellen.

Der Metabolismus wird in der Phase 4 erläutert, aus der hervorgeht, dass Tacrolimus nicht renal eliminiert wird, sondern vielmehr in der Leber und im Darm metabolisiert wird (Dai et al. 2006; Staatz und Tett 2004).

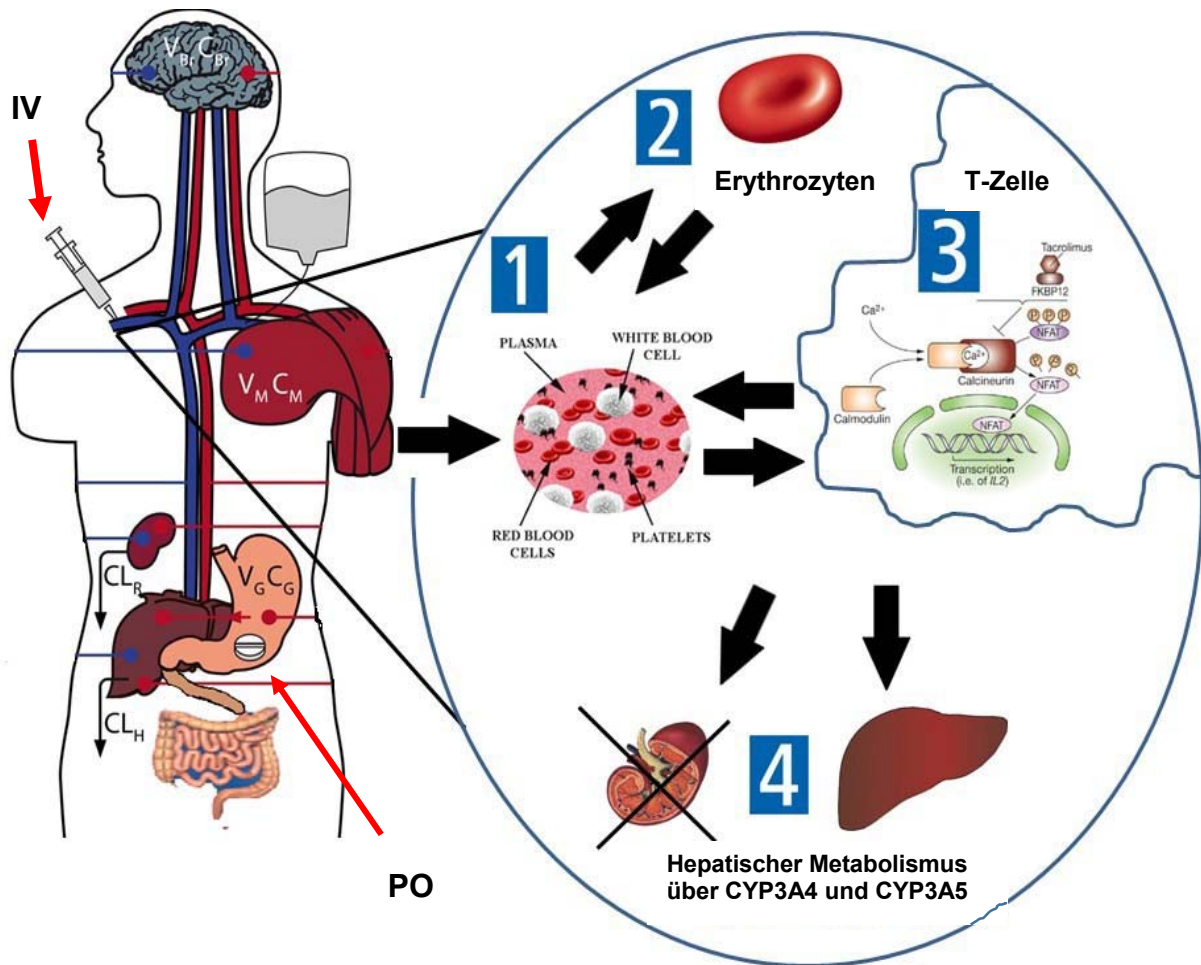


Abbildung 9 Übersicht über die ADME-Prozesse von Tacrolimus im Organismus

Dargestellt ist eine intravenöse (Spritze) bzw. perorale (Tablette) Administration von Tacrolimus.

- Phase 1** Absorption von Tacrolimus erfolgt nach einer intravenösen bzw. peroralen Applikation in der Regel schnell, innerhalb von 1 bis 2 Stunden. Die Bioverfügbarkeit beträgt zwischen 20 und 25 %.
- Phase 2** Tacrolimus bindet stark an die Erythrozyten und führt zu einem 15-fach höheren Blut-Konzentrations-Verhältnis. Dieses Verhältnis ist von der Konzentration von Tacrolimus und vom Hämatokritwert abhängig. Tacrolimus bindet sich über 98 % an Plasmaproteine. Hauptbindungspartner sind Serumalbumin und das saure α -Glycoprotein.
- Phase 3** Die Hemmung der Interleukin-2-abhängigen T-Zell-Aktivierung ist der Wirkungsmechanismus von Tacrolimus.
- Phase 4** Tacrolimus wird fast ausschließlich via CYP3A4 und CYP3A5 in der Leber und im Darm metabolisiert, bevor es ausgeschieden wird. Die renale Elimination hat keine große Bedeutung für die Eliminationsprozesse.

Die PBPK-Simulationen wurden mit der kommerziell erhältlichen Software Simcyp® (Simcyp Ltd.) durchgeführt. Sie wird für Simulationen und Vorhersagen der Variabilität der Bevölkerung einer Ganzkörper-Kinetik bzw. Arzneimittelinteraktion genutzt. Hierzu werden virtuelle Populationen erzeugt, die über demographische, physiologische und pathologische, genetische und ethnische Eigenschaften definiert werden können.

In dem der Software zugrunde liegenden Minimal-PBPK-Modell wird der menschliche Körper von den vier Organ-Kompartimenten Zentralkompartiment, Pfortader, Leber und einem einzelnen angepassten Kompartiment (single adjusted compartment (SAC)) repräsentiert (siehe Abbildung 10).

Das einzelne angepasste Kompartiment dient der Adjustierung der Konzentrations-Zeit-Profile im Zentralkompartiment und ist kein physiologisches Kompartiment. Es beinhaltet organ- und gewebespezifische Kompartimente mit Ausnahme jener der Leber und der Pfortader. Das SAC kann in dem verwendeten Modell Verteilungsprozesse in das Kompartiment der Erythrozyten widerspiegeln, weil die Verteilung in die roten Blutzellen eine signifikante Auswirkung auf das Verteilungsvolumen von Tacrolimus hat.

Die Kompartimente hängen über gewebe- und organspezifische Blutflussraten miteinander zusammen und der Massentransport wird über Massenerhaltungsgleichungen beschrieben, denen kombinierte Differentialgleichungen zugrunde liegen.

Für die Kompartimente der Leber und der Pfortader ergeben sich organspezifische Konzentrations-Zeit-Verläufe, die für eine Berechnung von pharmakokinetischen Kenngrößen herangezogen werden können (Jamei et al. 2009) (Simcyp® Version 13.2).

Ein peroral appliziertes Arzneimittel muss erst im Zentralkompartiment absorbiert werden, um wirksam sein zu können. Die perorale Applikation stellt im Fall von Tacrolimus die bestmögliche Darreichungsform für die Anwendung in der klinischen Praxis dar, sofern es die Konstitution der Patienten erlaubt.

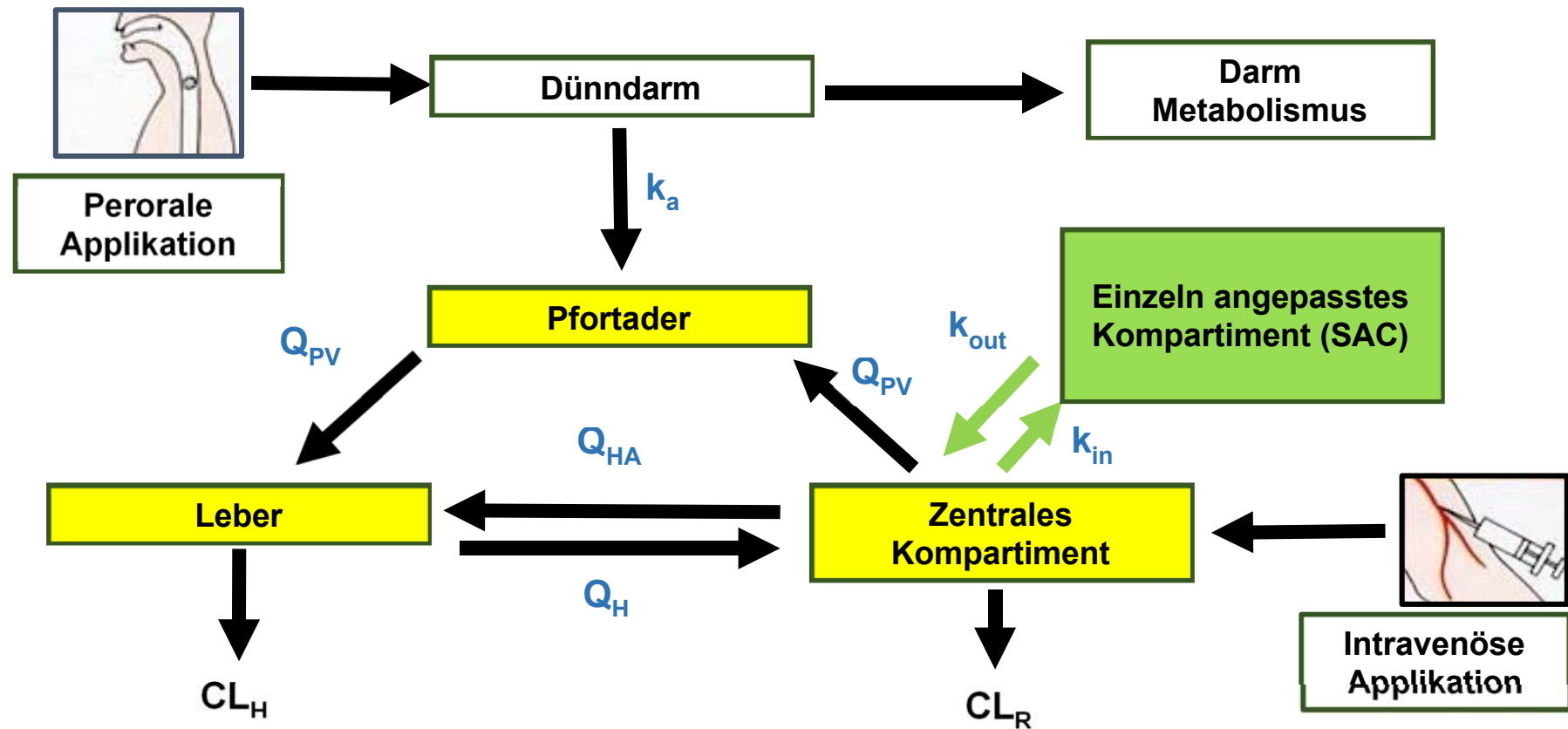


Abbildung 10 Minimal-PBPK-Modell für Tacrolimus

Dargestellt sind in gelb und grün die vier Kompartimente, die Simcyp bei der Verwendung des Minimal-PBPK-Modells benutzt.

CL_H = hepatische Clearance; CL_R = renale Clearance; k_a = Absorptionskonstante;

k_{in} = Geschwindigkeitskonstante in das einzeln angepasste Kompartiment (SAC);

k_{out} = Geschwindigkeitskonstante aus dem SAC; Q_H = Blutfluss der Leber zum Zentral-Kompartiment; Q_{HA} = Blutfluss des Zentral-Kompartiments zur Leber,

Q_{PV} = Blutfluss der Pfortader

Quelle: mit freundlicher Genehmigung, Simcyp © Hilfe V.13.2

Die orale Bioverfügbarkeit eines Arzneimittels ist die Fraktion der Dosis, die unverändert die systemische Zirkulation erreicht. Sie berechnet sich aus dem Produkt der Fraktion der Dosis, f_a , die den Zellularraum der Enterozyten erreicht, der Fraktion des Arzneimittels, F_G , die dem First-Pass-Metabolismus im Darm entgeht, und der Fraktion des Arzneimittels, F_H , die dem First-Pass-Metabolismus in der Leber und der biliären Sekretion entwischt.

$$F_{oral} = f_a \cdot F_G \cdot F_H$$

Formel 24

Die Fraktion f_a wird durch die Darreichungsform (Partikelgröße und -form; Überzüge und Trägerstoffe, die Einfluss auf die Auflösung, Desintegration oder Deaggregation eines Wirkstoffs haben), die physikochemischen Eigenschaften der Verbindung (Löslichkeit und Ionisation, die die Auflösung, Permeabilität bzw. chemische Stabilität beeinflussen) und physiologische Parameter wie die Magenentleerungszeit, den Durchgang durch den Gastrointestinaltrakt (GIT) und die Motilität des GIT; den pH-Wert der unterschiedlichen Abschnitte im GIT und die Sekretion und Reabsorption in diesen Arealen beeinflusst (Jamei et al. 2009).

F_G wird durch die Häufigkeit und Lokalisation der Transporter und Enzyme im GIT bestimmt. Weiter haben demographische Charakteristika wie Alter, Geschlecht, Ethnizität und Krankheitszustand Einfluss auf die Bioverfügbarkeit des Arzneimittels (Jamei et al. 2009).

Das „Advanced Dissolution Absorption and Metabolism“ (kurz: ADAM)-Modell wurde in die Simcyp®-Benutzeroberfläche eingearbeitet, um die Arzneimittelabsorption aus dem Darm zu beschreiben. Es wurde aus zwei anderen Modellen, dem „Compartmental Absorption Transit“ (CAT)-Modell und dem „Advanced Compartmental Absorption Transit“ (ACAT)-Modell entwickelt.

Der Darm wird in neun definierte Teilsegmente geteilt. Jeder Arzneimittelabsorptionsvorgang wird mittels einer mathematischen Funktion beschrieben, in die die Freisetzung aus der Darreichungsform, Auflösung, Fällung, luminale Degradation, Permeabilität, Metabolismus, Transportvorgänge und die Transitzeit von einem Segment zum nächsten eingehen. Es wird angenommen, dass die Absorption im Magen im Vergleich zum Dünndarm

vernachlässigbar ist und dass der Durchgang der flüssigen bzw. festen Arzneiform mit einer Kinetik erster Ordnung beschrieben werden kann. Der Arzneistoffmetabolismus im Dickdarm ist im Verhältnis zum Dünndarm vernachlässigbar (Jamei et al. 2009).

Die Verteilungsvorgänge im menschlichen Organismus wurden aufgrund der physikochemischen Charakteristika von Tacrolimus berechnet. Hierbei beschreibt die pharmakokinetische Kenngröße das Verteilungsvolumen eines Arzneimittels im Steady-State (V_{ss}), wie sich der Wirkstoff jeweils zwischen Organen und Plasma sowie Blutzellen und Plasma aufteilt.

Verteilungskoeffizienten charakterisieren dieses Verhalten. In die Simcyp[®]-Software ist aufgrund mangelnder Daten über Verteilungskoeffizienten ein mechanistisches Vorhersage-Tool (Methode 1) inkorporiert worden, das über eine modifizierte Formel von Poulin und Theil für die Berechnung der Verteilungskoeffizienten zur Verfügung steht und damit ein Verteilungsvolumen im Steady-State abschätzt (Berezhkovskiy 2004; Poulin und Theil 2002).

Die Verteilungskoeffizienten sagen die Verteilung eines Arzneistoffs in die Kompartimente voraus, die Verteilungsrate der „Permeationsparameter“ ergibt sich aus dem Produkt von Permeabilität und Oberfläche (Willmann et al. 2003).

Ein bestimmter Wirkstoff verteilt sich in die Kompartimente des Körpers in Abhängigkeit von der Größe der Gewebe und Organe und ihrer Zusammensetzung aus Extrazellular- und Intrazellulärwasser, neutralen Lipiden, neutralen bzw. sauren Phospholipiden und an Bindungsproteinen in jedem Gewebe bzw. Organ. Diese für die Berechnung mit der Methode 1 benötigten Daten wurden in der Simcyp[®]-Bevölkerungsoberfläche aus zahlreichen Studien hinterlegt. Bei nicht vorhandenen humanen Daten über saure Phospholipide und Bindungsproteine wurde auf rattenspezifische Daten zurückgegriffen (Simcyp[®] Version 13.2).

Die Metabolisierung und die Elimination werden im PBPK-Modell auf der Basis von aus der Literatur bereits bekannten pharmakokinetischen Parametern über die Eingabeparameter der Clearances beschrieben. Simcyp[®] verfügt über ein

Vorhersage-Tool der für die Enzymkinetik bedeutsamen intrinsischen Clearance der metabolisierenden Enzyme. Es können für unterschiedliche Genotypen von polymorphen Enzymen des Cytochrom-Komplexes P450 spezifische Clearance-Werte in die Software eingegeben werden. Die Vorgehensweise wird im Kapitel 3.4.1.4 ausführlich beschrieben.

3.4.1.3 Populationspharmakokinetische physiologiebasierte Simulationen

Das Vollblutkonzentrations-Zeit-Profil eines Individuums, das für die Beschreibung der Pharmakokinetik von Tacrolimus betrachtet wird, kann nun mit Hilfe der zuvor genannten Angaben und Regulierungseinstellungen simuliert werden.

Für diese pharmakokinetischen Simulationen muss die Populationscharakteristik wie Alter, Ethnizität, Geschlecht und Gewicht definiert werden. In der Simulationssoftware ist hierfür eine Anzahl von Bevölkerungspopulationen hinterlegt, wovon für das PBPK-Modell von Tacrolimus die Bevölkerungspopulation 'Sim-Healthy Volunteer' benutzt wurde. Der Programmbetreiber hat Bevölkerungsdatenbanken auf Grundlage zahlreicher Literaturdaten erstellt, die im Fall der 'Sim-Healthy Volunteer'-Population populationsspezifische Charakteristika einer gesunden nordeuropäischen kaukasischen Bevölkerung repräsentieren.

Für diese Bevölkerung sind in der Bevölkerungsdatenbank demographische Daten wie Altersminimum und -maximum, Gewicht, Größe und Body-Mass-Index (BMI) hinterlegt, die nach Bedarf geändert werden können. Auch die Frequenzen für das Vorkommen der jeweiligen Allele der polymorph vorliegenden Enzyme CYP3A4 und CYP3A5 können je nach der zu simulierenden Population im Einklang mit der Literatur adjustiert werden.

In der kaukasischen Bevölkerung sind in der Bevölkerungsdatenbank 85 % der Individuen mit einem Nicht-Expresser-Genotyp (CYP3A5*3/*3) hinterlegt, bei Asiaten haben etwa 45 % diese genetische Veranlagung. Eingabeparameter für die Clearance stellen mittlere Werte aus der Literatur dar, weil es interindividuelle Unterschiede gibt. Die Schwankungen innerhalb der populationsspezifischen

Charakteristika können durch Simulation von mehreren Individuen Berücksichtigung finden. So bietet Simcyp® die Simulation von einer wahren Population (virtual population) von bis zu 1000 Individuen an.

Wenn man eine Parametrisierung vom Altersminimum und Altersmaximum und dem Anteil der weiblichen Bevölkerung einer Population definiert, werden die anderen populationsspezifischen Eigenschaften über einen Zufallsgenerator vom Programm basierend auf den hinterlegten Populationscharakteristika zugeordnet. Es werden so nur physiologisch realistische Individuen generiert (Simcyp® Version 13.2).

3.4.1.4 Parametrisierung der intrinsischen Clearance für die unterschiedlichen Genotypen des CYP3A5

Die Metabolisierungs- und Eliminationsprozesse werden im Wesentlichen durch die Eingabe von Clearance-Werten ermöglicht. Dabei bietet Simcyp® drei unterschiedliche Möglichkeiten:

1. *In vivo*-Clearance

Hier können für den spezifischen Arzneistoff Eingabeparameter aus der Literatur für die intravenöse bzw. orale Clearance eingegeben werden und die Beteiligung des CYP3A an der Metabolisierung definiert werden.

2. Whole Organ Metabolic Clearance

Die Software bietet die Möglichkeit, Daten aus der Literatur über die intrinsischen Clearances in der Leber, dem Darm bzw. der Niere einzupflegen.

3. Enzym-Kinetik

In diesem Teil des Programms kann der Benutzer intrinsische Clearances für bestimmte Enzyme des Cytochrom-Komplexes und für die unterschiedlichen Allele des jeweiligen Enzyms eingeben.

Des Weiteren ist die Eingabe der renalen Clearance und einer zusätzlichen (Additional Clearance) und biliären Clearance möglich, sofern es

literaturreferenzierte Daten dafür gibt.

Für das Tacrolimusmodell wurde als Clearance-Konzept die Enzym-Kinetik von Simcyp® benutzt und die Vorgehensweise wird im Nachfolgenden explizit dargestellt.

3.4.1.5 Retrograde-Modell

Besteht ein Mangel an Literaturdaten hinsichtlich der intrinsischen Clearance eines Wirkstoffs, bietet die Software ein Vorhersage-Tool an, das auf Basis einer *in vivo* eingegebenen Clearance und der prozentualen Eingabe des Metabolismus der Cytochrom-Enzyme intrinsische Clearances für die Leberenzyme berechnet (Retrograde Modell).

Dai et al. (2006) haben für das CYP3A4 und CYP3A5 *in vitro* gemessene Daten der intrinsischen Clearance veröffentlicht (Dai et al. 2006). Hierbei wurde aber nicht weiter bei den polymorphen Enzymen in die unterschiedlichen Allele stratifiziert und auch nur der Metabolismus zu zwei Metaboliten, dem am C12 hydroxylierten und dem am C31 demethylierten Tacrolimus, wurde beschrieben, obwohl mehr als zehn Metabolite bekannt sind (Iwasaki et al. 1995)

Die systemische *in vivo*-Clearance wurde aus der Literatur für Tacrolimus ermittelt.

Tabelle 6 Clearance von Tacrolimus

Clearance_{iv} [L/h/kg]	4h-Infusion	Wert [L/h/kg]	Referenz
Kaukasier	Intravenös	0.0288	Möller et al. 1999
Kaukasier	Intravenös	0.046	Mancinelli et al. 2001
Afro-Amerikaner	Intravenös	0.041	Mancinelli et al. 2001
Lateinamerikaner	Intravenös	0.04	Mancinelli et al. 2001
Kaukasier/Lateinamerikaner	Intravenös	0.04	Bekersky et al. 2001
Kaukasier	Intravenös	0.058	Karamperis et al. 2003
Clearance_{oral} [L/h/kg]	5mg		
Kaukasier	Oral	0.25	Mancinelli et al. 2001
Afro-Amerikaner	Oral	0.31	Mancinelli et al. 2001
Lateinamerikaner	Oral	0,37	Mancinelli et al. 2001
Clearance_{renal} [L/h/kg]			
Kaukasier	Intravenös	0	Möller et al. 1999
Kaukasier	Oral	0	Barter et al. 2010

Für die intravenöse und orale Clearance der unterschiedlichen Bevölkerungsgruppen wurden folgende Populationswerte aus der Literatur ermittelt.

Hierbei war zu beachten, dass die in der Literatur erhobenen Werte aufgrund der extensiven Verteilung von Tacrolimus in die Erythrozyten im Vollblut gemessen worden sind (Mancinelli et al. 2001).

Eingabeparameter für Clearance-Werte in der Software müssen plasmareferenziert sein (Simcyp® Version 13.2), daher wurde der Wert über das Blut/Plasma-Konzentrationsverhältnis R ($R = 15$) umgerechnet

(Venkataramanan et al. 1995; Staatz und Tett 2004). Danach mussten die Literaturwerte noch mit dem durch die demographischen Daten bekannten Gewicht der Studienpopulation (Ideales Körpergewicht (Ideal Body Weight = IBW) von 73 kg) multipliziert werden, um auf eine mittlere plasmareferenzierte Clearance von 50,37 L/h (Bereich: 28,47 – 97,46 L/h) zu kommen.

Für die Berechnung der intrinsischen Clearance-Werte von CYP3A4 und CYP3A5 wurde dann eine Clearance von 65 L/h angenommen.

Genaue prozentuale Angaben über die Metabolisierung von Tacrolimus über die Enzyme CYP3A4 und CYP3A5 fehlen, doch es gibt Studien, die beschreiben, dass das CYP3A4 quantitativ bedeutsamer ist als das CYP3A5.

Hingegen ist die intrinsische Clearance beim CYP3A5 höher ausgeprägt (Dai et al. 2006; Barry und Levine 2010). Als Annahme wurde für die Berechnung mittels des Retrograde-Modells ein Verhältnis CYP3A4 zu CYP3A5 von 60 % zu 40 % gewählt.

Die berechneten intrinsischen Clearances für CYP3A4 und CYP3A5 waren 2,533 $\mu\text{L}/\text{min}/\text{pmol}$ bzw. 2,246 $\mu\text{L}/\text{min}/\text{pmol}$. Barry et al. beschreiben, dass die orale Clearance für Tacrolimus bei Nicht-Expressern gegenüber Expressern um bis zu 65 % vermindert sein kann.

Im nächsten Schritt wurden in der Bevölkerungsdatenbank von Simcyp die Allele CYP3A5*1/*1 für Expresser-Genotypen und CYP3A5*3/*3 für Nicht-Expresser-Genotypen eingepflegt. Dies ermöglicht, dass die über das Retrograde-Modell berechneten intrinsischen Clearances für das CYP3A5 weiter in die genetischen Subgruppen unterschieden werden konnten. Hierfür wurden auf der Basis der in der Literatur beschriebenen Unterschiede zwischen Expressions- und Nicht-Expressions-Genotypen Werte von 4 und 0,5 $\mu\text{L}/\text{min}/\text{pmol}$ angenommen (Dai et al. 2006; Barry und Levine 2010) und die Clearancewerte an Hand der beobachteten Daten optimiert. Diese intrinsischen Clearance-Werte beziehen sich aber nur auf den Metabolismus von Tacrolimus in der Leber.

Es ist bekannt, dass Tacrolimus auch über das CYP3A4 und CYP3A5 im Duodenum metabolischen Prozessen unterliegt, die im Zusammenhang mit der

oralen Bioverfügbarkeit stehen. Aufgrund des Mangels an literaturreferenzierten Daten wurde für die intrinsische Clearance auf Basis humaner intestinaler Mikrosomen ein Wert von 378 $\mu\text{L}/\text{min}/\text{mg}$ Protein CYP3A4/CYP3A5 abgeschätzt.

Die Eingaben wurden anhand von Profilen von Expressern und Nicht-Expressern überprüft.

3.4.2 Erstellung und Evaluation des PBPK-Modells für Tacrolimus

3.4.2.1 Workflow der Erstellung eines PBPK-Modells für Tacrolimus

Der Arbeitsablauf für die Erstellung des PBPK-Modells für Tacrolimus in gesunden Erwachsenen wird in der Abbildung 11 veranschaulicht.

