

Aus der Medizinischen Klinik und Poliklinik
Klinik für Nephrologie der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf
Direktor: Univ. -Prof. Dr. med. L. Christian Rump

Nierenfunktion, Nebenwirkungen und Medikamentenspiegel bei Konversionstherapie von Cyclosporin A auf Tacrolimus bei nierentransplantierten Patienten mit chronischer Transplantatabstoßung

Dissertation

zur Erlangung des Grades eines Doktors der

Medizin

Der Medizinischen Fakultät der Heinrich-Heine-Universität

Düsseldorf

vorgelegt von

Thorsten Jens Uwe Marcard

2008

Als Inauguraldissertation gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Heinrich – Heine – Universität Düsseldorf

gez: Univ.-Prof. Dr. med. Dr. rer. nat. Bernd Nürnberg

Dekan

Referentin: Frau Priv.-Doz. Dr. med. C. Blume

Korreferent: Herr Prof. Dr. med. T. Hohlfeld

Meinen Eltern

Zusammenfassung

Hintergrund und Ziel der Studie: Die chronische allograft Nephropathie (CAN) ist die häufigste Ursache eines Transplantatverlustes nach Nierentransplantation mit einer Prävalenz von 60-70% im Biopsat. Immer wieder wurde vorgeschlagen, dass durch eine Umstellung der immunsuppressiven Therapie von Cyclosporin A (CsA) auf Tacrolimus bei Patienten mit CAN ein Sistieren der chronischen Abstoßungsvorgänge und eine Verbesserung der Transplantatfunktion erreicht würde. Wir konvertierten daher ein Kollektiv von nierentransplantierten Patienten aus den Jahren 2000 – 2004 mit bioptisch nachgewiesener CAN oder mit CsA-induzierter Gingivahyperplasie auf Tacrolimus und erstellten eine Verlaufsbeobachtung.

Patienten und Methoden: 31 Patienten (n=24 mit CAN, n = 5 mit chronischer Transplantatfunktionsverschlechterung und n=2 mit Gingivahyperplasie, Patientengruppe) wurden mit im Transplantatalter, Patientenalter und nach Möglichkeit Geschlecht gematchten Patienten, ohne Nachweis einer CAN, die weiterhin Cyclosporin A bekamen (Kontrollgruppe) verglichen. Es wurden Nierenparameter zur Ermittlung der Nierenfunktion nach Cockcroft und Gault, Blutdruck - gemessen am mittleren arteriellen Druck (MAD)-, Blutfettwerte und Nebenwirkungen der Immunsuppressiva dreimonatlich festgehalten. Die Nierenparameter der 31 Patienten wurden ebenfalls unter dem Aspekt der Einteilung nach den BANFF-Kriterien miteinander verglichen. In einer Untergruppe von n = 6 Patienten wurden die 8-h-Kinetik von Mykophenolatsäure (MPA) sowie dessen Metabolite MPA-Glukuronid und Acyl-MPA-Glukuronid vor und nach Konversion auf Tacrolimus untersucht.

Ergebnisse: Vor Umstellung auf Tacrolimus zeigte die Patientengruppe eine signifikant schlechtere Transplantatfunktion als die Kontrollgruppe ($p < 0,001$; $2,6 \pm 0,9$ mg/dl vs. $1,7 \pm 0,5$ mg/dl bzw. $37,0 \pm 15,0$ ml/min vs. $52,3 \pm 13,2$ ml/min). 24 Monate nach Umstellung auf Tacrolimus gab es zwischen den Patientengruppen keine signifikanten Unterschiede bezüglich des Serumkreatininwertes mehr ($2,0 \pm 0,6$ vs. $1,8 \pm 0,7$ mg/dl). Auch die Berechnungen der Nierenfunktion nach Cockcroft und Gault brachte vergleichbare Ergebnisse nach 24 Monaten Beobachtung ($46,4 \pm 14,7$ in A vs. $48,3 \pm 14,2$ ml/min in B). Die Patientengruppe zeigte demnach eine signifikante Transplantatfunktionsverbesserung ($p < 0,0001$), während die Kontrollgruppe eine

stabile Funktion aufwies. Nach 30 Monaten zeigte die Patientengruppe weiterhin eine gegenüber dem Zeitraum vor Konversion signifikant bessere Transplantatfunktion ($2,0 \pm 0,7$ mg/dl vs. $2,6 \pm 0,9$ mg/dl bzw. $51,6 \pm 18,4$ ml/min vs. $37,0 \pm 15,0$ ml/min), während die Kontrollgruppe eine stabile Funktion gegenüber der Ausgangstransplantatfunktion zu Beginn der Studie aufwies ($47,7 \pm 11,6$ ml/min vs. $52,3 \pm 13,2$ ml/min).

Da unter Tacrolimus in der Untergruppe im Trend höhere MPA Spiegel gemessen wurden, stützt dies die These einer höheren immunsuppressiven Wirkung trotz niedrigerer Calcineurintoxizität unter der Kombinationstherapie Tacrolimus / Mycophenolat Mofetil.

Der MAD war zur Beginn und Ende der Studie in beiden Gruppen nicht signifikant unterschiedlich. Vor Konversion war die Anzahl verabreichter Antihypertensiva signifikant ($p < 0,05$) in der Patientengruppe höher als in der Kontrollgruppe ($3,10 \pm 1,56$; $2,31 \pm 1,42$), zu Beobachtungsende nicht mehr. Der Anteil an ACE-Hemmern bzw. AT1-Antagonisten nahm in der Patientengruppe von $0,32 \pm 0,54$ auf $0,70 \pm 0,65$ signifikant ($p < 0,01$) zu, so dass dieser Aspekt für die Transplantatfunktionsverbesserung eine Rolle spielen könnte. Tacrolimus zeigte ein Nebenwirkungsprofil mit vornehmlich gastrointestinalen Beschwerden in 45,2% sowie neurologischen Beschwerden in 38,7% der Patienten wie Tremor, Juckreiz und Parästhesien oder allgemeine Leistungsschwäche in 25,8 % der Patienten.

Die Stadieneinteilung der CAN-Patienten nach Banff zeigte, dass Patienten mit Banff-Klassifikation „Mild chronic allograft nephropathy Grad I“ von der Umstellung auf Tacrolimus am meisten profitierten, indem sie eine signifikante ($p < 0,01$) Abnahme der Kreatininwerte nach 24 Monaten von $2,7 \pm 0,7$ mg/dl auf $1,95 \pm 0,5$ mg/dl aufwiesen. Patienten der Banff Klassifikation II wiesen demgegenüber nur eine nicht signifikante Abnahme des Kreatininwerts von $2,9 \pm 0,7$ mg/dl auf $2,3 \pm 0,6$ mg/dl auf. Patienten anderer Banffklassifikation wiesen keine signifikante Veränderung des Kreatininwerts auf.

Schlußfolgerung: Unsere Ergebnisse zeigen, dass die Umstellung von Cyclosporin A auf Tacrolimus eine sinnvolle therapeutische Maßnahme bei Patienten mit CAN ist. Es konnte gezeigt werden, dass besonders Patienten mit einer chronischen Abstoßung der BANFF-Klassifikation Grad I von einer Umstellung auf Tacrolimus profitierten. In die Tacrolimuswirkung geht

möglicherweise die Wirkung von unter Tacrolimus relativ höheren MPA-Spiegeln ein.

Inhaltsverzeichnis

1	<i>Einleitung</i>	11
1.1	Die chronische Transplantatabstoßung	11
1.2	Wirkmechanismen der eingesetzten Immunsuppressiva	14
1.3	Problem der Nebenwirkungen von Immunsuppressiva	15
1.3.1	Gingivahyperplasie als Nebenwirkung von Cyclosporin A	17
1.4	Tacrolimus zur Behandlung der chronischen Transplantatabstoßungsreaktion nach Nierentransplantation	17
1.5	Pilotstudie	18
1.6	Pharmakogenetische Bestimmungen der Polymorphismen in Cytochrom P450 3A5 und in dem Multi-Drug-Resistance-Gen (MDR1) an Exon 21 und 26	19
1.7	Zielsetzung	20
2	<i>Patienten und Methoden</i>	22
2.1	Studiendesign	22
2.2	Probanden	23
2.3	Charakteristik der Probanden	24
2.3.1	Details zur Transplantation:	24
2.3.2	Zeitraum zwischen Transplantation und Konversion der Immunsuppression auf Tacrolimus bzw. Beobachtungsbeginn	26
2.3.3	Studie A - Basisdaten	27
2.3.4	Einteilung der Umstellungspatienten nach den BANFF-Kriterien	28
2.3.5	Studie B -Basisdaten	29
	2.3.5.1 Details zur Transplantation in Studie B	30
	2.3.5.2 Zeitraum nach der Transplantation – Studie B	32
2.4	Erfasste Prüfparameter im Rahmen der Studien	33
2.4.1	Basisdaten	33
2.4.2	Parameter des Transplantatüberlebens	33
2.4.3	Blutdruck	34
2.4.4	Fettstoffwechsel	34
2.4.5	Spiegel der Immunsuppressiva	34
2.4.6	Weitere Prüfparameter	34
2.4.7	Klinische Nachbeobachtung	35
2.4.8	Zusätzliche Parameter in Studie B	35

2.4.9	Laborbestimmungen Studie B _____	36
2.4.9.1	<i>Clearancebegriff und Berechnung der glomerulären Filtrationsrate</i> _____	36
2.4.9.2	<i>Effektiver renaler Plasmafluss</i> _____	38
2.4.9.3	<i>Bestimmung von Mykophenolat Mofetil und seinen Metaboliten</i> _____	39
2.5	Studiendurchführung Studie B _____	40
2.5.1	Handling der Mykophenolat Mofetil-Kinetik und allgemeine Vorbereitung des Patienten	40
2.5.2	Allgemeines zu den Inulin- und PAH-Clearances und Vorbereitungen _____	40
2.5.3	Durchführung der Clearance-Messung am Patienten _____	41
2.6	Laborchemische Bestimmung von Inulin und PAH im Serum _____	44
2.6.1	Inulin-Clearance _____	46
2.6.2	PAH-Clearance _____	47
2.6.3	Photometrische Messung und Berechnung _____	47
2.7	Pharmakogenetische Bestimmungen der Polymorphismen in Cytochrom P450 3A5 und in dem Multi-Drug-Resistance-Gen (MDR1) an Exon 21 und 26 _____	49
2.8	Statistik _____	49
2.9	Ethische Aspekte _____	50
2.9.1	Deklaration von Helsinki _____	50
2.9.2	Patienteninformation und Datenschutz _____	50
2.9.3	Abbruch der Studie _____	51
3	Ergebnisse _____	52
3.1.1	Daten zur Nierenfunktion _____	52
3.1.2	Blutdruck und antihypertensive Therapie _____	59
3.1.3	Fettstoffwechsel _____	62
3.1.4	Spiegel der Immunsuppressiva _____	65
3.1.5	Weitere Prüfparameter _____	67
3.1.6	Klinische Nachbeobachtung _____	69
3.1.7	Auftreten möglicher unerwünschter Nebenwirkungen unter Tacrolimus bzw. klinische Zeichen und Symptome von unerwünschten Ereignissen bzw. Arzneimittelwechselwirkungen _____	70
3.1.8	Ergebnisse der BANFF-Klassifikation _____	72
3.1.9	Vergleich der Basisparameter Studie B _____	74
3.1.10	Daten zur Nierenfunktion in Studie B _____	76
3.1.11	Mykophenolat Mofetil und seine Metaboliten _____	78
3.1.12	Inulin- und PAH-Clearances als Vergleich der Nierenfunktion und der endogenen Kreatininclearance _____	82
3.1.13	Nebenwirkungen und unerwünschte Ereignisse _____	84
3.1.13.1	<i>Erneute akute Rejektionen und Sterbefälle</i> _____	84

3.1.13.2	<i>Auftreten möglicher unerwünschter Nebenwirkungen unter Tacrolimus bzw. klinische Zeichen und Symptome von unerwünschten Ereignissen bzw. Arzneimittel-wechselwirkungen</i>	84
3.1.14	Pharmakogenetische Bestimmungen der Polymorphismen in Cytochrom P450 3A5 und in dem Multi-Drug-Resistance-Gen (MDR1) an Exon 21 und 26	86
3.1.14.1	<i>Polymorphismus im MDR1-Gen Exon 26</i>	86
3.1.14.2	<i>Polymorphismus im MDR1-Gen Exon 21</i>	88
3.1.14.3	<i>Polymorphismus im CYP 3A5 Gen</i>	88
4	<i>Diskussion</i>	89
5	<i>Zusammenfassung und Schlussbetrachtung</i>	95
6	<i>Literaturverzeichnis</i>	96
7	<i>Anhang</i>	103
7.1	Patienteninformation (Muster)	103
7.2	Einverständniserklärung (Muster)	107
7.3	Lebenslauf	109

Abkürzungsverzeichnis

CsA	Cyclosporin A
Tak	Tacrolimus
GFR	Glomeruläre Filtrationsrate
RPF	Renaler Plasmafluss
PAH	Paraaminohippuronsäure
MMF	Mykophenolat Mofetil
Hb	Hämoglobin
ECC	Endogene Kreatinin Clearance
L	Liter
g	Gramm
dL	Deziliter
mm	Millimeter
ECF	Extrazelluläres Flüssigkeitsvolumen
N	Normal
dest.	destilliert
SD	Standardabweichung
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure
zw.	zwischen

1 Einleitung

1.1 Die chronische Transplantatabstoßung

Jährlich werden in den Universitätskliniken Düsseldorf ca. 100 Nierentransplantationen durchgeführt. Davon sind ca. 25% Lebendnierentransplantationen und 75% Leichennierentransplantationen. Eine notwendige Maßnahme bei Nierentransplantationen ist die Therapie mit Immunsuppressiva. So wird versucht, einer Transplantatabstoßung entgegenzuwirken, um die (Langzeit-) Funktion zu erhalten. Eine der Standardtherapien, die auch im Universitätsklinikum Düsseldorf praktiziert wird, ist die so genannte „Triple-immunsuppressive Therapie“ mit Cyclosporin A, Mykophenolat Mofetil und Steroiden. Durch die Kombination dieser Medikamente lassen sich verschiedene Wirkungsarten und therapeutische „targets“ für eine optimale Therapie nutzen. Bei der oben genannten „Triple-Therapie“ wird der Cyclosporin A- und Steroid-sparende Effekt des Mykophenolat Mofetil genutzt [1].

Hauptsächlich mit dieser Therapieform wurde in den vergangenen 20 Jahren in den Universitätskliniken Düsseldorf eine 1-Jahres-Transplantatüberlebensrate von 83,4% erreicht. Mitverantwortlich für eine 5-Jahres-Überlebensrate von lediglich 65,9% (Abb.1) ist die chronische Transplantatabstoßung, die sogenannte „chronic allograft nephropathy“ (CAN).

CAN ist die häufigste Ursache eines Transplantatverlustes nach dem ersten Jahr und kann, mit einer Prävalenz von 60%-70%, in durchgeführten Biopsien nachgewiesen werden [2, 3]. Klinisch äußert sich die Erkrankung durch eine sich langsam verschlechternde Funktion der Transplantatniere, oft begleitet von Proteinurie. Zu Beginn wurde die CAN im Banff 91 Schema eingeführt [4]. Seit diesem Zeitpunkt wurde der Begriff CAN aber weitgehender - im Sinne der Transplantatdysfunktion - für verschiedene pathologische Prozesse verwendet, welche die Funktion der Transplantatniere beeinflussen können. Eine chronische Rejektion stellt eine immunologisch vermittelte CAN im engeren Sinne dar und kann sowohl zellvermittelt interstitiell als auch antikörpervermittelt vorkommen. Die chronische Rejektion kann Spätfolge einer akuten Rejektion (vaskulär oder interstitiell) oder einer subklinisch verlaufenden vorangegangenen akut-

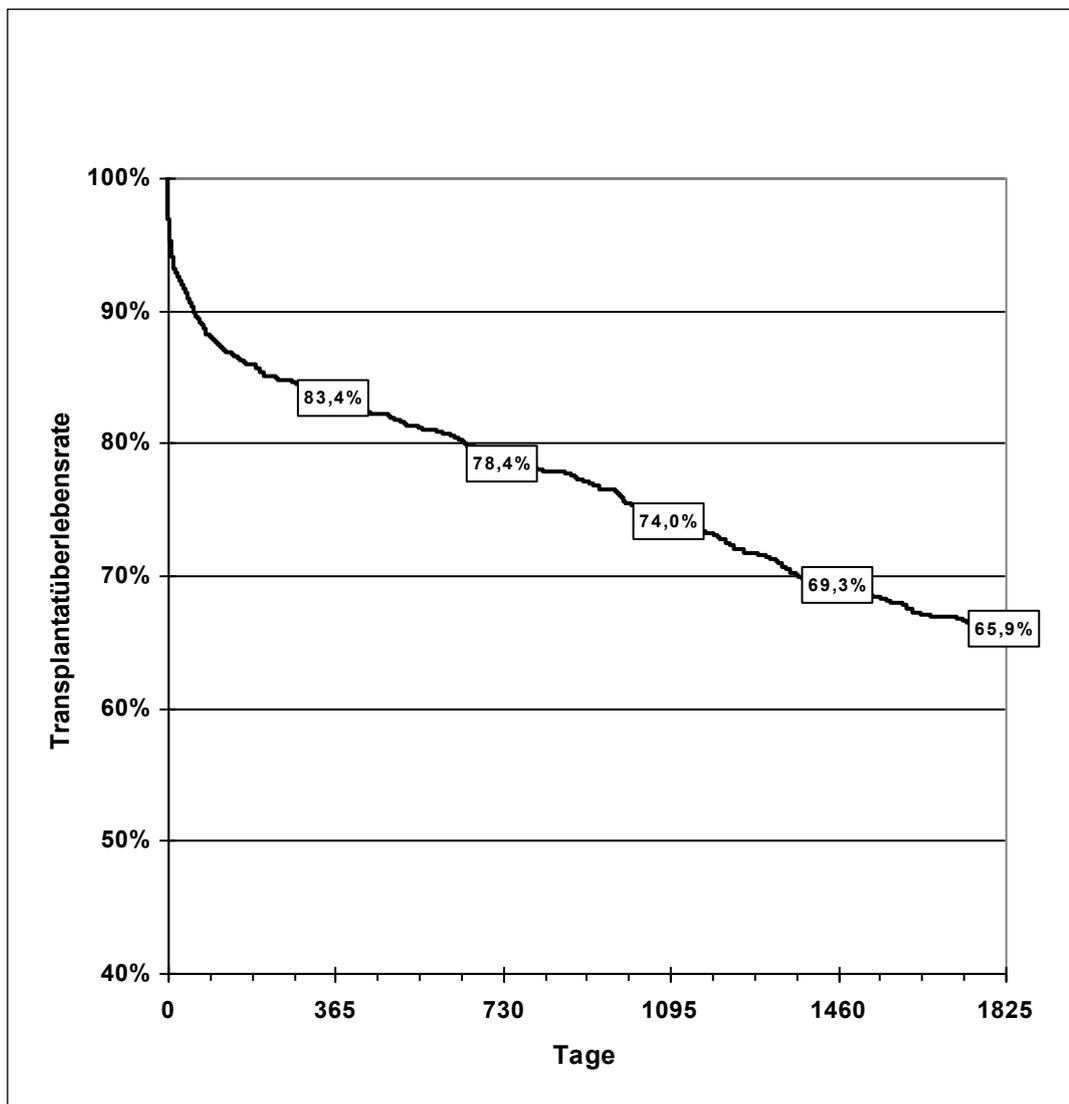


Abbildung 1: 5-Jahres-Transplantatüberlebensraten nach Kaplan-Meyer von nierentransplantierten Patienten der Unikliniken Düsseldorf aus den Jahren 1985 bis 2005 (Gesamtanzahl der Transplantationen 1351) entnommen aus der „Taxi“-Software der Collaborative-Transplant-Studie der Universität Heidelberg

interstitiellen Rejektion sein und wird durch eine nicht optimale Immunsuppression, aber auch durch eine Non-Compliance des Patienten hinsichtlich der Medikamenteneinnahme begünstigt. Der spezifischste histologische Hinweis auf eine solche chronische Abstoßung sind Doppelkonturen der Kapillarschlingen im Glomerulum [5; 6], daneben werden Ablagerungen des degradierten Komplementfaktors C4d und mesangiale Ablagerungen nachgewiesen.