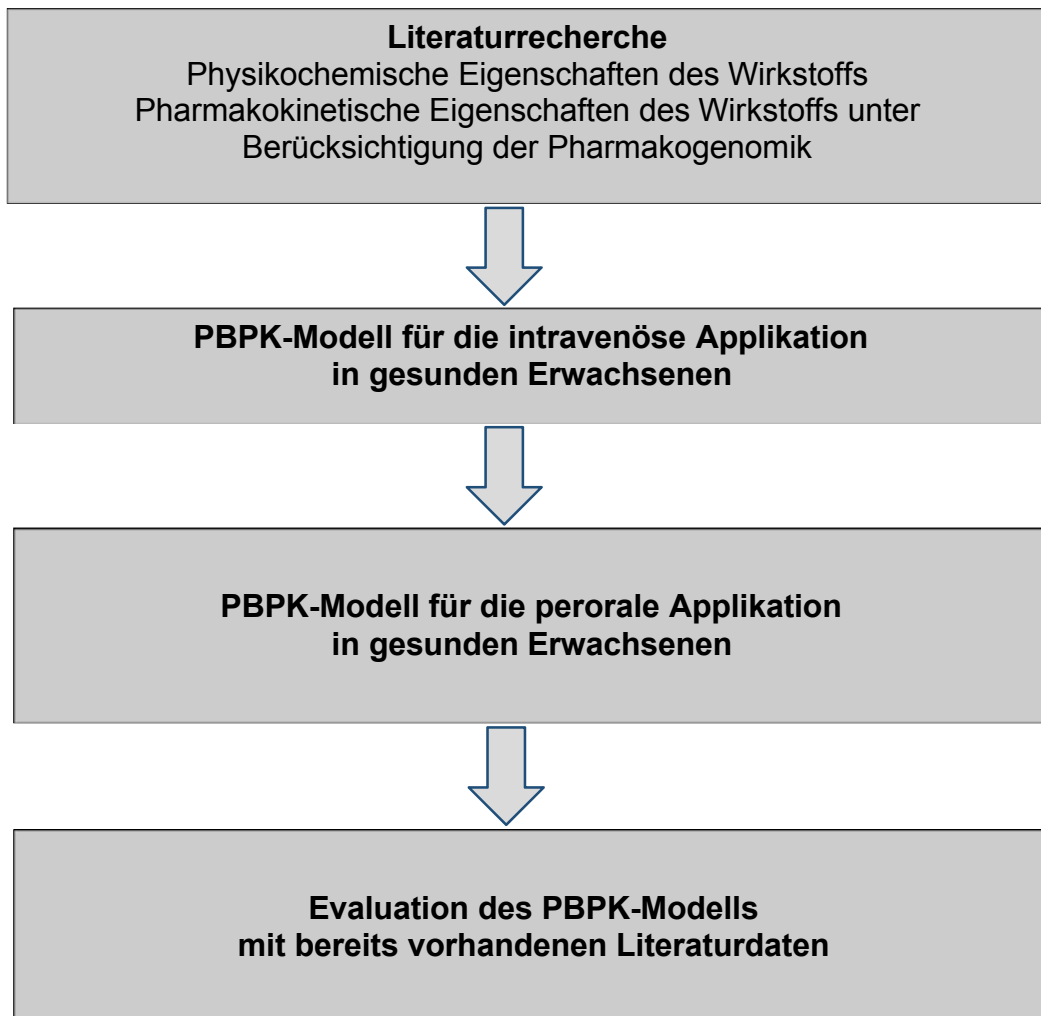


Abbildung 11 Workflow zur Erstellung eines PBPK-Modells für Tacrolimus

Dargestellt sind die einzelnen Teilprozesse während der Erstellung eines physiologiebasierten pharmakokinetischen Modells. Aus substanzspezifischen Daten wird ein intravenöses PBPK-Modell ermittelt, welches durch die Absorptionsprozesse in ein orales PBPK-Modell erweitert wird, bevor es in transplantierten Patienten überprüft werden muss.

Das PBPK-Modell wurde anhand eines „Built-Validate-Learn-Refine“-Schemas entwickelt (Peters 2012).

3.4.2.2 Erstellen – Evaluieren – Lernen – Weiterentwicklungs - Schema

▪ Erstellen (Built-Phase)

In diesem Schritt werden alle verfügbaren physikochemischen und pharmakokinetischen und pharmakogenomischen Daten über die ADME-Prozesse aus der Literatur und aus den Prediction-Tools (Vorhersage-Tools) ermittelt.

Für die Evaluation des PBPK-Modells werden geeignete pharmakokinetische Studien mit Vollblutkonzentrations-Zeit-Profilen ermittelt.

Die physikochemischen Eigenschaften von Tacrolimus, die für ein PBPK-Modell wichtig sind, umfassen das Molekulargewicht, die Dissoziationskonstante, den Verbindungstyp, die Wasserlöslichkeit, das Blut/Plasma-Konzentrationsverhältnis, den Plasma-Proteinbindungspartner, den Verteilungskoeffizienten von Octanol und Wasser (logP), die ungebundene Fraktion im Plasma und Lipoproteinbindungen. Die pharmakokinetischen Eigenschaften von Tacrolimus, die für das PBPK-Modell elementar sind, können wie folgt eingeordnet werden:

1. Absorptionsparameter

Informationen über die Formulierung von Tacrolimus waren für die Unterscheidung einer schnell freisetzenden oder verzögerten Darreichungsform notwendig. Die Permeabilität von Tacrolimus wurde benötigt, um das Permeationsvermögen von Tacrolimus zu beschreiben.

2. Distributionsparameter

Daten über das Verteilungsvolumen von Tacrolimus im Steady-State und der Verteilungskoeffizienten der unterschiedlichen Gewebe und Organe sind für die Beschreibung der Distribution von Tacrolimus im Organismus essentiell.

3. Metabolisierungsparameter

Clearance-Werte der metabolisierenden Enzyme CYP3A4 und CYP3A5, Daten über Transportprozesse des P-Glykoproteins und über die Ausscheidungswege von Tacrolimus sind für die Eingabe der Elimination wichtig. Alle nicht durch Literatur referenzierten Parameter werden anhand von Prediction-Tools, die auf *in silico*-Methoden beruhen, berechnet und für die Erstellung des PBPK-Modells verwendet.

- **Evaluation (Validation-Phase)**

Das in der Built-Phase akkumulierte Wissen über die Physikochemie und Pharmakokinetik von Tacrolimus wird dann für die Simulation und Vorhersage von Tacrolimus-Vollblutkonzentrations-Zeit-Profilen verwendet, die mit bereits aus der Literatur bekannten und geeigneten Konzentrationen überprüft und evaluiert werden sind. Hierbei wird ausgehend von einer intravenösen Applikation das PBPK-Modell erweitert auf ein orales PBPK-Modell in gesunden Erwachsenen.

- **Lernen (Learn-Phase)**

Unstimmigkeiten zwischen den vorhergesagten und tatsächlich gemessenen Werten werden in dieser Phase auf wissenschaftlicher Basis nachvollzogen und erklärt.

- **Weiterentwicklung (Refine-Phase)**

Dieses Wissen wird in die Erstellung des endgültigen PBPK-Modells integriert und das Modell dadurch komplettiert.

3.4.2.3 Modellerstellung

Nach der systematischen Literaturrecherche über die Physikochemie und Pharmakokinetik von Tacrolimus wurden die Eingabeparameter (s. Tabelle 17) verwendet, um ein PBPK-Modell für Tacrolimus in gesunden Erwachsenen zu erstellen.

Physikochemisch wurden das Molekulargewicht von Tacrolimus, die Säurestärke von Tacrolimus, der Verteilungskoeffizient $\log P$ und das Blut/Plasma-Konzentrationsverhältnis R verwendet.

Hingegen wurden auf der Seite der pharmakokinetischen Parameter die ungebundene Arzneistofffraktion im Plasma und die hepatische und die renale Clearance benutzt.

Das gewonnene Ausgangsmodell konnte nun mit den bereits aus der Literatur bekannten Vollblutkonzentrations-Zeit-Profilen verglichen werden. Idealerweise bietet sich hierfür ein Vergleich mit intravenösen Vollblutkonzentrations-Zeit-Profilen an, weil bei dieser Applikationsart der Einfluss der gastrointestinalen Absorption außen vor gelassen werden kann und die Pharmakokinetik von Tacrolimus durch Verteilungs-, Metabolisierungs- und Eliminationsprozesse beschrieben wird.

Der Verteilungskoeffizient $\log P$ beschreibt den logarithmischen Koeffizienten der Verteilung zwischen *n*-Octanol und Wasser. Hierdurch wird das physiologische Verteilungsverhalten eines Arzneistoffes im Körper, zwischen dem Blutplasma und den Lipidmembranen abgeschätzt. Es handelt sich bei dem Koeffizienten um einen *in vitro*-Parameter, der durch unterschiedliche mathematische Modelle ermittelt wird und als grober Wegweiser für die Verteilung eines Arzneistoffs fungiert. Der im PBPK-Modell verwendete Wert von 3,8 konnte die Verteilung von Tacrolimus adäquat widerspiegeln und war literaturreferenziert (Lucangioli et al. 2003).

Im weiteren Verlauf der PBPK-Modellerstellung wurde dieser Wert als fix angenommen und nicht mehr verändert. Beim Überprüfen der intravenösen Literaturdaten hat sich ergeben, dass sich Tacrolimus über einen zweiphasigen

Verlauf nach einer intravenösen Applikation verteilt (s. Abbildung 12).

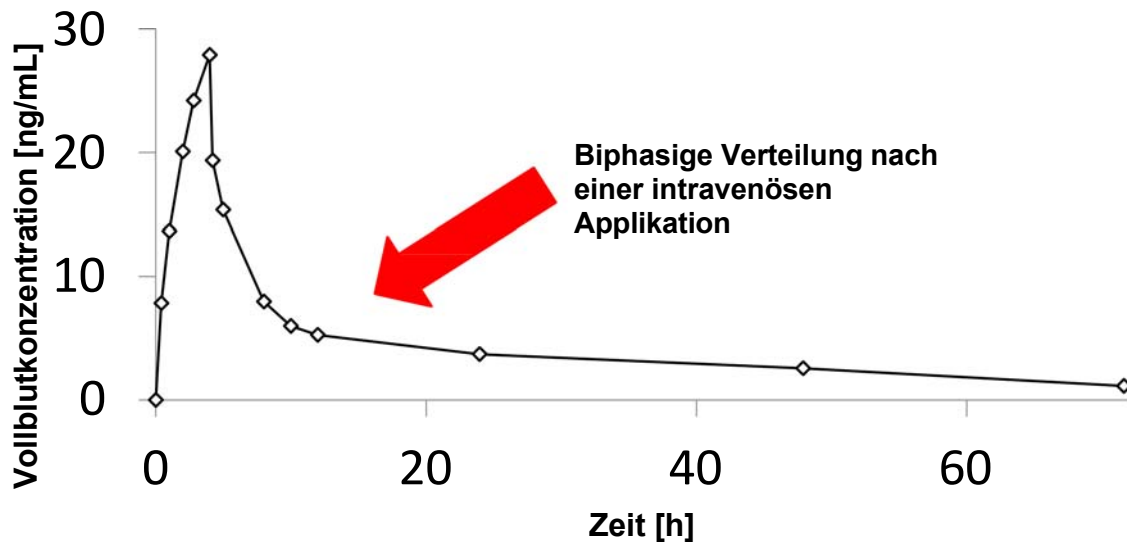


Abbildung 12 Vollblutkonzentrations-Zeit-Profil von Tacrolimus nach intravenöser Applikation

Dargestellt ist der Konzentrations-Zeit-Verlauf einer 4-h-Kurzinfusion von Tacrolimus in gesunden kaukasischen Erwachsenen (Mancinelli et al. 2001).

Dieser Vollblutkonzentrations-Zeit-Verlauf ist bedingt durch die Proteinbindung von Tacrolimus an einem Protein in den Erythrozyten. Die Proteinbindung ist abhängig von der Konzentration und vom jeweiligen Hämatokritwert des Patienten. Weil dieser Vollblutkonzentrations-Zeit-Verlauf in der Modellerstellung mittels eines Ganzkörper-PBPK-Modells nicht darstellbar war, wurde ein Minimal-PBPK-Modell mit dem Einfügen eines angepassten Kompartiments verwendet, das die besondere Verteilung von Tacrolimus im Organismus berücksichtigt und passend an die Vollblutkonzentrations-Zeit-Verläufe der Literatur angleicht.

Mittels der in Simcyp® zur Verfügung stehenden Parameter-Abschätzung wurden die Werte für die Geschwindigkeitskonstanten der Diffusion in und aus dem SAC und für das Verteilungsvolumen, V_{SAC} , abgeschätzt.

Für die Eingabe der hepatischen und renalen Clearance wurde die Vorgehensweise in Abschnitt 3.4.1.5 ausführlich beschrieben. Das PBPK-Modell

für Tacrolimus in gesunden Erwachsenen nach intravenöser Applikation wurde nun auf die perorale Administration von Tacrolimus in gesunden Erwachsenen erweitert.

Die Parametrisierung der Eingabe für die Vorhersage der intravenösen Vollblutkonzentrations-Zeit-Kurven wurde als fest angenommen und beim PBPK-Modell nach peroraler Applikation nicht mehr verändert.

Das PBPK-Modell musste für die Vorhersage peroral applizierter Gaben von Tacrolimus um die Absorptionsvorgänge erweitert werden. Hierfür wurden für die Magenentleerungszeiten und für intestinale Transitzeiten die in der Simcyp® Bevölkerungsdatenbank hinterlegten Datensätze für gesunde nordeuropäische kaukasische Erwachsene benutzt.

Die Permeabilität von Tacrolimus wurde für die drei Darm-Abschnitte Jejunum, Ileum und Colon zu $4,77 \times 10^{-4}$ cm/s, $2,38 \times 10^{-4}$ cm/s bzw. $1,69 \times 10^{-4}$ cm/s ermittelt (Tamura et al. 2002) und konnte unter Benutzung der ADAM-Modells Verwendung finden. Das so entwickelte PBPK-Modell für gesunde Erwachsene nach peroraler Applikation von Tacrolimus wurde nun mit gemessenen Literaturwerten analog zum Vorgehen nach intravenöser Administration überprüft.

3.4.2.4 Auswertung und Modell-Evaluation

Alle Berechnungen in dieser Arbeit wurden mittels Microsoft Excel® durchgeführt. Die Berechnung der pharmakokinetischen Kenngrößen für die nicht-kompartimentelle Analyse der Simulations- und Literaturdaten richtete sich nach den in Abschnitt 3.4.2.5 dargestellten Formeln und wurde mittels des PK-Solvers® in Microsoft Excel® berechnet.

Die Vorhersagekraft („Predictive Performance“) orientierte sich an den Auswertemethoden nach (Sheiner und Beal 1981; Holford NHG, Hale M, Ko HC, Steimer J-L, Sheiner LB, Peck CC 1999).

- **Visual predictive Checks**

Die Übereinstimmung der simulierten Vollblutkonzentrations-Zeit-Verläufe wurde mit den aus der Literatur bereits bekannten visuell verglichen und beurteilt. Die simulierten Werte wurden dabei jeweils durch ihre 5., 50. (Mittelwert) und 95.

Perzentile sowie durch Maximal- und Minimalwerte dargestellt.

- **Nicht-kompartimentelle Analyse (NCA)**

Die pharmakokinetischen Kenngrößen wurden für die simulierten und die beobachteten Vollblutkonzentrations-Zeit-Verläufe nicht-kompartimentell mit dem PK-Solver® berechnet und der Quotient aus beiden gebildet. Ein Quotient im zweifachen Fehlerbereich zwischen 0,5 und 2 weist auf ein PBPK-Modell hin, welches adäquate Vorhersagen trifft.

3.4.2.5 Auswertungen der Ergebnisse der nicht-kompartimentellen Analyse

Die Tacrolimus-Konzentrationen wurden im Vollblut simuliert und die in der Literatur bekannten Daten sind allesamt Vollblutkonzentrations-Zeit-Kurven. Für die Bewertung der nicht-kompartimentellen Analyse wurden die Eliminationshalbwertszeit, die Gesamtexposition, die Clearance und das Verteilungsvolumen im Steady-State mittels des in Excel integrierten PK-Solvers® berechnet.

Die Eliminationshalbwertszeit $t_{1/2}$ ergibt sich aus der Eliminationskonstanten k_e :

$$t_{1/2} = \frac{\ln 2}{k_e} \quad \text{Formel 25}$$

Die Eliminationskonstante k_e ist die Steigung der logarithmierten Vollblutkonzentrations-Zeit-Verläufe im Eliminationsteil nach Abschluss der Absorptionvorgänge. Durch mindestens drei Datenpunkte logarithmierter Konzentrationen kann mittels einer linearen Regression die Steigung ermittelt werden. Dieses Vorgehen wurde für die Simulations- und die Literaturprofile verwendet.

Die Arzneimittelexposition, gemessen als AUC, berechnet sich aus dem folgenden Zeitintegral über die Konzentrationen c_t gemäß der Formel 26.

$$AUC_{0-\infty} = \int_0^{\infty} c_t \cdot dt \quad \text{Formel 26}$$

Die Berechnung der AUC wird mittels der linearen Trapezregel vollzogen. Die AUC zwischen den Zeitpunkten „0“ und dem „ t_{last} “, dem letzten gemessenen Zeitpunkt, ergibt sich aus:

$$AUC_{0-t_{last}} = 1/2 \sum_{i=2}^{last-1} (t_{i+1} - t_i) \cdot (c_{i+1} + c_i) \quad \text{Formel 27}$$

Die nach einer Einmalgabe relevante pharmakokinetische Kenngröße ist die $AUC_{0-\infty}$, obwohl unmittelbar aus den Daten nur die AUC bis zur letzten gemessenen Konzentration bestimmt werden kann. Hier wird die Restfläche durch Extrapolation aus der zuletzt gemessenen Konzentration c_{last} und der Eliminationskonstanten k_e bestimmt und aus Formel 27 und 28 die Summe gebildet.

$$AUC_{0-t_{last}} = \frac{c_{last}}{k_e} \quad \text{Formel 28}$$

$$AUC_{0-\infty} = AUC_{0-t_{last}} + AUC_{t_{last}-\infty} \quad \text{Formel 29}$$

Unter Verwendung der eingesetzten Dosis D und der aus Formel 29 ermittelten $AUC_{0-\infty}$ lässt sich die orale Clearance CL/F bzw. die intravenöse Clearance CL_{iv} schnell herleiten (s. Formel 30 und 31).

$$\frac{CL}{F} = \frac{D}{AUC_{0-\infty}} \quad \text{Formel 30}$$

$$CL_{iv} = \frac{D}{AUC_{0-\infty}} \quad \text{Formel 31}$$

Das Verteilungsvolumen im Steady-State beschreibt die Verteilung eines Wirkstoffs bestmöglich. Es wird aus der mittleren Verweilzeit (mean residence time (MRT)) und der Clearance berechnet.

$$V_{ss} = CL \cdot MRT \quad \text{Formel 32}$$

Die mittlere Verweilzeit (MRT) wird durch die Formel 33 berechnet:

$$MRT = \frac{AUMC}{AUC} - \frac{\tau}{2} \quad \text{Formel 33}$$

τ ist die Infusionszeit und die AUMC („area under the moment curve“) das Integral über das erste (statistische) Moment (Cawello 1998).

Die AUMC ergibt sich dann aus Formel 34:

$$AUMC_{last} = \frac{t_{last} \cdot c_{last}}{k_e} + \frac{c_{last}}{k_e^2} \quad \text{Formel 34}$$

3.5 Ergebnisse

3.5.1 Erläuterung zur Darstellung der Simulationsergebnisse

In der vorliegenden Arbeit wurde für die simulierte Population eine Größe von 100 Individuen zugrunde gelegt. Weil es sich um einen populationspharmakokinetischen physiologiebasierten Ansatz handelt, wird für jedes einzelne Individuum eine Simulation generiert.

Die Art der Darstellung beschränkt sich auf die Visualisierung der 5. Perzentile, des Mittelwerts und der 95. Perzentile der jedem Simulationszeitpunkt zugeordneten Konzentrationen. Die Fläche zwischen der 5. und 95. Perzentile beinhaltet 90 % aller simulierten Konzentrationen, jeweils 5 % liegen ober- bzw. unterhalb. Die Minimal- und Maximalwerte jeder simulierten Konzentration dienen der Orientierung und sollen eine bessere Einordnung der Daten ermöglichen.

Ausreißer haben direkten Einfluss auf diese Werte. Im Verhältnis zu den Perzentilangaben sind die Minimal- und Maximalwerte weniger robust. Die für den Vergleich der Simulationsdaten herangezogenen Literaturdaten hatten als Datenbasis Mittelwertsprofile der jeweiligen Studienpopulation.

3.5.2 PBPK-Modell für Tacrolimus in gesunden Erwachsenen

3.5.2.1 Ergebnisse der Literanalyse zur Pharmakokinetik von Tacrolimus

Tacrolimus gehört zu den Substanzen der „Biopharmazeutischen Klasse 2 (Biopharmaceutical class 2 (BCS 2))“, die über eine geringe Wasserlöslichkeit und eine hohe Permeabilität verfügen (Tamura et al. 2002). Die Bioverfügbarkeit von Tacrolimus ist gering aufgrund der schlechten Wasserlöslichkeit und des hohen Metabolismus der Substanz.

Die Struktur von Tacrolimus ähnelt der eines Makrolid-Laktone und der Wirkstoff hat hydrophobe Eigenschaften.

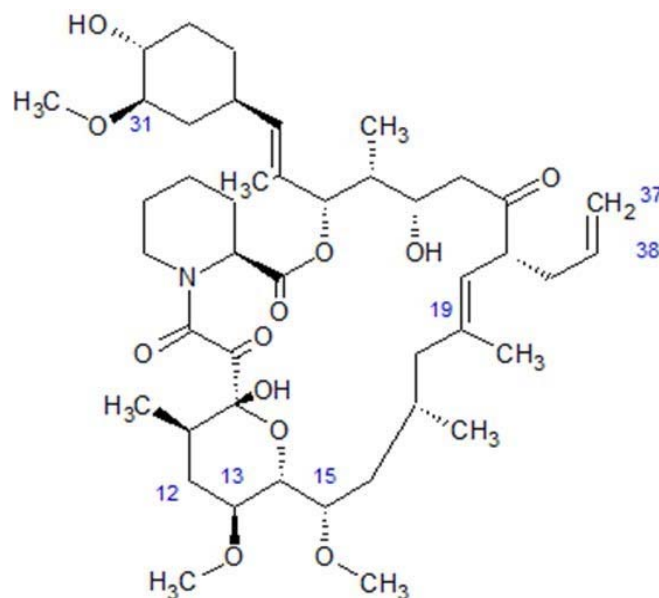


Abbildung 13 Strukturformel von Tacrolimus

Dargestellt ist die Makrolid-Lakton-Struktur von Tacrolimus. Die blau nummerierten C-Atome stellen diejenigen C-Atome dar, an denen Tacrolimus metabolisiert wird. Der Metabolismus von Tacrolimus findet über eine Demethylierung bzw. Hydroxylierung und/oder einer Kombination aus beiden Abbauwegen statt.

Die gemessenen Löslichkeiten von Tacrolimus belegen, dass es schlecht in Wasser löslich ist (s. Tabelle 7). Daher wurde für die perorale Formulierung mit Hydroxypropylcellulose eine fest dispergierbare Darreichungsform erstellt (Honbo et al. 1987).

Tabelle 7 Löslichkeit von Tacrolimus

Löslichkeit	Wert	Referenz
in Wasser	4-12 µg/mL	(Tamura et al. 2002)
in Wasser (pH 6,5)	1,0 µg/mL	(Mollison et al. 1998)
in Wasser (pH 7,4)	5,2 µg/mL	(Mollison et al. 1998)
Intrinsische Löslichkeit	3,8 · 10 ⁻² mg/mL	ADMET predictor™

Tabelle 8 Permeabilität von Tacrolimus

Permeabilität	Wert	Referenz
Vorhergesagter P _{eff man} (jejunum)	4,77 · 10 ⁻⁴ cm/s	(Tamura et al. 2002)
Vorhergesagter P _{eff man} (ileum und colon)	2,38 · 10 ⁻⁴ cm/s 1,69 · 10 ⁻⁴ cm/s	(Tamura et al. 2002)
Vorhergesagter P _{app} (Caco)	1,33 · 10 ⁻⁴ cm/s	(Tamura et al. 2002)
P _{app}	1,33 · 10 ⁻⁴ cm/s	(Tamura et al. 2002)
PSA	178 (12 Akzeptoren /3 Donatoren)	ADMET predictor/Pubchem
P _{eff}	5,95 µm/s	(Gertz et al. 2011)

P_{app} = apparente Permeabilität; P_{eff} = effektive Permeabilität; man = im Menschen; colon = Colon; ileum = Ileum; jejunum = Jejunum; PSA = Poly Surface Area

Die Permeabilität zeigt einen Bereich zwischen 1,33 und 4,77·10⁻⁴ cm/s (s. Tabelle 7).

Tamura et al. korrelierten rattenspezifische Permeabilitätsdaten mit humanen Permeabilitäten und ermittelten so für drei Darmsegmente die jeweilige Permeabilität. Ebenfalls wurde die Permeabilität mittels Caco-2-Zellen ermittelt.

Als Eingabeparameter wurden im Rahmen des „Advanced Absorption Dissolution“ (ADAM) –Modells die drei Werte für die unterschiedlichen Darmregionen gewählt und die durch Kawai et al. (1998) ermittelte Wasserlöslichkeit. Dabei konnte für

jedes Teilstück jeweils die Permeabilität eingesetzt werden (Jejunum $4,77 \cdot 10^{-4}$ cm/s, Ileum $2,38 \cdot 10^{-4}$ cm/s und Colon $1,69 \cdot 10^{-4}$ cm/s; s. Tabelle 9).

Das Jejunum zeigte erwartungsgemäß den Abschnitt der höchsten Permeabilität und das Colon den mit der niedrigsten Permeabilität.

Es gab aufgrund der geringen Wasserlöslichkeit keine Löslichkeitsprofile über Tacrolimus, die in der Literatur beschrieben wurden. Die Bestimmung des pK_s -Werts wurde nur über zwei Prediction-Tools berechnet, die anhand der Struktur die pK_s -Werte von Arzneistoffen kalkulieren.

Gertz et al. (2011) schreiben, dass Tacrolimus eine neutrale Verbindung ist, ohne weiter darauf einzugehen, wie die Annahme gestützt wird.

Für das vorliegende PBPK-Modell wurde Tacrolimus aufgrund der hydrophoben Struktur und der Studie von Gertz et al. (2011) als neutrale Verbindung eingestuft, die bei physiologischen pH-Werten weitestgehend nicht ionisiert vorliegt (s. Tabelle 9).

Tabelle 9 Säurekonstante von Tacrolimus

Säurekonstante	Wert	Referenz
Vorhergesagter Wert pK_s	14.07	(The Metabolomics Innovation Centre 2014)
Vorhergesagter Wert pK_s	10,27	Marvin®
pK_s	Neutral	(Gertz et al. 2011)

pK_s = negativ dekadischer Logarithmus der Säurekonstante

Die Absorption von Tacrolimus findet im Mittel schnell statt mit t_{max} -Werten zwischen 1 und 2 Stunden nach Tacrolimus-Gabe (Wallemacq und Verbeeck 2001; Möller et al. 1999; Bekersky et al. 1999a; Bekersky et al. 1999b; Undre et al. 1999).

Die Absorptionskonstante von Tacrolimus liegt in der Literatur zwischen 2,6 und 4,5 h⁻¹.

Tabelle 10 Absorptionskonstante von Tacrolimus

Absorptionskonstante	Wert	Referenz
k_a	2.6 h ⁻¹	(Gertz et al. 2011)
k_a	4.5 h ⁻¹	(Venkataramanan et al. 1995)

Der Gallenfluss hat keinen Einfluss auf die Absorption von Tacrolimus (Boettger et al. 2006). Im Mittel beträgt die Bioverfügbarkeit von Tacrolimus zwischen 20 und 25 % (Wallemacq et al. 1998).

Tabelle 11 Bioverfügbarkeit von Tacrolimus

Bioverfügbarkeit	Wert	Referenz
F_G	0.14	(Gertz et al. 2011)
$F_{G(Q_{gut})}$	0.28	(Gertz et al. 2011)
$F_{G(PBPK)}$	0.28	(Gertz et al. 2011)
F_G	0.20-0.25	(Astellas Pharma GmbH 2006)

Q_{gut} = berechneter Wert mittels eines Modells basierend auf den Blutflüssen im Darm (Q_{gut});
 PBPK = berechneter Wert mittels eines Modells basierend auf einem PBPK-Modell

Die verhältnismäßig niedrige Bioverfügbarkeit lässt sich auf die vor Absorption ins zentrale Kompartiment erfolgte Metabolisierung im Darm und die Aktivität einer P-Glykoprotein Effluxpumpe zurückführen (Wallemacq und Verbeeck 2001; Undre 2003).

Tacrolimus wird fast vollständig (zu über 90 %, s. Tabelle 12) im Dünndarm aus der Dosis absorbiert.

Tabelle 12 Absorbierte Fraktion von Tacrolimus

Fraktion	Wert	Referenz
f_a	0.9	(Barter et al. 2010)
f_a	0.9	(Mancinelli et al. 2001)
f_a	0.9	(Bekersky et al. 2001)

Im zentralen Kompartiment verteilt sich Tacrolimus und bindet über eine reversible Proteinbindung an die Erythrozyten. Dies führt zu Blut/Plasma-Konzentrationsverhältnissen von 15:1 (Venkataramanan et al. 1995; Staatz und Tett 2004). Diese Bindung ist von der Konzentration an Tacrolimus im Blut und vom Hämatokritwert des Individuums abhängig (Beysens et al. 1991; Machida et al. 1991).

Tabelle 13 Blut-/Plasma – Konzentrationsverhältnis von Tacrolimus

R (Blut/Plasma Ratio)	Wert	Referenz
R (Lebertransplantierte)	9.8 ± 5.5	(Venkataramanan et al. 1995)
R (Mittelwert)	12.8 ± 8.4	(Venkataramanan et al. 1995)
R (0-2 ng/mL)	20-50	(Jusko und D'Ambrosio 1991)
R (> 5 ng/mL)	11	(Jusko und D'Ambrosio 1991)
R	>4	(Venkataramanan et al. 1991)
R (Lebertransplantierte)	55 ± 26.8	(Venkataramanan et al. 1995)
R	0.65	ADMET predictor™
R	35	(Gertz et al. 2011)
B _{max} (Lebertransplantierte)	418 ± 258 µg/L	(Venkataramanan et al. 1995)
K _D (Lebertransplantiert)	3.8 ± 4.7 µg/L	(Venkataramanan et al. 1995)
B _{max} (gesunde Freiwillige)	1127 µg/L	(Venkataramanan et al. 1995)
K _D (gesunde Freiwillige)	13.5 µg/L	(Venkataramanan et al. 1995)
R	15 (4-114)	(Venkataramanan et al. 1995)
R (Nierentransplantierte)	16.8 ± 9.9	(Venkataramanan et al. 1995)

B_{max} = maximale Bindungsaffinität; K_D = Dissoziationskonstante aus den Erythrozyten

Die Verteilung von Tacrolimus kann aus dem Verteilungskoeffizienten von n-Octanol und Wasser beurteilt werden. Für Tacrolimus gibt es einen weiten Bereich zwischen 0,38 und 5,59 für den Verteilungskoeffizienten logP (s. Tabelle 14). Für das PBPK-Modell wurde der logP von 3,77 (Lucangioli et al. 2003) angenommen, der für die Simulationen die besten Annäherungen für die Verteilungsprozesse der Vollblutkonzentrations-Zeit-Profile gezeigt hat.

Tabelle 14 Verteilungskoeffizient von Tacrolimus

Lipophilie	Wert	Referenz
logP _{ow} (exp.)	3,77 ^b	(Lucangioli et al. 2003)
logP _{ow} (SP)	3,96 ^c	(Lucangioli et al. 2003)
logP (MEEKC (SDS))	4,62 ^d	(Lucangioli et al. 2003)
logP (MEEKC (PCSC))	3,4 ^d	(Lucangioli et al. 2003)
logP (MEEKC (PCSDC))	3,67 ^d	(Lucangioli et al. 2003)
logD (pH 7,4)	4,38	(Mollison et al. 1998)
logD (pH 6,5)	4,36	(Mollison et al. 1998)
S+logP	4,02	ADMET predictor™
S+logD	4,02	ADMET predictor™
logP	3,77	(Barter et al. 2010)
logP	3,26	(Gertz et al. 2011)
logP	3,19	(The Metabolomics Innovation Centre 2014)
logP	5,59	(The Metabolomics Innovation Centre 2014)
XLogP3	2,7 ^a	Tacrolimus - Compound Summary (CID 445643) (Pubmed compound)
logP	0,386	(Takada et al. 1992)

logP_{ow} (exp.) = Verteilungskoeffizient von Octanol nach Wasser (experimentell bestimmt);
logP_{ow} (SP) = Verteilungskoeffizient von Octanol nach Wasser (Festphasenextraktion);
logP (MEEKC SDS/PCSC/PCSDC) = auf Basis von Mikroemulsionen bestimmte Verteilungskoeffizienten von Octanol in Wasser
logD = Diffusionskoeffizient
S+logP/D = der über eine Berechnung des Admet Predictor berechnete logP Wert
XLogP3 = Berechnungsmethode des Verteilungskoeffizienten in Octanol nach Wasser

Der logP - Wert wurde experimentell bestimmt und beschreibt die lipophilen Eigenschaften von Tacrolimus adäquat.

Im Plasma bindet Tacrolimus zu über 98 % an humanes Serumalbumin bzw. α_1 -saures Glykoprotein (Venkataramanan et al. 1995). Diese Verteilungseffekte sind von großer klinischer Bedeutung.

Die ungebundene Fraktion an Arzneistoff beträgt bei Tacrolimus laut Literaturangaben zwischen 1 und 3 % im Plasma (s. Tabelle 15).

Tabelle 15 Eingabeparameter; ungebundene Fraktion

Ungebundene Fraktion	Alter der Population [Jahre]	Referenz
$f_u = 4,6 \pm 0,4$	n.a.	(Weiss et al. 2008)
$f_u = 3,2 \pm 0,4$	n.a.	(Weiss et al. 2008)
$f_u = 3,3 \pm 0,4$	n.a.	(Weiss et al. 2008)
$f_u = 0,53 (0,48-0,60)^a$	46,2	(Zahir et al. 2004)
$f_u = 0,32 (0,15-0,45)^b$	47,8	(Zahir et al. 2004)
$f_u = 0,43 (0,33-0,45)^c$	51,3	(Zahir et al. 2004)
$f_u=0,43^d$	44,5	(Zahir et al. 2004)
$f_u < 0,012$	n.a.	(Wallemacq und Verbeeck 2001)
$f_u = 0,013$	0,013	(Barter et al. 2010)
$f_u = 0,013$	0,013	(Gertz et al. 2011)

f_u = ungebundene Fraktion

Eliminationsprozesse von Tacrolimus finden zum Großteil in der Leber und im Darm statt.

Die Metabolisierung von Tacrolimus findet über die Enzyme CYP3A4 und CYP3A5 statt (Dai et al. 2006; Iwasaki et al. 1995).

Tacrolimus wird in mindestens zehn unterschiedliche Metaboliten hydroxyliert, demethyliert bzw. durchläuft eine Kombination aus beiden Phase-I-Metabolisierungsprozessen (s. Abbildung 13; Iwasaki et al. 1995).

Der 31-O-Demethyl-Tacrolimus-Metabolit zeigt eine dem Tacrolimus vergleichbare pharmakologische Aktivität (Iwasaki et al. 1995). Alle anderen Metaboliten sind entweder pharmakologisch inaktiv oder ihre pharmakologische Aktivität liegt unter 6,4 %.

Zwei der zehn Metaboliten zeigten Kreuzreaktionen mit den gängigen Immun-Assays vom „Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay“ (ELISA)-Typ (Iwasaki et al. 1995), die beim TDM benutzt werden.

Unter der Annahme, dass hohe Konzentrationen von 15-O-demethyliertem und 15,31-O-di-demethyliertem Tacrolimus im Blut vorliegen, was bei einer erhöhten Produktion und einer verminderten Ausscheidung der Metaboliten der Fall wäre, würde ein Therapeutisches Drug Monitoring auf Immun-Assay-Basis eine Überschätzung der immunsuppressiven Arzneimittelwirkung nach sich ziehen.

Möller et al. (1999) und Gonschior et al. (1994) konnten in lebertransplantierten Patienten feststellen, dass die Konzentrationen der Metaboliten niedrig sind.

Tacrolimus ist ein Arzneistoff, der eine niedrige Clearance zeigt (2,25 L/h in gesunden Erwachsenen; Möller et al. 1999) und ein niedriges hepatisches Extraktionsverhältnis vermuten lässt.

Die Eliminationshalbwertszeit liegt zwischen 30 und 40 Stunden (Venkataramanan et al. 1995; Staatz und Tett 2004; Möller et al. 1999).

Weniger als 1 % von Tacrolimus wird unverändert über den Urin ausgeschieden (Möller et al. 1999), also spielt der renale Eliminationsweg eine untergeordnete Rolle.

3.5.2.2 Ergebnisse der Modellentwicklung für Tacrolimus

Nun folgen die aus der Literaturrecherche und mit den Prediction-Tools vorhergesagten physikochemischen und pharmakokinetischen Charakteristika von Tacrolimus, die für das PBPK-Modell als Eingabeparameter in der Simulationssoftware Simcyp® Version 13.2 eingesetzt wurden (s. Tabelle 16).

Tabelle 16 Eingabeparameter für das PBPK-Modell

Parameter	Einheit	Werte für das Modell	Referenzwert	Referenz
Physikochemische Eigenschaften				
Molekulargewicht	g/mol	804	804	(Kino et al. 1987)
ungebundene Fraktion (f_u)		0.03	0.03	(Weiss et al. 2008)
Blut-/Plasma Konzentrationsverhältnis (B:P)		15	15	(Venkataramanan et al. 1995)
Logarithmus des Octanol/Wasser-Verteilungskoeffizienten ($\log P_{ow}$)		3.8	3.8	(Lucangioli et al. 2003)
Verbindungstyp		Neutral	Neutral	(Gertz et al. 2011)
Hauptplasmaproteinbindung		Humanes Serumalbumin (HSA)	Humanes Serumalbumin (HSA)	(Venkataramanan et al. 1995)
Absorption				
Modell		ADAM	ADAM	(Jamei et al. 2009)
Permeabilität (P_{eff}) (Jejunum/Ileum/Colon)	10^{-4}cm/s	4.77/2.38/1.6	4.77/2.38/1.6	(Tamura et al. 2002)
absorbierte Fraktion (f_a)		9	9	
Absorptionskonstante (k_a)	h^{-1}	0.99	≥ 0.9	(Mancinelli et al. 2001)
		1.93	2.6	(Gertz et al. 2011)
Distribution				
Modell		Minimal-PBPK	Minimal-PBPK	(Jamei et al. 2009)
Verteilungsvolumen im Steady-State (V_{ss})	L/kg	6.035	1.48 (0.51-3.52)	*siehe Erläuterungen
Elimination				
Systemische <i>in vivo</i> -Clearance (CL_{iv})	L/h	65	50.37 (28.47-97.46)	(Mancinelli et al. 2001)
CYP3A4: 60 %	$\mu\text{L}/\text{min}/\text{pmo}$	2.533		*siehe Erläuterungen
Hepatische intrinsische Clearance ($CL_{int \text{ CYP3A4}}$)	l			
CYP3A5: 40 %	$\mu\text{L}/\text{min}/\text{pmo}$	2.246		*siehe Erläuterungen
Hepatische intrinsische Clearance ($CL_{int \text{ CYP3A5}}$)	l			
CYP3A5*1/*1 Clearance (Expresser)	$\mu\text{L}/\text{min}/\text{pmo}$	4		*siehe Erläuterungen
CYP3A5*3/*3 Clearance (Nicht-Expresser)	$\mu\text{L}/\text{min}/\text{pmo}$	0.5		*siehe Erläuterungen
Renale Clearance (CL_R)	L/h	0	0	(Barter et al. 2010)

3.5.2.3 Ergebnisse für das PBPK-Modell nach intravenöser Applikation

Es gibt drei bereits in der Literatur bekannte pharmakokinetische Studien, die eine 4-h-Kurzinfusion von Tacrolimus beschreiben, sich aber in der jeweiligen Dosierung und in der analytischen Messmethode unterscheiden. Bekersky et al. (2001) haben mit einer Dosierung von 0,025 mg/kg die höchste Dosierung und nutzen als analytische Messmethode einen ELISA, der als Immun-Assay eingeordnet werden kann. Abbildung 14 vergleicht die simulierten Werte einer virtuellen Population von 100 gesunden Individuen mit den 8 gesunden Individuen (2 weibliche und 6 männliche Freiwillige) der Literatur.

Die Studienpopulation der pharmakokinetischen Studie hatte einen Altersdurchschnitt von 28 Jahren (± 10 Jahre SD) und ein mittleres Körpergewicht von 78,1 kg ($\pm 12,9$ kg SD). Die sechs männlichen Erwachsenen waren kaukasischer Herkunft, jeweils eine Frau hatte eine kaukasische oder eine lateinamerikanische Herkunft.

Alle experimentell bestimmten Punkten aus der Literatur verlaufen innerhalb des 90%-igen Simulationsbereichs. Die Maximalkonzentration C_{max} beträgt experimentell 49,3 ng/mL, der von Simcyp® simulierte Wert liegt bei 45,6 ng/mL, wobei bei den experimentell gemessenen Vollblutkonzentrationen keine Standardabweichungen in der Literatur vermerkt worden sind. Das Modell scheint die erste Verteilungsphase adäquat zu beschreiben, weil alle experimentellen Punkte auf der Simulationskurve liegen. Im mittleren Teil des Vollblutkonzentrations-Zeit-Profiles fällt die simulierte Kurve im Verhältnis zur experimentellen Messung steiler ab.

Der Grund für den Unterschied zwischen den Kurven liegt möglicherweise in der Verteilung von Tacrolimus. Man kann im halblogarithmischen Konzentrations-Zeit-Verlauf eindeutig zwei Phasen erkennen, die auf die Verteilung in die Erythrozyten und die dadurch beeinflusste Clearance zurückzuführen sind. Ein anderer Grund dafür könnte sein, dass beim Immun-Assay die Konzentration der kreuzreaktiven Metabolite (15-O-Demethyltacrolimus bzw. 15,31-O-Di-demethyltacrolimus) zu hoch sind und den Verlauf der Kurve leicht ändern. Die Eliminationsprozesse im

letzten Teil werden wieder besser getroffen, wie die Messpunkte auf der simulierten Grade veranschaulichen. Das Fehlen von Standardabweichungen der gemessenen Konzentrationen wurde in der Publikation nicht kommentiert. Die Dokumentation der in der Publikation gemessenen Daten war ungenau.

Die nicht-kompartimentelle Analyse der pharmakokinetischen Kenngrößen aus den experimentellen und simulierten Vollblutkonzentrations-Zeit-Profilen hat gezeigt, dass alle Kenngrößen innerhalb eines 2-fachen Fehlerbereichs lagen (s. Tabelle 17).

Hierzu wurde gemäß der im Abschnitt 3.4.2.5 vorgestellten Formeln für die Simulationskurven und die in der Literatur erwähnten Vollblutkonzentrations-Zeit-Profile jeweils die pharmakokinetischen Kenngrößen berechnet und daraus der Quotient ermittelt. Dieser musste zwischen 0,5 und 2 liegen, um im 2-fachen Fehlerbereich zu liegen.

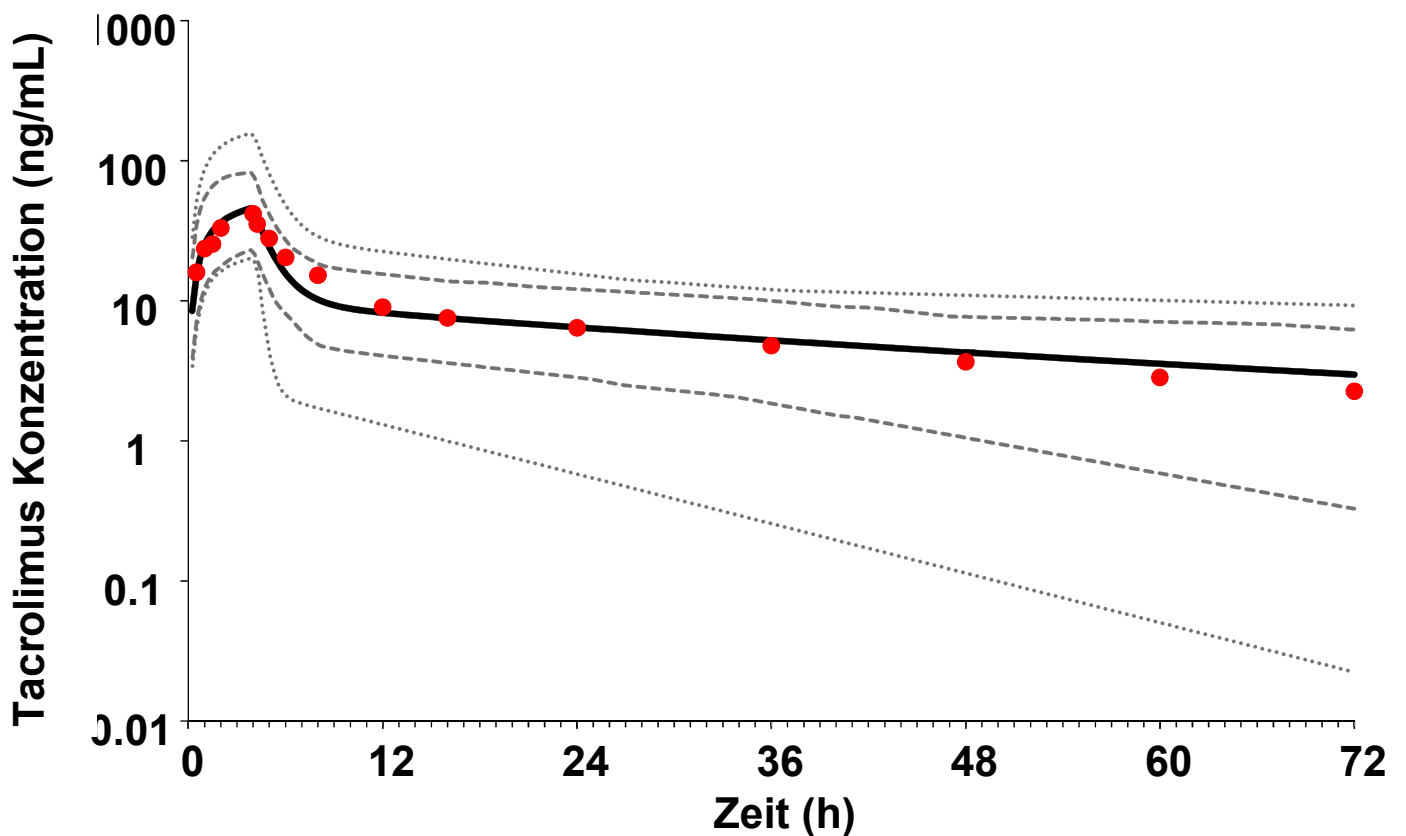
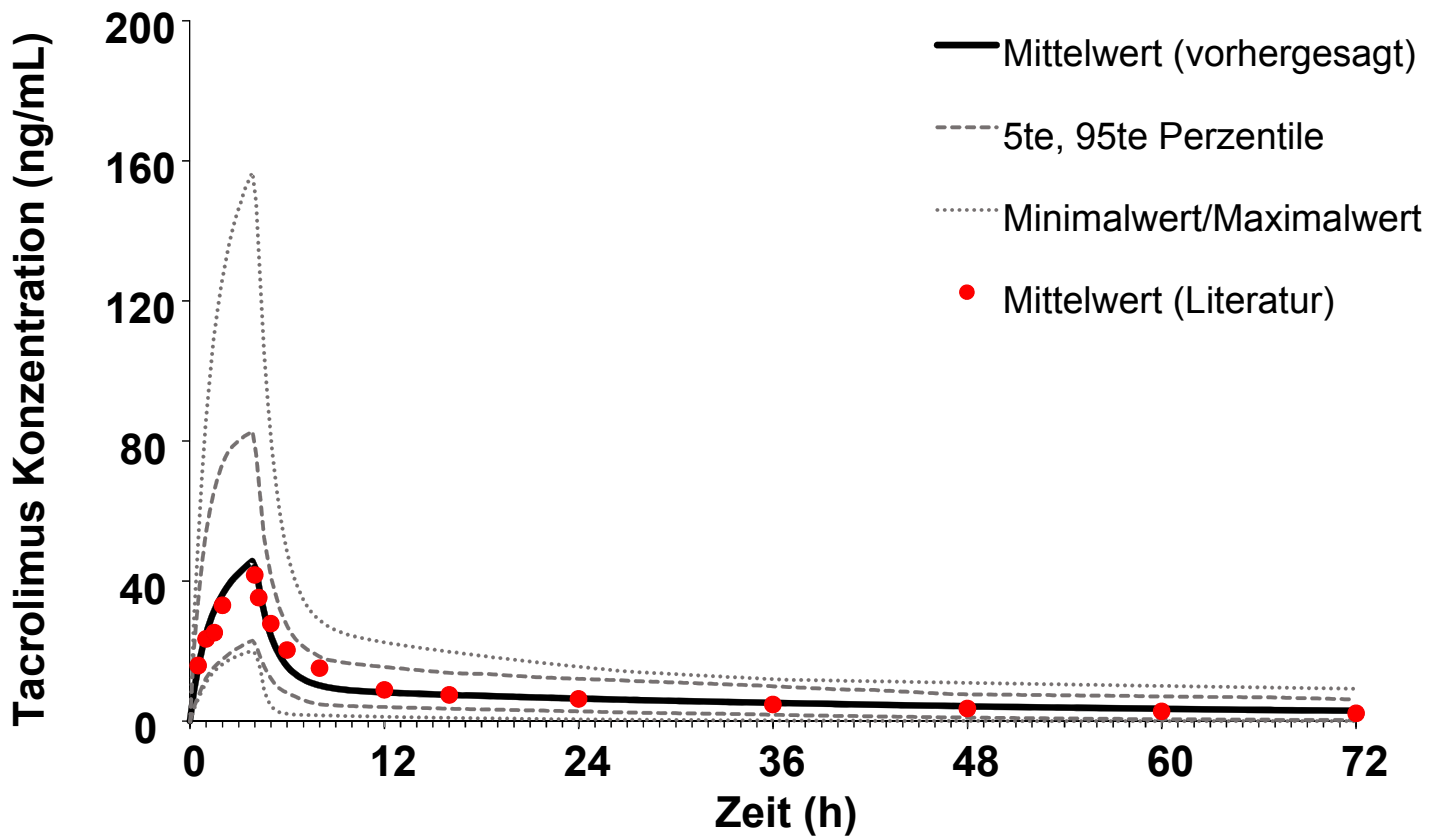


Abbildung 14 PBPK-Modell nach intravenöser Applikation von Tacrolimus
 Dargestellt sind die Vollblut-Konzentrations-Profile einer über 4 h infundierten Kurzinfusion von 0,025mg/kg Tacrolimus in linearer und halblogarithmierter Visualisierung.

Physiologiebasiertes pharmakokinetisches Modell von Tacrolimus in gesunden
Erwachsenen

Tabelle 17 Nicht-kompartimentelle Analyse der intravenösen Studien von Tacrolimus

Studie	Dosis [mg/kg]	V_{ss} [L/kg]			k_e [h^{-1}]			$t_{1/2}$ [h]			$AUC_{0-\infty}$ [ng·h/mL]			C_{max} [ng/mL]			CL_{iv} [L/h/kg]		
		OBS	SIM	Ratio	OBS	SIM	Ratio	OBS	SIM	Ratio	OBS	SIM	Ratio	OBS	SIM	Ratio	OBS	SIM	Ratio
Möller 1999	0,01	0,11	0,12	0,91	0,01 51	0,02 01	0,75	43,5	34,5	1,26	384	323,	1,18	21,4	18,6	1,15	0,029	0,030	0,96
Mancinelli 2001 A	0,015	1,48	1,22	1,21	0,02 37	0,02 01	1,18	29,3	34,6	0,84	321	484,	0,66	27,9	27,9	1	0,046	0,031	1,48
Mancinelli 2001 B	0,015	1,18	1,22	0,97	0,02 89	0,02 01	1,44	24,0	34,6	0,70	341	378,	0,90	27,4	32,2	0,85	0,040	0,031	1,29
Mancinelli 2001 C	0,015	1,08	1,22	0,89	0,02 75	0,02 01	1,37	25,2	34,6	0,73	332	378,	0,87	28,3	32,2	0,88	0,041	0,031	1,33
Bekersky 2001	0,025	1,22	2,32	0,53	0,02 06	0,02 01	1,02	25,5	34,5	0,74	384	323	1,19	21,4	18,6	1,15	0,029	0,030	0,96

Die Studie von Mancinelli hat die intravenöse Exposition in (A) Kaukasiern, (B) Lateinamerikanern und (C) Afro-Amerikanern gemessen;
 $AUC_{0-\infty}$ = Fläche unter der Kurve von null bis unendlich; C_{max} = Maximalkonzentration; CL_{iv} = intravenöse systemische Clearance; k_e = Eliminationskonstante;
 $t_{1/2}$ = Eliminationshalbwertszeit; OBS = Literaturdaten; SIM = Simulierte Werte; Ratio = Quotient OBS/SIM

Ein PBPK-Modell, welches innerhalb dieser Limitationen liegt, wird von anderen Wissenschaftlern als für die Vorhersage geeignetes Modell gesehen (Khalil und Læer 2014; Ginsberg et al. 2004).

Die pharmakokinetische Studie von Mancinelli et al. (2001) hat intravenöse Vollblutkonzentrations-Zeit-Profile in drei unterschiedlichen Ethnizitäten über einen „Liquid Chromatography Tandem Mass Spectroscopy“ (LC/MS/MS)-Assay gemessen.

Die Patienten waren Kaukasier, Afro-Amerikaner und Lateinamerikaner mit einem Alters- und Gewichtsmittelwert von 32,3 Jahren ($\pm 10,8$ Jahre SD), 44,6 Jahren ($\pm 19,6$ Jahre SD) und 35,7 Jahren ($\pm 11,6$ Jahre SD) und einem Gewicht von ± 20 % innerhalb ihres idealen Körpergewichts. Die Dosierung für das intravenöse Dosierungsregime betrug 0,015 mg/kg und wurde als Kurzinfusion über 4 Stunden appliziert. Es wurden 14 Blutproben entnommen für die resultierenden Vollblutkonzentrations-Zeit-Profile.

Der Simulationsbereich konnte alle experimentellen Daten abdecken. Im Vergleich zur Verteilung bei der über ELISA gemessenen Vollblutkonzentration zeigen die experimentell ermittelten Konzentrationen eine bessere Annäherung, was die Annahme stärkt, dass möglicherweise die Metaboliten von Tacrolimus verantwortlich sind. In der halblogarithmischen Auftragung zeigt sich dennoch ein ähnlicher Effekt wie in Abbildung 15, der auf Verteilungsvorgänge zurückzuführen ist. Sowohl die Absorptions- als auch die Eliminationsprozesse werden durch die simulierte Kurve adäquat beschrieben. Die experimentellen Daten der Kaukasier zeigen im Verhältnis zu denen der anderen Ethnizitäten keine großen Unterschiede (C_{max} von 28,3, 26,4 und 27,4 ng/mL bei Afro-Amerikanern, Kaukasiern und Lateinamerikanern). Die nicht-kompartimentelle Analyse der intravenösen simulierten und experimentellen Literaturdaten bestätigte das in Abbildung 15 gezeigte Ergebnis. Sämtliche pharmakokinetischen Parameter waren im 2-fachen Fehlerbereich.