Neben immunologischen Ursachen gibt es verschiedene Progressionsfaktoren für die CAN: Diese stellen Hypertonie, Hyperlipidämie, Diabetes mellitus und

Niktinabusus dar. Auch eine fortgesetzte Calcineurininhibitortoxizität kann als Schädigungsmuster bei einer CAN hinzutreten. Außerdem sind vorangegangene Schädigungen durch peri- oder postoperative Verletzung des Organs, durch kalte und warme Ischämiezeit neben einer schlechten Spenderqualität (Alter des Spenders, Organqualität) prädisponierend für eine CAN. Auch Beeinträchtigungen der Transplantatperfusion z. B. bei Transplantatarterienstenose oder eine fortgesetzte Stauungsproblematik der Transplantatniere bei Ureterobstruktion können bereits strukturelle Schäden setzen, die bei Einsetzen der CAN-Pathogenese im engeren Sinne berücksichtigt werden müssen. [7].

Die Pathogenese der chronischen Transplantatabstoßung beinhaltet das gesamte Spektrum immunologischer Abwehrreaktionen, angefangen bei der Invasion besonders der B- und T-Lymphozyten, aber auch der Makrophagen und Thrombozyten, welche Zytokine und Prostaglandine produzieren, bis hin zum ungebremsten Wachstum der Mesangialzellen mit nachfolgender Matrixproduktion und schließlich bis zur Beschädigung des Glomerulum. Ein charakteristischer Umbau der Gefäßwände mit einer Verschmälerung der Intima bis hin zu einer Okklusion der Gefäße führt zu einer veränderten Perfusion des Transplantatgewebes. Das Fortschreiten der Transplantatfibrose wird zum größten Teil auf diese Faktoren zurückgeführt [8,2]. Weitere Faktoren und die Schematische Darstellung der Entstehung von Transplantatfibrose zeigt Abbildung 2 auf.

Die anschließende Atrophie und progrediente Funktionsverschlechterung der Transplantatniere führt ohne adäquate Behandlung zum Funktionsverlust des Transplantats. Histologisch können diese Veränderungen durch eine rechtzeitige Nierenbiopsie nachgewiesen werden.

Erhöhte Blutdruckwerte [9] und erhöhte Blutfette [10] gehören zu den Risikofaktoren, die die Progression der chronischen Abstoßung beschleunigen können. Die Behandlung der chronischen Abstoßung beinhaltet daher immer auch die Optimierung dieser Faktoren. Die Risikofaktoren an sich werden durch die notwendige Einnahme immunsuppressiver Medikamente in unterschiedlichem Umfang beeinflusst.

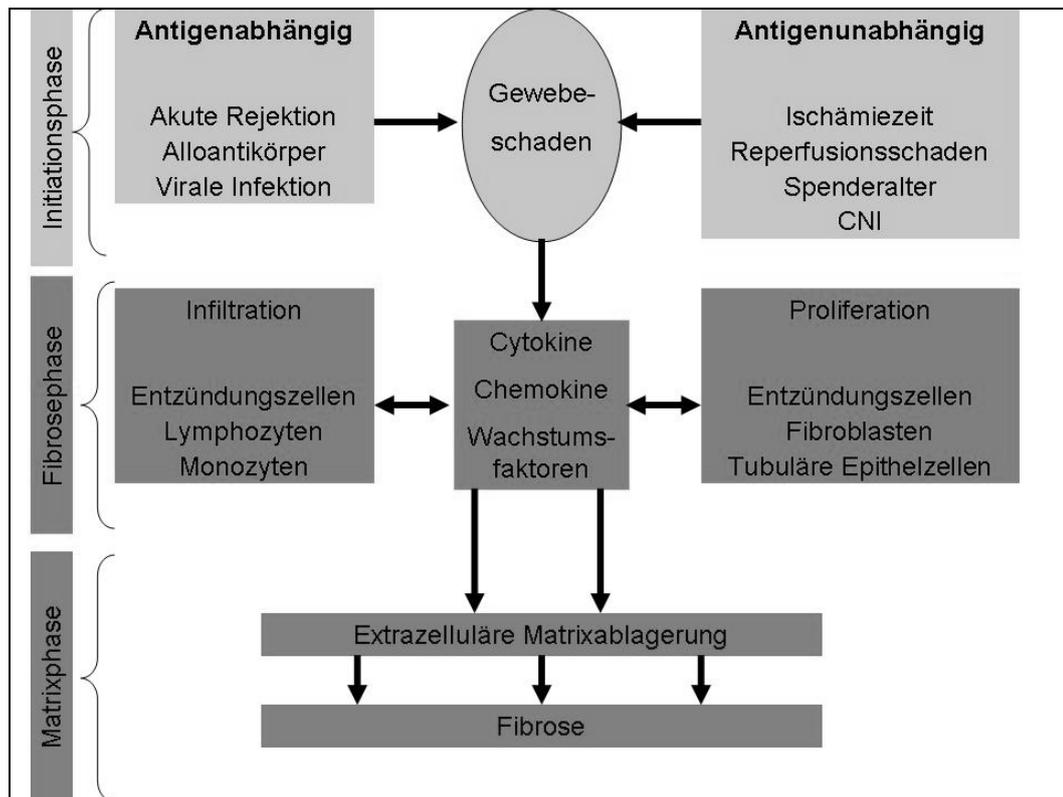


Abbildung 2: Schematische Darstellung der Entstehung von Fibrose bei Patienten mit chronischer Transplantatnephropathie

1.2 Wirkmechanismen der eingesetzten Immunsuppressiva

Cyclosporin A (Sandimmun NEORAL®) ist ein cyclisches Polypeptid aus elf Aminosäuren (Undecapeptid), das an das cytoplasmatische Protein Cyclophyllin bindet und damit eine Hemmung der Phosphataseaktivität von Calcineurin bewirkt. Dies führt zu einer Verringerung der mRNA-Synthese unter anderem für Interleukin 2, Interleukin 3, Interleukin 4 und Interferon- γ in T-Zellen [15]. Cyclosporin A blockiert die ruhenden T-Lymphozyten in der G0- oder G1-Phase des Zellzyklus. Es hemmt die Produktion und Freisetzung von Zytokinen und T-Zell-Wachstumsfaktoren.

Tacrolimus (Prograf® , FK506) ist ein von *Streptomyces tsukubaensis* isoliertes Makrolidlaktone mit ähnlicher immunsuppressiver Wirkung wie Cyclosporin A. Der Effekt von Tacrolimus wird von einem cytoplasmatischen Protein (FK-Bindungsprotein – FKBP) vermittelt, das auch für die intrazelluläre Anreicherung verantwortlich ist. Durch Bindung an dieses Protein kommt es zur Blockierung von Calcineurin und Down-Regulation der mRNA-Synthese für Interleukin 2. Zusätzlich

wird die Synthese von Interleukin 3 und Interferon- γ sowie die Interleukin 2-Rezeptor-Expression unterdrückt. Tacrolimus hemmt die Bildung von cytotoxischen T-Lymphozyten und deren Aktivierung und unterbindet die davon abhängige B-Zell-Proliferation.

Mykophenolat Mofetil (MMF, Cellcept®) ist der 2-Morpholinoethylester und damit das Prodrug von Mykophenolsäure (MPA). MPA ist ein selektiver, nicht-kompetitiver und reversibler Hemmer der Inosinmonophosphat-Dehydrogenase. Dadurch wird die de-novo-Synthese der Guanosin Nukleotidsynthese gehemmt und es erfolgt kein Einbau in die DNS. Da Lymphozyten stärker als andere Zelltypen auf den de-novo-Syntheseweg als auf den Wiederverwertungstoffwechsel angewiesen sind, wirkt MPA bzw. MMF in diesen stärker zytostatisch als in anderen Zellen [11]. Durch UDP-glucuronosyltransferasen entstehen aus MPA die zum Teil immunsuppressiv wirksamen Metaboliten MPAG und Acyl-MPAG. Prednison (Decortin H ®) ist ein Steroid (Glucocorticoid). Glucokorticoide wirken unselektiv antiphlogistisch, unterdrücken aktivierte Makrophagen, mindern die Funktion der antigenpräsentierenden Zellen und reduzieren die MHC-Antigenexpression.

1.3 Problem der Nebenwirkungen von Immunsuppressiva

Da eine Immunsuppression nicht nur einer möglichen Abstoßungsreaktion entgegenwirkt, sondern auch global im ganzen Körper in Erscheinung tritt, kommt es bei immunsupprimierten Patienten häufig zu Nebenwirkungen (NW) und anderen Komplikationen. So kommt es wegen der pharmakologisch geschwächten Abwehr des Körpers zu einer erhöhten Infektanfälligkeit mit einem allgemein schwerwiegenderen Krankheitsverlauf. Das Auftreten von opportunistischen Infektionen mit zum Beispiel Cytomegalieviren und ein mögliches Entstehen von Neoplasien werden begünstigt [12]. Calcineurininhibitoren wie Cyclosporin A und Tacrolimus werden schon seit längerem mit der Entstehung von Malignomen, insbesondere mit Lymphomen und Organumoren, nach Transplantation in Verbindung gebracht. Während eine Studie sowohl CsA als auch Tacrolimus mit einem Anstieg des Malignomrisikos verbindet [13], so streiten sich andere Autoren darum, dass Tacrolimus diesbezüglich sicherer wäre als CsA [14].

Durch ihr spezifisches Wirkungsprofil, ihren Metabolismus und ihre Interaktionen kann es bei den verwendeten Medikamenten zu medikamentenspezifischen Beschwerden kommen: neurotoxische, gastrointestinale, hämatologische, in das endokrine System und in den Knochenstoffwechsel eingreifende NW treten auf [15,16,17,18,19]. Tabelle 1 gibt eine Verteilung der verschiedenen Nebenwirkungen der einzelnen Immunsuppressiva mit ihrer Auftretenswahrscheinlichkeit wieder.

	CsA	FK506	MMF	Steroide
Tremor, Kopfschmerzen, Schwindel, Parästhesie und Neuropathie	+	++	++	0
Hepatotoxizität	++	++	0	0
Nephrotoxizität	++	+	0	0
Pathologische Glukosetoleranz bis hin zu Diabetes Mellitus	+	++	0	0
Hyperlipidämie, Hyperurikämie, Hyperkaliämie und Hypomagnesiämie	++	+	0	++
Durchfall, Erbrechen, Übelkeit und Appetitmangel	+	++	++	0
Arterieller Hypertonus	++	+	0	0
Anämie, Thrombozytopenie, Leukopenie und Panzytopenie	+	+	++	0
Gingivahyperplasie und Hypertrichose	++	+	0	0
Hirsutismus	++	+	0	0
Osteoporose, Myopathie	0	0	0	++
Ulcera duodenie et ventriculi	0	0	0	++
Psychische Störungen	0	0	0	++

Tabelle 1: Nebenwirkungen der verwendeten Immunsuppressiva mit der Häufigkeit der Auftretenswahrscheinlichkeit (0 : NW bisher unter diesem Medikament nicht bekannt; +: NW tritt in seltenen Fällen auf; ++: NW ist unter diesem Medikament bekannt und tritt häufiger auf) [15,16,17,18,19]

1.3.1 Gingivahyperplasie als Nebenwirkung von Cyclosporin A

Die Gingivahyperplasie zählt zu den am häufigsten auftretenden Nebenwirkungen unter CsA-Therapie. Sie tritt bei ca. 10% der mit CsA behandelten Patienten auf. Dabei spiegelt der Schweregrad der Zahnfleischwucherung die Interaktion einer effektiven Zahnhygiene, die tägliche CsA Dosis und gleichzeitig eingenommene Kalziumantagonisten (insbesondere bei Dihydropyridinen) wieder. Es kommt zu einer übermäßigen Wucherung des gesamten Zahnfleisches, die auch durch mehrmalige zahnärztliche Behandlung nicht zu stoppen ist. Diese Nebenwirkung scheint bei der Therapie mit Tacrolimus nicht aufzutreten, und es wurden bereits Fälle einer kompletten Behebung der Zahnfleischhyperplasie durch Umstellung der CsA-basierten Therapie geschildert [15,20]. Die in dieser Studie eingeschlossenen Patienten mit Zahnfleischhyperplasie hatten mehr als drei zahnärztliche Behandlungen hinter sich und eine antihypertensive Therapie mit Ca²⁺-Antagonisten wurde zuvor abgesetzt, bevor sie in die Studie aufgenommen wurden.

1.4 Tacrolimus zur Behandlung der chronischen Transplantatabstoßungsreaktion nach Nierentransplantation

Während der letzten Jahre wurde die Wirksamkeit von Tacrolimus in der sogenannten „rescue“-Therapie bei steroid-resistenter Abstoßung mehrfach beschrieben [21,22]. Darüber hinaus bilden mehrere Einzelberichte von Patienten die Grundlage für die Hypothese, dass die Umstellung der immunsuppressiven Therapie von Cyclosporin A auf Tacrolimus, auch bei der chronischen Abstoßung nach Nierentransplantation, das Transplantatüberleben verlängert, und damit den Zeitpunkt der Rückkehr zur Dialysetherapie bei chronischem Transplantatversagen hinausschiebt [23,24]. Ergebnisse von Jiang et al., die in experimentellen Studien an Ratten gewonnen wurden, unterstützen ebenfalls die Annahme, dass Tacrolimus, nicht aber Cyclosporin A, die andauernde Abstoßungsreaktion in einem Nierentransplantat signifikant unterdrücken kann [25]. Auch dieser Autor schlägt vor, Tacrolimus in Form einer Konversionstherapie

bei andauernder chronischer Transplantatabstoßung einzusetzen. Positive Effekte werden auch in Hinblick auf die Blutdruck- und Fettstoffwechseleinstellung der betroffenen Patienten nach Absetzen von Cyclosporin A erwartet [26,27]. Kürzlich veröffentlichte Studien haben gezeigt, dass bei einer Behandlung mit Tacrolimus im Gegensatz zur Therapie mit Cyclosporin A niedrigere Blutdruckwerte und niedrigere Serumcholesterin Level erreicht werden, was ein deutlich geringeres kardiovaskuläres Risiko nach Nierentransplantation unter Tacrolimustherapie bedeutet [28,29]. Des Weiteren zeigten zwei randomisierte Multicenterstudien aus Europa und den USA, dass die Inzidenz für eine akute Abstoßung bei 508 nierentransplantierten Patienten unter Tacrolimus-basierter Immunsuppression signifikant niedriger lag als bei 355 nierentransplantierten Patienten unter Cyclosporin A-basierter Therapie [30,31]. Die geschätzte Transplantat-half-life war länger und chronische Abstoßungsreaktionen traten bei einer Beobachtung von 5 Jahren weniger häufig unter Tacrolimustherapie auf [30]. Dies deutet darauf hin, dass Tacrolimus weniger nephrotoxisch wirkt als Cyclosporin A.

Die chronische Nephrotoxizität entspricht einer irreversiblen interstitiellen Fibrose, die sich bei manchen Patienten nach 6 bis 12 Jahren der immunsuppressiven Therapie entwickelt [32]. Eine Untersuchung der Effektivität der Konversion von Cyclosporin A auf Tacrolimus muss sich also immer auch dahingehend kritisieren lassen, dass die Verbesserung der Nierenfunktion das Wegfallen der Cyclosporintoxizität widerspiegelt.