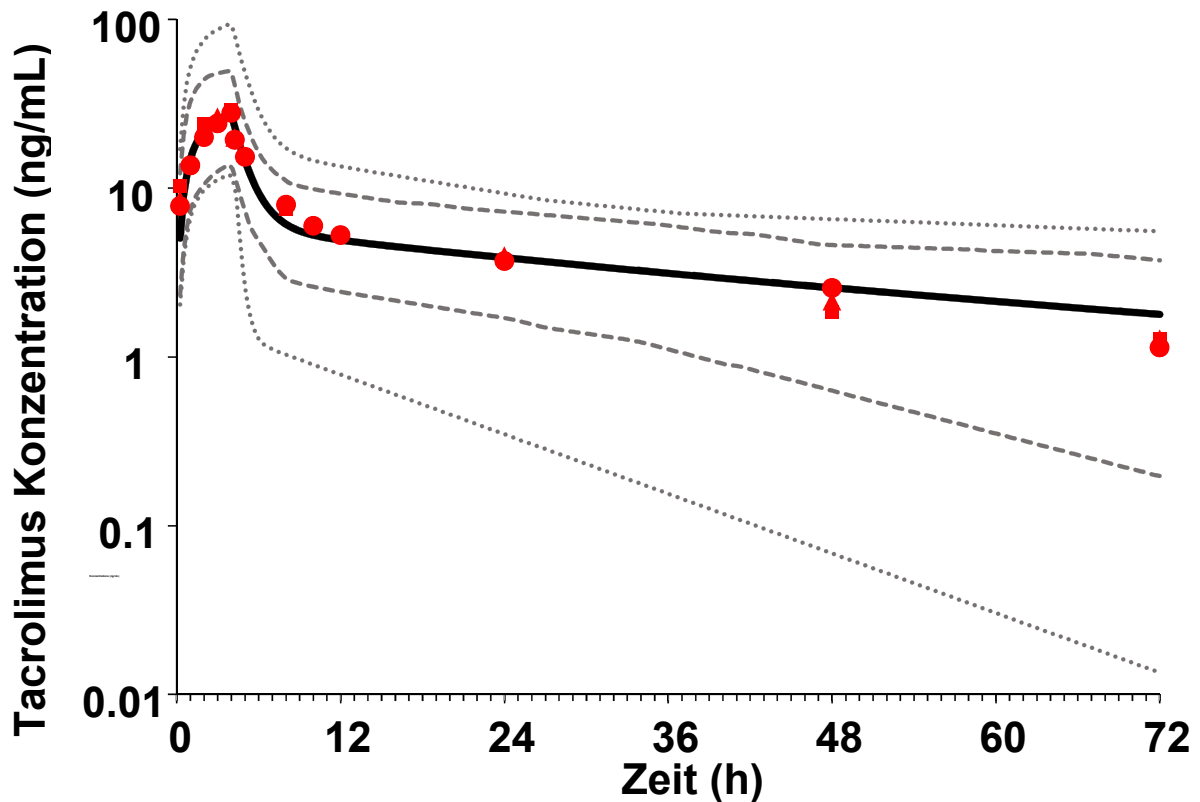
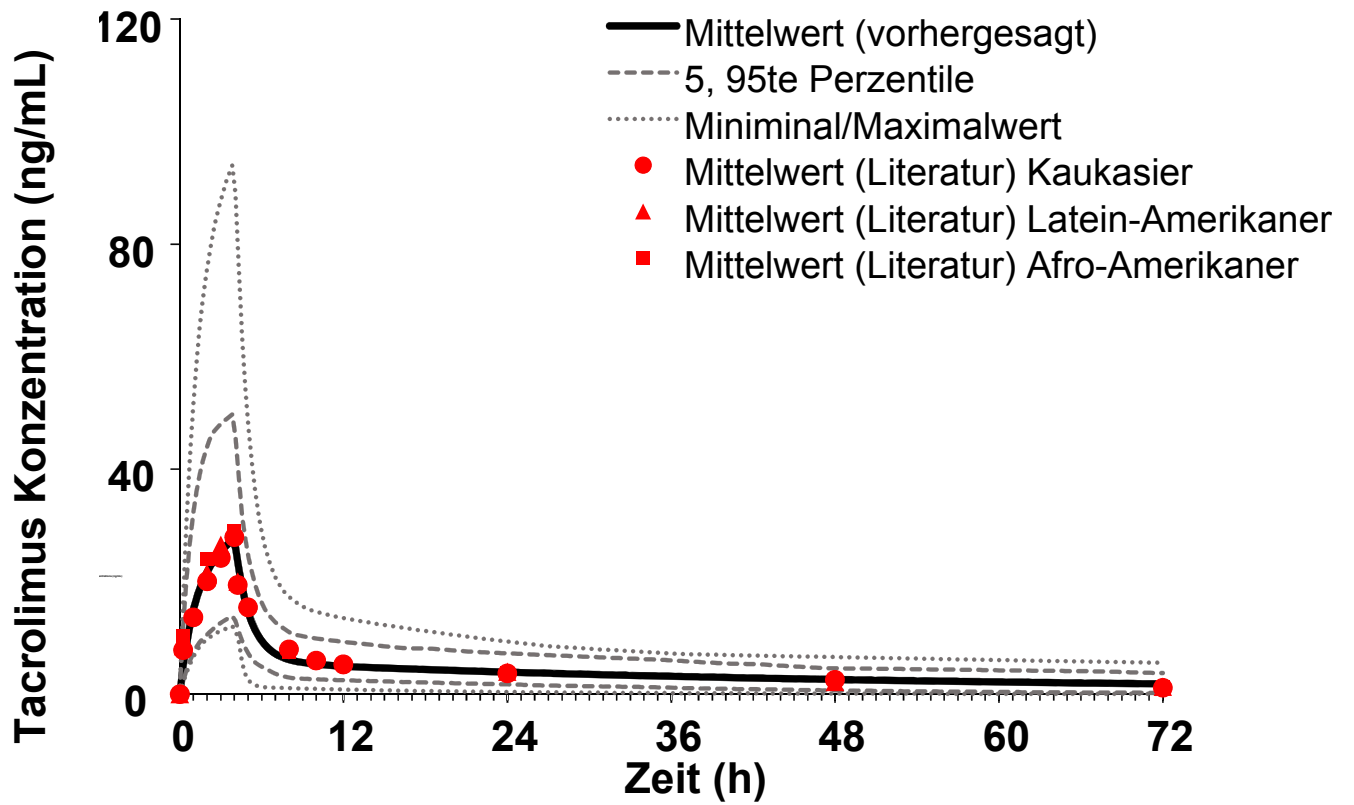


Abbildung 15 PBPK-Modell nach intravenöser Applikation von Tacrolimus

Dargestellt sind die Vollblut-Konzentrations-Profile einer über 4 h infundierten Kurzinfusion von 0,015 mg/kg Tacrolimus in linearer und halblogarithmierter Visualisierung.

Die letzte Publikation mit einem intravenösen Profil war die von der Arbeitsgruppe Möller et al. 1999. Sie wurde mit sechs gesunden männlichen Freiwilligen mit einem Altersdurchschnitt von 59 Jahren ($\pm 6,2$ Jahren SD) und einem mittleren Gewicht von 77,5 kg ($\pm 3,6$ kg) durchgeführt. Möller et al. 1999 ermittelten die Vollblutkonzentrations-Zeit-Kurven mittels der analytischen Methode ELISA und eines Radioimmun-Assays (Liquid Scintillating Counting, LSC). Bei den Freiwilligen handelte es sich um eine männliche kaukasische Bevölkerung.

Die Abbildung 16 gibt den Verlauf der Vollblutkonzentrations-Zeit-Kurve wieder. Alle experimentellen Werte befinden sich im Simulationsbereich. Dennoch besteht in der initialen Verteilungsphase mit den Werten c_{\max} und t_{\max} ein Unterschied (21,4 vs. 18,6 ng/mL) zwischen den Simulations- und den Literaturdaten. Sowohl in der initialen als auch in der Eliminationsphase werden die experimentellen Messwerte gibt es eine moderate Abweichung, die aber im Simulationsbereich liegt. Dies hängt möglicherweise mit der experimentellen Fehleranfälligkeit in der initialen Phase und der Messung mittels eines Radioimmun-Assays zusammen. Die Studie von Möller et al. zeigt große Standardabweichungen für die gemessenen Konzentrationen.

Die nicht-kompartimentelle Analyse (s. Tabelle 19) bestätigt, dass sämtliche pharmakokinetische Größe im 2-fachen Fehlerbereich sind.

Insgesamt lässt sich festhalten, dass das entwickelte PBPK-Modell in der Lage ist, die Verteilung, den Metabolismus und die Elimination von Tacrolimus nach intravenöser Applikation unterschiedlicher Konzentrationen an Wirkstoff zu simulieren. Dies entspricht auch den Erwartungen, weil das PBPK-Modell anhand des Literaturdatensatzes von Mancinelli et al. entwickelt wurde und auf die anderen Datensätze zwecks Validierung angewendet worden ist.

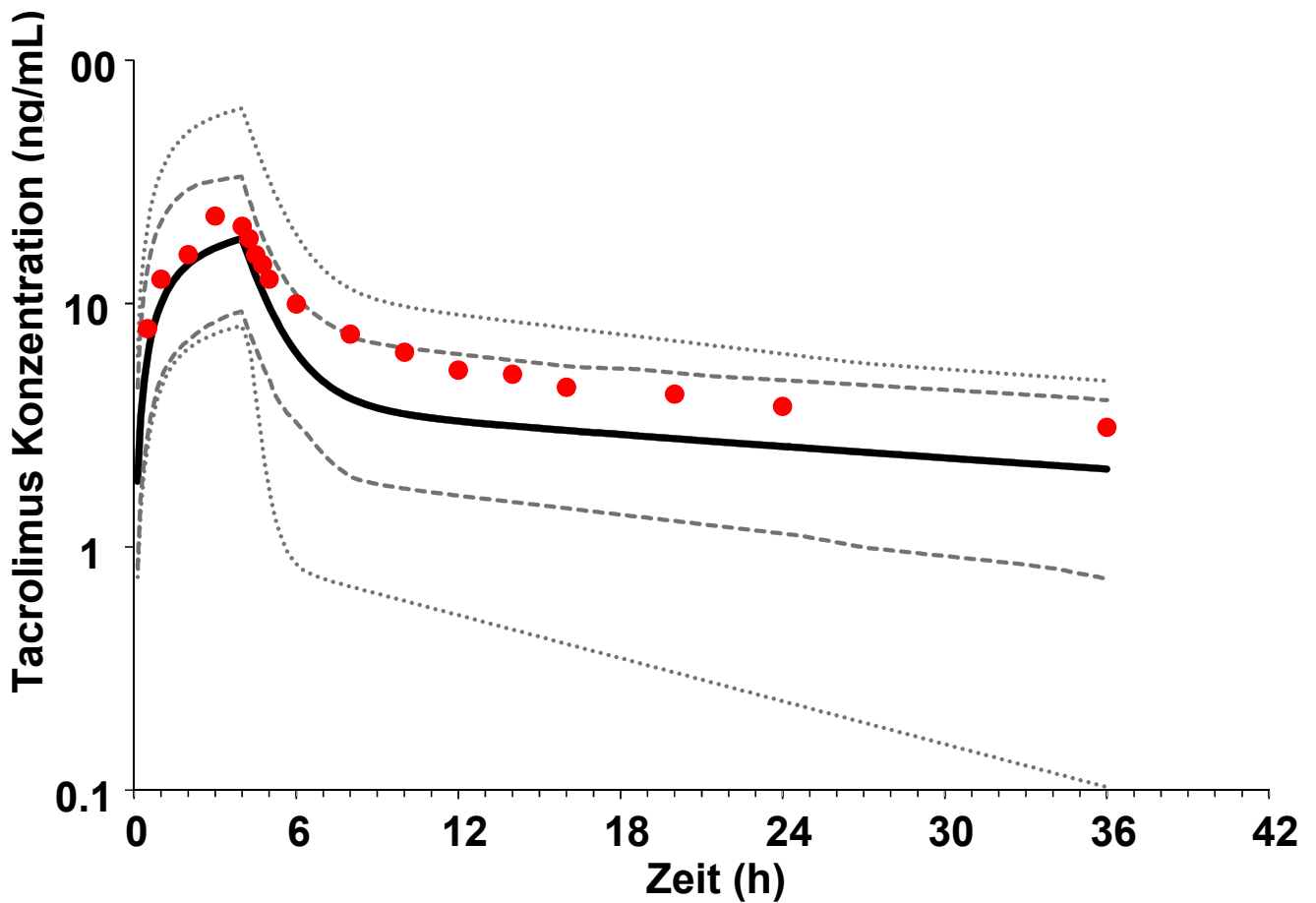
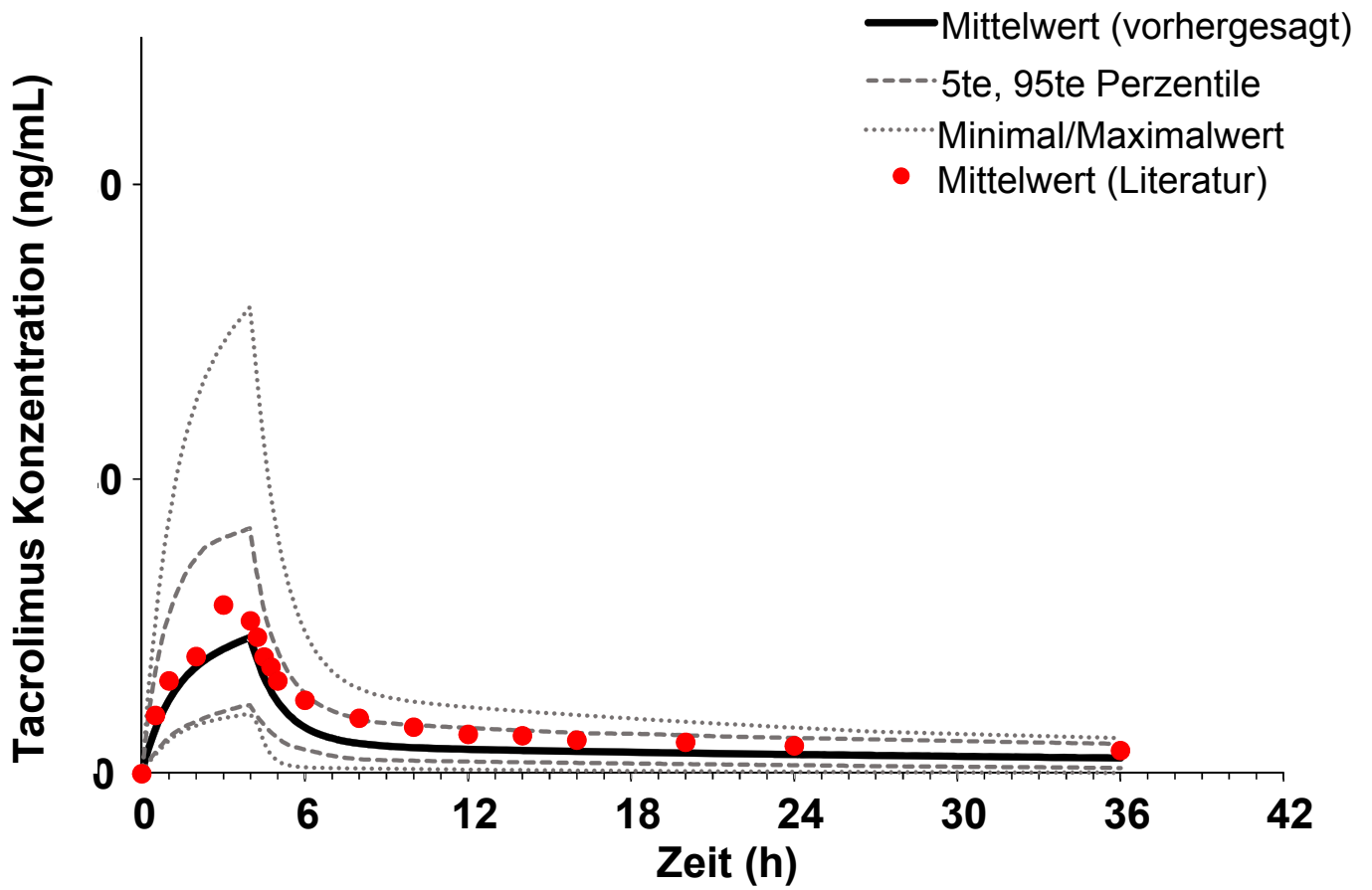


Abbildung 16 PBPK-Modell nach intravenöser Applikation von Tacrolimus

Dargestellt ist der Vollblut-Konzentrations-Zeitverlauf einer 4h-Kurzinfusion von 0.010mg/kg Tacrolimus in linearer und halblogarithmischer Ansicht.

3.5.2.4 Ergebnisse für das PBPK-Modell nach peroraler Applikation

Das durch die experimentell gemessenen intravenösen Messwerte bestätigte PBPK-Modell für Tacrolimus in gesunden Erwachsenen wurde im weiteren Vorgehen (s. Abschnitt 3.5.2.3) nun um die Absorptionsvorgänge erweitert und im Anschluss mit drei geeigneten Vollblutkonzentrations-Zeit-Verläufen auf die Güte seiner Vorhersagekraft zu überprüfen.

Hierfür wurde die gleiche Parametrisierung vorgenommen, die der jeweiligen pharmakokinetischen Studie zugrunde gelegt war. Im Fall von Mancinelli et al. wurden 12 gesunde nicht rauchende kaukasische Freiwillige eingeschlossen, deren Gesundheitszustand biochemisch und hämatologisch ohne Besonderheiten war. Der Frauenanteil entsprach 41,6 % (5 von 12 Freiwilligen). Das mittlere Alter betrug 32,2 Jahre ($\pm 10,8$ Jahre SD) und alle Probanden wogen nicht mehr als ± 20 % ihres IBW. Die zweite Ethnizität, die in der Studie eingeschlossen war, stellte Afro-Amerikaner dar. Dies waren 12 Freiwillige mit einem mittleren Alter von $44,6 \pm 19,6$ Jahren und denselben Kriterien bezüglich des Gewichts. Der Frauenanteil hier betrug 33,3 %. Eine dritte Ethnizität, die eingeschlossen wurde, waren die Lateinamerikaner. Hierbei handelte es sich um 12 Freiwillige, die einen Altersdurchschnitt von 35,7 Jahre ($\pm 11,7$ Jahre) hatten. Der männliche und weibliche Anteil der Probanden betrug je 50 %. Für die Simulation wurde ein Studiendesign gewählt mit 100 wahren (virtual population) Individuen, die in den anthropometrischen Daten denen der Studie übereinstimmten. Es wurde der Frauenanteil definiert und bei der peroralen Applikation eine nüchterne Einnahme (fasted) der Tablette simuliert.

In Abbildung 17 kann man exemplarisch für die kaukasische Bevölkerung die Simulation sehen, in denen die Absorptionsvorgänge in der linearen Ansicht einfacher zu sehen sind. Die experimentellen Daten aller Ethnizitäten wurden mit aufgetragen, um den deutlichen Unterschied in der Absorption zwischen der kaukasischen und afro-amerikanischen Bevölkerung herauszustellen. Dies wird im Abschnitt 3.7. diskutiert. Die Häufigkeit des CYP3A5 Polymorphismus wurde aus der Simcyp® Bevölkerungsdatenbank übernommen mit 85 % CYP3A5*3/*3 Nicht-Expressern in der Bevölkerung.

Alle experimentellen Daten liegen innerhalb des Simulationsbereichs. Die Absorptions-, Verteilungs- und Eliminationsprozesse wurden in der kaukasischen und lateinamerikanischen Ethnizität adäquat wiedergegeben. Bei der afro-amerikanischen Bevölkerung zeigt die initiale Verteilungsphase eine Abweichung der simulierten Kurve von den Messwerten; die Werte liegen dennoch im Simulationsbereich.

Auch im mittleren und letzten Teil der Vollblutkonzentrations-Zeit-Profile kann man zwar den Verlauf erkennen, die Clearance in der Simulation ist aber niedriger als die in den experimentellen Daten.

Eine Erklärung hierfür liegt in der Häufigkeit des Expresser-Genotyps. In der kaukasischen und der lateinamerikanischen Bevölkerung kommen CYP3A5*1/*1 bzw. CYP3A5*1/*3 bei weniger als 5 % der Bevölkerung vor (Roy et al. 2005), in afro-amerikanischen Personen aber bis zu 25 %. Daher kann man anhand dieser Simulation erkennen, dass der Genotyp auf die Bioverfügbarkeit und metabolische Clearance Einfluss hat. Die nicht-kompartimentelle Analyse (s. Tabelle 19) hat bestätigt, dass alle berechneten pharmakokinetischen Kenngrößen innerhalb des 2-fachen Fehlerbereichs von 0,5 bis 2 lagen und das PBPK-Modell für die perorale Applikation von Tacrolimus adäquate Vorhersagen bezüglich der Absorption, Verteilung, des Metabolismus und der Elimination macht.

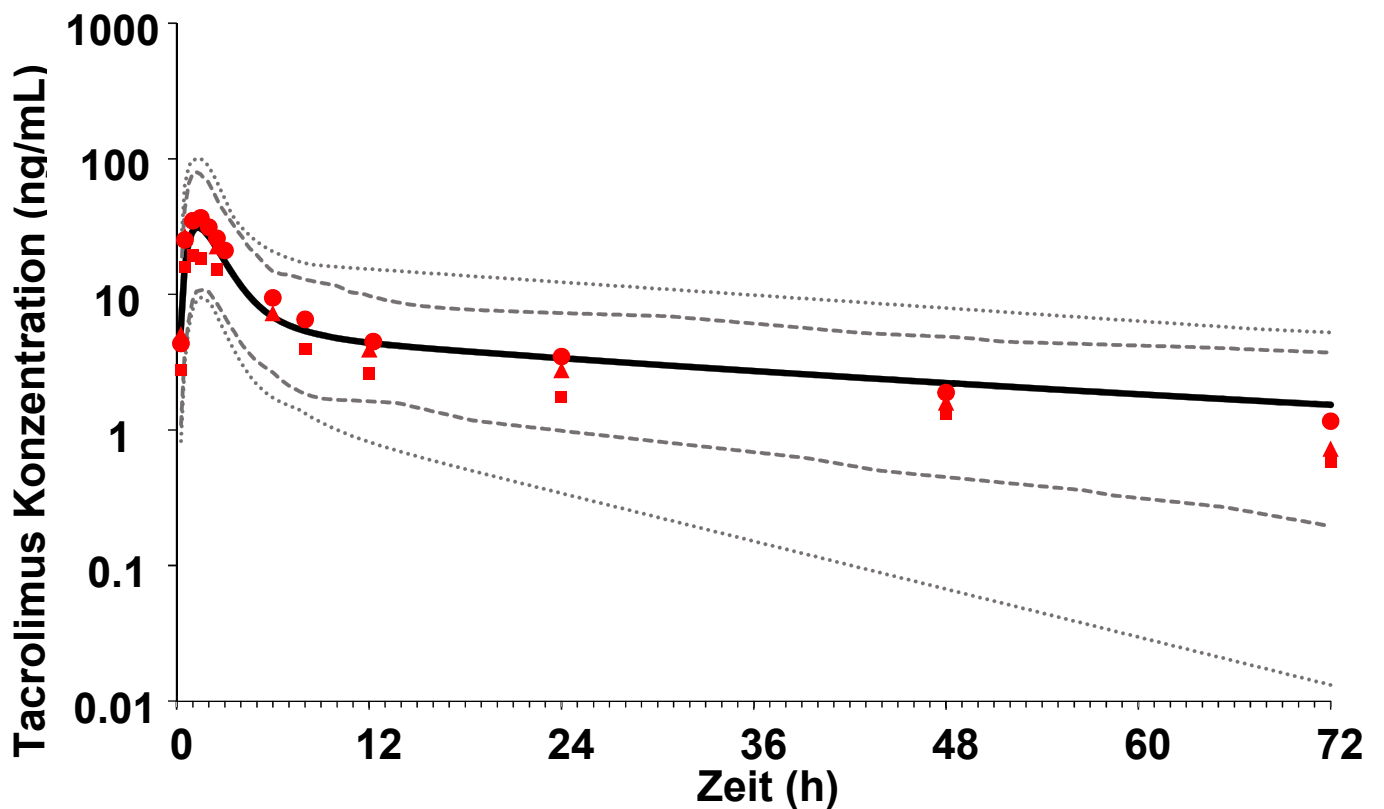
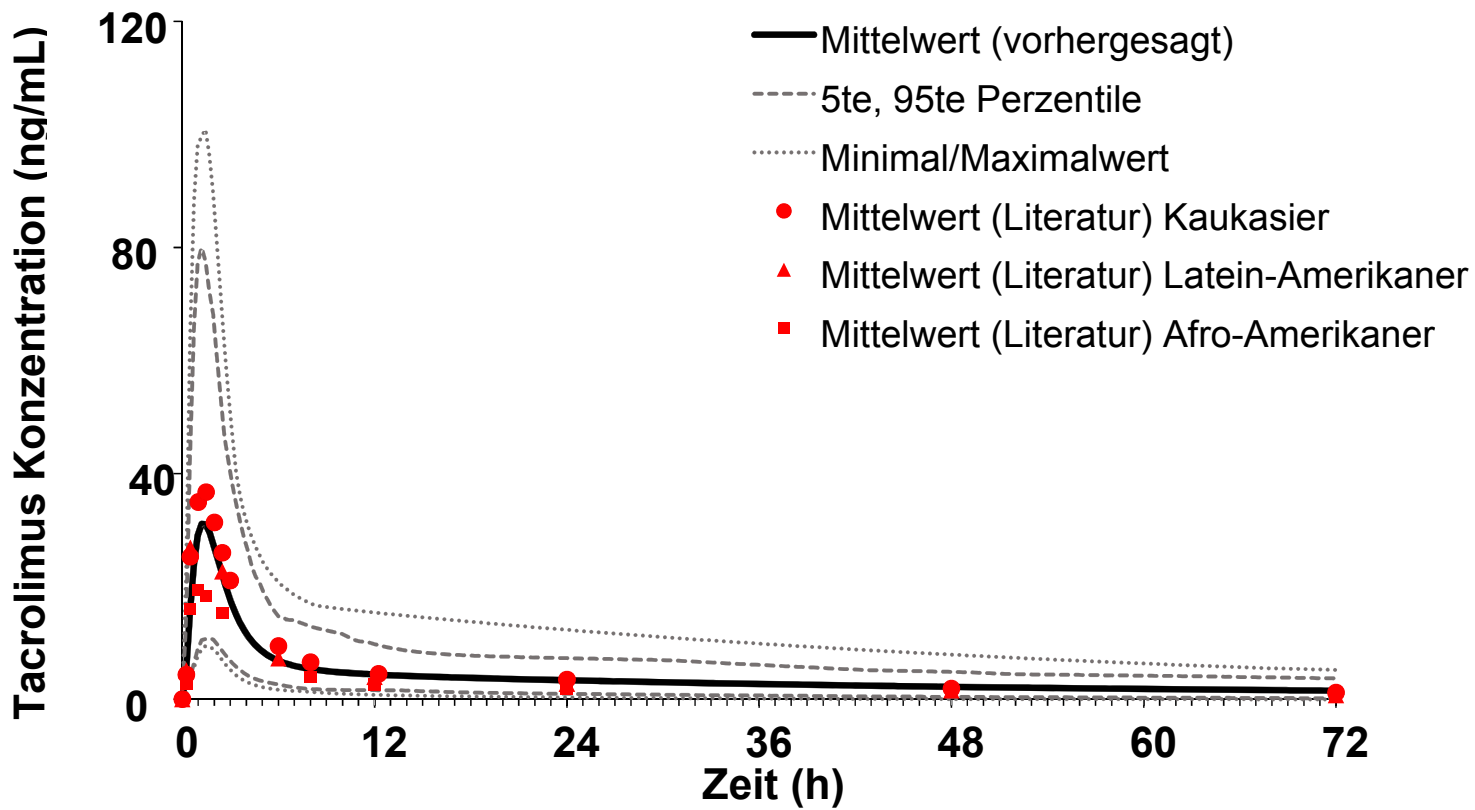


Abbildung 17 PBPK-Modell nach peroraler Applikation von Tacrolimus

Dargestellt ist der Vollblut-Konzentrations-Zeitverlauf von 5 mg peroral appliziertem Tacrolimus in linearer und halblogarithmischer Ansicht.