1.5 Pilotstudie

Diese Studie wurde konzipiert, um den Nutzen einer langfristigen Therapieumstellung von Cyclosporin A auf Tacrolimus bei chronischer Transplantatabstoßung für das Transplantatüberleben nachzuweisen. Weiterhin sollte der Einfluss der Umstellung auf die Blutdruckeinstellung und den Fettstoffwechsel untersucht werden und die Nebenwirkungen der Tacrolimustherapie im Sinne einer Nutzen-Risiko-Analyse bei diesen Patienten erfasst werden. Im Rahmen einer retrospektiven Pilotstudie der Universitätskliniken Düsseldorf wurden die Daten von 17 Patienten mit chronischer Abstoßung und Umstellung von Cyclosporin A auf Tacrolimus ausgewertet. Die Behandlung mit Tacrolimus reduzierte signifikant die Progression der

Nierenfunktionsverschlechterung. Die Nierenfunktion konnte in einem Beobachtungszeitraum von 12,3 Monaten als stabil bezeichnet werden, in dem die Abnahme der Glomerulären Filtrationsrate (GFR) im Mittel von $-7,92 \pm 1,13$ ml/min auf $-0,04 \pm 0,90$ ml/min ($1/\text{Kreatinin pro Jahr} \cdot 100$, $p < 0,029$) reduziert wurde. Nach der Konversion auf Tacrolimus waren die Blutfette bei diesen Patienten gegenüber den Werten unter Cyclosporin A – Behandlung statistisch signifikant erniedrigt (Cholesterin: von $255,32 \pm 8,08$ auf $223,57 \pm 6,01$ mg/dl, Triglyceride von $225,65 \pm 13,61$ auf $180,78 \pm 10,41$ mg/dl). Die Blutdruckwerte waren ebenfalls von $146 \pm 17/84,0 \pm 0,7$ mmHg auf $141 \pm 18/82 \pm 4$ mmHg erniedrigt, und zwar während einer Reduktion der Anzahl antihypertensiver Therapeutika von 4 auf 3. In der Pilotstudie zeigte sich demnach ein deutlich positiver Effekt der Konversion von Cyclosporin A auf Tacrolimus in Hinblick auf Transplantatfunktion und Risikofaktoren der chronischen Abstoßung, wie Blutfettwerte und Bluthochdruck [33].

1.6 Pharmakogenetische Bestimmungen der Polymorphismen in Cytochrom P450 3A5 und in dem Multi-Drug-Resistance-Gen (MDR1) an Exon 21 und 26

In den letzten Jahren wurde viel nach den Ursachen der intra- und interindividuellen Unterschiede in der Pharmakokinetik der Calcineurininhibitoren und anderer Immunsuppressiva geforscht. Dabei wurde deutlich, dass die biologische Aktivität der Permeabilitätsproteine und des Cytochrom P450 Enzymsystems eine wichtige Rolle dabei spielen [34,35]. P-glycoprotein ist das Produkt des Multidrug-resistance 1 (MDR 1) Gens. Das Protein dient als Transporter und ist in der Lage eine große Anzahl endogener Substanzen, wie auch Medikamente (z.B. Cyclosporin A, Tacrolimus und MMF) vom Zytoplasma aus der Zelle zu befördern [34,35,36].

In Zusammenarbeit mit dem Dr. Margarete Fischer-Bosch Institut der Klinischen Pharmakologie in Stuttgart wurde es ermöglicht, eine Bestimmung der Polymorphismen des Cytochrom P450 3A5 (CYP3A5) und der beiden Exons 21 und 26 des Multidrug-Resistance-Gen (MDR1) durchzuführen. Eichelbaum, Fromm und Schwab zeigten im Jahr 2004, dass der Genpolymorphismus des

MDR1 im Exon 26 einen Einfluss auf die Pharmakokinetik und Pharmakodynamik von Cyclosporin A hat. Der Genotyp CC war mit signifikant höheren CSA Dosen als der Genotyp TT assoziiert [37].

Andere Studien zeigten, dass die Polymorphismen von CYP 3A5 ebenfalls Einfluss auf die Pharmakokinetik und Pharmakodynamik von CSA und Tacrolimus haben. [38, 39] Hesselink et al beobachteten höhere Tacrolimuserumspiegel bei dem Genotyp CYP 3A5 *3/*3 als in den Genotypen *3/*1 und *1/*1 bei gleicher Dosis. Haufroid et al konnten diese Ergebnisse bestätigen, indem sie bei dem Genotyp *3/*3 3-fach höhere Tacrolimusspiegel und 1,6-fach höhere CSA-Spiegel als bei dem Genotyp *3/*1 messen konnten. Gegenüber dem *1/*1 Genotyp hatte der Genotyp *3/*3 einen 5,8-fach höheren Tacrolimusspiegel in dieser Studie.

Um eine mögliche Beeinflussung der Pharmakokinetik durch bestimmte genetische Voraussetzungen in Studie B zu erfassen, wurden folgende Polymorphismen und Genotypen bestimmt und mit den Talspiegeln pro mg eingenommener Immunsuppressiva und den eventuell aufgetretenen Nebenwirkungen verglichen. Tabelle 2 gibt die untersuchten Polymorphismen mit den verschiedenen Genotypen im Einzelnen wieder.

CYP 3A5 *3/*3	CYP 3A5 *1/*3	CYP 3A5 *1/*1
MDR1 Exon 21 TT	MDR1 Exon 21 GT/GA	MDR1 Exon 21 GG
MDR1 Exon 26 CC	MDR1 Exon 26 CT	MDR1 Exon 26 TT

Tabelle 2: Auflistung der erfassten Polymorphismen

1.7 Zielsetzung

Ziel der aktuellen Studie ist es, die Ergebnisse der Pilotstudie mit einem neuen, größeren Patientenkollektiv zu bestätigen. Weiter sollen die ermittelten Werte, der auf Tacrolimus umgestellten Patienten, mit einer Kontrollgruppe, die keine CAN aufweisen und bezüglich des Transplantalters und des Lebensalters gematcht und weiterhin mit einer CSA-Therapie behandelt wird, verglichen werden. Eine Einteilung des Patientenkollektivs, anhand der Nierenbiopsien, in verschiedene Stadien der chronischen Transplantatabstoßung nach den Banff-Kriterien soll die

Notwendigkeit der möglichst frühen Biopsie bei Verdacht auf eine chronische Abstoßung zeigen. Es wird angestrebt zu zeigen, dass Patienten mit einer Banff Klassifikation „Mild chronic allograft nephropathy Grad I“ am meisten von der Umstellung auf Tacrolimus profitieren.

In einer Untergruppe des Patienten- und Kontrollgruppenkollektivs (Studie B) soll durch den Goldstandard der Nierenfunktionsprüfung, der Inulin- und PAH-Clearances-Messung, die in der Pilotstudie angedeutete Funktionsverbesserung der Niere durch Umstellung von CsA auf TAC näher untersucht werden und nach Möglichkeit das Ergebnis bestätigt werden.

Zusätzlich werden in der Untergruppe das Co-Immunsuppressivum MMF und dessen Metaboliten pharmakokinetisch untersucht. Dabei sollen Wechselwirkungen zwischen MMF und CsA bzw. TAC aufgezeigt werden.

Um eventuell genetisch bedingte Unterschiede in der Pharmakokinetik der Immunsuppressiva aufzuzeigen, werden in der Untergruppe Polymorphismen des Cytochrom P450 3A5 und des Exon 21 und 26 des MDR1 Gens ermittelt und mit eventuell aufgetretenen Nebenwirkungen verglichen.

So kann gesagt werden, dass die Studie den Erfolg einer Konversion von CsA auf TAC bei chronischer Transplantatnierenabstoßung für den Erhalt der Transplantatfunktion bestätigen soll.

2 Patienten und Methoden

2.1 Studiendesign

Diese Arbeit beinhaltet im Grunde genommen zweierlei Studien. Zum einen die Studie A, eine offen, nicht randomisierte, kontrollierte prospektive Kohortenstudie bestehend aus 31 Patienten und 31 Kontrollpatienten. Und zum zweiten aus einer offenen, nicht randomisierten, kontrollierten prospektiven Kohortenstudie aus 6 Patienten und 6 Kontrollpatienten bestehend, Studie B.

Studie A begann mit der Rekrutierung der Umstellungspatienten im April 2001 und umfasste auch Patienten, die im Laufe des Jahres 2000 in unserem Zentrum umgestellt wurden. Die Daten der Patienten wurden ca. 3 Monate vor Konversion auf Tacrolimus retrospektiv, und über den Zeitraum von ca. 2 Jahren nach Umstellung prospektiv erfasst. Das Ende der Datenerfassung wurde auf Juni 2004 festgelegt.

In Studie B wurden die Patientendaten zunächst wie in Studie A erfasst. Zusätzlich wurden bei den Patienten im Zeitraum 4 Monate vor bis 3 Monate nach Umstellung weitere Parameter erfasst. In Studie B bekamen die Patienten an insgesamt 3 Terminen eine pharmakokinetische Untersuchung (siehe dazu auch Abbildung 3).

Im Zeitraum I wurde bei den Konversionspatienten eine MMF-Kinetik über 8 Stunden und eine Inulin- und PAH-Clearance, zur Messung der Nierenfunktion anhand von glomerulärer Filtrationsrate und renalem Plasmafluss, durchgeführt. Im Zeitraum II wurde nur die MMF-Kinetik ermittelt und im Zeitraum III wiederum die MMF-Kinetik und die Clearances. Bei den Kontrollpatienten, die keine Umstellung der Immunsuppression auf TAC hatten, wurden lediglich 2 Termine vereinbart, die mindestens 3 Monate auseinander lagen. An beiden Terminen wurden die MMF-Kinetik über 8 Stunden und die Inulin- und PAH-Clearances durchgeführt.

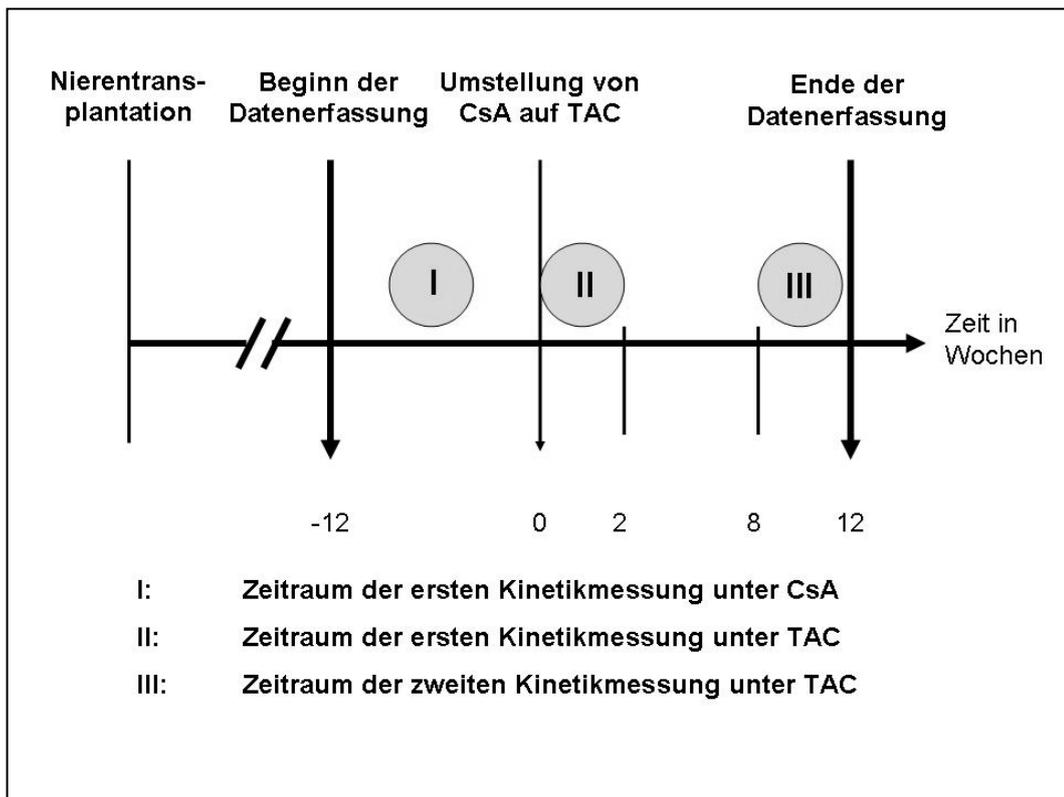


Abbildung 3: Zeitschema für Studie B

2.2 Probanden

An der Studie nahmen Patienten teil, die als Immunsuppression nach Nierentransplantation zumindest CsA und ein weiteres Immunsuppressivum eingenommen haben und eine chronische Transplantatabstoßung, durch Nierenbiopsie ermittelt, oder eine schwere CsA-assoziierte Gingivahyperplasie aufwiesen. Eingeschlossen wurden Patienten mit Erst- oder Retransplantation. Die Teilnahme erfolgte nach entsprechender Aufklärung, durch den behandelnden Nephrologen aus unserer Nephrologischen Ambulanz, und schriftlicher Einverständniserklärung des Patienten. Ein Muster der Aufklärung und Einverständniserklärung ist im Anhang dargestellt.

Ausgeschlossen wurden Schwangere, Stillende und gebärfähige Frauen ohne sichere Antikonzeption, Patienten mit einer Blutbildveränderung, d.h. mit <2500 Leukozyten/ mm^3 , $<10^5$ Thrombozyten/ mm^3 , oder einem Hb $<5\text{g/dl}$, Patienten mit reduziertem Immunstatus anderer Genese einschließlich einer anderweitigen immunsuppressiven Therapie oder Teilnehmer anderer klinischer Studien, sowie

Patienten mit Neoplasien. Psychiatrische Störungen und Substanzabusus waren weitere Ausschlusskriterien.

2.3 Charakteristik der Probanden

2.3.1 Details zur Transplantation:

Es handelte sich um 51 Leichennieren- und um 11 Lebendnieren-transplantationen. Die Spender waren 29 Frauen und 33 Männer. Das mittlere Spendergewicht lag bei $78,5 \pm 11,4$ kg und die mittlere Spendergröße lag bei $174,9 \pm 7,9$ cm. Zu den Verwandtschaftsgraden bei Lebendniere spende ist zu sagen, dass es sich 5 mal um einen nichtverwandten Partner, 3 mal um die Mutter, 2 mal um die Schwester bzw. den Bruder und ein mal um den Vater des Empfängers handelte. Die Verteilung der Blutgruppen bei Empfängern und Spendern ist in Tabelle 3 aufgelistet.

	Blutgruppe Spender			Gesamt
	A	B	O	
Blutgruppe A Empfänger	37	0	1	38
B	0	4	2	6
O	0	0	18	18
Gesamt	37	4	21	62

Tabelle 3: Blutgruppe Empfänger * Blutgruppe Spender Kreuztabelle

Im Durchschnitt wurde bei den Transplantationen eine kalte Ischämiezeit von $17,1 \pm 9,29$ Stunden, und eine warme Ischämiezeit von $12,56 \pm 13,21$ Minuten erreicht. Bei 49 Patienten handelte es sich um eine Erstnierentransplantation. 12 Patienten wurden das zweite Mal und ein Patient bereits das vierte Mal transplantiert. Die Anzahl der HLA-Missmatches sind in den Tabellen 4-7 aufgeführt.

	Häufigkeit	Prozent
0	11	17,7
1	9	14,5
2	7	11,3
3	17	27,4
4	9	14,5
5	7	11,3
6	2	3,2
Gesamt	62	100,0

Tabelle 4: Anzahl der HLA-Missmatches insgesamt

6 der 62 Patienten hatten im Vorfeld zur aktuellen Transplantation einen immunologischen Transplantatverlust, bei 3 Patienten war dies nicht bekannt. Bei 13 Patienten lag der aktuell vor Transplantation gemessene cytotoxische Antikörperstatus zwischen 5 und 100%. Dies führte bei 5 Patienten zu einer Modifizierung der initialen Immunsuppression. 8 Patienten bekamen als Induktionstherapie nach Nierentransplantation ATG, zwei Patienten OKT und zwei Patienten wurden mit dem IL2-Rezeptorantagonisten Basiliximab behandelt.

	Häufigkeit	Prozent
0	21	33,9
1	29	46,8
2	12	19,4
Gesamt	62	100,0

Tabelle 5: Anzahl der HLA-A-Missmatches

	Häufigkeit	Prozent
0	24	38,7
1	24	38,7
2	14	22,6
Gesamt	62	100,0

Tabelle 6: Anzahl der HLA-B-Missmatches

	Häufigkeit	Prozent
0	19	30,6
1	34	54,8
2	9	14,5
Gesamt	62	100,0

Tabelle 7: Anzahl der HLA-DR-Mismatches

2.3.2 Zeitraum zwischen Transplantation und Konversion der Immunsuppression auf Tacrolimus bzw. Beobachtungsbeginn

Zunächst bekamen alle Patienten nach Transplantation eine Triple-Immunsuppression bestehend aus CsA, MMF und Steroiden (Prednisolon). Die 8 zuvor schon erwähnten Patienten bekamen zusätzlich noch eine Induktionstherapie mit ATG, OKT oder Basiliximab. Da es in der Klinik für Nephrologie der Heinrich-Heine Universität gängige Praxis ist, diese Triple-Immunsuppression ca. 6-9 Monate nach Transplantation auf eine Zweifachtherapie zu reduzieren, wenn keine schwerwiegende und länger andauernde Abstoßungsreaktion vorausging (z.B. vaskuläre Abstoßung), ergaben sich folgende in Tabelle 8 aufgeführte Immunsuppressionstherapien vor Umstellung auf TAC bzw. vor Beobachtungsbeginn.

	Häufigkeit	Prozent
CSA + MMF	7	11,3
CSA + MMF + Prednisolon	43	69,4
CSA+ Prednisolon	12	19,4
Gesamt	62	100,0

Tabelle 8: Immunsuppression vor Umstellung bzw. Beobachtungsbeginn

In der Zeit vor Umstellung auf TAC bei den Patienten bzw. vor Beobachtungsbeginn bei den Kontrollpatienten wurden als Sekundär Diagnosen registriert:

- 29x arterielle Hypertonie
- 13x sekundärer Hyperparathyreoidismus
- 10x KHK
- 7x renale Anämie
- 6x Diabetes mellitus bzw. diabetische Stoffwechsellage
- 5x renale Osteopathie bzw. Osteoporose
- 4x Hepatitis C, CMV-Infektion
- 3x Z.n. Parathyreoidektomie
- 2x Cholezystektomie, Gingivahyperplasie, Hyperlipoproteinämie, infra renales BAA
- 1x Hepatitis B, Z.n. MI, pAVK, Prostatahypertrophie, Apendektomie, Struma nodosa, Strumektomie, Aortenstenose etc.

2.3.3 Studie A - Basisdaten

In Studie A wurde das gesamte Patientenkollektiv aus 62 Patienten durch Aktenrecherche (retrospektiv) und anschließende weitere Analyse verschiedener im Anschluß unter Punkt 2.4 beschriebener Parameter (prospektiv) untersucht. Patienten, die auf Tacrolimus umgestellt wurden, wiesen entweder eine, durch Nierenbiopsie nachgewiesene, chronische Abstoßung des Transplantates auf oder hatten eine, durch mehrmalige zahnärztliche Interventionen nicht zu behebende, schwere Zahnfleischhyperplasie.

Mit der Gewichtung zunächst auf gleiches Transplantatalter, dann gleiches Patientenalter und schließlich auf gleiches Geschlecht wurden passend zu jedem Patienten Kontrollpatienten gesucht, die keine chronische Abstoßung aufwiesen und unter einer immunsuppressiven Therapie mit CsA standen.

Das Gewicht und die Körpergröße beider Gruppen waren ebenfalls auf gleichem Niveau, sodass sich der BMI unter den Gruppen nicht signifikant unterschiedlich verhielt. Tabelle 9 gibt die verschiedenen Daten von beiden Gruppen wieder.

Die mittlere Beobachtungszeit der Patienten endete 26,94±13,83 Monate nach Umstellung auf Tacrolimus. Die mittlere Beobachtungszeit der Kontrollpatienten lag bei 27,16±11,96 Monaten.

	Patienten- gruppe	Kontroll- gruppe	Signifikanz	Gesamtes Kollektiv
Patienten (n)	31	31	-	62
Transplantatalter in Monaten	21,35±24,55	18,39±21,77	ns †	19,87±23,06
Patientenalter in Jahren	45,16±11,37	46,71±12,13	ns †	45,94±11,69
Männer	15 (48,4%)	14 (45,2%)	ns ‡	29 (46,8%)
Gewicht (kg)	74,12±12,28	73,67±14,51	ns †	73,9±13,3
Körpergröße (cm)	171,17±9,81	169,97±7,14	ns †	170,55±8,48
BMI	25,36±3,61	24,50±5,85	ns †	24,93±4,84

Tabelle 9: Datenvergleich (Mittelwert ± SD) zwischen Patienten- und Kontrollgruppe zum Zeitpunkt der Konversion auf Tacrolimus bzw. zum Zeitpunkt des Beobachtungsbeginns : (†)T-Test nach Student, (‡) U-Test nach Mann-Whitney

2.3.4 Einteilung der Umstellungspatienten nach den BANFF-Kriterien

Um noch besser abgrenzen zu können welche Patienten durch die Umstellung von CSA auf Tacrolimus am meisten profitieren, wurden vor Umstellung angefertigte Nierenbiopsate ausgewertet und nach den verschiedenen BANFF-Kriterien eingeteilt. Von den 31 Patienten wiesen 14 Patienten das Stadium der „Mild chronic allograft nephropathy Grad I“ (BANFF 1) auf. Das Stadium der „Moderate chronic allograft nephropathy Grad II“ (BANFF 2) wiesen 10 Patienten

auf. Die restlichen 7 Patienten hatten Kriterien anderer BANFF-Klassifikationen (BANFF X).

Diese Patientengruppen wurden dann zum Vergleich der Kreatininwerte nach 24 Monaten und der Nierenfunktionswerte nach Cockcroft und Gault ebenfalls nach 24 Monaten herangezogen. Zum Vergleich waren zu diesem Zeitpunkt in Gruppe BANFF 1 n=11 Patienten, in Gruppe BANFF 2 n=7 Patienten und in Gruppe BANFF X n=3 Patienten vorhanden.

2.3.5 Studie B -Basisdaten

Aus den in Studie A auf Tacrolimus umgestellten Patienten wurden 6 zufällig ausgewählte Patienten weiteren Untersuchungen zur Nierenfunktion und zur Kinetik von MMF unterzogen. Um die Daten vergleichen zu können, wurde aus der Kontrollgruppe in Studie A Partner gesucht, im Sinne des „pair matching“, die in Transplantalter und Patientenalter ungefähr übereinstimmten. Auch diese Kontrollpatienten wurden den ausführlicheren Untersuchungen unterzogen. Die Patienten gaben dazu ihr schriftliches Einverständnis. Die in Studie A bereits besprochenen Parameter werden im Folgenden nochmals kurz für die Untergruppen umschrieben. Dabei wird die Unterteilung in Patienten- und Kontrollgruppe verwendet, welche aber nicht mit der Einteilung aus Studie A zu verwechseln ist.

Das Kollektiv setzte sich aus n=12 Patienten (9 Männer und 3 Frauen) mit einem Alter von $48,42 \pm 10,48$ Jahren am Tag der Umstellung bzw. am Tag des Beobachtungsbeginn der Kontrollpatienten zusammen. Es wurde ein mittleres Gewicht von $78,54 \pm 13,19$ kg und eine Körpergröße von $173,50 \pm 9,47$ cm festgestellt. Der durchschnittliche BMI des Gesamtkollektivs war damit bei $25,94 \pm 2,69$, was in Europa als Übergewicht bzw. Präadipositas bezeichnet wird. Die zur Dialysepflichtigkeit und schließlich Nierentransplantation führenden Nierengrunderkrankungen werden in Tabelle 10 aufgeführt.

Nierengrunderkrankung	Häufigkeit
Chronisch obstruktive Glomerulonephritis	4 (33%)
Nephrosklerose	3 (25%)
Diabetes mellitus	2 (16,6%)
S.L.E.	1 (8,3%)
IgA-Nephritis	1 (8,3%)
Terminale Niereninsuffizienz unbekannter Herkunft	1 (8,3%)

Tabelle 10: Nierengrunderkrankungen der Patienten aus Studie B

2.3.5.1 Details zur Transplantation in Studie B

Es handelte sich um 11 Leichennieren und um eine Lebendnierentransplantation. Spender bei der Lebendnierentransplantation war die Ehefrau. Die Blutgruppenverteilung wird in Tabelle 11 aufgeführt.

		Blutgruppe_Spender			Gesamt
		A	B	O	
BG_ Empfänger	A	5	0	0	5
	B	0	1	0	1
	O	0	0	6	6
Gesamt		5	1	6	12

Tabelle 11: Blutgruppenverteilung Empfänger/Spender der Studie B

Bei insgesamt 7 Patienten war es die erste Nierentransplantation, bei 4 Patienten die zweite und bei einem Patienten war es bereits die vierte Nierentransplantation. Die Anzahl der HLA-Mismatches sind in den Tabellen 12-15 aufgeführt.

	Häufigkeit	Prozent
0	2	16,7
2	2	16,7
3	4	33,3
4	2	16,7
5	2	16,7
Gesamt	12	100,0

Tabelle 12: Anzahl der HLA-Missmatches insgesamt in Studie B

	Häufigkeit	Prozent
0	4	33,3
1	5	41,7
2	3	25,0
Gesamt	12	100,0

Tabelle 13: Anzahl der HLA-A-Missmatches in Studie B

	Häufigkeit	Prozent
0	2	16,7
1	6	50,0
2	4	33,3
Gesamt	12	100,0

Tabelle 14: Anzahl der HLA-B-Missmatches in Studie B

	Häufigkeit	Prozent
0	4	33,3
1	7	58,3
2	1	8,3
Gesamt	12	100,0

Tabelle 15: Anzahl der HLA-DR-Missmatches in Studie B

Vier Patienten aus der Patientengruppe hatten im Vorfeld einen immunologischen Transplantatverlust. Bei einem fünften Patienten konnte die Ursachen nicht festgestellt werden. Bei zwei Patienten lag der aktuell vor Transplantation gemessene zytotoxische Antikörperstatus über 50%, so dass sie laut Definition „Hochrisikoempfänger“ waren. Ein Patient bekam daraufhin als Induktionstherapie ATG, ein weiterer Patient bekam auf Grund einer positiven Testreaktion auf ATG bzw. nachgewiesener Antikörper gegen ATG eine Induktionstherapie mit dem Anti-Interleukin II-Rezeptor-Antikörper Basiliximab. Aufgrund der Lebendnierentransplantation bekam ein weiterer Patient ATG als Induktion.

2.3.5.2 Zeitraum nach der Transplantation – Studie B

Zunächst bekamen wie unter Punkt 2.3.2 bereits erwähnt alle nierentransplantierten Patienten die Triple-Immunsuppression bestehend aus CsA, MMF und Steroiden. Bei guter Nierenfunktion wird diese Triple-Immunsuppression auf eine Doppel-Immunsuppression reduziert. Dies führte in Studie B dazu, dass noch 11 Patienten die Triple-Immunsuppression bekamen und nur ein Patient in der Kontrollgruppe eine Doppel- Immunsuppression mit CsA und MMF bekam.

In dem Kollektiv aus Studie B traten vor Umstellung bzw. Beobachtungsbeginn folgende Sekundär Diagnosen auf:

- 9x arterielle Hypertonie
- 4x KHK
- 3x Osteoporose/Osteopenie/Osteopathie
- 2x renale Anämie, sekundärer Hyperparathyreoidismus
- 1x Restless legs-Syndrom, Gingivahyperplasie, Refluxösophagitis, Hypercholesterinämie, Hyperuricämie, pAVK, infrarenales BAA, generalisiertes cerebrales Krampfleiden, Hyperlipoproteinämie, Diabetes mellitus Typ2, Hepatitis B, Z.n. Appendektomie und Z. n. Parathyrektomie.

2.4 Erfasste Prüfparameter im Rahmen der Studien

2.4.1 Basisdaten

1. Patientencharakteristik einschließlich Geburtsdatum, Geschlecht, Gewicht, Körpergröße und Körperoberfläche
2. Medizinischer Befund vor Beginn der Konversion auf Tacrolimus einschließlich der zur Dialysepflichtigkeit führenden Nierengrunderkrankung vor Transplantation, immunsuppressive Behandlungsregimes vor Tacrolimustherapie, Sekundär Diagnosen und BANFF-Klassifikation der Nierenbiopsie vor Umstellung auf Tacrolimus.
3. Details zur Transplantation: Anzahl vorhergehender Transplantationen, Vorliegen eines immunologischen Transplantatverlust in der Vorgeschichte, Vorliegen cytotoxischer Antikörper, vorangegangene Behandlungen mit OKT oder ATG seit der letzten Transplantation, Leichen- bzw. Lebendnierentransplantation, Anzahl der HLA-Mismatches, kalte und warme Ischämiezeiten und Alter des Transplantats zum Zeitpunkt der Umstellung auf Tacrolimus.

2.4.2 Parameter des Transplantatüberlebens

- Serumkreatinin
- Nierenfunktion nach der Formel von Cockcroft und Gault [46]:

$$\text{Kreatininclearance} = \frac{(140 - \text{Alter}) \times \text{Körpergewicht(kg)}}{72 \times \text{Serumkreatinin(mg/dl)}} [\times 0,85 \text{ bei Frauen}]$$

- Progressionsfaktor der Nierenfunktion: bestimmt als individuelle Steigung der Regressionsgeraden pro Patient über den Beobachtungszeitraum (Einheit: ml/min pro Monat); Mittelung dieser Steigungen für alle Patienten bzw. Kontrollpatienten

2.4.3 Blutdruck

Arterieller Mitteldruck aus systolischem bzw. diastolischem Blutdruck errechnet mit der Formel:

$$\text{MAP}[\text{mmHG}] = \text{Pd} + ((\text{Ps} - \text{Pd})/3)$$

MAP: Mittlerer arterieller Druck

Ps: Systolischer Blutdruck [mmHG]

Pd: Diastolischer Blutdruck [mmHG]

Anzahl der Antihypertensiva, und ACE-Hemmer bzw AT1-Rezeptorblocker vor und nach Umstellung

2.4.4 Fettstoffwechsel

Cholesterin, Triglyzeride, LDL, HDL und eventuelle Therapie mit CSE-Hemmern vor und nach Umstellung

2.4.5 Spiegel der Immunsuppressiva

Cyclosporin A – „through level“ (Talspiegel) im Mittel 3 Monate vor Umstellung. Bei der Kontrollgruppe fortlaufend monatlich während des gesamten Beobachtungszeitraumes.

Tacrolimuszielspiegel innerhalb der ersten vier Wochen nach Umstellung, ein Monat und folgende nach Umstellung.

2.4.6 Weitere Prüfparameter

HbA1c, Hämoglobin und Harnsäure

2.4.7 Klinische Nachbeobachtung

- erneute Rejektionen
- Funktionsverluste
- Todesfälle
- eventuell auftretende Nebenwirkungen von Tacrolimus
- jegliche klinische Zeichen und Symptome von unerwünschten Ereignissen bzw. Arzneimittelwechselwirkungen

Unerwünschte Nebenwirkungen sind definiert als „ein unerwünschtes Ereignis, das einem Patienten während der Behandlung mit Tacrolimus widerfährt, unabhängig, ob dieses Ereignis möglicherweise in Zusammenhang mit Tacrolimus zu sehen ist“.

Schwerwiegende unerwünschte Nebenwirkungen sind definiert als „jegliches unerwünschtes Ereignis, das auf eine signifikante Gefährdung, Kontraindikation oder Nebenwirkung für den Menschen hinweist“. Diese Definition schließt jegliches Ereignis ein, das eine der nachstehenden Konsequenzen hat: Tod, Lebensgefahr, persistierende signifikante Behinderung, Tumorerkrankung, manifeste Zeichen und Symptome aufgrund von Überdosierung.

2.4.8 Zusätzliche Parameter in Studie B

Bei den Patienten in Studie B wurden an 3 Terminen, d.h. zum Zeitpunkt der Umstellung, 1 Woche nach Umstellung und 3 Monate nach Umstellung die Metaboliten von MMF bestimmt und eine 8 Stunden Kinetik dieser Metaboliten berechnet. Bei den Kontrollpatienten wurde dies an zwei Terminen mit 3 monatigem Abstand gemacht.

Zusätzlich wurde bei beiden Patientengruppen an den zwei Terminen mit 3 monatigem Abstand noch eine Inulin- und PAH-Clearance durchgeführt.

Als weitere Parameter aus diesen Untersuchungen wurden bei den Patienten aus Studie B die Filtrationsfraktion und die ECC zu den jeweiligen Terminen bestimmt.

$$\text{Filtrationsfraktion} = \frac{\text{Inulin-clearance}}{\text{PAH-Clearance}}$$

Normalwert: 0,16-0,21

2.4.9 Laborbestimmungen Studie B

In Studie B wurden zusätzlich zu den in Studie A erwähnten Parameter noch weitere Untersuchungen gemacht. In unserem Nierenlabor wurde die Messung einer Inulin- und PAH-Clearance durchgeführt. Des Weiteren wurden Ethylendiamintetraessigsäure (EDTA)-Blutproben zur Bestimmung einer 8 Stunden Kinetik des Medikamentes Mykophenolat Mofetil bzw. dessen Metaboliten MPA, MPAG und Acyl-MPAG entnommen.

2.4.9.1 Clearancebegriff und Berechnung der glomerulären Filtrationsrate

Die renale Clearance einer Substanz ist ein Begriff aus der Pharmakokinetik, der beschreibt, wie die Substanz von der Niere behandelt wird. Sie drückt aus, wieviel von der betreffenden Substanz, im Verhältnis zur vorhandenen Blutplasmakonzentration, von der Niere ausgeschieden wird:

Die Clearance gibt dasjenige Plasmavolumen an, das pro Minute von der Messsubstanz vollständig gereinigt wird. Sie trägt also die Einheit ml/min.

Hieraus ergibt sich die Möglichkeit, physiologische Parameter mit Hilfe der Clearance von Stoffen mit bestimmten Eigenschaften zu untersuchen. Einer dieser Parameter ist die glomeruläre Filtrationsrate (GFR). Die GFR ist auf direktem Weg nicht messbar, kann aber über die Clearance eines Stoffes bestimmt werden, für den die folgenden Kriterien zutreffen:

- 1.) ungehinderte Filtration in der Bowman Kapsel
- 2.) keine tubuläre Resorption
- 3.) keine tubuläre Sekretion
- 4.) es darf weder ein Abbau noch eine Neubildung der Substanz in der Niere stattfinden
- 5.) die Substanz muss analytisch gut nachweisbar sein
- 6.) die Substanz darf für den Patienten nicht toxisch sein

Wenn diese Voraussetzungen erfüllt sind bedeutet dies, dass die gesamte filtrierte Menge des Stoffes mit dem Urin ausgeschieden wird. Erst dann gilt:

Filtrierte Menge der Substanz = ausgeschiedene Menge der Substanz.

Als Messsubstanzen werden heutzutage verwendet:

- 1.) Exogene (dem Körper zugeführte) Marker wie Inulin, Polyfruktosan, Polyethylenglykol, radioaktiv markiertes Vitamin B12 oder EDTA und Diethylentriaminopentaacetat (DTPA).
- 2.) Endogene (im Körper natürlich vorkommende) Marker sind Kreatinin und β 2-Mikroglobulin.

Die bei uns verwendete Substanz zur Messung der GFR ist Inulin. Da Inulin körperfremd ist, d.h. Inulin wird nicht vom Körper produziert, muss man es durch z. B. Infusion dem Körper zuführen. Um die Plasmakonzentration von Inulin möglichst schnell auf einen konstanten Wert zu bringen („Steady-State“), muss man zunächst mit der Infusion einer größeren Menge Inulin beginnen (Bolusinfusion), ehe ein Gleichgewicht zwischen zugeführtem Inulin und renal ausgeschiedenem Inulin entstehen kann.

Die Inulin-Clearance ist von der Körperoberfläche, welche sich aus Körpergewicht und Körpergröße berechnen lässt, abhängig. Um die Ergebnisse der Inulin-Clearances vergleichen zu können werden sie auf die Standardkörperoberfläche von 1,73m² normiert.

Bei unseren Messungen wurde davon ausgegangen, dass die berechnete Inulin-Clearance der GFR des Patienten entspricht.

2.4.9.2 Effektiver renaler Plasmafluss

Wie die GFR ist auch die Nierendurchblutung d.h. der effektive renale Plasmafluss nicht direkt messbar. Sie wird durch die Clearance einer Substanz indirekt bestimmt für die gilt:

- 1.) vollständige glomeruläre Filtration und
- 2.) Sezernierung im proximalen Tubulus bei
- 3.) fehlender Resorption
- 4.) es darf weder ein Abbau noch eine Neubildung der Substanz in der Niere stattfinden
- 5.) die Substanz muss analytisch gut nachweisbar sein
- 6.) die Substanz darf für den Patienten nicht toxisch sein

Dies bedeutet, dass die in das Nierenparenchym einströmende Plasmamenge bei einmaligem Durchfluss vollständig von der Messsubstanz gereinigt wird. Sind diese Kriterien erfüllt, so gilt:

In die Niere einströmende = ausgeschiedene Stoffmenge.