Physiologiebasiertes pharmakokinetisches Modell von Tacrolimus in gesunden
Erwachsenen

Tabelle 18 Nicht-kompartimentelle Analyse der oralen Studien

Studie	Dosis [mg/kg]	AUC _{0-∞} [ng·h/mL]			C _{max} [ng/mL]			t _{max} [h]			Orale Clearance [L/h/kg]		
		OBS	SIMCYP	Ratio	OBS	SIMCYP	Ratio	OBS	SIMCYP	Ratio	OBS	SIMCYP	Ratio
Möller 1999	3,875	308	365	0,84	37,8	39,2	0,96	0,92	1,40	0,66	0,57	0,35	1,63
Bekersky 1999 IA	3	169	183	0,92	14,5	15,5	0,94	1,40	1,32	1,06	0,28	0,36	0,78
Bekersky 1999 IB	7	355	374	0,94	31,2	33,1	0,94	1,40	1,53	0,91	0,46	0,58	0,79
Bekersky 1999 IC	10	485	502	0,96	45,1	47,2	0,95	1,30	1,51	0,86	0,45	0,63	0,71
Bekersky 1999 IIA	5	243	287	0,84	25,2	27,4	0,92	1,20	1,51	0,79	0,72	0,62	1,16
Bekersky 1999 IIB	5	254	294	0,86	26,5	28,3	0,93	1,40	1,49	0,94	0,77	0,59	1,31
Mancinelli 2001 A	5	311	325	0,95	37,8	37,2	1,01	1,3	1,48	0,88	0,25	0,23	1,09
Mancinelli 2001 B	5	324	338	0,96	33,0	33,5	0,98	1,3	1,47	0,88	0,31	0,34	0,91
Mancinelli 2001 C	5	298	320	0,93	20,8	25,1	0,82	1,6	1,47	1,08	0,37	0,39	0,95
Mathew 2011	5	354	378	0,93	36,26	38,1	0,91	1,75	1,54	1,13	0,29	0,35	0,83

Bekersky IA, IB, IC Dosislinearisierungsstudie mit 3, 7 und 10mg peroraler Applikation von Tacrolimus; Bekersky IIA, IIB für die Bioäquivalenzstudie mit 1 x 5mg und 5 x 1mg peroraler Applikation von Tacrolimus; Mancinelli A,B,C 5mg peroral Applikation in Kaukasiern, Lateinamerikanern und Afro-Amerikanern; AUC_{0-∞} = Fläche unter der Kurve von „Null“ bis unendlich; C_{max} = Maximalkonzentration; t_{max} = Zeitpunkt zum Erreichen von C_{max}; OBS = Literaturdaten; SIMCYP = simulierte Werte; Ratio = Quotient = OBS/SIMCYP

Die pharmakokinetische Studie von Bekersky et al. (1999) hat eine Bioäquivalenz zwischen der Gabe von 1 x 5 mg und der Gabe von 5 x 1 mg peroralem Tacrolimus überprüft. Hierbei wurden 32 gesunde Freiwillige eingeschlossen, wobei 11 weibliche und 21 männliche Studienteilnehmer teilgenommen haben. Das mittlere Alter betrug 31 Jahre (± 11 Jahre SD) und im Mittel wogen die Probanden 74 kg (± 11 kg SD).

Es handelte sich bei dieser Studie um eine randomisierte Cross-over-Studie, in der jeder Studienteilnehmer sowohl 1 x 5 mg als auch 5 x 1 mg peroral appliziertes Tacrolimus bekommen hat. In Abbildung 18 kann man erkennen, dass das PBPK-Modell in der Lage gewesen ist, alle experimentellen Messwerte im Simulationsbereich abzudecken. Die Absorptions-, Verteilungs- und Eliminationsprozesse wurden adäquat beschrieben. Die nicht-kompartimentelle Analyse bestätigt die aus den Visualisierungs-Plots abgeleiteten Ergebnisse durch pharmakokinetische Kenngrößen, die innerhalb des 2-fachen Fehlerbereichs liegen

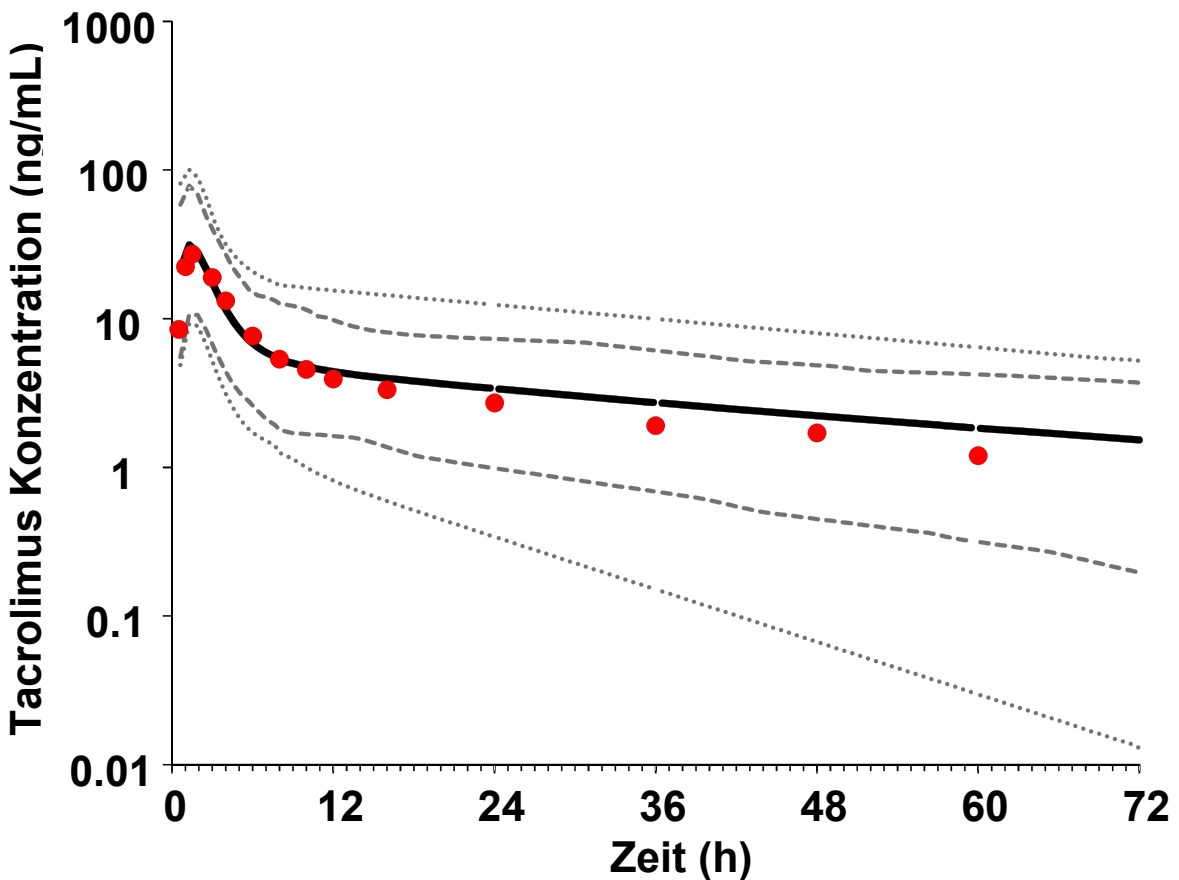
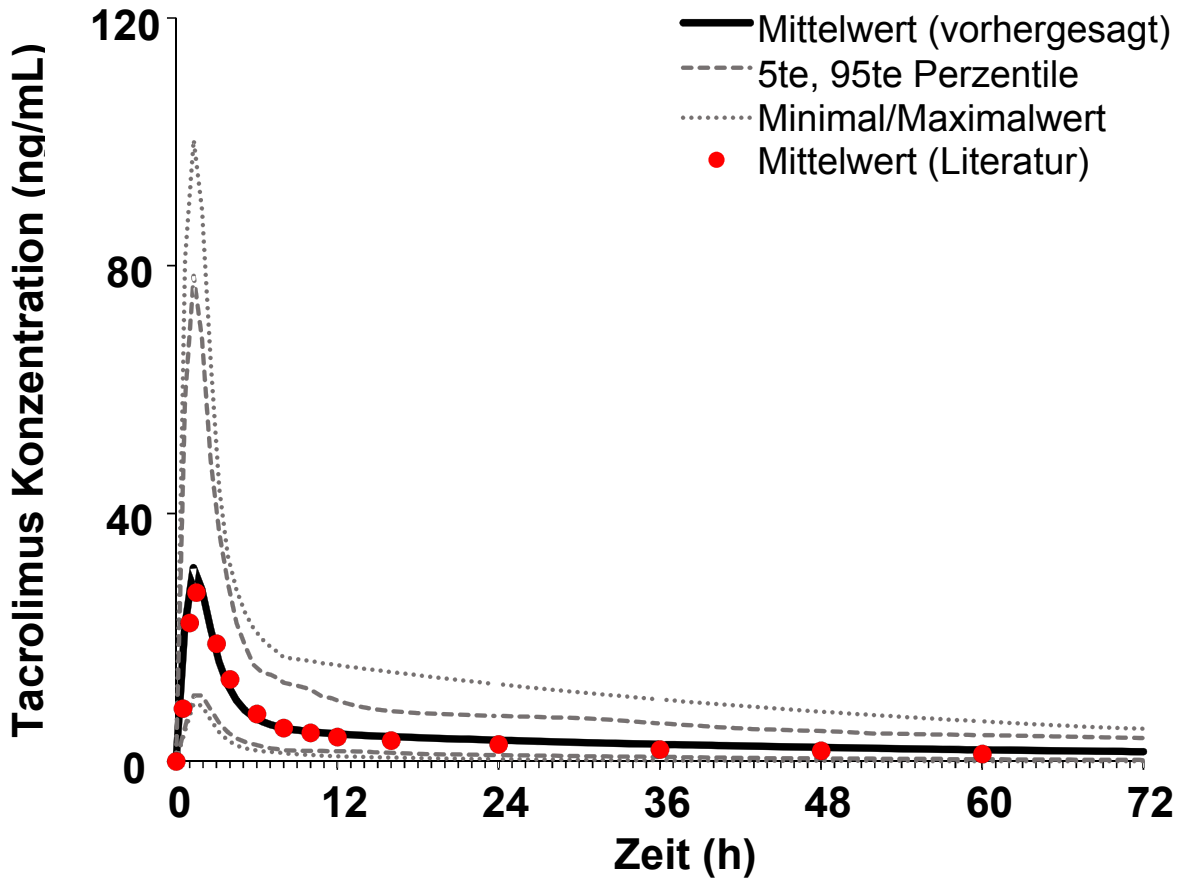


Abbildung 18 PBPK-Modelle nach peroraler Applikation von Tacrolimus

Dargestellt ist der Vollblut-Konzentrations-Zeitverlauf mit 5 mg peroral appliziertem Tacrolimus in linearer und halblogarithmischer Ansicht.

Mathew et al. versuchten mit ihrer Studie, über die Gabe von 0,5 mg und 5 mg peroral appliziertem Tacrolimus Bioäquivalenz nachzuweisen. Bei der 5-mg-Applikation, die simuliert wurde, war das mittlere Alter der 120 Patienten 27,8 Jahre ($\pm 6,8$ Jahre SD) und das mittlere Gewicht 61,3 kg ($\pm 7,4$ kg SD). In Abbildung 19 sieht man analoge Ergebnisse zu den zuvor vorgestellten Simulationsergebnissen. Alle Werte waren im Simulationsbereich und die NCA konnte den 2-fachen Fehlerbereich einhalten(s. Tabelle 19).

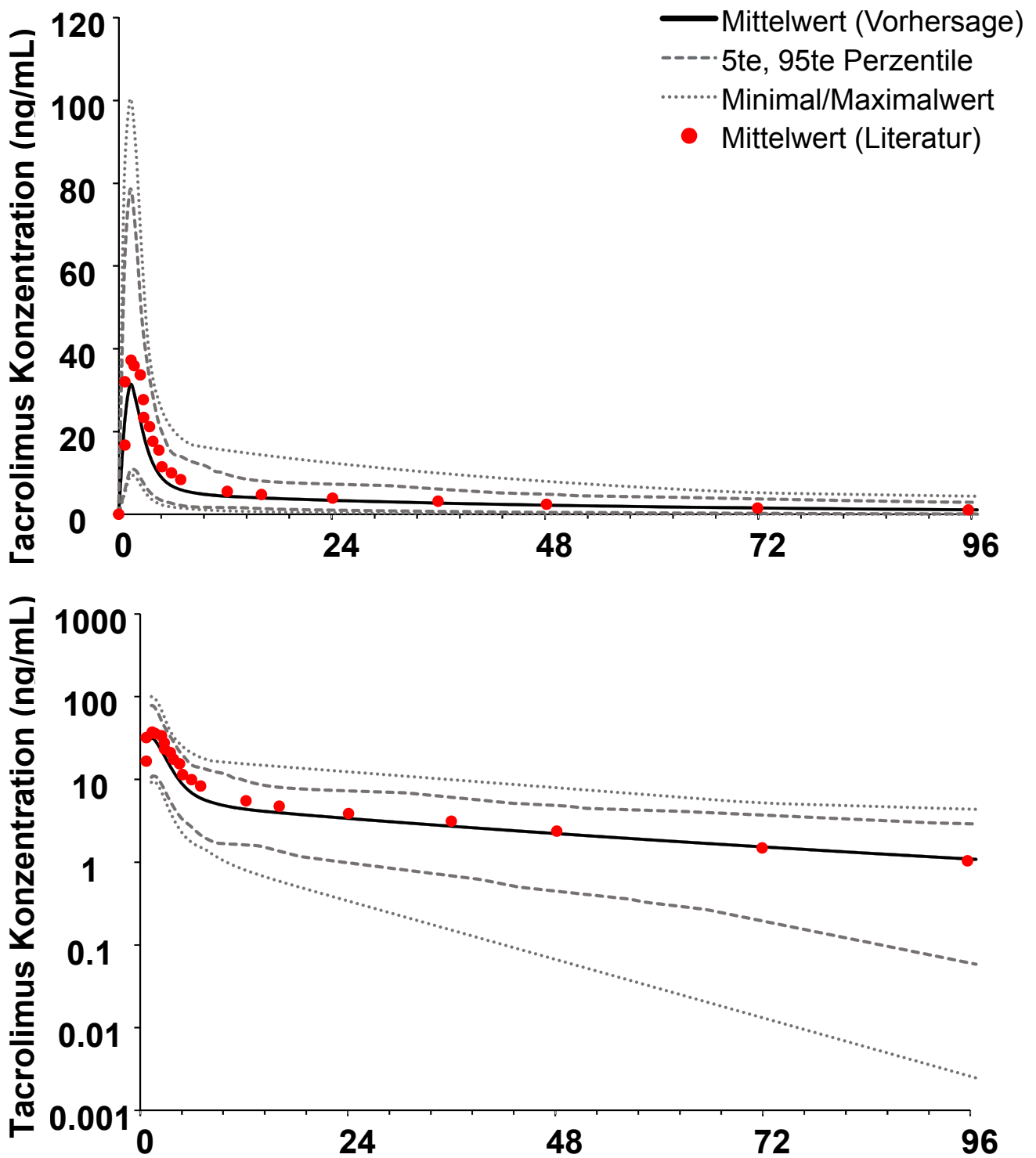


Abbildung 19 PBPK-Modelle nach peroraler Applikation von Tacrolimus

Dargestellt ist der Vollblutkonzentrations-Zeitverlauf nach einer peroralen Gabe von 5mg Tacrolimus in linearer und halblogarithmischer Form.

3.5.2.5 Ergebnisse der Expresser- und Nicht-Expresser Genotypen

In der Literatur herrscht ein Mangel an Studien, die geeignete Vollblutkonzentrations-Zeit-Profile in Expressern und Nicht-Expressern bei gesunden Erwachsenen für Tacrolimus ermittelt haben.

Die einzigen verfügbaren und geeigneten Literaturdaten von den jeweiligen genetischen Subgruppen waren nur für nierentransplantierte Patienten in der pharmakokinetischen Studie von Haufroid et al. (2006) aufgeführt.

Die Bevölkerungsdatenbank von Simcyp® konnte durch Eingabe der Häufigkeiten der Einzelnukleotid-Polymorphismen auf die Expresser- bzw. Nicht-Expresser Genotypen modifiziert werden. Hierzu mussten die Häufigkeiten den entsprechenden Allelen zugeordnet werden.

Dann wurden wie in den vorherigen Simulationen Vorhersagen auf Basis von wahren Populationen (virtual population) von 100 Individuen generiert. In Abbildung 20 ist der Vergleich zwischen den experimentell ermittelten Literaturdaten der normal metabolisierenden Expresser-Gruppe (CYP3A5*1/*1 bzw. CYP3A5*1/*3) und den vom PBPK-Modell vorhergesagten Konzentrationen zu sehen.

Die experimentellen Messpunkte liegen alle im Simulationsbereich. Dennoch ist zu erkennen, dass die aus der Literatur bereits bekannten Werte in der Eliminationsphase der Kurve schneller fallen. Die Simulation weicht innerhalb des Simulationsbereich etwas von den experimentell gemessenen Punkten ab.

Ein Grund dafür könnte es sein, dass noch weitere Prozesse in die Metabolisierung eingreifen, die vom PBPK-Modell noch nicht ausreichend beschrieben werden. Die Verteilung in die roten Blutkörperchen könnte auch Einfluss auf die Elimination nehmen. Die Studie hat lediglich für eine Anzahl von 9 Individuen Vollblutkonzentrations-Zeit-Kurven ermittelt und eine größere Zahl an Expresser-Profilen wird benötigt, um Aussagen daraus ableiten zu können. Die nicht-kompartimentelle Analyse für das PBPK-Modell von Tacrolimus in gesunden

Erwachsenen vom Expresser-Typ ist in Tabelle 19 aufgeführt. Alle kalkulierten pharmakokinetischen Kenngrößen lagen innerhalb des 2-fachen Fehlerbereichs. Das PBPK-Modell kann somit in der Expresser-Gruppe tendenziell Vorhersagen machen, die den real gemessenen Konzentrationen entsprechen.

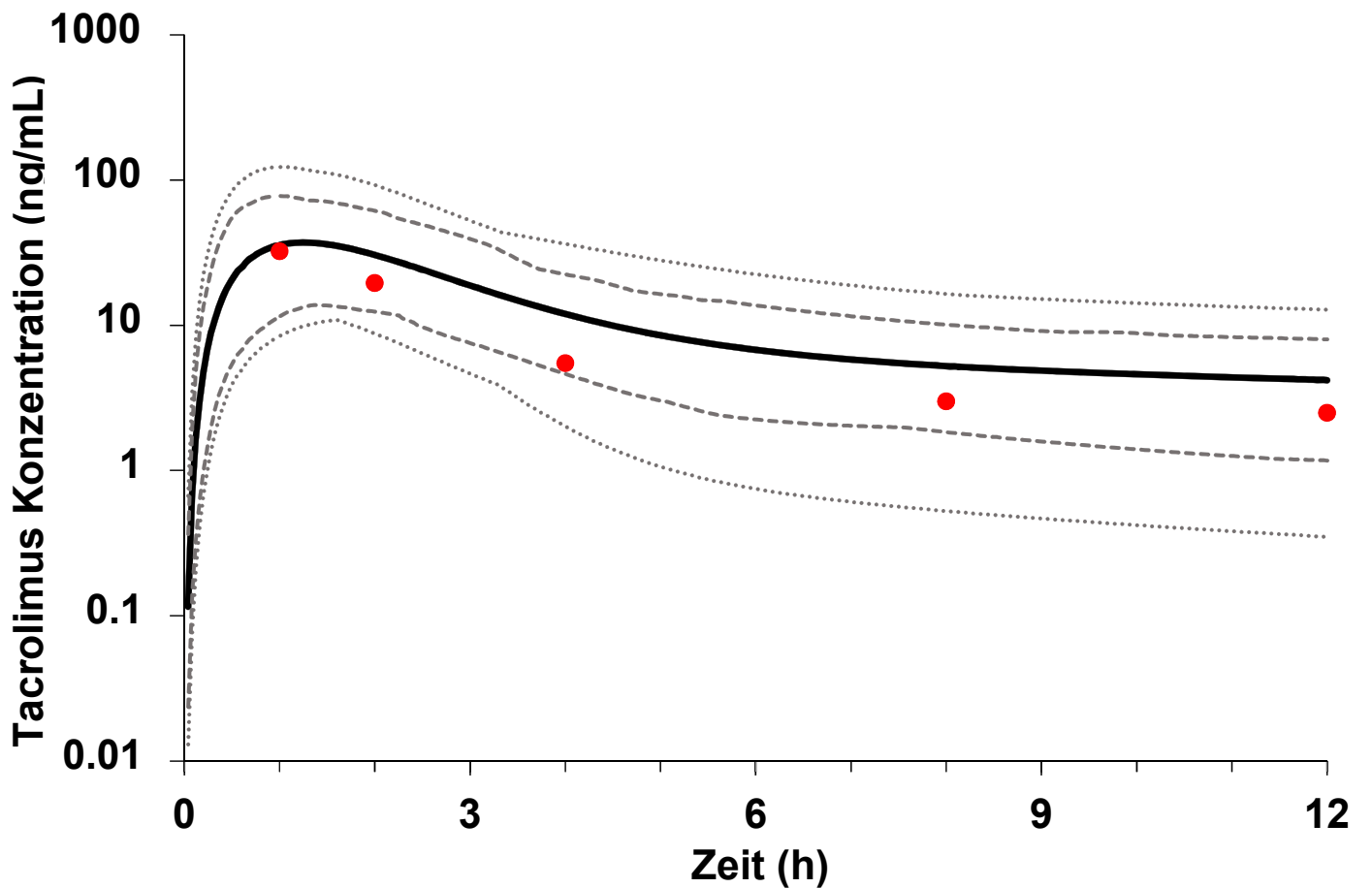
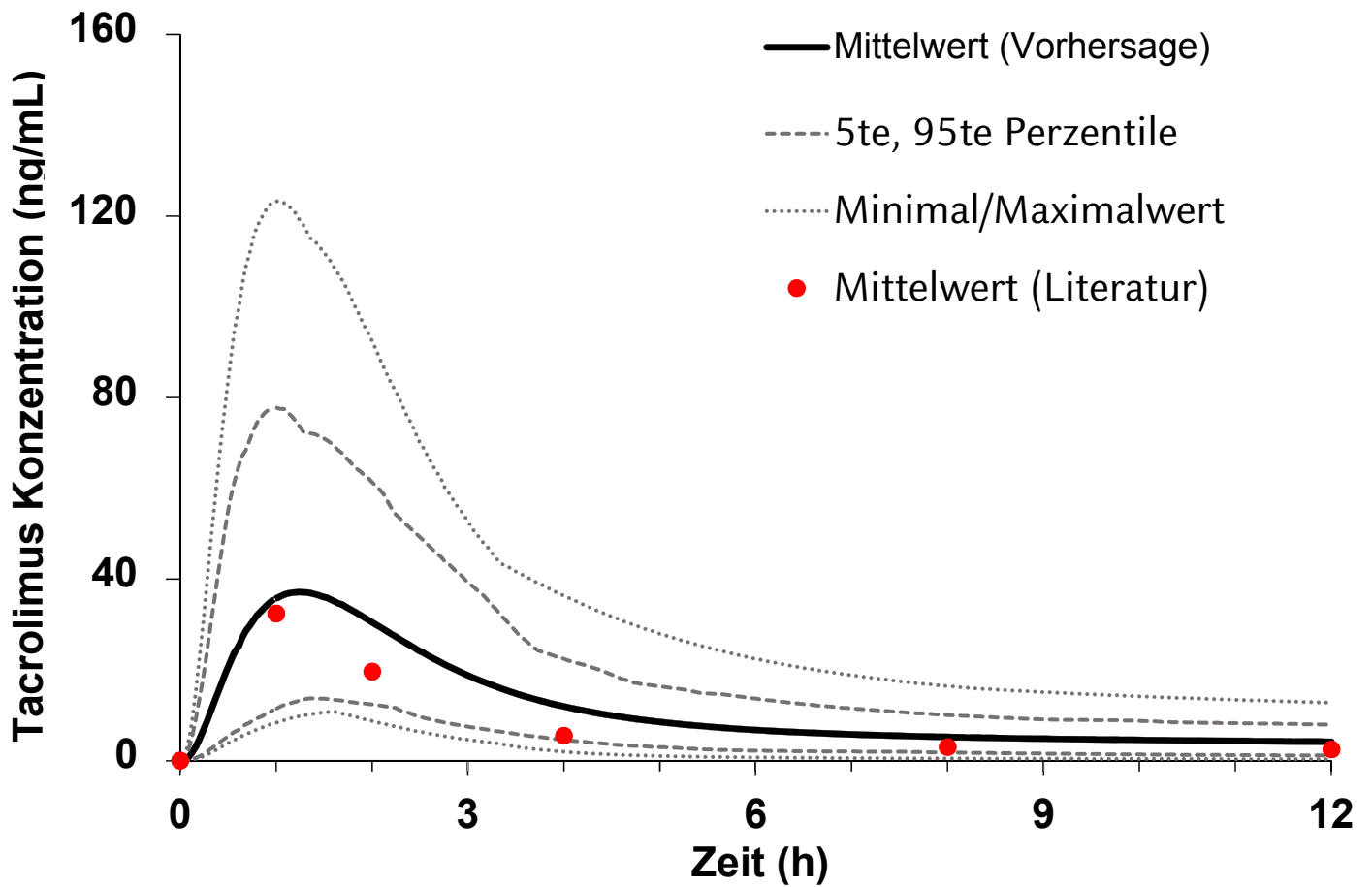


Abbildung 20 PBPK-Modell beim Expresser-Genotyp von Tacrolimus

Dargestellt ist der Vollblut-Konzentrations-Verlauf nach einer peroralen Applikation von 5 mg Tacrolimus in der Expresser-Gruppe des CYP3A5

In Abbildung 21 sind die Vollblutkonzentrations-Zeit-Profile der Nicht-Expresser (CYP3A5*3/*3) gezeigt. Hierbei ist in der linearen Ansicht erkennbar, dass die Absorptionsprozesse vom PBPK-Modell innerhalb des Simulationsbereichs etwas oberhalb der experimentell gemessenen Daten liegen.

Möglicherweise sind noch Transportvorgänge des P-Glykoproteins ursächlich für die experimentell gemessene niedrigere Absorption an Tacrolimus. Die Verteilungs- und Eliminationsphase von Tacrolimus ist in dieser Gruppe deutlich besser getroffen und die Simulation trifft den Verlauf der Vollblutkonzentrations-Zeit-Kurve.

Sämtliche experimentellen Werte werden vom Simulationsbereich erfasst. Die nicht-kompartimentelle Analyse hat auch hier berechnete Kenngrößen im erforderlichen 2-fachen Fehlerbereich kalkuliert. Das PBPK-Modell ist in der Lage, die perorale Applikation von Tacrolimus in gesunden Erwachsenen, die aufgrund des Einzelnukleotid-Polymorphismus eine verminderte Clearance zeigen, zu simulieren. Hierbei kann nur ein Trend aufgezeigt werden, weil zu wenig Individuen in die gemessenen Konzentrations-Zeit-Profile eingingen (n=10). Die AUC der Nicht-Expresser lag um den Faktor 1,36 höher als die der Expresser-Gruppe (Haufroid et al. 2006). Dies konnte durch die simulierten AUC bestätigt werden (Verhältnis der AUC bei Expressern und Nicht-Expressern bei den Simulationen betrug 2,99).