Als Messsubstanz eignet sich die p-Aminohippursäure (PAH). Sie ist wie zuvor bei der Inulin-Clearance beschrieben ein Stoff, der dem Körper exogen zugeführt werden muss. Auch hier gilt es mit einer Bolusinfusion und anschließender Erhaltungsinfusion, meistens zusammen mit den Infusionen des Inulin verabreicht, einen Steady-state zu erreichen. Anschließend werden die Ergebnisse wiederum auf die Standardkörperoberfläche normiert. Es wird auch bei der PAH-Clearance unserer Messungen angenommen, dass sie dem effektiven realen Plasmafluss entsprechen.

2.4.9.3 Bestimmung von Mykophenolat Mofetil und seinen Metaboliten

Durch die freundliche Zusammenarbeit der Abteilung Klinischer Chemie der Georg-August-Universität Göttingen unter Leitung von Herrn Professor Dr. Victor W. Armstrong wurde es ermöglicht, die MMF Metaboliten MPA, MPAG und Acyl-MPAG zu messen. Dies geschah mit der dort entwickelten „high-performance liquid chromatography“ Methode (HPLC). Diese Methode wurde schon 1998 von Frau Shipkova zur Bestimmung von MPA und MPAG beschrieben [40]. Im Jahr 2000 veröffentlichte die gleiche Gruppe auch das Verfahren zur Ermittlung von Acyl-MPAG mit Hilfe der HPLC-Methode[41].

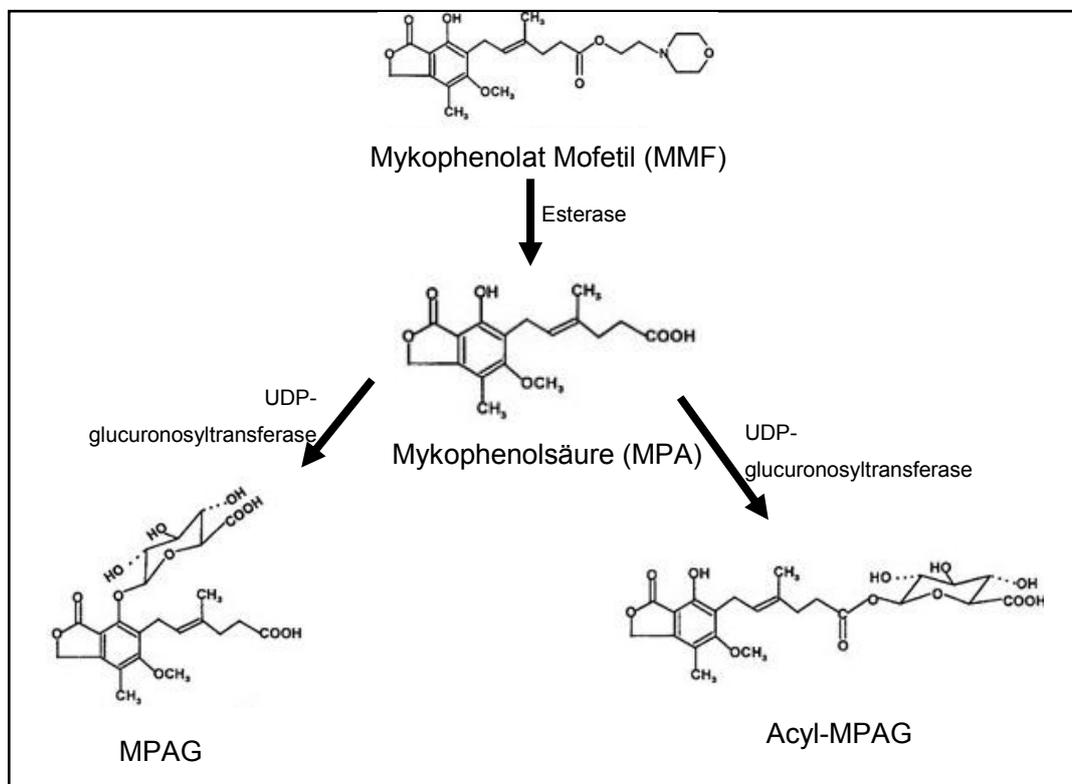


Abbildung 4: Metabolischer Weg von Mykophenolat Mofetil beim Menschen. MMF wird durch Plasma- und Oberflächen-Esterasen zum immunsuppressiven Metaboliten MPA hydrolysiert. MPA wird danach hauptsächlich durch Glucuronidierung in die Metaboliten MPAG und Acyl-MPAG umgewandelt. Zeichnung frei nach M.Shipkova et al 1999 [42]

2.5 Studiendurchführung Studie B

2.5.1 Handling der Mykophenolat Mofetil-Kinetik und allgemeine Vorbereitung des Patienten

Die Patienten der Studie B wurden nach dem Zeitschema, wie in Abb. 3 gezeigt, zu jeweils 3 Terminen in unsere Nephrologische Ambulanz einbestellt. Zunächst wurden die Routineblutabnahmen (nüchtern) im Rahmen des normalen Ambulanzbesuches zur Bestimmung der Basalwerte von Natrium, Kalium, Calcium, Chlorid, anorganischem Phosphat, Kreatinin und Harnstoff N abgenommen. Zusätzlich wurde für die Studie ein EDTA-Blutröhrchen abgenommen. Dieses diente als Anfangswertbestimmung der 8 Stunden MMF-Kinetik. Im Anschluss wurden dem Patienten an beiden Unterarmen Venenverweilkanülen der Firma Braun gelegt und mit isotoner Kochsalzlösung zur weiteren Verwendung gespült. Dabei wurde schon festgelegt, an welchem Arm später Blut abgenommen werden soll, und an welchem Arm die Infusion für die Clearances laufen sollte. Ein Wechsel der Infusionsseite war später nicht möglich. Danach wurde der Patient aufgefordert, seine Medikamente einzunehmen. Dem Patienten wurde es gestattet ein Frühstück nach der Medikation einzunehmen. Eine Stunde nach der ersten Blutabnahme in der Ambulanz wurde das zweite EDTA-Blutröhrchen für die MMF-Kinetik in einem eigenen Untersuchungsraum abgenommen. Es erfolgten am selben Tag noch EDTA-Blutabnahmen zu den Zeitpunkten 2, 3, 5 und 8 Stunden nach Medikamenteneinnahme. Insgesamt wurden für die MMF-Kinetik 6 EDTA-Blutröhrchen pro Patient abgenommen.

2.5.2 Allgemeines zu den Inulin- und PAH-Clearances und Vorbereitungen

Im Zeitraum 3 bis ca. 5 Stunden nach Medikamenteneinnahme wurde zu den Terminen I und III (siehe Abb.3), bei den Patienten, und an beiden Terminen der Kontrollpatienten, eine Inulin- und PAH-Clearance nach Cole und Ingelfinger [43] durchgeführt.

Vor Beginn der Clearance wurde der Patient aufgefordert mindestens ½ L Wasser oder Tee zu trinken. Anschließend wurde der Patient gebeten, seine Blase vollständig zu entleeren und eine Probe aus dem Mittelstrahlurin wurde zur Bestimmung der Urinbasalwerte für Natrium, Kalium Calcium, Chlorid, anorganischem Phosphat, Kreatinin, Harnstoff N und eventuellen Proteinen genommen. Mindestens 1 L Wasser oder Tee sollte der Patient während der Durchführung der Clearances zu sich nehmen. Unter den Clearances wurde eine Urinsammlung zur Bestimmung der ECC und der Gesamtausscheidung von Natrium, Kalium, Calcium, Chlorid und eventuellen Proteinen vorgenommen. Vor den Blutabnahmen wurde 2 ml Blut aspiriert, welches verworfen wurde. Nach jeder Benutzung wurde der Zugang mit 5 ml isotoner Kochsalzlösung gespült.

2.5.3 Durchführung der Clearance-Messung am Patienten

Theorie

Der effektive renale Blutfluss (ERBF) sowie die GFR wurden entsprechend der Clearance von Natrium-para-Aminohippurat (PAH) (Fa. Clin-alfa) und Inulin (Inutest 25 %; Fresenius) gemessen. Kurz dargestellt wurde die folgende Versuchsanleitung benutzt: Nach einer Bolusinfusion von PAH und Inulin zur Aufsättigung des extrazellulären Flüssigkeitsvolumen (ECF) (mit Zielspiegel PAH 2mg/100ml ECF und Inulin 20mg/100ml ECF) wurde eine konstante Dosis PAH und Inulin (Dosis hier abhängig vom aktuellen Plasmakreatininwert und der Körperoberfläche des Patienten) über 200 min infundiert. Es wurden die folgenden Abnahmezeiten für Serumproben gewählt: 30, 60, 80, 100, 120, 140 und 160 Minuten (siehe Abb. 6).

Die Proben wurden zentrifugiert und bei – 20 °C eingefroren und für die weitere Analyse aufbewahrt.

Inulin wurde als kolorimetrischer Test für Fruktose (Resorcinmethode) nach der hydrolytischen Spaltung des Inulins in Plasma gemessen. PAH wurde durch eine Diazo-Reaktion der PAH-Aminogruppe mit Natriumnitrit, welche zusammen mit bromwasserstoffsäurem Naphthylamin einen roten Farbkomplex ergibt, bestimmt (kolorimetrische Bestimmung).

Praktische Umsetzung

Zunächst wurden zur Ermittlung der Körperoberfläche nach dem Nomogramm von Boothby, W.M. und J.Berkson [44] das aktuelle Gewicht und Körpergröße abgefragt (siehe auch Abbildung 5). Der benötigte aktuelle Serumkreatininwert wurde aus den Routineabnahmen der Ambulanz abgerufen.

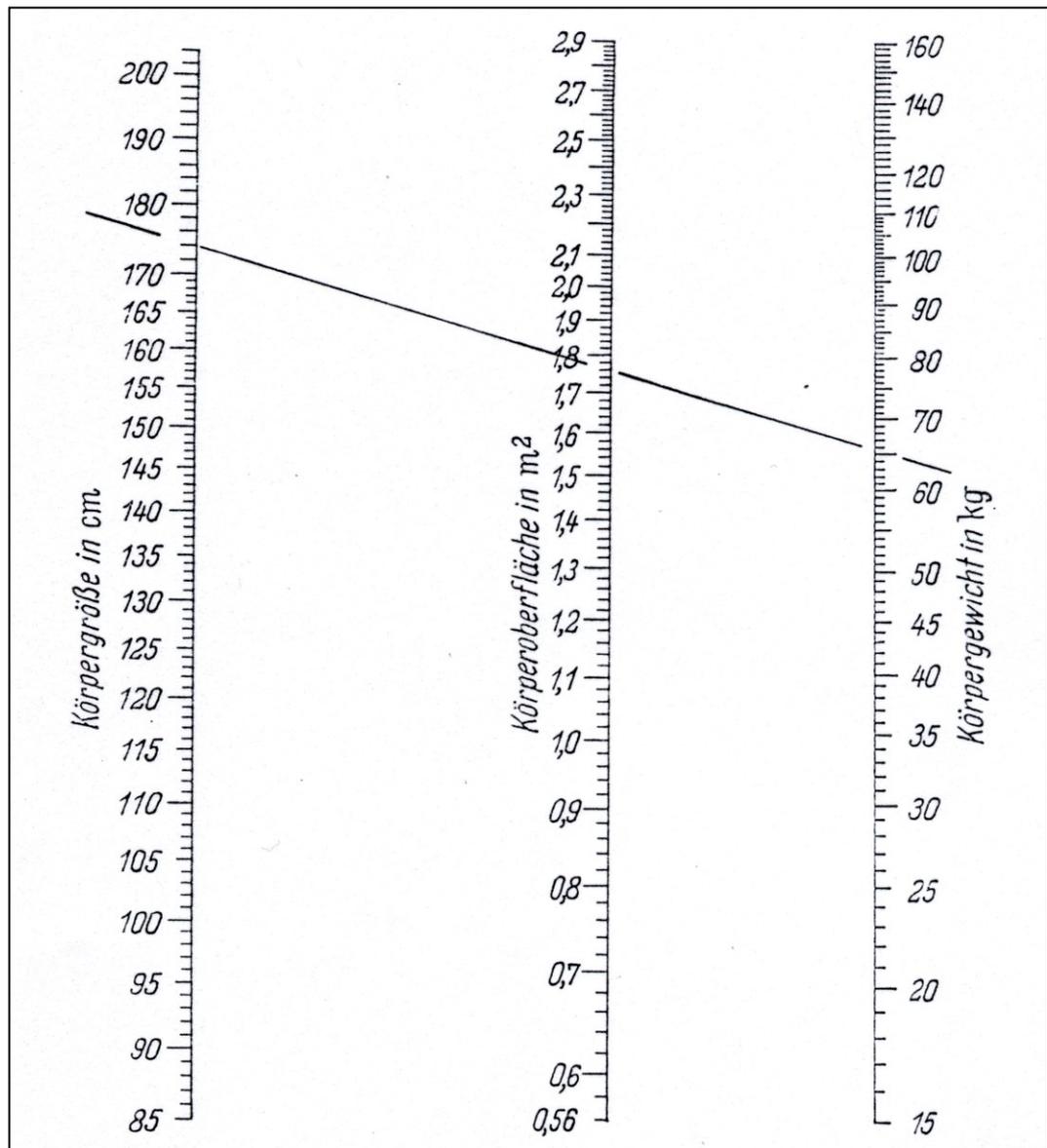


Abbildung 5: Nomogramm zur Ermittlung der Körperoberfläche aus den Werten für Körpergröße und Körpergewicht (Nach BOOTHBY, W.M., u. J. Berkson [44]). Die eingezeichnete Verbindungslinie ergibt bei einer Höhe von 174 cm und einem Gewicht von 66 kg eine Körperoberfläche von 1,76 m^2

Zur Bestimmung der Clearances wurden folgende Substanzen verwendet:

Inutest 25%: 25x20ml Ampullen a 5g (0,25g/ml) der Firma Fresenius

p-Aminohippuric acid Na 20%: 5x5 ml Ampullen a 1,1g (0,22g/ml) der Firma Clinalfa

Für die Bolusinfusion wurde für jeden Patienten spezifisch für sein Gewicht und des daraus zu schließenden extrazellulären Flüssigkeitsvolumens sowohl für PAH als auch für Inulin die benötigte Dosis berechnet und verabreicht. Anschließend wurde per Perfusor (Geschwindigkeit 15 ml/h) die ebenfalls auf den Patienten (Dosis nach aktuellem Serumkreatinin und Körperoberfläche adjustiert) ausgerichtete konstante Infusion an PAH und Inulin verabreicht. Es erfolgten Blutabnahmen zu den in Abbildung 6 geschilderten Zeitpunkten mit jeweils 3 Serumvakutainern.

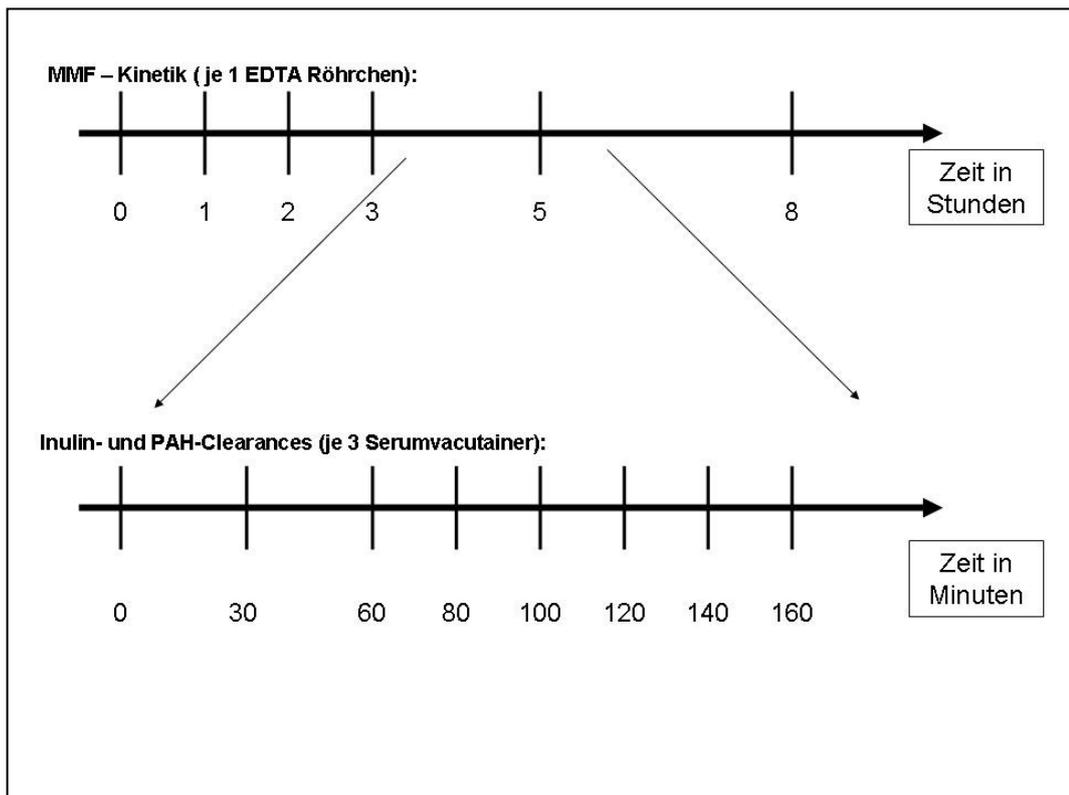


Abbildung 6: Zeitlicher Ablauf der Blutabnahmen in Studie B

Nach den Blutabnahmen wurde die Gesamtmenge des Sammelurins zur Ermittlung der ECC gemessen. Der Zugang zur Infusion wurde entfernt und der Allgemeinzustand des Patienten durch Messung der Vitalparameter überprüft. Nach Abnahme der letzten Blutprobe zur MMF-Kinetik-Bestimmung wurde der verbliebene venöse Zugang beim Patienten entfernt.

2.6 Laborchemische Bestimmung von Inulin und PAH im Serum

Die benötigten Reagenzien zur PAH- und Inulin-Clearance-Bestimmung und ihre Herstellung bzw. Herkunft werden in Tabelle 16 aufgeführt.

Zu Beginn werden die eingefrorenen Serumproben und Infusionslösungen aufgetaut. Zur Kontrolle der Messwerte wurde jeweils eine Probe Inulin 100mg% und PAH 4mg% pro Messtag hergestellt. Im folgenden werden die aufgetauten Serumproben, die Infusionslösung und die Kontrollproben zur Vereinfachung nur noch als Proben bezeichnet.

Inulin:	
0,5 N NaOH (Titrisol)	Riedel de Haen Nr. 38217
10%ige Zinksulfat Lösung	50g Zinksulfat (Merck 8883) in Aqua dest. lösen, auf 500 ml auffüllen
Resorzin Lösung	0,2g Resorzin (Merck 7593) 0,5g Thioharnstoff (Merck 7979) in Essigsäure 96% (Merck 62) lösen und auf 200ml einstellen
30%ige HCL	Merck 318
PAH:	
1 N NaOH	Riedel de Haen 38215
Cadmiumsulfat Lösung	17,5g Cadmiumsulfat (Merck 2027) in 84,6ml 1 N H ₂ SO ₄ (Riedel de Haen 9981) lösen, mit Aqua dest. auf 500ml einstellen
1 N HCL	Merck 9973
Lösung 1: 0,1% Na-Nitrit	0,2g Na-Nitrit (Merck 6549) in Aqua dest. lösen, auf 200ml einstellen
Lösung 2: 0,5% Aminosulfonsäure	1,0g Amidoschwefelsäure (Merck 100103) in Aqua dest. lösen, auf 200ml einstellen
Lösung 3: 0,1% Bromwasserstoffsäures- α -Naphthylamin	0,2 N-Ethyl-1-Naphthylammoniumbromid (Riedel de Haen 60411) in Aqua dest. lösen, auf 200ml einstellen

Tabelle 16: Verwendete Reagenzien der Inulin- und PAH-Clearance

2.6.1 Inulin-Clearance

Das Prinzip der Inulin-Bestimmung beruht auf der Tatsache, dass bei der hydrolytischen Spaltung von Inulin Fructose entsteht. Die entstandene Fructosemenge lässt sich kolorimetrisch bestimmen. Das hier zugrunde liegende Verfahren, die Heyrovskysche Methode [65], beruht auf einer Farbentwicklung aufgrund der Verbindung der Fructose mit 3-Indolessigsäure in konzentrierter Salzsäure.

Normwert (Inulinclearance): Männer 100-150 ml/min (korrigiert auf die Standardkörperoberfläche von 1,73m²)
Frauen 85-120 ml/min (korrigiert auf die Standardkörperoberfläche von 1,73m²)

Durchführung:

Die aufgetaute Infusionslösung zur Bestimmung der Inulinclearance wird im Verhältnis 1:500 mit Aqua dest. verdünnt. Dann werden 10 ml Aqua dest., 1 ml 1N NaOH, 1 ml Probe und 3 ml Cadmiumsulfat in Szintillationsgefäße pipettiert: 3 Proben Inulin Kontrolle, je 1 Probe pro Abnahmezeitpunkt, und 3 Proben Infusionslösung (verdünnt) des Abnahmetages.

Die Proben werden gut gemischt und 10 min bei Raumtemperatur (RT) inkubiert, anschließend geschüttelt und filtriert. Jeweils 5 ml des Filtrats werden in Polystyrolröhrchen überpipettiert und mit 0,5 ml 1N HCL versetzt. Erneut werden dreimalig jeweils 0,25 ml Lösung 1, 2 und 3 hinzugefügt, vermischt und für 3 Minuten bei RT inkubiert.

Das Gemisch wird 2 Stunden bei Raumtemperatur inkubiert. Es bildet sich ein Farbumschlag nach Pink, welcher photometrisch analysiert wird (s. u.).

2.6.2 PAH-Clearance

Das Prinzip der PAH-Bestimmung beruht auf der Diazotierung der Aminogruppe mit Na-Nitrit. Anschließend wird der Nitritüberschuss mit Aminosulfonsäure gebunden. Bromwasserstoffsäures α -Naphthylamin wird zur Bildung eines roten Farbkomplexes verwendet, der ebenfalls photometrisch analysiert wird. Dies ist die leicht abgewandelte Methode zur PAH-Bestimmung, erstmals beschrieben von Bratton und Marshall (1939) [66].

Normwert (PAH-Clearance):

500 - 800 ml/min (korrigiert auf die Standardkörperoberfläche von 1,73m²)

Durchführung:

5 ml Aqua dest., 2 ml 0,5N NaOH, 1 ml Probe und 2 ml Zinksulfat werden zusammengeführt, gut geschüttelt und 10 min bei Raumtemperatur inkubiert, und vor dem Filtrieren nochmals gut vermischt. Das klare Filtrat der Infusionslösung wird im Verhältnis 1:100 verdünnt.

Jeweils 2 ml der Filtrate wird in lange Glasröhrchen überpipettiert und unter dem Abzug 1 ml Resorzin und 7 ml 30%ige HCL hinzupipettiert. Die jeweilige Probe wird gevortext und 10 Minuten im Wasserbad bei 80°C inkubiert. Danach wird die jeweilige Probe ca. 20-30 min in kaltem Wasser abgekühlt. Es bildet sich ein roter Farbkomplex.

2.6.3 Photometrische Messung und Berechnung

Alle Gemische aus Inulin- und PAH-Clearance werden in Halbmikroküvetten umgefüllt und die Extinktion bei einer Wellenlänge von 546 nm gegenüber dem Leerwert von Aqua dest. gemessen. Die Schichtdicke der Mikroküvetten beträgt 1 cm. Aus den 3 erhaltenen Werten der Infusionslösung wird ein Mittelwert ermittelt. Zur Berechnung der Clearances ohne Urinproben wird angenommen, dass nach Aufsättigen des extrazellulären Flüssigkeitsvolumens und anschließend konstanter Zufuhr von PAH bzw. Inulin sich nach einer gewissen Zeit eine konstante Extinktion in den Proben messen lässt (Steady-State). Zu diesem Zeitpunkt entspricht die gemessene Konzentration an PAH bzw. Inulin im Serum der

Konzentration PAH bzw. Inulin im Urin. In anderen Worten: Es wird genauso viel Serum durch den Urin von PAH bzw. Inulin befreit, wie durch die konstante Infusion verabreicht wird. Man kann mit dieser Methode die Clearance von PAH und Inulin messen ohne den Urin zu untersuchen. Aus diesem Grund werden nur jene Extinktionen zur Berechnung berücksichtigt, bei denen sich ein Steady-State einstellt. Diese Methode zur Berechnung der Clearance von Inulin und PAH ohne Urinsammlung wurde 1980 von Schnurr et al wegen der praktischen Vorteile gegenüber der herkömmlichen Methode bevorzugt [67].

$\text{Clearance(ml/min)} = \frac{\text{Extinktion [Infusionslösung]} * \text{Verdünnung} * \text{Perfusorgeschwindigkeit}}{\text{Extinktion[Probe]}}$	
Verdünnung PAH :	500
Verdünnung Inulin:	100
Perfusorgeschwindigkeit:	0,15 ml/min

Nach Berechnung der Clearance wird diese zum Vergleich auf die Standardkörperoberfläche korrigiert.

$\frac{\text{Clearance(ml/min)} * \text{Standardkörperoberfläche(m}^2\text{)[1,73m}^2\text{]}}{\text{Patientenkörperoberfläche(m}^2\text{)}}$

2.7 Pharmakogenetische Bestimmungen der Polymorphismen in Cytochrom P450 3A5 und in dem Multi-Drug-Resistance-Gen (MDR1) an Exon 21 und 26

Es wurden jeweils 6 Patienten mit einer Medikation aus CSA und MMF sowie partiell auch einem Kortikoid sowie 6 Patienten nach Konversion auf FK 506 mit einer Komedikation aus MMF und partiell einem Kortikoid untersucht. Diesen Patienten wurde Blut entnommen und dies mit EDTA versetzt in gefrorenem Zustand in das Dr. Margarete Fischer-Bosch - Institut zur Analyse verschickt. Aus den Blutproben wurde Leukozyten-DNA isoliert und mit Hilfe einer Standardprozedur (QIAamp DNA Blood Mini Kit) die Polymorphismen des Cytochrom P450 3A5 (CYP3A5) und des MDR1-Gen im Exon 21 und 26 bestimmt. Die Methode zur Bestimmung wurde erstmals von Furuno T et al beschrieben [45].

2.8 Statistik

Die statistische Auswertung aller Daten erfolgte mit dem Programm SPSS (Statistical Package for Social Sciences, SPSS GmbH, München, Landeslizenz NRW) und dem Programm Excel 2003 (Microsoft). Die Nierenfunktion wurde nach der Formel von Cockcroft und Gault (1976) [46] berechnet.

Alle untersuchten Parameter wurden als Mittelwert \pm Standardabweichung oder als Absolutanzahl und Prozentanteil am Gesamtpatientenkollektiv angegeben. Die Variablen wurden für jede Gruppe sowohl in Studie A als auch in Studie B mit dem Kolmogorov-Smirnov-Test für eine Stichprobe auf Normalverteilung getestet. Bei normalverteilten Variablen wurden die Mittelwerte mit dem T-Test nach Student für unabhängige Stichproben zwischen den beiden Gruppen Patientengruppe und Kontrollgruppe verglichen. Somit wurden Unterschiede der beiden Gruppen in einzelnen Variablen verdeutlicht. Um einen Unterschied innerhalb der Gruppen zwischen verschiedenen Abnahmedaten zu untersuchen, wurde bei

normalverteilten Variablen der T-Test nach Student für gepaarte Stichproben verwendet.

Bei nicht normalverteilten Variablen wurde entsprechend der nicht parametrische Test U-Test nach Mann-Whitney zum Vergleich zwischen beiden Gruppen und der Wilcoxon-Test mit zwei verbundenen Stichproben verwendet.

Die angegebenen Signifikanzen dienen zur explorativen Statistik, d.h. zum Auffinden von Strukturen, Fragestellungen und Hypothesen. Eine α -Korrektur nach Bonferroni wurde nicht durchgeführt. Wahrscheinlichkeitswerte $p < 0,05$ wurden als signifikant erachtet.

2.9 Ethische Aspekte

2.9.1 Deklaration von Helsinki

Die klinische Prüfung wurde in Übereinstimmung mit der 1990 in Hongkong revidierten Fassung der Deklaration von Helsinki durchgeführt. Unter der Nummer 1832 wurde die Studie durch die Ethikkommission der Medizinischen Fakultät der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf genehmigt.

2.9.2 Patienteninformation und Datenschutz

Die Patienten wurden vor der Umstellung auf Tacrolimus über Sinn und Nutzen sowie mögliche Nebenwirkungen der Tacrolimustherapie mittels eines Informationsblattes aufgeklärt und mussten in der Verlaufsbeobachtung schriftlich einwilligen (*Informationsblatt und Patienteninformation sind im Anhang beigefügt*). Die Kontrollpatienten wurden ebenfalls ausführlich durch Fachärzte aufgeklärt und mussten ihr schriftliches Einverständnis vor Beginn der Studie geben. Sie stimmten damit auch einer wissenschaftlichen Auswertung ihrer medizinischen Daten in anonymisierter Form sowie der möglichen behördlichen Einsichtnahme in die Krankenakte zu. Alle weiblichen Patienten mussten bestätigen, dass sie über mögliche negative Auswirkungen der Tacrolimustherapie auf eine eventuell bestehende Schwangerschaft hingewiesen wurden. Bei gebärfähigen Frauen wurde ein entsprechender Test durchgeführt. Die Patienten hatten das Recht, jederzeit ohne persönliche Nachteile aus der Studie auszuscheiden.

2.9.3 Abbruch der Studie

Die Studie konnte abgebrochen werden, falls sich im Verlauf aus ethischer, arzneimittelrechtlicher oder medizinischer Sicht schwerwiegende Nachteile für die teilnehmenden Patienten abzeichneten.

3 Ergebnisse

3.1.1 Daten zur Nierenfunktion

Über den gesamten Beobachtungszeitraum wurde bei den Patienten das Alter, das Körpergewicht und der Serumkreatininwert festgehalten, und für die Nierenfunktionsberechnung nach Cockcroft und Gault, wie unter Punkt 2.3.2 beschrieben, verwendet. Die Körpergröße aller Patienten änderte sich im Beobachtungszeitraum nicht. Das durchschnittliche Gewicht war nach 30 Monaten Beobachtungszeit bei $73,5 \pm 17,9$ kg in der Patientengruppe und bei $72,6 \pm 13,3$ kg bei der Kontrollgruppe. Dies machte zwischen den Gruppen keinen signifikanten Unterschied (T-Test nach Student) jedoch war die Gewichtsreduktion gegenüber dem Beobachtungsbeginn bei der Patientengruppe signifikant ($p < 0,05$ t-Test für abhängige Stichproben).

Der Mittelwert für das Serumkreatinin war zum Zeitpunkt der Umstellung bei der Patientengruppe nach zweiseitigem T-Test nach Student mit einem $p < 0,001$ signifikant höher als bei der Kontrollgruppe. Die Patientengruppe ($n=31$) hatte einen Serumkreatininwert von $2,6 \pm 0,9$ mg/dl wohingegen die Kontrollgruppe ($n=31$) einen Serumkreatininwert von $1,7 \pm 0,5$ mg/dl hatte. Der mittlere Serumkreatininwert des Gesamtkollektivs betrug $2,2 \pm 0,8$ mg/dl.

Zum Zeitpunkt 24 Monate nach Beobachtungsstart hatte die Patientengruppe ($n=21$) einen durchschnittlichen Serumkreatininwert von $2,0 \pm 0,6$ mg/dl und die Kontrollgruppe ($n=24$) einen Wert von $1,8 \pm 0,7$ mg/dl. Dies zeigt, dass sich die Kreatininwerte zwischen den Gruppen nach 24 Monaten nicht mehr signifikant unterschieden. Der Abfall des Kreatininwertes der Patientengruppe war signifikant mit einem $p < 0,001$ (t-Test mit gepaarten Stichproben) während der durchschnittliche Kreatininwert der Kontrollgruppe im gleichen Zeitraum ohne Signifikanz nahezu gleich blieb (Abb.7).

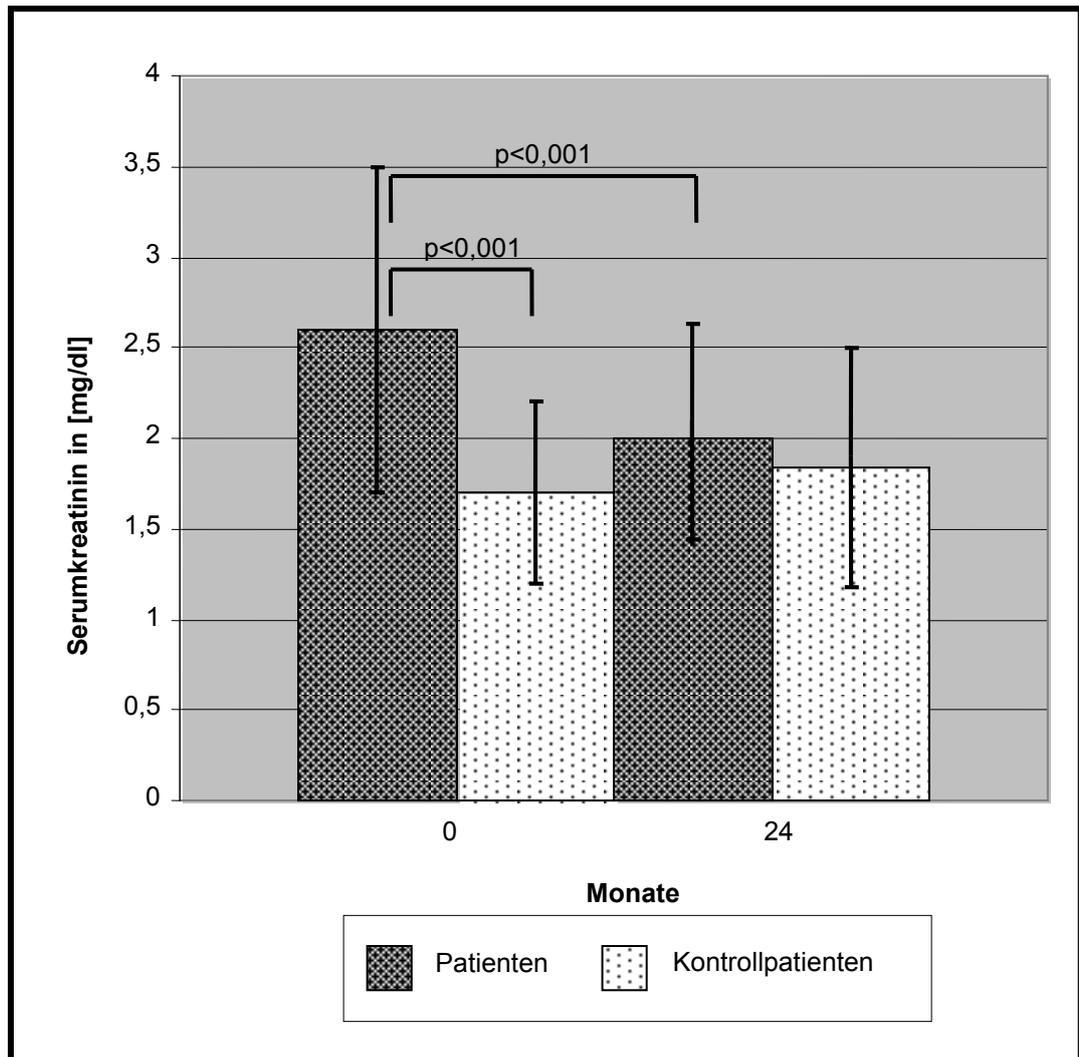


Abbildung 7: Vergleich der Serumkreatininwerte (Mittelwerte) zu Beginn der Beobachtung mit den Kreatininwerten nach 24 Monaten (t-Test mit gepaarten Stichproben: $p[\text{Patienten}] < 0,001$; T-Test nach Student: $p[\text{Patienten zu Kontrollpatienten zum Zeitpunkt 0}] < 0,001$)

Zum Zeitpunkt 30 Monate nach Beobachtungsstart hatte die Patientengruppe ($n=15$) einen durchschnittlichen Serumkreatininwert von $2,0 \pm 0,7$ mg/dl und die Kontrollgruppe ($n=10$) einen Wert von $1,9 \pm 0,4$ mg/dl. Dies zeigt, dass sich die Kreatininwerte zwischen den Gruppen auch nach 30 Monaten nicht mehr signifikant unterschieden. Der Abfall des Kreatininwertes der Patientengruppe war signifikant mit einem $p < 0,01$ (t-Test mit gepaarten Stichproben) während der durchschnittliche Kreatininwert der Kontrollgruppe im gleichen Zeitraum mit einem $p < 0,05$ (t-Test mit gepaarten Stichproben) signifikant anstieg (Abb.8).