Tabelle 19 Nicht-kompartimentelle Analyse der Expresser- und Nicht-Expresser-Gruppe der peroralen Studie

Studie	Dosis [mg]	AUC ₀₋₁₂ [ng·h/mL]			C _{max} [ng/mL]			t _{max} [h]		
		OBS	SIM	Ratio	OBS	SIM	Ratio	OBS	SIM	Ratio
Haufroid 2005 A	5	141.8	95.3	1.37	32.4	29.2	1.10	1.28	1.44	0.88
Haufroid 2005 B	5	193.1	185.5	1.14	33.5	25	1.34	1.34	1.44	0.93

Haufroid A = Expresser-Genotyp (CYP3A5*1/*1 bzw. *1/*3); Haufroid B = Nicht-Expresser-Genotyp (CYP3A5*3/*3); AUC₀₋₁₂ = Fläche unter der Kurve vom Zeitpunkt 0 bis 12 Stunden; c_{max} = Maximalkonzentration; t_{max} = Zeit, bis c_{max} erreicht wird; OBS = Literaturdaten; SIMCYP = vorhergesagte Daten; Ratio = Quotient aus OBS/SIMCYP; PO = perorale Applikation

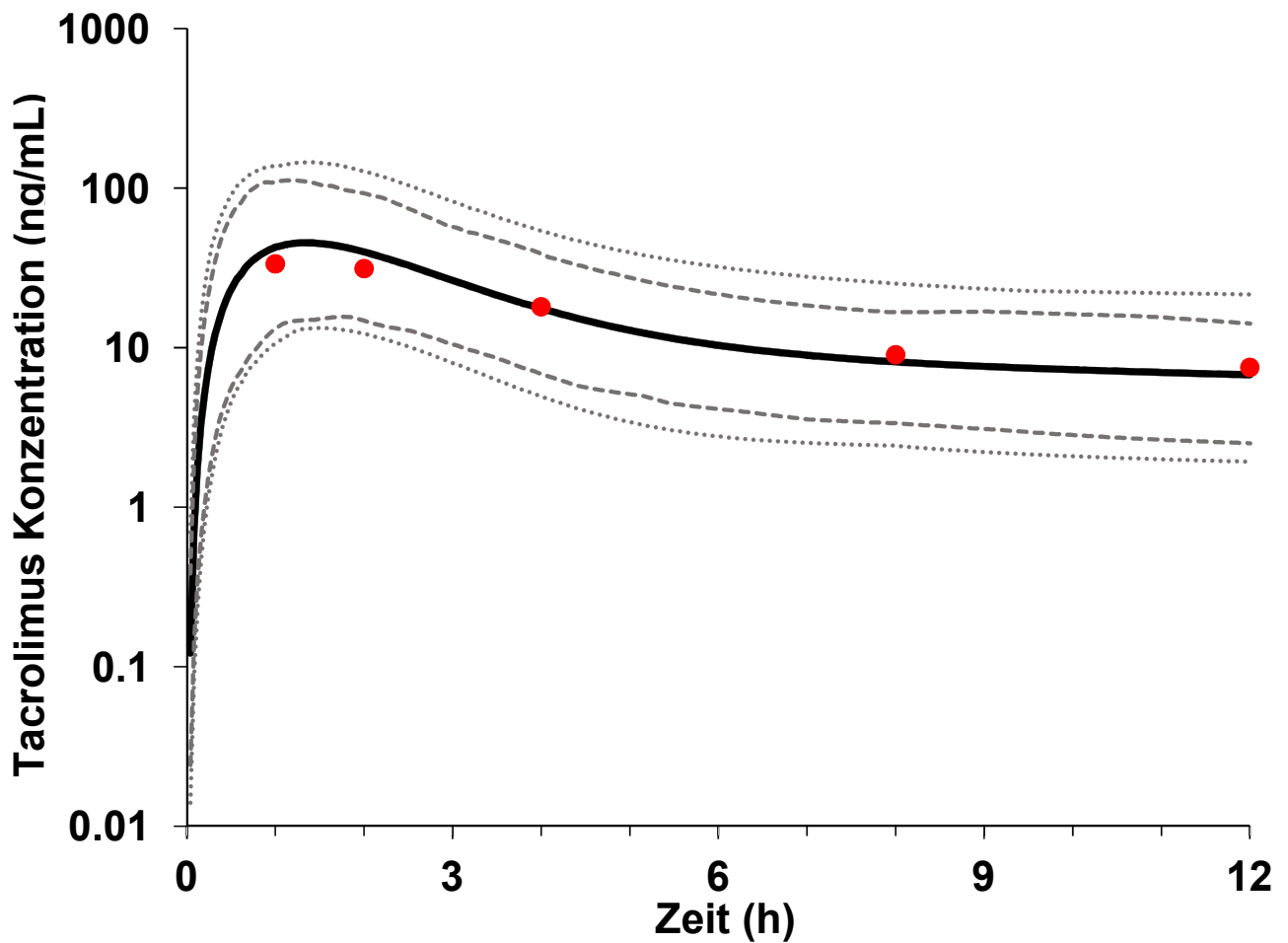
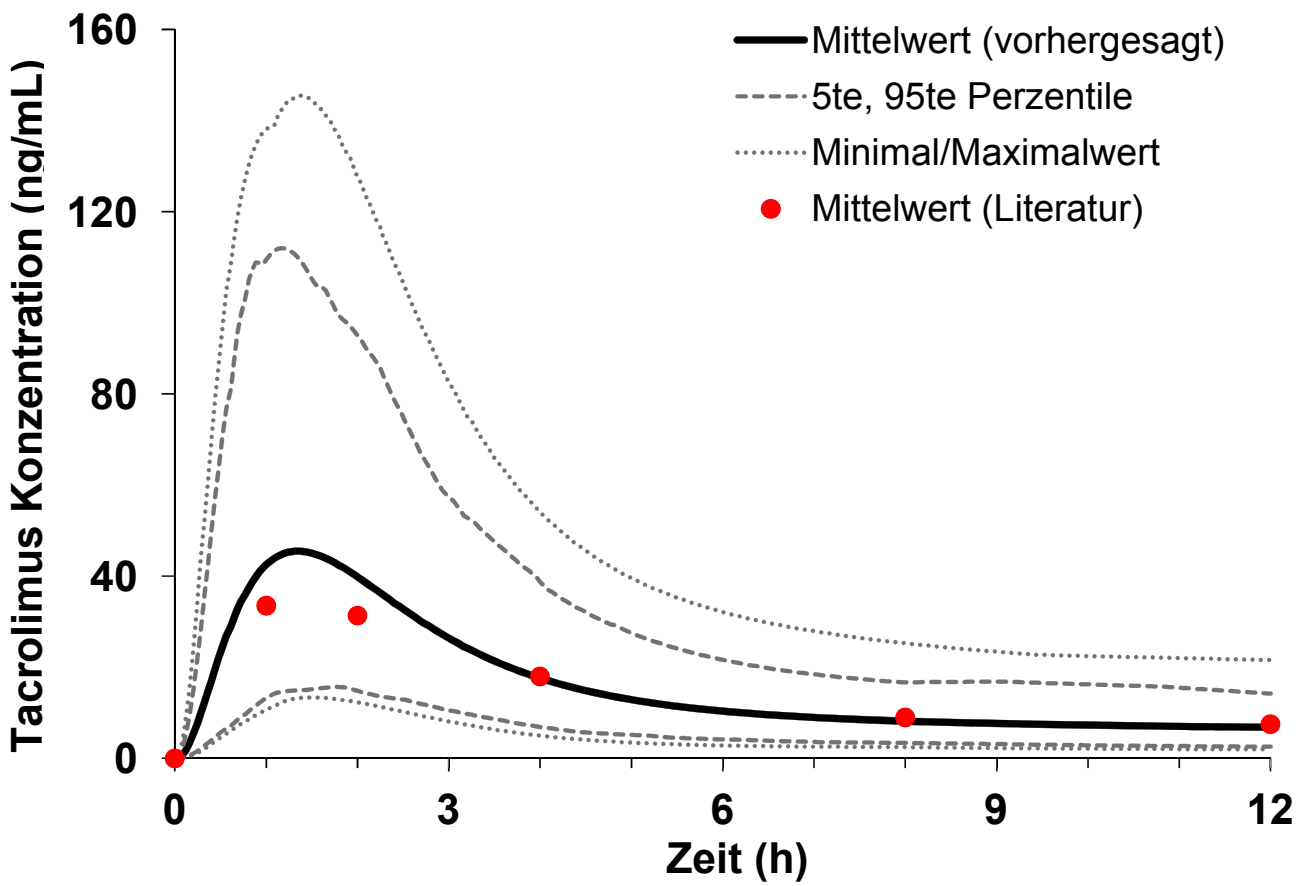


Abbildung 21 PBPK-Modell beim Nicht-Expresser Genotyp von Tacrolimus

Dargestellt ist der Vollblut-Konzentrations-Zeit-Verlauf nach einer peroralen Applikation von 5mg Tacrolimus in langsam metabolisierenden Individuen

3.6 Diskussion

3.6.1 PBPK-Modell von Tacrolimus im Kontext mit der Literatur

Mittels einer systematischen Literaturanalyse und Vorhersage von Prediction-Tools wurde der Calcineurin – Inhibitor Tacrolimus hinsichtlich seiner physikochemischen und pharmakokinetischen Eigenschaften beschrieben und ein physiologiebasiertes pharmakokinetisches Modell in gesunden Erwachsenen erstellt und evaluiert.

Im ersten Schritt wurde das PBPK-Modell für die intravenöse Applikation von Tacrolimus anhand von drei unterschiedlichen Dosierungsregimen (0,1mg/kg, 0,15mg/kg und 0,25mg/kg) der Studien, die auch drei unterschiedliche Analytikmethoden (LCS, ELISA und LC/MS/MS) eingesetzt haben, evaluiert.

Im zweiten Schritt wurden dann Absorptionsprozesse in das PBPK-Modell integriert und das Modell in 5 pharmakokinetischen Studien nach peroraler Applikation von Tacrolimus überprüft.

Das PBPK-Modell wurde bezüglich der Verteilung in die roten Blutkörperchen durch ein Minimal-PBPK-Modell an tatsächlich gemessene Vollblutspiegel optimiert.

Der pharmakogenomische Einfluss auf den Metabolismus von Tacrolimus wurde durch die Integration des Einzelnukleotid-Polymorphismus des CYP3A5 bewerkstelligt.

Insgesamt liegt das PBPK-Modell sowohl bei der intravenösen als auch der peroralen Applikation von Tacrolimus mit den vorhergesagten Werten innerhalb der Grenzen (2-facher Fehlerbereich bei der nicht-kompartimentellen Analyse und 90% Simulationsbereich bei der visuellen Übereinstimmung) und kann die tatsächlich gemessenen Punkte aus der Literatur darstellen.

Bisher sind in der Literatur zwei PBPK-Modelle von Tacrolimus beschrieben worden.

Barter et al. (2010) hat mittels der *in silico* Software Simcyp® ein PBPK-Modell für die perorale Gabe von 5mg Tacrolimus in gesunden Kaukasiern simuliert. Hierbei wurde in das Modell die die Absorption über das ADAM-Modell vollzogen, die Verteilung in die roten Blutkörperchen über eine Blut-/Plasma – Ratio von 15 berücksichtigt und die Enzymkinetik mittels der *in vitro* gemessenen Daten der intrinsischen Clearance-Werte von (Dai et al. 2006) in das Modell eingearbeitet. Das PBPK-Modell zeigte Probleme hinsichtlich der Verteilungs- und Eliminationsprozesse von Tacrolimus.

Gerard et al. (2014) hat auf der Basis Talspiegeln und Spiegeln nach 2 Stunden ein PBPK-Modell aufgebaut, um den Einfluss von acht Kovariaten zu untersuchen und die Kovariate nach ihrer Bedeutsamkeit zu wichten.

Die folgende Reihenfolge der Kovariate mit sinkendem Einfluss wurde ermittelt:

f_{up} > CL_{ityp} > bioavailability > body weight > hematocrit > CYP3A5 polymorphism > P_{fat} ,
> CYP3A4 Inhibitoren, die zu Arzneimittelinteraktionen führen.

3.6.2 PBPK-Modell von Tacrolimus hinsichtlich der Verteilungsprozesse in die Erythrozyten

Das von Barter et al. (2010) veröffentlichte PBPK-Modell hatte Schwierigkeiten, die Verteilungsprozesse im Blut darzustellen und Gerad et al. (2014) hat bestätigt, dass der Hämatokritwert ein klinisch bedeutsames Kovariat für Tacrolimus darstellt.

Im PBPK-Modell dieser Arbeit wurde in Übereinstimmung mit der Literatur die Eingabe des Blut-/Plasma-Konzentrationsverhältnis ($R=15$) und über das Minimal-PBPK die Verteilung von Tacrolimus beschrieben. R ist von der gegebenen Tacrolimuskonzentration und vom Hämatokritwert eines Patienten abhängig (Chow et al. 1997).

Dies macht diese Kenngröße variabel und muss patientenindividuell für eine bessere Vorhersage der Vollblutkonzentrationen bestimmt werden.

Die Notwendigkeit der Bestimmung des Hämatokritwerts, der in vielen pharmakokinetischen Studien nicht angegeben war, wird in zahlreichen Studien empfohlen (Chow et al. 1997; Jonge et al. 2012; Minematsu et al. 2004). Insbesondere niedrige Hämatokritwerte, die nach einer Transplantation auftreten, sind klinisch bedeutsam und müssen für eine richtigere Vorhersage von Vollblutkonzentrationen berücksichtigt werden.

Das Minimal-PBPK-Modell war im Vergleich zum Ganzkörper-Modell in der Lage, die Verteilungsprozesse von Tacrolimus zu beschreiben. Die reversible Bindung an die Erythrozyten, die auch den Metabolismus von Tacrolimus beeinflusst konnte so dargestellt werden.

Die Verteilungsprozesse von Tacrolimus werden durch ein PBPK-Modell auf Basis einer Gesamtexposition genauer beschrieben im Vergleich zu einer Talspiegelmessung.

Tacrolimus ist ein Wirkstoff mit einer Verteilung in das Gewebe, einer hohen Plasmaproteinbindung, aber einer kleinen Clearance im Blut (2,25L/h). Dieser Wirkstoff braucht mehrere Tage, um bei Dosisanpassungen im Fließgleichgewicht anzukommen. Daher ist es von besonderer klinischer Bedeutung durch die

Vorhersage geeigneter Dosierungen die Gesamtexposition sicher und effektiv einzustellen. Transplantierte Patienten können so schneller Steady-State Zustände erreichen; hingegen kann die Dosierung von Tacrolimus reduziert werden. Bezugnehmend auf die aktuelle Wartesituation stellt dieser Ansatz eine Rationale dar für die immunsuppressive Arzneimitteltherapie eines Transplantierten zum möglichst langen Erhalt seines Spenderorgans.

3.6.3 PBPK-Modell von Tacrolimus hinsichtlich des Einzelnukleotid-Polymorphismus des CYP3A5

Der Einzelnukleotid-Polymorphismus des CYP3A5, der die Bevölkerung in zwei genetische Subgruppen teilt, wurde in zahlreichen Studien beschrieben. Der Einfluss auf die Pharmakokinetik von Tacrolimus wurde im Vergleich zu anderen Kovariaten als niedriger eingestuft (Gérard et al. 2014).

Dennoch zeigt sich, dass es für Personen mit afro-amerikanischer Ethnizität spezielle Dosierungsempfehlungen gibt, die abhängig vom Genotyp des CYP3A5 sind (Hesselink 2003; Jonge et al. 2013).

Systematische Übersichtsarbeiten haben beschrieben, dass sich die orale Clearance in den beiden Gruppen bis zu 65% unterscheiden kann (Barry und Levine 2010).

Das PBPK-Modell hat basierend auf literaturreferenzierten Daten den Effekt des Einzelnukleotid-Polymorphismus in den genetischen Subgruppen innerhalb des 2-fachen Fehlerbereichs und des 90% Simulationsbereichs dargestellt.

Weitere Evaluierungen in pädiatrischen und transplantierten Populationen sind notwendig, um die Auswirkung des genetischen Polymorphismus mittels eines PBPK-Modells zu beschreiben.

Das vorliegende PBPK-Modell hat sich an der in Arzneimittelbehörden empfohlenen Vorgehensweise orientiert (European Medicines Agency, CHMP 2014). Durch eine systematische Literaturanalyse und Meta-Analyse wurde der Einfluss des Einzelnukleotid-Polymorphismus des CYP3A5 auf die Gesamtexposition von Tacrolimus quantifiziert. Im zweiten Schritt wurden die einer Meta-Analyse zugrunde liegenden genetischen und pharmakokinetischen Daten in ein PBPK-Modell inkorporiert mit dem Ziel eine personalisierte und patientenindividuell ausgerichtete Arzneimitteltherapie zu ermöglichen.

3.6.4 Limitationen des PBPK-Modells von Tacrolimus in gesunden Erwachsenen

Die Vorhersagekraft des PBPK-Modells hat Grenzen in den folgenden Punkten: Die Verteilung von Tacrolimus im Organismus ist im vorliegenden PBPK-Modell über ein Minimal-PBPK erfolgt. Dieses hat die Annahme, dass der Organismus in vier Organkompartimente (Leber, Pfortader, Zentralkompartiment und ein einzeln angepasstes Kompartiment) eingeteilt wird. Dieses Modell kann die Verteilung von Tacrolimus bezüglich der Proteinbindung in den Erythrozyten durch das einzeln angepasste Kompartiment adäquat beschreiben. Diese Einstellung ist vorgenommen worden, damit die Verteilungsprozesse richtig dargestellt werden konnten. Das Ganzkörper-PBPK-Modell kann die Verteilungsprozesse von Tacrolimus in vorliegenden Version von Simcyp® noch nicht richtig beschreiben. Es teilt den menschlichen Organismus in zahlreiche Kompartimente (Niere, Leber, Herz, Lunge, Fettgewebe etc.) ein und beschreibt die anatomischen und physiologischen Charakteristika des komplexen Organismus genauer.

In der Literatur gibt es zahlreiche Studien, die eine systemische in vivo Clearance für Tacrolimus angeben (Venkataramanan et al. 1995; Staatz und Tett 2004). Tacrolimus wird vor der Metabolisierung in der Leber bereits im Darm über die Cytochrom P450-Enzyme 3A4 und 3A5 metabolisiert. Das führt zu einer niedrigen Bioverfügbarkeit dieses Wirkstoffs. Daten über die intrinsischen Clearances in Darm und Leber sind in der Literatur nicht ausreichend gut beschrieben. Es gibt eine in vitro Studie, die für das CYP3A4 und CYP3A5 in der Leber intrinsische Clearance-Werte angibt (Dai et al. 2006). Das vorliegende PBPK-Modell hat für den Metabolismus in der Leber die unterschiedlichen Genotypen des CYP3A5 berücksichtigt. Für den Darm war eine Eingabe in die unterschiedlichen Allele in der Simcyp® Version 13.2 nicht möglich und es wurde über die Eingabe einer Clearance im Darm die Elimination beschrieben.

Die Pharmakokinetik des Metabolismus von Tacrolimus wird nicht ausschließlich über das CYP3A5 bestimmt. Auch das CYP3A4 ist zu einem größeren Anteil am Metabolismus dieser Verbindung beteiligt. Der Polymorphismus CYP3A4*22 in Kombination mit dem Polymorphismus des CYP3A5*3 werden Individuen zugeschrieben, die langsame Metabolisierer (PM) sind (Gijzen et al. 2013). Das entwickelte PBPK-Modell hat den Einzelnukleotid-Polymorphismus des CYP3A5 integriert.

Die interindividuelle Variabilität der Patienten, der Transplantationsarten und der für jede Klinik spezifischen Therapieregime ist groß. Das PBPK-Modell konnte an nur einem einzigen Datensatz für Expresser- und Nicht-Expresser evaluiert werden, weil sonst keine geeigneten Profile in der Literatur vorhanden waren. Dennoch ist dieser Ansatz sinnvoll, um einen ersten Trend der Simulationen für den Einzelnukleotid-Polymorphismus des CYP3A5 aufzuzeigen.

3.6.5 Fazit und Ausblick

Das in dieser Dissertation vorgestellte PBPK-Modell von Tacrolimus in gesunden Erwachsenen kann die Vollblut-Konzentrations-Zeit-Verläufe nach intravenösen und peroralen Applikationen von Tacrolimus unter Berücksichtigung des Einzelnukleotid-Polymorphismus des CYP3A5 darstellen.

Zukünftige Arbeiten müssen das PBPK-Modell auf die Population der Transplantierten übertragen. Hierfür sollten die aus der systematischen Literaturrecherche und Meta-Analyse ermittelten Ergebnisse einbezogen werden. Die Population muss neben den ethnisch bedingten physiologischen und anatomischen Eigenschaften auch je nach Transplantationstyp, dem Alter und der genetischen Ausstattung definiert werden.

Neben dem in diesem Modell inkorporierten Einzelnukleotid-Polymorphismus sollten auch die anderen Polymorphismen des CYP3A4 und CYP3A5 in das Modell integriert werden.

Danach muss das PBPK-Modell für die pädiatrische Population extrapoliert werden. Es lässt sich anhand der Ergebnisse der Beschreibung der dosisnormierten

Gesamtexposition von Tacrolimus vermuten, dass entwicklungspharmakologische Besonderheiten in der Population der Kinder zu niedrigeren Gesamtexpositionen im Verhältnis zu Erwachsenen führen. Dies hängt mit einer anderen Clearance in dem Alter zusammen.

4 Zusammenfassung

4.1 Abstract

The calcineurin inhibitor tacrolimus has gained a leading role in the immunosuppressive drug therapy after a solid graft transplantation. Trough level over 25ng/mL correlates with a higher risk for adverse effects i.e. neuro- and nephrotoxicity. By contrast low trough level under 5ng/mL increase the risk of allograft loss. Hence, a therapeutic drug monitoring based on measurement of trough levels is clinical routine.

Considering the pharmacokinetics of tacrolimus in a scientific manner the total exposure of tacrolimus is the parameter to put emphasize on. The area under the curve (AUC) is the pharmacokinetic parameter that obtain information about the concentration-time integral and assessment of the total exposure of a drug. Due to the fact that 11.000 patients are waiting for a living donor organ in Germany and the time-limited function of an organ it is essential to know the covariates influencing the AUC of tacrolimus and to achieve therapeutic steady state trough levels as fast as possible.

In the first step of this thesis a systematic literature search was conducted in order to show the influence of the ethnicity, transplantation type, age group and single nucleotide polymorphism of the cytochrome P4503A5*3 on the dose-normalized AUC. Latter single nucleotide polymorphism (SNP) divides the population in expresser (cyp3a5*1/*1 or cyp3a5*1/*3) and non expresser (cyp3a5*3/*3) groups. A meta-analyses revealed the effect of the SNP of the cyp3a5 on the dose-normalized AUC. The results show no differences between dose-normalized AUC in Asian and Caucasian. Liver transplanted patients have higher AUC than renal- or heart transplanted patients. In comparison to adults paediatrics show lower total exposure of tacrolimus due to a higher clearance. Meta-analyses show that expresser have lower AUC versus non-expresser.

In the second part of the thesis a physiologically based pharmacokinetic model (PBPK model) in healthy adults was developed based on the AUC taking the single nucleotide polymorphism of the cyp3a5 into account. The PBPK model was used to predict whole-blood concentration time profiles in three intravenous and five oral pharmacokinetic studies and have been evaluated.

This PBPK model is the prerequisite for the development of *in silico* models in transplanted patients of different ethnicity, transplantation type and age class. It can be used for optimizing pharmacogenomic study design and validation of clinical decisions.

4.2 Zusammenfassung (deutsch)

Der Calcineurin – Inhibitor Tacrolimus gehört zu den Eckpfeilern der immunsuppressiven Arzneimitteltherapie nach einer Organtransplantation. Talspiegel von über 25ng/mL korrelieren mit toxischen Effekten wie z.B. Neuro- und Nephrotoxizität, Talspiegel unter 5ng/mL bergen die Gefahr einer Transplantatabstoßung. Infolge der geringen therapeutischen Breite ist ein Therapeutisches Drug Monitoring (TDM) basierend auf der Messung von Talspiegeln im Vollblut obligate klinische Routine.

Für eine wissenschaftlich fundierte Beurteilung der Tacrolimus-Pharmakokinetik ist eine Betrachtung der Gesamtexposition notwendig. Die „Fläche unter der Kurve“ (AUC) ist die pharmakokinetische Kenngröße, die das Konzentrations-Zeit-Integral eines Wirkstoffs beschreibt und eine Beurteilung der Gesamtexposition über einen bestimmten Zeitraum zulässt. Angesichts von derzeit 11,000 Patienten in der Bundesrepublik Deutschland, die für ein Spenderorgan auf der Warteliste stehen, und der zeitlich begrenzten Funktionstüchtigkeit eines Transplantats, ist die Kenntnis von Einflussfaktoren auf die Gesamtexposition und ein schnelles und sicheres Einstellen auf eine therapeutische wirksame Tacrolimus Gesamtexposition von zentraler Bedeutung.

Im Rahmen der Dissertation wurde im ersten Schritt eine systematische Literaturanalyse durchgeführt mit dem Ziel den Einfluss der Ethnizität, des Transplantationstyp, der Altersklasse und des Einzelnukleotid-Polymorphismus des Cytochrom P4503A5*3 auf die dosisnormierte AUC zu ermitteln. Letzterer teilt die Bevölkerung in zwei genetische Subgruppen, die der Expresser (CYP3A5*1/*1 bzw. *1/*3) und Nicht-Expresser (CYP3A5*3/*3). Es wurde eine Meta-Analyse für den genetischen Polymorphismus vollzogen. Bei asiatischen und kaukasischen Transplantierten gab es keine Unterschiede in der dosisnormierten AUC. Lebertransplantierte zeigen im Vergleich zu Nieren- und Herztransplantierten höhere Gesamtexpositionen. Pädiatrische Patienten weisen gegenüber Erwachsenen niedrigere Gesamtexpositionen auf durch eine erhöhte Clearance. Die Meta-Analyse ergab, dass sich die Expresser-Gruppe von der Nicht-Expresser-Gruppe durch eine niedrigere AUC unterscheiden.

Im zweiten Teil der Dissertation wurde ein physiologiebasiertes pharmakokinetisches Modell (PBPK-Modell) in gesunden Erwachsenen basierend auf der AUC von Tacrolimus entwickelt, in das der Einzelnukleotid-Polymorphismus des CYP3A5 eingebaut worden ist, um Vollblutkonzentrations-Zeit-Profile vorhersagen zu können. Es wurde an Hand von drei intravenösen und fünf peroralen pharmakokinetischen Studien aus der Literatur evaluiert.

Dieses PBPK-Modell ist die Ausgangsbasis für die Entwicklung von PBPK-Modellen in transplantierten Patienten unterschiedlicher Ethnizität, Transplantationsart und Altersklasse und kann für die Entwicklung pharmakogenomischer Studiendesign und Absicherung klinischer Entscheidungen herangezogen werden.