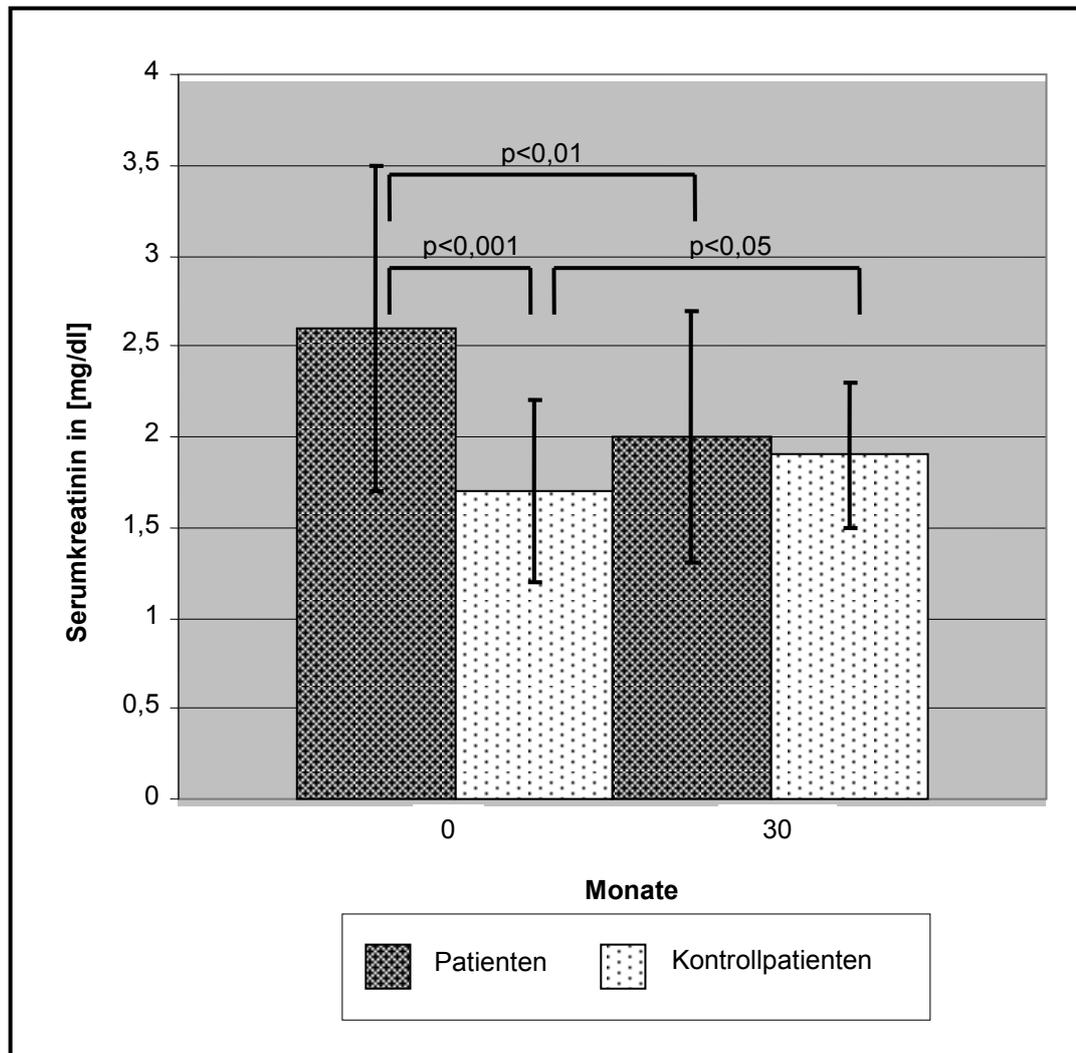


Abbildung 8: Vergleich der Serumkreatininwerte (Mittelwerte) zu Beginn der Beobachtung mit den Kreatininwerten nach 30 Monaten (t-Test mit gepaarten Stichproben: $p[\text{Patienten}] < 0,01$, $p[\text{Kontrollpatienten}] < 0,05$; T-Test nach Student: $p[\text{Patienten zu Kontrollpatienten zum Zeitpunkt 0}] < 0,001$)

Diese Ergebnisse wurden ergänzend von dem Statistiker Herrn Dr. Reinhart Willers des Zentrum für Information- und Medientechnologie der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf untersucht.

Der Vergleich der Kreatininwerte von Patientengruppe und Kontrollgruppe mit dem Wilcoxon-Rangsummen-Test je Zeit konnte die bisher ermittelten Signifikanzen bestätigen: Der Test untersucht die Transplantatfunktion anhand des Serumkreatinins für die Patientengruppe wie für die Kontrollgruppe zu jedem Zeitpunkt der Beobachtung bis einschließlich 30 Monate nach Umstellung auf

Tacrolimus und zeigt Unterschiede beider Gruppen auf. Es wurde festgestellt, dass insbesondere in den ersten 6 Monaten noch ein signifikanter Unterschied zwischen Patientengruppe und Kontrollgruppe besteht. Im weiteren Verlauf können keine signifikanten Unterschiede der Gruppen gezeigt werden. Die in Tabelle 17 gezeigten p-Werte wurden wegen der Mehrfachtestung adjustiert nach der Methode Bonferroni-Holm (Tab. 17).

Monate	Zwei Proben Wilcoxon Statistik	Wicoxon Statistik, standardisiert	P-value, Wilcoxon Test (zweiseitig)	Bonferroni Holm adjustiert
0	599,0	-4,77558	0,000002	0,000018
3	599,0	-4,22997	0,000023	0,000210
6	1035,5	3,56883	0,000359	0,002869
9	926,0	2,56911	0,010196	0,061176
12	493,0	-2,80338	0,005057	0,035399
15	734,0	2,37241	0,017672	0,088361
18	601,5	2,16225	0,030599	0,091796
21	521,0	2,28772	0,022154	0,088615
24	442,0	1,11591	0,264461	0,528923
30	118,5	-0,61147	0,540892	0,540892

Tabelle 17: Vergleich der Kreatininwerte von Patienten- und Kontrollgruppe je Zeit mit Wilcoxon-Rangsummentest (zweiseitig und nach Bonferroni-Holm adjustiert)

Wenn man die Einzelverläufe der Patienten aus der Patientengruppe analysiert, zeigt sich ein zunächst inhomogener Kurvenverlauf in der Anfangsphase nach Umstellung auf Tacrolimus, während die Kontrollgruppe über die gesamte Verlaufsperiode bis zu 30 Monaten relativ homogen ist.

Um den Verlauf aller Patienten einer Gruppe darzustellen wurde sowohl für die Patientengruppe als auch für die Kontrollgruppe eine Regressionsanalyse angefertigt:

Unter der Annahme eines linearen Verlaufs des Kreatinins über die Zeit wurde eine ANOVA mit Messwiederholungen und fehlenden Werten (Gemischtes Modell)

durchgeführt. Die Berechnung nach dem autoregressiven Kovarianzmodell mit linearem Verlauf des Kreatinin über die Zeit mit dem logarithmischen Maßstab Basis 2 des Kreatinins ergab über den Zeitraum bis 30 Monate nach Umstellung auf Tacrolimus eine Steigung der Regressionsgeraden der Patientengruppe von $-0,01$ ($p < 0,003$) und eine Steigung der Regressionsgeraden der Kontrollgruppe von $+0,004$ ($p < 0,2$). (Abb.9)

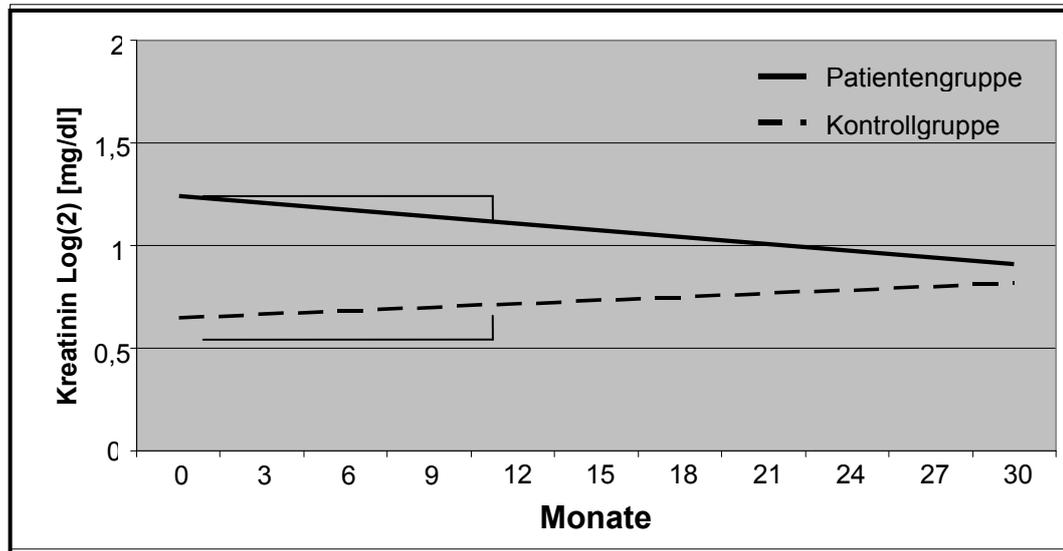


Abbildung 9: Vergleich des Serumkreatininverlaufs anhand der Regressionsgeraden über die Beobachtungszeit mit dem Maßstab des Logarithmus mit der Basis 2. (p [Patientengruppe] $<0,003$, p [Kontrollgruppe] $<0,2$)

Danach zeigt sich für die Patientengruppe ein Verbesserungstrend (negative Steigung von $-0,01$ im logarithmischen Maßstab mit Basis 2) des Serumkreatinin um ca. 23,31% über den Zeitraum der ersten 30 Monate nach Umstellung auf Tacrolimus, dies entspricht einer Funktionsverbesserung von ca. 0,24 mg/dl pro Jahr in der gesamten Patientengruppe bei einem durchschnittlichen Serumkreatinin von 2,6 mg/dl zu Beginn. Da es sich um einen logarithmischen Maßstab handelt, war die Verbesserung der Nierenfunktion in den ersten Monaten prozentual höher als in den letzten Monaten des Beobachtungszeitraumes. Die Kontrollgruppe bleibt hingegen hinsichtlich dieses Trends gleich (positive Steigung ohne Signifikanz).

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass die erweiterten statistischen Untersuchungen durch Herrn Dr. R. Willers die bisherigen gezeigten Ergebnisse bestätigten. Da es sich bei den weiteren Untersuchungen, der Nierenfunktion mit der Formel von Cockcroft und Gault, um Werte handelt, die auf der Basis der

Kreatininwerte berechnet werden, wurde bei diesen Untersuchungen auf die erweiterte statistische Auswertung durch Herrn Dr. R. Willers verzichtet und die ursprünglichen Verfahren angewendet.

Die mit der Formel von Cockcroft und Gault errechnete Nierenfunktion verhielt sich entsprechend zu den untersuchten Kreatininwerten. Am Anfang der Beobachtungszeit waren die Werte für die Nierenfunktion der Patienten (n=31) ($37,0 \pm 15,0$) signifikant kleiner als die der Kontrollpatienten (n=31) ($52,3 \pm 13,2$) ($p < 0,001$ t-Test nach Student).

Nach 24 Monaten war kein signifikanter Unterschied der durchschnittlichen Nierenfunktion zwischen den Gruppen mehr erkennbar (Patientengruppe (n=21) : $46,4 \pm 14,7$; Kontrollpatientengruppe (n=24) : $48,3 \pm 14,2$). Der Anstieg der Nierenfunktionswerte bei der Patientengruppe war mit einem $p < 0,001$ signifikant. Die Abnahme der Nierenfunktion der Kontrollgruppe beim Vergleich der Werte nach 24 Monaten mit denen bei Beobachtungsbeginn war nicht signifikant (Abb.10).

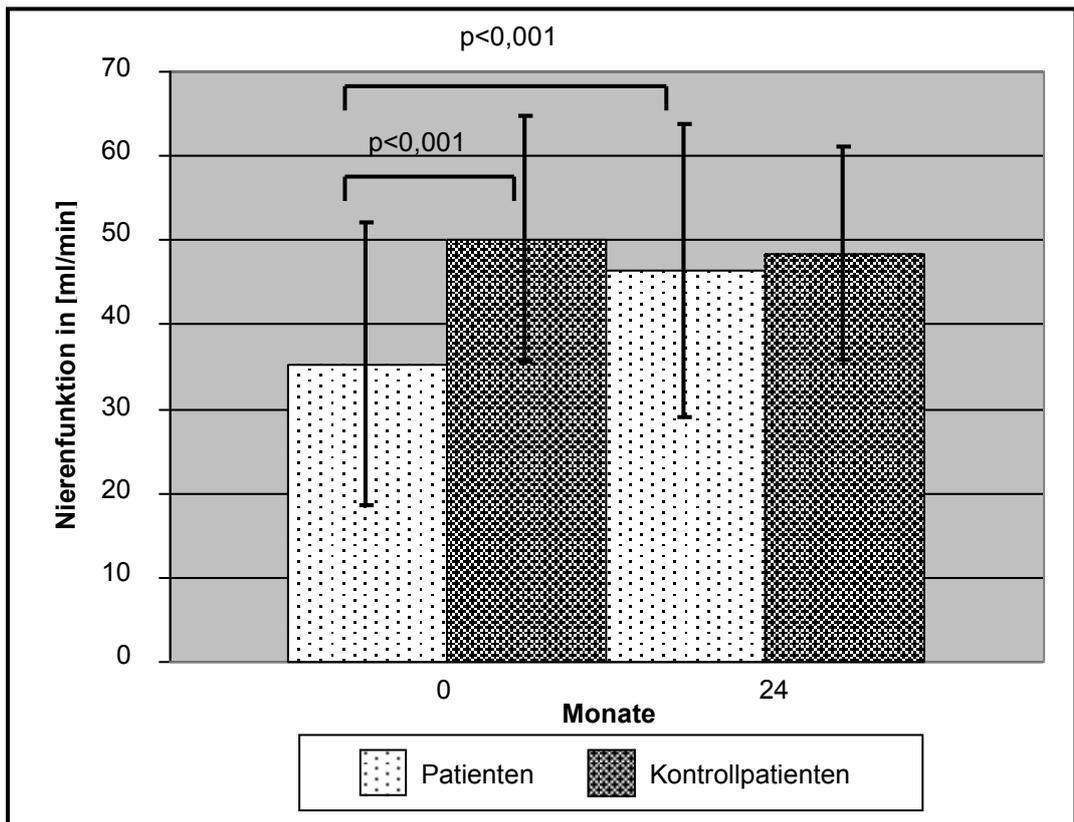


Abbildung 10: Vergleich der Nierenfunktion nach Cockcroft und Gault Startmittelwerte und Mittelwerte nach 24 Monaten (T-Test nach Student $p[\text{Patienten zu Kontrollpatienten zum Zeitpunkt 0}] < 0,001$; t-Test mit gepaarten Stichproben: $p[\text{Patienten}] < 0,001$).

Wie zuvor bei den Kreatininwerten war auch bei der durchschnittlichen Nierenfunktion nach 30 Monaten kein signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen mehr erkennbar (Patientengruppe ($n=15$) : $51,6 \pm 18,4$ ml/min Kontrollpatientengruppe ($n=10$) : $47,7 \pm 11,6$ ml/min). Der Anstieg der Nierenfunktionswerte bei der Patientengruppe war mit einem $p < 0,001$ signifikant (Abb. 11).

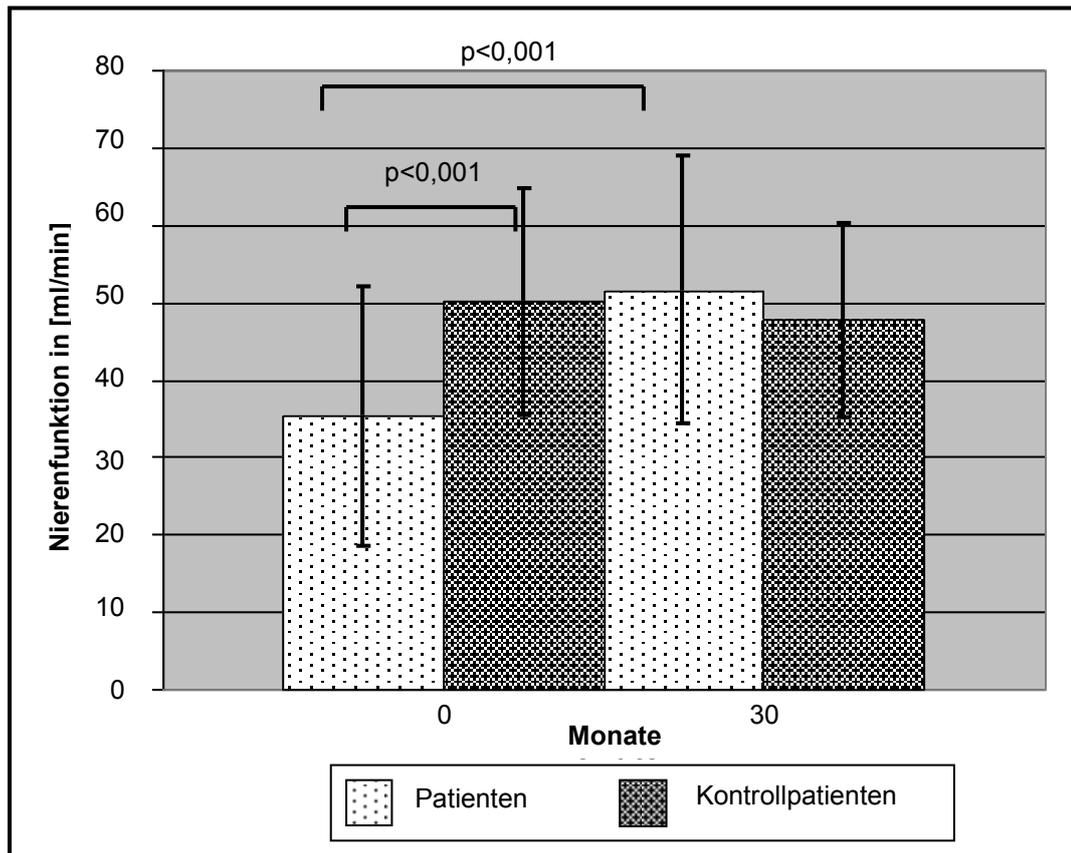


Abbildung 11: Vergleich der Nierenfunktion nach Cockcroft und Gault Startmittelwerte und Mittelwerte nach 30 Monaten (T-Test nach Student $p[\text{Patienten zu Kontrollpatienten zum Zeitpunkt 0}] < 0,001$; t-Test mit gepaarten Stichproben: $p[\text{Patienten}] < 0,001$).