5 Anhang

5.1 Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1	Gesamtexposition eines Arzneimittels -----	12
Abbildung 2	Einfluss der Pharmakogenomik auf die Pharmakokinetik und die Pharmakodynamik eines Arzneistoffs -----	16
Abbildung 3	Systematische Literaturrecherche gemäß dem PRISMA-Statement -----	42
Abbildung 4	Dosisnormierung der Gesamtexposition von Tacrolimus in unterschiedlichen Transplantationen ---	48
Abbildung 5	Forest-Plot der Meta-Analyse -----	51
Abbildung 6	Effektgröße und Konfidenzintervalle-----	52
Abbildung 7	Funnel-Plot, Publikationsbias der Meta-Analyse -----	53
Abbildung 8	Funnel-Plot, Publikationsbias der Meta-Analyse -----	54
Abbildung 9	Übersicht über die ADME-Prozesse von Tacrolimus im Organismus -----	69
Abbildung 10	Minimal-PBPK-Modell für Tacrolimus -----	71
Abbildung 11	Workflow zur Erstellung eines PBPK-Modells für Tacrolimus -----	80
Abbildung 12	Vollblutkonzentrations-Zeit-Profil von Tacrolimus nach intravenöser Applikation-----	84
Abbildung 13	Strukturformel von Tacrolimus -----	90
Abbildung 14	PBPK-Modell nach intravenöser Applikation von Tacrolimus -----	102
Abbildung 15	PBPK-Modell nach intravenöser Applikation von	

	Tacrolimus -----	105
Abbildung 16	PBPK-Modell nach intravenöser Applikation von Tacrolimus -----	107
Abbildung 17	PBPK-Modell nach peroraler Applikation von Tacrolimus -----	110
Abbildung 18	PBPK-Modelle nach peroraler Applikation von Tacrolimus -----	113
Abbildung 19	PBPK-Modelle nach peroraler Applikation von Tacrolimus -----	114
Abbildung 20	PBPK-Modell beim Expresser-Genotyp von Tacrolimus -----	117
Abbildung 21	PBPK-Modell beim Nicht-Expresser Genotyp von Tacrolimus -----	119

5.2 Tabellenverzeichnis

Tabelle 1	Suchstrategie in MEDLINE (PubMed).....	23
Tabelle 2	Suchstrategie in EMBASE (DIMDI).....	23
Tabelle 3	Neunzehn pharmakokinetische Studien in Nierentransplantierten	44
Tabelle 4	Vier pharmakokinetische Studien in Lebertransplantierten	46
Tabelle 5	Drei pharmakokinetische Studien in Herztransplantierten.....	46
Tabelle 6	Clearance von Tacrolimus.....	77
Tabelle 7	Löslichkeit von Tacrolimus	91
Tabelle 8	Permeabilität von Tacrolimus.....	91
Tabelle 9	Säurekonstante von Tacrolimus	92
Tabelle 10	Absorptionskonstante von Tacrolimus.....	93
Tabelle 11	Bioverfügbarkeit von Tacrolimus.....	93
Tabelle 12	Absorbierte Fraktion von Tacrolimus	94
Tabelle 13	Blut-/Plasma – Konzentrationsverhältnis von Tacrolimus	95
Tabelle 14	Verteilungskoeffizient von Tacrolimus.....	96
Tabelle 15	Eingabeparameter; ungebundene Fraktion.....	97
Tabelle 16	Eingabeparameter für das PBPK-Modell.....	99
Tabelle 17	Nicht-kompartimentelle Analyse der intravenösen Studien von Tacrolimus	103
Tabelle 18	Nicht-kompartimentelle Analyse der oralen Studien .	111
Tabelle 19	Nicht-kompartimentelle Analyse der Expresser- und Nicht-Expresser-Gruppe der peroralen Studie	118

5.3 Abkürzungsverzeichnis

ACAT	Advanced compartmental absorption transit
ADAM	Advanced Dissolution Absorption Model
ADME	Absorption, Distribution, Metabolisierung, Elimination
ATG/OKT3	Anti-Thymozyten-Globulin/Muromonab-CD3
AUC	Area under the Curve; "Fläche unter der Kurve"
AUC _{iv}	Area under the Curve nach einer intravenösen Applikation
AUC _{po}	Area under the Curve nach einer peroralen Applikation
AUC _{single-dose (0-∞)}	Area under the Curve nach einer Einzeldosis von null bis unendlich
AUC _{ss}	Area under the Curve im Steady-State
AUMC	Area under the first moment Curve
AZA	Azathioprin
BCS	Biopharmaceutical Classification System
B _{max}	Maximale Bindungsaffinität
bzw.	beziehungsweise
C	Parameter, der die Wichtungen bei der Berechnung der Varianz zwischen den Studien einbezieht
CAT	Compartmental Absorption Transit
Cl	Clearance
CL _H	Hepatische Clearance
CL _R	Renale Clearance
C _{max}	Maximalkonzentration
CYP	Cytochrom P450
D	Dosis
D	Effektgröße; Standard-Mittelwertsdifferenz
df	degree of freedom; Freiheitsgerade
DNS	Desoxyribonukleinsäure
DTZ	Diltiazem
EMA	European Medicine Agency; europäische Arzneimittelbehörde
et al.	et alii (und andere)
f	Bioverfügbarkeit
f _a	Fraktion aus der Dosis
FDA	Food and Drug Administration
F _G	Fraktion, die dem first-pass Metabolismus im Darm entgeht
F _H	Fraktion, die dem first-pass Metabolismus der Leber entgeht
f _u	Ungebundene Arzneistofffraktion
g	tatsächliche Effektgröße; Standard-Mittelwertsdifferenz
GIT	Gastrointestinaltrakt

HLA	Humanes Leukozytenantigen
ICH	International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use
in silico	computergestützt
IV	intravenös
J	Hedge-Faktor; Korrekturfaktor
K_D	Dissoziationskonstante aus den Erythrozyten
k_e	Eliminationskonstante
K_P	Verteilungskoeffizient in der Leber
LADME	Liberation, Absorption, Distribution, Metabolisierung, Elimination
LL_M^*	untere Grenze des Konfidenzintervalls
logP	Verteilungskoeffizient
M^*	gewichteter Gesamtmittelwert
MeSH	Medical Sub Headings
MHC	Haupthistokompatibilitätskomplex
MMF	Mycophenolatmofetil
MRT	Mittlere Verweilzeit
n.a.	nicht angegeben
NCA	Nicht-kompartimentelle Analyse
p^*	p-Wert für die statistische Signifikanz
PBPK – Modell	Physiologiebasiertes pharmakokinetisches Modell
PD	Pharmakodynamik
P_{eff}	effektive Permeabilität
Per definitionem	definitionsgemäß
PK	Pharmakokinetik
PO	peroral
PSA	Poly Surface Area
Q	Streuungsparameter für die Berechnung der Varianz zwischen den Studien
R	Blut-/Plasma-Konzentrationsverhältnis
SAC	Single adjusted compartment (einzelnes angepasstes Kompartiment)
SD	Standardabweichung
SE_M^*	abgeschätzter Standardfehler
SNP	Single nucleotide polymorphism; Einzelnukleotid-Polymorphismus
S_{within}	gepoolte Standardabweichung
$t_{1/2}$	Eliminationshalbwertszeit

TDM	Therapeutisches Drug Monitoring
T_{\max}	Zeit, zu der c_{\max} erreicht wird
TPG	Transplantationsgesetz
Tx	Transplantation; Transplantierte
UAW	Unerwünschtes Arzneimittelereignis
UL_{M^*}	obere Grenze des Konfidenzintervalls
V_d	Verteilungsvolumen als pharmakokinetische Kenngröße
V_d	innere Varianz im Random-Effects-Modell
V_L	Verteilungsvolumen in der Leber
V_{M^*}	Varianz des gewichteten Gesamtmittelwerts
V_{SAC}	Verteilungsvolumen im einzeln angepassten Kompartiment
V_{ss}	Verteilungsvolumen im Steady-State
V_d	Varianz zur Berechnung der Wichtungen
V_{ZK}	Verteilungsvolumen im Zentralkompartiment
WHO	World Health Organisation
W_g^*	Wichtungen der Effektgröße
Z^*	Z-Wert für den Z-Test
ZK	Zentralkompartiment
T	Dosierungsintervall „Tau“
τ^2	Varianz zwischen den Studien
$\varphi(Z^*)$	Kumulative Standardnormalverteilung

5.4 Software

- **Microsoft® - Excel, Version für Microsoft Office 2013**
Microsoft Corporation, Redmond, USA

- **Simcyp® - Simulator, Version 13.2.89.0 Release 2 April 2014**
Simcyp Limited®, Sheffield, Großbritannien

- **R Studio , Version 2.15.3 Januar 2013**
The R Foundation for Statistical Computing

- **Graph Pad Prism Demo, Version 5.00 für Windows 2014**
Graph Pad Software, San Diego, Kalifornien

- **Comprehensive Meta-Analysis Demo, 2014**
Biostat Inc., Englewood, USA

- **ScanData**
Bayer Technologies Services, Leverkusen, Deutschland

5.5 Literaturverzeichnis

Alles, M. Chehani; Gardiner-Garden, Margaret; Nott, David J.; Wang, Yixin; Foekens, John A.; Sutherland, Robert L. et al. (2009): Meta-analysis and gene set enrichment relative to er status reveal elevated activity of MYC and E2F in the “basal” breast cancer subgroup. In: *PLoS One* 4 (3), S. e4710.

Anglicheau, Dany; Flamant, Martin; Schlageter, Marie H el ene; Martinez, Frank; Cassinat, Bruno; Beaune, Philippe et al. (2003): Pharmacokinetic interaction between corticosteroids and tacrolimus after renal transplantation. In: *Nephrology Dialysis Transplantation* 18 (11), S. 2409–2414.

Anzenbacher, P.; Anzenbacherova, E. (2001): Cytochromes P450 and metabolism of xenobiotics. In: *Cellular and Molecular Life Sciences CMLS* 58 (5-6), S. 737–747.

Armstrong, V. W|Armstrong (2002): Principles and Practice of Monitoring Immunosuppressive Drugs. Grundsatz und Praxis beim Monitoring von Immunsuppressiva. In: *LaboratoriumsMedizin* 26 (1/2), S. 27–36.

Astellas Pharma GmbH (2006): Clinical Pharmacokinetics of Prograf (R). Online verf ugbar unter http://www.astellas-transplant.de/media/prograf_brochure.pdf, zuletzt gepr uft am 29.10.2014.

Barry, Arden; Levine, Marc (2010): A systematic review of the effect of CYP3A5 genotype on the apparent oral clearance of tacrolimus in renal transplant recipients. In: *Therapeutic drug monitoring* 32 (6), S. 708–714.

Barter, Z. E.; Perrett, H. F.; Yeo, K. Rowland; Allorge, D.; Lennard, M. S.; Rostami-Hodjegan, A. (2010): Determination of a quantitative relationship between hepatic CYP3A5* 1/* 3 and CYP3A4 expression for use in the prediction of metabolic clearance in virtual populations. In: *Biopharmaceutics & drug disposition* 31 (8-9), S. 516–532.

Bekersky, Ihor; Dressler, Dawna; Colburn, Wayne; Mekki, Qais (1999a): Bioequivalence of 1 and 5 mg tacrolimus capsules using a replicate study design. In: *The Journal of Clinical Pharmacology* 39 (10), S. 1032–1037.

Bekersky, Ihor; Dressler, Dawna; Mekki, Qais A. (1999b): Dose linearity after oral administration of tacrolimus 1-mg capsules at doses of 3, 7, and 10 mg. In: *Clinical therapeutics* 21 (12), S. 2058–2064.

Bekersky, Ihor; Dressler, Dawna; Mekki, Qais A. (2001): Effect of Low-and High-Fat Meals on Tacrolimus Absorption following 5 mg Single Oral Doses to Healthy Human Subjects. In: *The Journal of Clinical Pharmacology* 41 (2), S. 176–182.

Berezhkovskiy, Leonid M. (2004): Volume of distribution at steady state for a linear pharmacokinetic system with peripheral elimination. In: *Journal of pharmaceutical sciences* 93 (6), S. 1628–1640.

Beysens, A. J.; Wijnen, R. M.; Beuman, G. H.; Van Der Heyden, J; Kootstra, G.; van As, H. (Hg.) (1991): FK 506: monitoring in plasma or in whole blood? *Transplantation Proceedings* (23), S. 6

Boettger, Rebecca; Lee, Joyce; Rifkin, Celia; Kayser, Steven R. (2006): Heart Transplantation and Altered Drug Response, Part II: Pharmacologic Management of Post-Transplantation Complications. In: *Progress in cardiovascular nursing* 21 (4), S. 219–222.

- Borenstein, Michael; Hedges, Larry V.; Higgins, Julian P. T.; Rothstein, Hannah R. (2011):** Introduction to meta-analysis: John Wiley & Sons.
- Cawello, Willi (1998):** Parameter zur modellunabhängigen Pharmakokinetik. Standardisierung von Planung, Auswertung und Berichterstattung. Als Ms. gedr. Aachen: Shaker (Berichte aus der Medizin).
- Chow, Fung-Sing; Piekoszewski, Wojciech; Jusko, William J. (1997):** Effect of hematocrit and albumin concentration on hepatic clearance of tacrolimus (FK506) during rabbit liver perfusion. In: *Drug metabolism and disposition* 25 (5), S. 610–616.
- Cosio, Fernando G.; Amer, Hatem; Grande, Joseph P.; Larson, Timothy S.; Stegall, Mark D.; Griffin, Matthew D. (2007):** Comparison of low versus high tacrolimus levels in kidney transplantation: assessment of efficacy by protocol biopsies. In: *Transplantation* 83 (4), S. 411–416. DOI: 10.1097/01.tp.0000251807.72246.7d.
- Dai, Yang; Hebert, Mary F.; Isoherranen, Nina; Davis, Connie L.; Marsh, Christopher; Shen, Danny D.; Thummel, Kenneth E. (2006):** Effect of CYP3A5 polymorphism on tacrolimus metabolic clearance in vitro. In: *Drug Metab. Dispos.* 34 (5), S. 836–847. DOI: 10.1124/dmd.105.008680.
- den Buijsch, Robert AM Op; de Vries, Johan E; Cheung, Chi Yuen; Stolk, Leo M. L.; Christiaans, Maarten H. L.; Undre, Nas A. et al. (2007):** Influence of pregnane X receptor (PXR) polymorphisms on the pharmacokinetics of tacrolimus in renal transplant recipients. In: *Pharmacokinetics and pharmacogenetics of tacrolimus in renal transplant patients*, S. 179.
- Deutsche Stiftung Organtransplantation (2014a):** DSO: Herz. Online verfügbar unter <http://www.dso.de/organspende-und-transplantation/warteliste-und-vermittlung/herz.html>, zuletzt geprüft am 14.10.2014.
- Deutsche Stiftung Organtransplantation (2014b):** DSO: Leber. Online verfügbar unter <http://www.dso.de/organspende-und-transplantation/warteliste-und-vermittlung/leber.html>, zuletzt geprüft am 14.10.2014.
- Deutsche Stiftung Organtransplantation (2014c):** DSO: Lunge. Online verfügbar unter <http://www.dso.de/organspende-und-transplantation/warteliste-und-vermittlung/lunge.html>, zuletzt geprüft am 14.10.2014.
- Deutsche Stiftung Organtransplantation (2014d):** DSO: Warteliste und Vermittlung. Online verfügbar unter <http://www.dso.de/organspende-und-transplantation/warteliste-und-vermittlung.html>, zuletzt geprüft am 14.10.2014.
- Eichelbaum, M.; Mineshita, S.; Ohnhaus, E. E.; Zekorn, C. (1986):** The influence of enzyme induction on polymorphic sparteine oxidation. In: *British Journal of Clinical Pharmacology* 22 (1), S. 49–53. DOI: 10.1111/j.1365-2125.1986.tb02879.x.
- European Medicines Agency, CHMP (2014):** Guideline on key aspects for the use of pharmacogenomic methodologies in the pharmacovigilance evaluation of medicinal products, zuletzt geprüft am 16.10.2014.
- Eurotransplant International (2014):** Deutschland | Eurotransplant. Online verfügbar unter https://www.eurotransplant.org/cms/index.php?page=pat_germany, zuletzt geprüft am 14.10.2014.
- Evans, David M.; Cardon, Lon R. (2004):** Guidelines for Genotyping in Genomewide Linkage Studies: Single-Nucleotide–Polymorphism Maps Versus Microsatellite Maps. In: *The American Journal of Human Genetics* 75 (4), S. 687–692. DOI: 10.1086/424696.

- Fagerlund, T. H.; Braaten, Ø. (2001):** No pain relief from codeine...? In: *Acta Anaesthesiologica Scandinavica* 45 (2), S. 140–149. DOI: 10.1111/j.1399-6576.2001.450203.x.
- Fischer, Lutz; Trunečka, Pavel; Gridelli, Bruno; Roy, Andre; Vitale, Alessandro; Valdivieso, Andrés et al. (2011):** Pharmacokinetics for once-daily versus twice-daily tacrolimus formulations in de novo liver transplantation: A randomized, open-label trial. In: *Liver Transplantation* 17 (2), S. 167–177.
- Food and Drug Administration (2013):** Drug Approval Package: Prograf (tacrolimus) NDA # 050708. Unter Mitarbeit von FDA/CDER/OCCOM/DIS. Online verfügbar unter http://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/nda/pre96/050708_prograf_toc.cfm, zuletzt geprüft am 14.10.2014.
- Fricke, L. (2006):** Postmortale- und Lebendnierenspende aus medizinischer Sicht. In: *Schleswig-Holsteinisches Ärzteblatt* (7), S. 74–77, zuletzt geprüft am 14.10.2014.
- Gérard, Cécile; Stocco, Jeanick; Hulin, Anne; Blanchet, Benoit; Verstuyft, Céline; Durand, François et al. (2014):** Determination of the Most Influential Sources of Variability in Tacrolimus Trough Blood Concentrations in Adult Liver Transplant Recipients: A Bottom-Up Approach. In: *AAPS J* 16 (3), S. 379–391. DOI: 10.1208/s12248-014-9577-8.
- Gertz, Michael; Houston, J. Brian; Galetin, Aleksandra (2011):** Physiologically based pharmacokinetic modeling of intestinal first-pass metabolism of CYP3A substrates with high intestinal extraction. In: *Drug metabolism and disposition* 39 (9), S. 1633–1642.
- Gijssen, Violette; Mital, Seema; van Schaik, Ron H.; Soldin, Offie P.; Soldin, Steven J.; van der Heiden, Ilse P. et al. (2011):** Age and CYP3A5 genotype affect tacrolimus dosing requirements after transplant in pediatric heart recipients. In: *The Journal of Heart and Lung Transplantation* 30 (12), S. 1352–1359. DOI: 10.1016/j.healun.2011.08.001.
- Gijssen, Violette MGJ; van Schaik, Ron HN; Elens, Laure; Soldin, Offie P.; Soldin, Steven J.; Koren, Gideon; de Wildt, Saskia N (2013):** CYP3A4* 22 and CYP3A combined genotypes both correlate with tacrolimus disposition in pediatric heart transplant recipients. In: *Pharmacogenomics* 14 (9), S. 1027–1036.
- Ginsberg, Gary; Hattis, Dale; Russ, Abel; Sonawane, Babasaheb (2004):** Physiologically based pharmacokinetic (PBPK) modeling of caffeine and theophylline in neonates and adults: implications for assessing children's risks from environmental agents. In: *Journal of toxicology and environmental health. Part A* 67 (4), S. 297–329. DOI: 10.1080/15287390490273550.
- Hardinger, Karen L.; Park, Jeong M.; Schnitzler, Mark A.; Koch, Matthew J.; Miller, Brent W.; Brennan, Daniel C. (2004):** Pharmacokinetics of Tacrolimus in Kidney Transplant Recipients: Twice Daily Versus Once Daily Dosing. In: *American journal of transplantation* 4 (4), S. 621–625. DOI: 10.1111/j.1600-6143.2004.00383.x.
- Haufroid, V.; Wallemacq, P.; VanKerckhove, V.; Elens, L.; Meyer, M. de; Eddour, D. C. et al. (2006):** CYP3A5 and ABCB1 Polymorphisms and Tacrolimus Pharmacokinetics in Renal Transplant Candidates: Guidelines from an Experimental Study. In: *American journal of transplantation* 6 (11), S. 2706–2713. DOI: 10.1111/j.1600-6143.2006.01518.x.
- Hauptman, Paul J.; Mehra, Mandeep R. (2005):** It is time to stop ignoring malignancy in heart transplantation: a call to arms. In: *The Journal of Heart and Lung Transplantation* 24 (8), S. 1111–1113.
- Hautmann, R. (2010):** Urologie: Springer. Online verfügbar unter <http://books.google.de/books?id=eGMOBAAAQBAJ>.

- Hedges, Larry V. (2009):** Statistical considerations. In: *The handbook of research synthesis and meta-analysis*, S. 37–47.
- Hesselink, D. (2003):** Genetic polymorphisms of the CYP3A4, CYP3A5, and MDR-1 genes and pharmacokinetics of the calcineurin inhibitors cyclosporine and tacrolimus. In: *Clinical Pharmacology & Therapeutics* 74 (3), S. 245–254. DOI: 10.1016/S0009-9236(03)00168-1.
- Hesselink, Dennis A.; van Gelder, Teun; van Schaik, Ron HN (2005):** The pharmacogenetics of calcineurin inhibitors: one step closer toward individualized immunosuppression?
- Higgins, J. P.T. (2010):** Green S. Cochrane handbook for systematic reviews of interventions version 5.0. 2 (updated September, 2009). The Cochrane Collaboration, 2009. In: *www.cochrane-handbook.org/(accessed 18 May 2009)*.
- Holford NHG, Hale M, Ko HC, Steimer J-L, Sheiner LB, Peck CC (1999):** UCSF - Center for Drug Development Science - Simulation in Drug Development: Good Practices. Online verfügbar unter <http://bts.ucsf.edu/cdds/research/sddgpreport.php>, zuletzt geprüft am 29.10.2014.
- Honbo, T.; Kobayashi, M.; Hane, K.; Hata, T.; Ueda, Y. (Hg.) (1987):** The oral dosage form of FK-506 (19).
- ICH (2000):** Clinical Investigation of Medicinal Products In The Pediatric Population E11. Online verfügbar unter http://www.ich.org/fileadmin/Public_Web_Site/ICH_Products/Guidelines/Efficacy/E11/Step4/E11_Guideline.pdf.
- Iwasaki, K.; Shiraga, T.; Nagase, K.; Tozuka, Z.; Noda, K.; Sakuma, S. et al. (1993):** Isolation, identification, and biological activities of oxidative metabolites of FK506, a potent immunosuppressive macrolide lactone. In: *Drug metabolism and disposition* 21 (6), S. 971–977.
- Iwasaki, KTHKYTYSTAKAM; Shiraga, T.; Matsuda, H.; Nagase, K.; Tokuma, Y.; Hata, T. et al. (1995):** Further metabolism of FK506 (tacrolimus). Identification and biological activities of the metabolites oxidized at multiple sites of FK506. In: *Drug metabolism and disposition* 23 (1), S. 28–34.
- Jamei, Masoud; Marciniak, Steve; Feng, Kairui; Barnett, Adrian; Tucker, Geoffrey; Rostami-Hodjegan, Amin (2009):** The Simcyp population-based ADME simulator. In: *Expert Opin Drug Metab Toxicol* 5 (2), S. 211–223. DOI: 10.1517/17425250802691074.
- Jonge, H. de; Loor, H. de; Verbeke, Kristin; Vanrenterghem, Yves; Kuypers (2012):** In vivo CYP3A4 activity, CYP3A5 genotype, and hematocrit predict tacrolimus dose requirements and clearance in renal transplant patients. In: *Clinical Pharmacology & Therapeutics* 92 (3), S. 366–375.
- Jonge, Hylke de; Loor, Henriette de; Verbeke, Krisitin; Vanrenterghem, Yves; Kuypers, Dirk R J (2013):** Impact of CYP3A5 genotype on tacrolimus versus midazolam clearance in renal transplant recipients: new insights in CYP3A5-mediated drug metabolism. In: *Pharmacogenomics* 14 (12), S. 1467–1480. DOI: 10.2217/pgs.13.133.
- Jusko, W. J.; D'Ambrosio, R. (Hg.) (1991):** Monitoring FK 506 concentrations in plasma and whole blood (23).
- Jusko, William J.; Piekoszewski, Wojciech; Klintmalm, Goran B.; Shaefer, Mark S.; Hebert, Mary F.; Piergies, Antoni A. et al. (1995):** Pharmacokinetics of tacrolimus in liver transplant patients*. In: *Clinical Pharmacology & Therapeutics* 57 (3), S. 281–290.

Kahan, Barry D.; Keown, Paul; Levy, Gary A.; Johnston, Atholl (2002): Therapeutic drug monitoring of immunosuppressant drugs in clinical practice. In: *Clinical therapeutics* 24 (3), S. 330–350.

Khalil, Feras; Läer, Stephanie (2014): Physiologically Based Pharmacokinetic Models in the Prediction of Oral Drug Exposure Over the Entire Pediatric Age Range—Sotalol as a Model Drug. In: *AAPS J* 16 (2), S. 226-239. DOI: 10.1208/s12248-013-9555-6.

Kidney Disease Improving Global Outcomes (2009): KDIGO Clinical Practice Guideline for the Care of Kidney Transplant Recipients (Supplement 3 (Vol.9)), zuletzt geprüft am 16.10.2014.

Kino, Toru; Hatanaka, Hashimoto; Hashimoto, Michisane; Nishiyama, Michihisa; Goto, Toshio; Okuhara, MASAKUNI et al. (1987): FK-506, a novel immunosuppressant isolated from a *Streptomyces*. I. Fermentation, isolation, and physico-chemical and biological characteristics. In: *The Journal of antibiotics* 40 (9), S. 1249–1255.

Kobashigawa, Jon; Miller, Leslie; Renlund, Dale; Mentzer, Robert; Alderman, Edwin; Bourge, Robert et al. (1998): A Randomized Active-Controlled Trial of Mycophenolate Mofetil in Heart Transplant Recipients¹. In: *Transplantation* 66 (4), S. 507–515.

Kobashigawa, Jon A.; Meiser, Bruno M. (2005): Review of major clinical trials with mycophenolate mofetil in cardiac transplantation. In: *Transplantation* 80 (2S), S. S235.

Krukemeyer, Manfred; Lison, Arno E. (2006): Transplantationsmedizin. Ein Leitfaden für den praktiker. Berlin, New York: W. de Gruyter.

Kuehl, Peter; Zhang, Jiong; Lin, Yvonne; Lamba, Jatinder; Assem, Mahfoud; Schuetz, John et al. (2001): Sequence diversity in CYP3A promoters and characterization of the genetic basis of polymorphic CYP3A5 expression. In: *Nature genetics* 27 (4), S. 383–391.

Kuypers, D. R.J.; Jonge, Hylke de; Naesens, Maarten; Lerut, Evelyne; Verbeke, Kristin; Vanrenterghem, Yves (2007): CYP3A5 and CYP3A4 but not MDR1 single-nucleotide polymorphisms determine long-term tacrolimus disposition and drug-related nephrotoxicity in renal recipients. In: *Clinical Pharmacology & Therapeutics* 82 (6), S. 711–725.

Kuypers, Dirk R J; Naesens, Maarten; Jonge, Hylke de; Lerut, Evelyne; Verbeke, Kristin; Vanrenterghem, Yves (2010): Tacrolimus dose requirements and CYP3A5 genotype and the development of calcineurin inhibitor-associated nephrotoxicity in renal allograft recipients. In: *Therapeutic drug monitoring* 32 (4), S. 394–404. DOI: 10.1097/FTD.0b013e3181e06818.

Kuypers, Dirk R. J.; Claes, Kathleen; Evenepoel, Pieter; Maes, Bart; Vanrenterghem, Yves (2004): Clinical Efficacy and Toxicity Profile of Tacrolimus and Mycophenolic Acid in Relation to Combined Long-term Pharmacokinetics in de Novo Renal Allograft Recipients. In: *Clin Pharmacol Ther* 75 (5), S. 434–447.

Land, W. (2006): Immunsuppressive Therapie: Thieme. Online verfügbar unter <http://books.google.de/books?id=YtNk7xByE-4C>.

Laskow, D. A.; Neylan 3rd, J. F.; Shapiro, R. S.; Pirsch, J. D.; Vergne-Marini, P. J.; Tomlanovich, S. J. (1998): The role of tacrolimus in adult kidney transplantation: a review. In: *Clinical transplantation* 12 (6), S. 489–503.

Laupacis, Andreas; Keown, Paul; Pus, Nancy; Krueger, Hans; Ferguson, Beryl; Wong, Cindy; Muirhead, Norman (1996): A study of the quality of life and cost-utility of renal transplantation. In: *Kidney Int* 50 (1), S. 235–242.

- Lennard, M. S.; Tucker, G. T.; Silas, J. H.; Freestone, S.; Ramsay, L. E.; Woods, H. F. (1983):** Differential stereoselective metabolism of metoprolol in extensive and poor debrisoquin metabolizers. In: *Clin Pharmacol Ther* 34 (6), S. 732–737. DOI: 10.1038/clpt.1983.242.
- Li, Jia-Li; Wang, Xue-Ding; Wang, Chang-Xi; Fu, Qian; Liu, Long-Shan; Huang, Min; Zhou, Shu-Feng (2008):** Rapid and simultaneous determination of tacrolimus (FK506) and diltiazem in human whole blood by liquid chromatography–tandem mass spectrometry: application to a clinical drug–drug interaction study. In: *Journal of Chromatography B* 867 (1), S. 111–118.
- Liberati, Alessandro; Altman, Douglas G.; Tetzlaff, Jennifer; Mulrow, Cynthia; Gøtzsche, Peter C.; Ioannidis, John P. A. et al. (2009):** The PRISMA statement for reporting systematic reviews and meta-analyses of studies that evaluate health care interventions: explanation and elaboration. In: *Annals of internal medicine* 151 (4), S. W-65-W-94.
- Liu, Chi Leung; Fan, Sheung Tat; Lo, Chung Mau; Chan, See Ching; Ng, Irene O.; Lai, Ching Lung; Wong, John (2004):** Interleukin-2 receptor antibody (basiliximab) for immunosuppressive induction therapy after liver transplantation: A protocol with early elimination of steroids and reduction of tacrolimus dosage. In: *Liver Transplantation* 10 (6), S. 728–733.
- Löffler, G.; Petrides, P. E.; Heinrich, P. C.: Biochemie und Pathobiochemie. 2005:** Springer Verlag Berlin.
- Lucangioli, Silvia E.; Kenndler, Ernst; Carlucci, Adriana; Tripodi, Valeria P.; Scioscia, Silvia L.; Carducci, Clyde N. (2003):** Relation between retention factors of immunosuppressive drugs in microemulsion electrokinetic chromatography with biosurfactants and octanol–water partition coefficients. In: *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis* 33 (5), S. 871–878.
- Machida, M.; Takahara, S.; Ishibashi, M.; Hayashi, M.; Sekihara, T.; Yamanaka, H. (Hg.) (1991):** Effect of temperature and hematocrit on plasma concentration of FK 506 (23).
- MacPhee, Iain A. M.; Fredericks, Salim; Mohamed, Maha; Moreton, Michelle; Carter, Nicholas D.; Johnston, Atholl et al. (2005):** Tacrolimus Pharmacogenetics: The CYP3A5*1 Allele Predicts Low Dose-Normalized Tacrolimus Blood Concentrations in Whites and South Asians. In: *Transplantation* 79 (4).
- Mancinelli, Laviero M.; Frassetto, Lynda; Floren, Leslie C.; Dressler, Dawna; Carrier, Steve; Bekersky, Ihor et al. (2001):** The pharmacokinetics and metabolic disposition of tacrolimus: A comparison across ethnic groups[ast]. In: *Clin Pharmacol Ther* 69 (1), S. 24–31.
- Mathew, Binu S.; Fleming, Denise H.; Jeyaseelan, Visalakshi; Chandy, Sujith J.; Annapandian, V. M.; Subbanna, P. K.; John, George T. (2008):** A limited sampling strategy for tacrolimus in renal transplant patients. In: *British journal of clinical pharmacology* 66 (4), S. 467–472.
- McAlister, Vivian C.; Haddad, E.; Renouf, E.; Malthaner, R. A.; Kjaer, M. S.; Gluud, L. L. (2006):** Cyclosporin versus Tacrolimus as Primary Immunosuppressant After Liver Transplantation: A Meta-Analysis. In: *American journal of transplantation* 6 (7), S. 1578–1585.

- McMaster, P.; Mirza, D. F.; Ismail, T.; Vennarecci, G.; Patapis, P.; Mayer, A. D. (1995):** Therapeutic drug monitoring of tacrolimus in clinical transplantation. In: *Therapeutic drug monitoring* 17 (6), S. 602–605.
- Medawar, P. B. (1944):** The behaviour and fate of skin autografts and skin homografts in rabbits: A report to the War Wounds Committee of the Medical Research Council. Unter Mitarbeit von P. B. Medawar. Wiley-Blackwell.
- Medawar, P. B. (1945):** A second study of the behaviour and fate of skin homografts in rabbits: A Report to the War Wounds Committee of the Medical Research Council. In: *J. Anat.* 79 (Pt 4), S. 157-176.4.
- Mendonza, Anisha E.; Zahir, Hamim; Gohh, Reginald Y.; Akhlaghi, Fatemeh (2007):** Tacrolimus in diabetic kidney transplant recipients: pharmacokinetics and application of a limited sampling strategy. In: *Therapeutic drug monitoring* 29 (4), S. 391–398.
- Merrill, John P. (1956):** SUCCESSFUL HOMOTRANSPLANTATION OF THE HUMAN KIDNEY BETWEEN IDENTICAL TWINS. In: *JAMA* 160 (4), S. 277. DOI: 10.1001/jama.1956.02960390027008.
- Minematsu, T.; Sugiyama, E.; Kusama, M.; Hori, S.; Yamada, Y.; Ohtani, H. et al. (Hg.) (2004):** Effect of hematocrit on pharmacokinetics of tacrolimus in adult living donor liver transplant recipients: Elsevier (36).
- Miura, Masatomo; Satoh, Shigeru; Niioaka, Takenori; Kagaya, Hideaki; Saito, Mitsuru; Hayakari, Makoto et al. (2008):** Limited sampling strategy for simultaneous estimation of the area under the concentration-time curve of tacrolimus and mycophenolic acid in adult renal transplant recipients. In: *Therapeutic drug monitoring* 30 (1), S. 52–59.
- Moher, David; Liberati, Alessandro; Tetzlaff, Jennifer; Altman, Douglas G. (2009):** Preferred reporting items for systematic reviews and meta-analyses: the PRISMA statement. In: *Annals of internal medicine* 151 (4), S. 264–269.
- Möller, A.; Iwasaki, K.; Kawamura, A.; Teramura, Y.; Shiraga, T.; Hata, T. et al. (1999):** The disposition of ¹⁴C-labeled tacrolimus after intravenous and oral administration in healthy human subjects. In: *Drug metabolism and disposition* 27 (6), S. 633–636.
- Mollison, K. W.; Fey, T. A.; Gauvin, D. M.; Sheets, M. P.; Smith, M. L.; Pong, M. et al. (1998):** Discovery of ascomycin analogs with potent topical but weak systemic activity for treatment of inflammatory skin diseases. In: *Curr Pharm Des* 4 (5), S. 367–379.
- Mourad, Michel; Wallemacq, Pierre; Meyer, Martine de; Brandt, Dimitri; van Kerkhove, Valérie; Malaise, Jacques et al. (2006):** The influence of genetic polymorphisms of cytochrome P450 3A5 and ABCB1 on starting dose-and weight-standardized tacrolimus trough concentrations after kidney transplantation in relation to renal function. In: *Clinical Chemical Laboratory Medicine* 44 (10), S. 1192–1198.
- Peters, Sheila Annie (2012):** Physiologically-based pharmacokinetic (PBPK) modeling and simulations: Principles, methods, and applications in the pharmaceutical industry: John Wiley & Sons.
- Pirsch, John; Bekersky, Ihor; Vincenti, Flavio; Boswell, Garry; Woodle, E. Steve; Alak, Ala et al. (2000):** Coadministration of Tacrolimus and Mycophenolate Mofetil in Stable Kidney Transplant Patients: Pharmacokinetics and Tolerability. In: *The Journal of Clinical Pharmacology* 40 (5), S. 527–532. DOI: 10.1177/00912700022009143.
- Plosker, GregL.; Foster, RachelH. (2000):** Tacrolimus. In: *Drugs* 59 (2), S. 323-389. DOI: 10.2165/00003495-200059020-00021.

Pohlenz, Max (1938): Hippokrates: und die begründung der wissenschaftlichen medizin: Walter de Gruyter.

Poulin, Patrick; Theil, Frank-Peter (2002): Prediction of pharmacokinetics prior to in vivo studies. 1. Mechanism-based prediction of volume of distribution. In: *Journal of pharmaceutical sciences* 91 (1), S. 129–156.

Renders, L.; Frisman, M.; Ufer, M.; Mosyagin, I.; Haenisch, S.; Ott, U. et al. (2006): CYP3A5 Genotype Markedly Influences the Pharmacokinetics of Tacrolimus and Sirolimus in Kidney Transplant Recipients. In: *Clin Pharmacol Ther* 81 (2), S. 228–234.

Ringe, Burckhardt; Braun, Felix; Schütz, Ekkehard; Füzesi, Lazlo; Lorf, Thomas; Canelo, Ruben et al. (2001): A novel management strategy of steroid-free immunosuppression after liver transplantation: efficacy and safety of tacrolimus and mycophenolate mofetil. In: *Transplantation* 71 (4), S. 508–515.

Röhm; Stephanie (2009): Arzneimitteltherapiesicherheit für Dextromethorphan in der Selbstmedikation- ein Beitrag des Apothekers zur personalisierten Arzneimitteltherapie. Online verfügbar unter <http://docserv.uni-duesseldorf.de/servlets/DocumentServlet?id=13993>, zuletzt geprüft am 21.10.2014.

Roy, Jean-Nicholas; Lajoie, Julie; Zijenah, Lynn S.; Barama, Azemi; Poirier, Charles; Ward, Brian J.; Roger, Michel (2005): CYP3A5 genetic polymorphisms in different ethnic populations. In: *Drug metabolism and disposition* 33 (7), S. 884–887.

Rubio, Aumente; Arizón del Prado, JM; López Malo de Molina, MD; Cárdenas Aranzana, M.; Segura Saint-Gerons, J.; López Granados, A. et al. (Hg.) (2003): Clinical pharmacokinetics of tacrolimus in heart transplantation: new strategies of monitoring: Elsevier (35).

Sheiner, Lewis B.; Beal, Stuart L. (1981): Some suggestions for measuring predictive performance. In: *Journal of Pharmacokinetics and Biopharmaceutics* 9 (4), S. 503–512. DOI: 10.1007/BF01060893.

Shimada, T. (2002): Lowered blood concentration of tacrolimus and its recovery with changes in expression of CYP3A and P-Glykoprotein after high-dose steroid therapy. In: *Transplantation* 74 (10), S. 1419.

Shishido, S.; Asanuma, H.; Tajima, E.; Honda, M.; Nakai, H. (Hg.) (2001): Pharmacokinetics of tacrolimus in pediatric renal transplant recipients: Elsevier (33).

Shoskes, Daniel A.; Wood, Kathryn J. (1994): Indirect presentation of MHC antigens in transplantation. In: *Immunology Today* 15 (1), S. 32–38. DOI: 10.1016/0167-5699(94)90023-X.

Sim, S. C. (2014): Human Cytochrome P450 (CYP) Allele Nomenclature Committee. Online verfügbar unter <http://www.cypalleles.ki.se/>, zuletzt aktualisiert am 10.08.2014, zuletzt geprüft am 16.10.2014.

Solus, Joseph F.; Arietta, Brenda J.; Harris, James R.; Sexton, David P.; Steward, John Q.; McMunn, Chara et al. (2004): Genetic variation in eleven phase I drug metabolism genes in an ethnically diverse population. In: *Pharmacogenomics* 5 (7), S. 895–931.

Staatz, C. (2001): Low tacrolimus concentrations and increased risk of early acute rejection in adult renal transplantation. In: *Nephrology Dialysis Transplantation* 16 (9), S. 1905–1909. DOI: 10.1093/ndt/16.9.1905.

Staatz, Christine E.; Tett, Susan E. (2004): Clinical Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of Tacrolimus in Solid Organ Transplantation. In: *Clin Pharmacokinet* 43 (10), S. 623-653. DOI: 10.2165/00003088-200443100-00001.

Strassburg, C. P.; Bahr, M. J.; Becker, T.; Klempnauer, J.; Manns, M. P. (2008): Fortschritte in der Immunsuppression. In: *Chirurg* 79 (2), S. 149–156. DOI: 10.1007/s00104-007-1456-8.

Sugimoto, Mitsushige; Shirai, Naohito; Nishino, Masafumi; Kodaira, Chise; Uotani, Takahiro; Sahara, Shu et al. (2014): Comparison of acid inhibition with standard dosages of proton pump inhibitors in relation to CYP2C19 genotype in Japanese. In: *Eur J Clin Pharmacol* 70 (9), S. 1073-1078. DOI: 10.1007/s00228-014-1713-y.

Sumner, Melanie E.; Albers, Stefanie; Schmidt, Klaus G.; Laws, Hans Jürgen; Læer, Stephanie (2006): Arzneimittelinteraktionen von Tacrolimus. In: *Med Monatsschr Pharm* 29 (4), S. 139–141.

Tada, H.; Tsuchiya, N.; Satoh, S.; Kagaya, H.; Li, Z.; Sato, K. et al. (Hg.) (2005): Impact of CYP3A5 and MDR1 (ABCB1) C3435T Polymorphisms on the Pharmacokinetics of Tacrolimus in Renal Transplant Recipients: Elsevier (37).

Takada, Kanji; Usuda, Hisato; Oh-Hashi, Mamoru (1992): Distribution kinetics of FK-506, a novel immunosuppressant, after intravenous administration to rats in comparison with cyclosporin A. In: *Biopharmaceutics & drug disposition* 13 (5), S. 345–355.

Tamura, Shigeki; Ohike, Atsuo; Ibuki, Rinta; Amidon, Gordon L.; Yamashita, Shinji (2002): Tacrolimus is a class II low-solubility high-permeability drug: The effect of P-glycoprotein efflux on regional permeability of tacrolimus in rats. In: *Journal of pharmaceutical sciences* 91 (3), S. 719–729.

Tang, Hui-Lin; Xie, Hong-Guang; Yao, Yao; Hu, Yong-Fang (2011): Lower tacrolimus daily dose requirements and acute rejection rates in the CYP3A5 nonexpressers than expressers. In: *Pharmacogenetics and Genomics* 21 (11), S. 713-720.

Terrazzino, Salvatore; Quaglia, Marco; Stratta, Piero; Canonico, Pier L.; Genazzani, Armando A. (2012): The effect of CYP3A5 6986AG and ABCB1 3435CT on tacrolimus dose-adjusted trough levels and acute rejection rates in renal transplant patients: a systematic review and meta-analysis. In: *Pharmacogenetics and Genomics* 22 (8), S. 642–645. DOI: 10.1097/FPC.0b013e3283557c74.

Theuretzbacher, Ursula; Ihle, Franziska; Derendorf, Hartmut (2006): Pharmacokinetic/pharmacodynamic profile of voriconazole. In: *Clin Pharmacokinet* 45 (7), S. 649–663. DOI: 10.2165/00003088-200645070-00002.

The Metabolomics Innovation Centre (2014). Online verfügbar unter <http://www.drugbank.ca/drugs/DB00864>, zuletzt geprüft am 29.10.2014.

Transplantationsgesetz - TPG: Transplantationsgesetz in der Fassung der Bekanntmachung vom 4. September 2007 (BGBl. I S. 2206), das zuletzt durch Artikel 5d des Gesetzes vom 15. Juli 2013 (BGBl. I S. 2423) geändert worden ist. Online verfügbar unter <http://www.gesetze-im-internet.de/bundesrecht/tpg/gesamt.pdf>, zuletzt geprüft am 14.10.2014.

Trompeter, Richard; Filler, Guido; Webb, Nicholas J. A.; Watson, Alan R.; Milford, David V.; Tyden, Gunnar et al. (2002): Randomized trial of tacrolimus versus cyclosporin microemulsion in renal transplantation. In: *Pediatric nephrology* 17 (3), S. 141–149.

- Tsuchiya, Norihiko; Satoh, Shigeru; Tada, Hitoshi; Li, Zhenhua; Ohyama, Chikara; Sato, Kazunari et al. (2004):** Influence of CYP3A5 and MDR1 (ABCB1) polymorphisms on the pharmacokinetics of tacrolimus in renal transplant recipients. In: *Transplantation* 78 (8), S. 1182–1187.
- Undre, N.; Möller, A. (1994):** Pharmacokinetic interpretation of FK 506 levels in blood and in plasma during a European randomised study in primary liver transplant patients. In: *Transplant International* 7 (S1), S. 15–21.
- Undre, N. A.; Stevenson, P.; Schäfer, A. (Hg.) (1999):** Pharmacokinetics of tacrolimus: clinically relevant aspects: Elsevier (31).
- Undre, N. A.; Stevenson, P. J. (Hg.) (2002):** Pharmacokinetics of tacrolimus in heart transplantation: Elsevier (34).
- Undre, Nasrullah A. (2003):** Pharmacokinetics of tacrolimus-based combination therapies. In: *Nephrology Dialysis Transplantation* 18 (suppl 1), S. i12.
- University of Heidelberg, Department of Transplantation Immunology (2012): Collaborative Transplant Study. Graft Half Life. Hg. v. Department of Transplantation Immunology.** Online verfügbar unter <http://www.ctstransplant.org/servlet/ArchiveServlet?group=K-15103-0814&archivemode=false&ts=1414326495528>, zuletzt geprüft am 26.10.2014.
- Velickovic-Radovanovic, R.; Catic-Djordjevic, A.; Milovanovic, JR; Djordjevic, V.; Paunovic, G.; Jankovic, S. M. (2010):** Population pharmacokinetics of tacrolimus in kidney transplant patients. In: *International journal of clinical pharmacology and therapeutics* 48 (6), S. 375–382.
- Velickovic-Radovanovic, Radmila; Mikov, Momir; Catic-Djordjevic, Aleksandra; Stefanovic, Nikola; Mitic, Branka; Paunovic, Goran; Cvetkovic, Tatjana (2014):** Gender-dependent predictable pharmacokinetic method for tacrolimus exposure monitoring in kidney transplant patients. In: *European journal of drug metabolism and pharmacokinetics*, S. 1–8.
- Velicković-Radovanović, Radmila; Mikov, Momir; Paunović, Goran; Djordjević, Vidojko; Stojanović, Mariola; Cvetković, Tatjana; Djordjević, Aleksandra Catić (2011):** Gender differences in pharmacokinetics of tacrolimus and their clinical significance in kidney transplant recipients. In: *Gender medicine* 8 (1), S. 23–31.
- Venkataramanan, R.; Jain, A.; Warty, V. S.; Abu-Elmagd, K.; Alessiani, M.; Lever, J. et al. (Hg.) (1991):** Pharmacokinetics of FK 506 in transplant patients: NIH Public Access (23).
- Venkataramanan, Raman; Swaminathan, Arun; Prasad, Tata; Jain, Ashok; Zuckerman, Sheila; Warty, Vijay et al. (1995):** Clinical pharmacokinetics of tacrolimus. In: *Clinical pharmacokinetics* 29 (6), S. 404–430.
- Vollmar, Angelika M.; Gerbes, Alexander L. (2005):** Historie und Status quo der Transplantationsmedizin: 50 Jahre Organtransplantation haben die Medizin nachhaltig verändert. In: *Pharmazie in unserer Zeit* 34 (4), S. 262–267. DOI: 10.1002/pauz.200500125.
- Wallemacq, P. E.; Furlan, V.; Möller, A.; Schäfer, A.; Stadler, P.; Firdaous, I. et al. (1998):** Pharmacokinetics of tacrolimus (FK506) in paediatric liver transplant recipients. In: *European journal of drug metabolism and pharmacokinetics* 23 (3), S. 367–370.

- Wallemacq, P. E.; Verbeeck, R. K. (2001):** Comparative clinical pharmacokinetics of tacrolimus in paediatric and adult patients. In: *Clin Pharmacokinet* 40 (4), S. 283–295. DOI: 10.2165/00003088-200140040-00004.
- Webster, Angela C.; Woodroffe, Rebecca C.; Taylor, Rod S.; Chapman, Jeremy R.; Craig, Jonathan C. (2005):** Tacrolimus versus ciclosporin as primary immunosuppression for kidney transplant recipients: meta-analysis and meta-regression of randomised trial data. In: *Bmj* 331 (7520), S. 810.
- Weiss, H. Markus; Fresneau, Marcel; Moenius, Thomas; Stuetz, Anton; Billich, Andreas (2008):** Binding of pimecrolimus and tacrolimus to skin and plasma proteins: implications for systemic exposure after topical application. In: *Drug metabolism and disposition: the biological fate of chemicals* 36 (9), S. 1812–1818. DOI: 10.1124/dmd.108.021915.
- Willmann, Stefan; Lippert, Jörg; Sevestre, Michael; Solodenko, Juri; Fois, Franco; Schmitt, Walter (2003):** PK-Sim®: a physiologically based pharmacokinetic ‘whole-body’ model. In: *Biosilico* 1 (4), S. 121–124.
- Wong, Kim Ming; Shek, Chi Chung; Chau, Ka Foon; Li, Chun Sang (2000):** Abbreviated tacrolimus area-under-the-curve monitoring for renal transplant recipients. In: *American journal of kidney diseases* 35 (4), S. 660–666.
- World Health Organisation (2014):** WHO | Human organ transplantation. World Health Organization. Online verfügbar unter <http://www.who.int/transplantation/organ/en/>, zuletzt geprüft am 14.10.2014.
- Xie, Hong-Guang; Wood, Alastair J. J.; Kim, Richard B.; Stein, C. Michael; Wilkinson, Grant R. (2004):** Genetic variability in CYP3A5 and its possible consequences. In: *Pharmacogenomics* 5 (3), S. 243–272.
- Yano, Ikuko; Masuda, Satoshi; Egawa, Hiroto; Sugimoto, Mitsuhiro; Fukudo, Masahide; Yoshida, Yuko et al. (2012):** Significance of trough monitoring for tacrolimus blood concentration and calcineurin activity in adult patients undergoing primary living-donor liver transplantation. In: *European journal of clinical pharmacology* 68 (3), S. 259–266.
- Yasuda, S. U.; Zhang, L.; Huang, S-M (2008):** The Role of Ethnicity in Variability in Response to Drugs: Focus on Clinical Pharmacology Studies. In: *Clin Pharmacol Ther* 84 (3), S. 417–423. Online verfügbar unter <http://dx.doi.org/10.1038/clpt.2008.141>.
- Zahir, H.; McCaughan, G.; Gleeson, M.; Nand, R. A.; McLachlan, A. J. (2004):** Factors affecting variability in distribution of tacrolimus in liver transplant recipients. In: *British journal of clinical pharmacology* 57 (3), S. 298–309.
- Zucker, Keith; Rosen, Anne; Tsaroucha, Alexandra; Faria, Ludmilla de; Roth, David; Ciancio, Gaetano et al. (1997):** Unexpected augmentation of mycophenolic acid pharmacokinetics in renal transplant patients receiving tacrolimus and mycophenolate mofetil in combination therapy, and analogous in vitro findings. In: *Transplant Immunology* 5 (3), S. 225–232. DOI: 10.1016/S0966-3274(97)80042-1.

5.6 Publikationen

- Publikationen aus der Diplomzeit

Ralf Lüpken

Diplomarbeit (aus Gründen der Geheimhaltung nicht öffentlich)

Synthese neuartiger Aza-9-oxafluorene für die Therapie des Morbus Alzheimer, 11/2007

Martin Krug, Burkhardt Voigt, Christiane Baumert, **Ralf Lüpken**, Joséf Molnár, Andreas Hilgeroth, First biological evaluation of developed 3-benzyloxyfluorenes as novel class of MDR modulators European journal of medicinal chemistry 45.6 (2010): 2683-2688

- Publikationen und Postervorträge während der Promotionszeit

Ralf Lüpken, Stephanie Läer,

Ist die Beimengung von Alkohol in Hustentropfen (z. B. Pilka-Tropfen) bei Kindern bedenklich? Lüpken R, Laer S. Frage-Antwort: Hustentropfen mit Alkoholbeimengung. Pädiat. Prax 80, 471-473 (2013)

Feras Khalil, **Ralf Lüpken**, Stephanie Läer, Daniel Bernstein

Progress in pediatric cardiology, 2015 in press

- Poster

DPhG-Kongress in Innsbruck, Österreich

FDA labled biomarkers in the personalized medicine of drug prescriptions on a pediatric ward, Oktober 2011

Self-medication in Germany: The new role of pharmacists to contribute to pharmacovigilance, Oktober 2011

Pharmacometrics Köln 2013

Requirements for a Physiologically-based pharmacokinetic model of tacrolimus in transplanted patients, Oktober 2013

Tacrolimus pharmacokinetics in transplanted patients: Role of pharmacogenetics background of patients, März 2013

ESDP-Konferenz in Salzburg, Österreich

Requirements for a Physiological-based pharmacokinetic model of tacrolimus in transplanted patients, Juni 2013

5.7 Curriculum vitae

PERSÖNLICHE ANGABEN

Name Ralf Lüpken
Geboren am 01.01.1980 in Emden (Ostfriesland), Deutschland

AUSBILDUNG

10/2010 – 10/2014 **Promotionsarbeit im Fach Klinische Pharmazie**
Institut für Klinische Pharmazie und Pharmakotherapie,
Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

01/2012 bis dato Apotheker in der Apotheke im Hauptbahnhof in Düsseldorf
10/2010 – 12/2011 Apotheker in der Venus-Apotheke in Düsseldorf
04/2012 **Abschluss Fachapotheker für Allgemeinpharmazie**
07/2009 – 09/2010 Filialleiter in der Grünen-Apotheke in Wilhelmshaven
06/2008 – 06/2009 Fachvorträge am Institut für Umwelttechnik der FHO in Emden
06/2008 – 06/2009 Entwicklung einer Chitosan-Handcreme an der FHO in Emden
03/2007 – 06/2009 Apotheker in der Constantia-Apotheke in Emden
01/2008 – 06/2009 Apotheker in der Adler-Apotheke in Norden
02/2007 **Approbation als Apotheker**
05/2006 – 02/2007 Pharmaziepraktikum in der Constantia-Apotheke in Emden
10/2005 – 05/2006 Pharmaziepraktikum an der MLU in Halle (Saale)
08/2003 – 09/2003 Famulatur in der Constantia-Apotheke in Emden
07/2003 – 08/2003 Famulatur in der Hochhaus-Apotheke in Emden
09/2000 – 08/2001 Rechtspflegestudium an der FH in Hildesheim
08/1999 – 08/2000 Zivildienst im Rettungsdienst beim RKsH e.V. in Emden
06/1999 Abschluss der Allgemeinen Hochschulreife in Emden
Johannes-Althusius-Gymnasium

Universitäre Ausbildung

11/2007 **Diplomverteidigung an der MLU in Halle (Saale)**
10/2005 **Abschluss des Pharmaziestudiums in Halle (Saale)**
10/2001 – 10/2005 Studium der Pharmazie an der MLU in Halle (Saale)

5.8 Danksagungen

Für die Überlassung dieses facettenreichen Dissertationsthemas und die Betreuung über den gesamten Zeitrahmen der Promotion bedanke ich mich herzlich bei Frau Prof. Dr. med. Stephanie Lärer. Insbesondere die vielen positiven Erfahrungen sowohl am Institut als auch auf den zahlreichen Konferenzen, Workshops bzw. Mitarbeitertreffen haben mich auf dem Weg der Promotion begleitet.

Frau Prof. Heike Brötz-Österhelt gilt mein Dank für die Übernahme des Koreferats und der Zweitbetreuung meiner Promotion. Die Halbjahresgespräche waren für die Entwicklung der Promotion eine große Hilfe.

Herrn Dr. Khalil danke ich von ganzem Herzen für die Hilfe bei den Simulationen und dem Veröffentlichen der Publikation.

Herrn Prof. Holger Schwender möchte ich für die Hilfe bei der statistischen Auswertung meiner Daten und dem Konzept der Meta-Analyse danken.

Herrn Dr. Willi Cawello danke ich für die Unterstützung bei der Berechnung der Dosisnormierung.

Frau MD Seema Mital verdanke ich die pharmakokinetischen Daten von pädiatrischen transplantierten Patienten.

Ein ganz besonderer Dank geht an meine Eltern, die mir das Studium der Pharmazie und das Promotionsstudium ermöglicht haben und mich durch die familiäre Unterstützung immer wieder neu motiviert haben, nicht aufzugeben.

Ich bedanke mich bei Dir, liebe Saskia, für die liebevolle Unterstützung während meiner Promotion.

Meinen ganzen Kolleginnen und Kollegen aus dem Institut möchte ich für die unvergessliche Zeit der Promotion sowohl bei wissenschaftlichen wie auch bei privaten Anlässen danken. Die vielen positiven Erfahrungen werde ich immer im Herzen tragen.

Nicht zuletzt möchte ich Ihnen Frau Mittler dafür danken, dass sie mich vom ersten Tag der Promotion an bis hin zur Abgabe der Dissertation unterstützt haben

5.9 Erklärung zur Dissertation

Hiermit erkläre ich, Ralf Lüpken, an Eides statt, dass ich die Dissertation mit dem Titel:

„Die Exposition von Tacrolimus in gesunden Erwachsenen und transplantierten Patienten unter besonderer Berücksichtigung der Pharmakogenomik“

selbständig und ohne unzulässige fremde Hilfe unter Beachtung der „Grundsätze zur Sicherung guter wissenschaftlicher Praxis an der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf“ verfasst habe. Andere als die von mir angegebenen Quellen und Hilfsmittel habe ich nicht benutzt. Die Dissertation wurde in der vorgelegten oder in ähnlicher Form noch bei keiner anderen Institution eingereicht. Ich habe bisher keine erfolglosen Promotionsversuche unternommen.

Düsseldorf, den

Ralf Lüpken