3.1.2 Blutdruck und antihypertensive Therapie

Der systolische bzw. diastolische Blutdruck des gesamten Kollektivs zu Beginn der Beobachtung lag im Mittel bei $137,37 \pm 18,18 / 82,23 \pm 8,59$ mmHg. Der mittlere arterielle Druck lag im Durchschnitt bei $97,37 \pm 20,71$ mmHg. Am Ende der Beobachtungszeit lagen die systolischen und diastolischen Mittelwerte bei $136,31 \pm 17,58 / 81,53 \pm 9,56$ mmHg und der arterielle Mitteldruck war bei $99,79 \pm 10,71$ mmHg. Die Unterschiede zwischen den Daten bei Beobachtungsbeginn und Beobachtungsende waren statistisch nicht signifikant (Wilcoxon-Test mit zwei verbundenen Stichproben).

Beim Vergleich der Gruppen zu Beobachtungsbeginn mit den Werten zu Beobachtungsende wurden die in Tabelle 18 und 19 dargelegten Blutdruckwerte ermittelt.

Ein Vergleich der Blutdruckwerte zwischen den beiden Gruppen führte zu keinem signifikanten Unterschied in allen drei Variablen (U-Test nach Mann&Whitney).

	Umstellung	Beobachtungsende	Signifikanz
Systolischer Blutdruck	136,27±20,39	135,48±18,96	ns #
Diastolischer Blutdruck	81,23±10,05	81,87±9,79	ns #
Arterieller Mitteldruck	96,37±21,62	99,74±11,31	ns #

Tabelle 18: Vergleich der Blutdruckwerte in mmHg der Patientengruppe Mittelwerte ± SD (#) Wilcoxon-Test mit zwei verbundenen Stichproben

	Umstellung	Beobachtungsende	Signifikanz
Systolischer Blutdruck	138,47±15,94	137,13±16,35	ns #
Diastolischer Blutdruck	83,23±6,87	81,19±9,48	ns #
Arterieller Mitteldruck	98,37±20,07	99,84±10,26	ns #

Tabelle 19: Vergleich der Blutdruckwerte in mmHg der Kontrollgruppe Mittelwerte ± SD (#) Wilcoxon-Test mit zwei verbundenen Stichproben

Die Anzahl antihypertensiver Medikamente lag bei der Patientengruppe am Anfang durchschnittlich bei 3,10±1,56 Medikamenten am Tag, darunter waren 0,32±0,54 ACE-Hemmer bzw AT1-Rezeptorantagonisten. Die Gesamtzahl an Antihypertensiva in dieser Gruppe nahm bis zum Beobachtungsende auf 3,07±1,57 Medikamente ab (ns) während die Medikation von ACE-Hemmern bzw.

AT1-Rezeptorantagonisten in dieser Gruppe signifikant auf $0,70 \pm 0,65$ zunahm ($p < 0,01$ Wilcoxon-Test mit zwei verbundenen Stichproben).

Die Kontrollpatientengruppe nahm im Schnitt $2,31 \pm 1,42$ Antihypertensiva zu Beginn ein. Darunter waren $0,48 \pm 0,51$ ACE-Hemmer bzw. AT1-Rezeptorantagonisten. Im Gegensatz zur Patientengruppe nahm der durchschnittliche Antihypertensivaverbrauch pro Tag zum Beobachtungsende hin zu. Er lag bei $2,43 \pm 1,36$ Antihypertensiva darunter waren $0,53 \pm 0,57$ ACE-Hemmer bzw. AT1-Rezeptorantagonisten. Dieser höhere Verbrauch war jedoch statistisch nicht signifikant (Wilcoxon-Test mit zwei verbundenen Stichproben)(Abb.12+13).

Zu Beobachtungsbeginn war die Anzahl der Antihypertensiva bei der Patientengruppe signifikant höher als bei der Kontrollgruppe ($p < 0,05$ U-Test nach Mann&Whitney). Am Ende der Beobachtungszeit war dieser Unterschied statistisch nicht mehr nachweisbar (Abb.12).

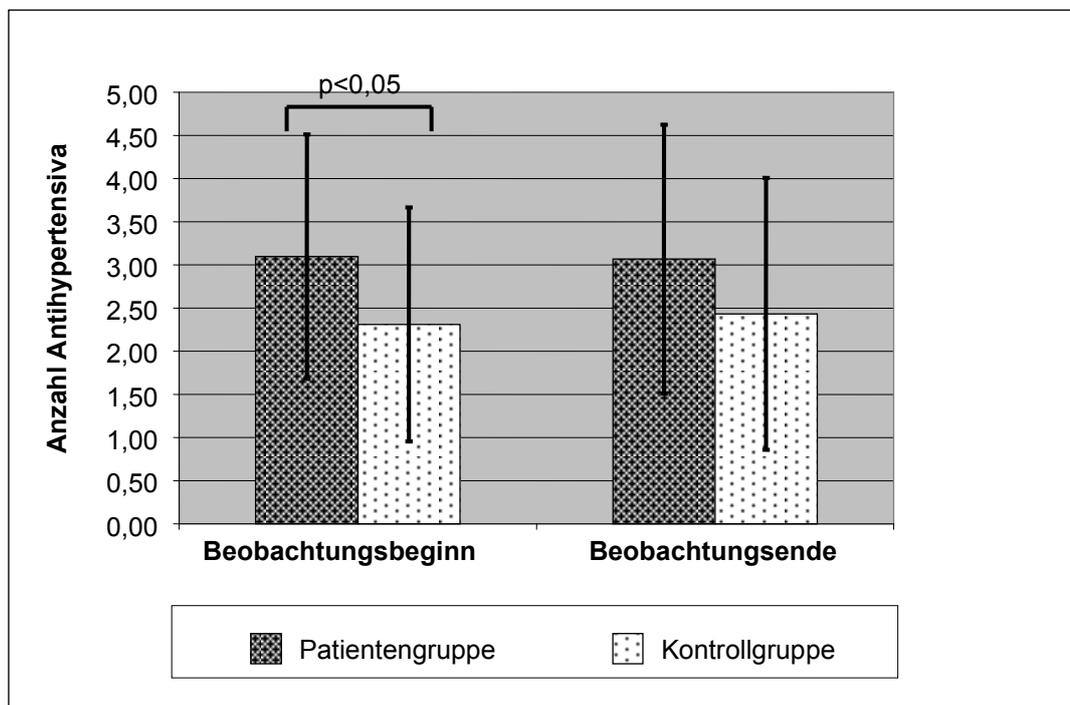


Abbildung 12: Vergleich der Anzahl antihypertensiver Medikamente (Mittelwerte \pm SD)

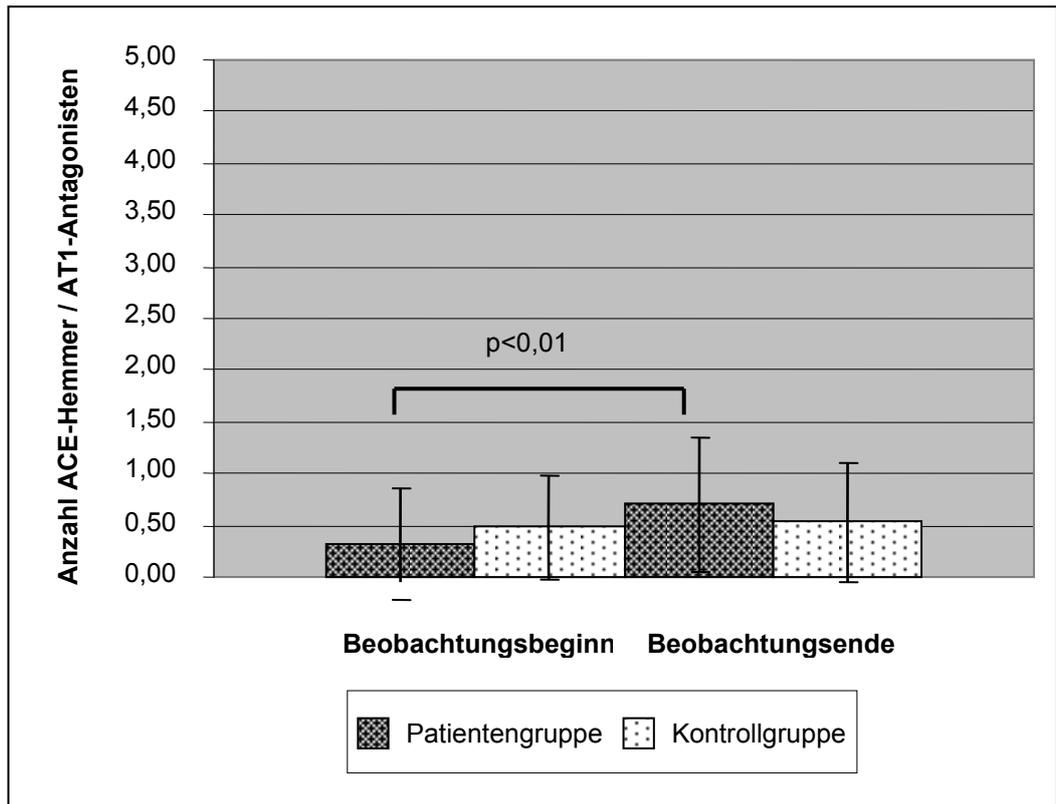


Abbildung 13: Vergleich der Anzahl an ACE-Hemmern bzw. AT1-Rezeptorantagonisten (Mittelwerte \pm SD)

3.1.3 Fettstoffwechsel

Das gesamte Patientenkollektiv hatte die in Tabelle 20 aufgelisteten Werte für Cholesterin, Triglyceride, LDL und HDL.

	Beobachtungsbeginn	Beobachtungsende	Signifikanz
Cholesterin	240,30 \pm 54,49	201,92 \pm 43,81	P<0,001 †
Triglyceride	248,67 \pm 179,57	235,79 \pm 173,23	ns
LDL	143,22 \pm 35,66	129,91 \pm 39,60	ns
HDL	53,84 \pm 15,58	55,52 \pm 17,60	ns

Tabelle 20: Vergleich der Fettstoffwechselwerte des Gesamtkollektivs in mg/dl Mittelwerte \pm SD (†)T-Test mit gepaarten Stichproben

Der Vergleich der Fettstoffwechsellparameter unter den Gruppen zeigte keine statistisch signifikanten Unterschiede weder zum Zeitpunkt der Umstellung bzw.

des Beobachtungsbeginns noch zum Zeitpunkt des Beobachtungsendes (t-Test nach Student). Die jeweiligen Mittelwerte und Standardabweichungen werden in Tabelle 21 aufgelistet und in Abb. 14 und 15 dargestellt.

		Beobachtungs- beginn	Beobachtungs- ende	Signifikanz
Patienten- gruppe	Cholesterin	243,16±54,59	199,13±42,41	p<0,005
	Triglyceride	267,39±186,14	243,07±140,88	ns
	LDL	140,97±35,71	125,92±36,71	ns
	HDL	54,73±15,17	57,29±19,23	ns
Kontroll- gruppe	Cholesterin	237,33±55,16	205,58±45,20	p<0,001
	Triglyceride	211,36±150,08	238,12±217,83	ns
	LDL	141,15±36,00	133,65±41,21	ns
	HDL	57,12±16,28	54,91±17,74	ns

Tabelle 20: Fettstoffwechselwerte in mg/dl Mittelwerte ± SD

Sowohl in der Patientengruppe als auch in der Kontrollgruppe nahm der Cholesterinwert signifikant ab. Bei der Patientengruppe mit p<0,005 in der Kontrollgruppe mit p<0,001 (t-Test für abhängige Stichproben)

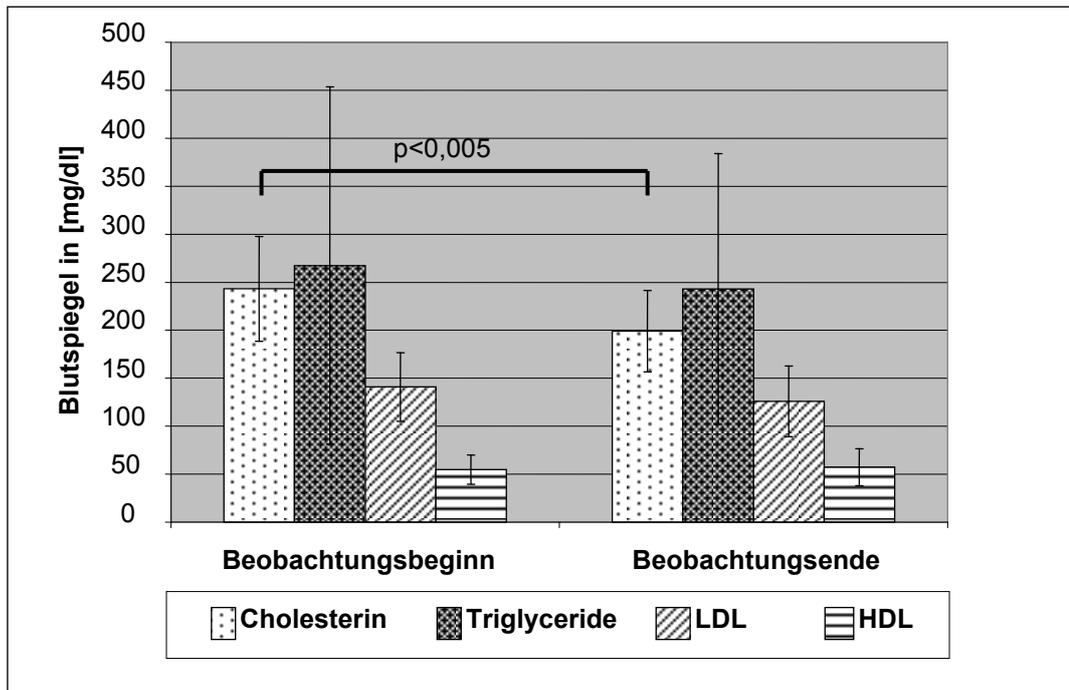


Abbildung 14: Vergleich der Blutfettwerte der Patienten zum Zeitpunkt der Konversion und zum Beobachtungsende

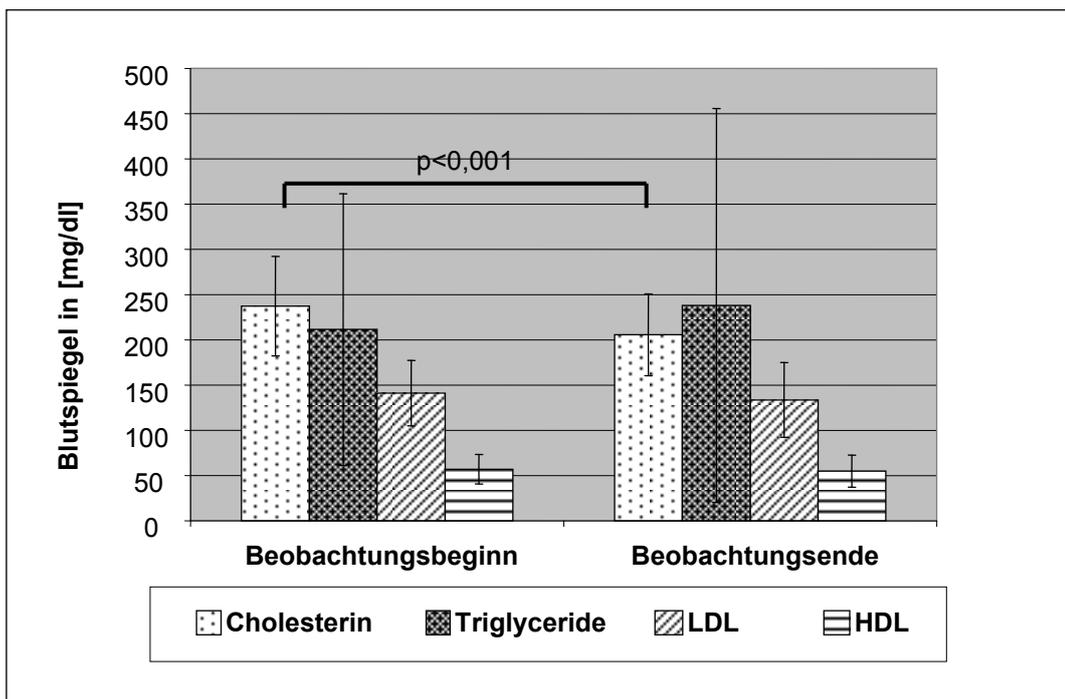


Abbildung 15: Vergleich der Blutfettwerte der Kontrollgruppe zum Zeitpunkt der Konversion und zum Beobachtungsende

Die Einnahme von CSE-Hemmern bzw. Statinen des Gesamtkollektivs im Beobachtungszeitraum war vor und nach Umstellung gleich (Wilcoxon-Test). Zu Beginn wurden durchschnittlich $0,39 \pm 0,49$ Medikamente dieser Medikamentengruppe eingenommen. Zum Ende des Beobachtungszeitraumes waren es $0,44 \pm 0,50$ Medikamente. Unterschiede in der Einnahme dieser Medikamentengruppe zwischen Patientengruppe und Kontrollgruppe waren zu keinem Zeitpunkt statistisch signifikant (U-Test nach Mann&Whitney). Auch innerhalb der Gruppen wurde keine signifikante Änderung in dieser Medikamentengruppe über den Beobachtungszeitraum registriert (Wilcoxon-Test). Mittelwerte und Standardabweichungen werden in Tabelle 22 aufgezeigt.

	Beobachtungsbeginn	Beobachtungsende	Signifikanz (Wilcoxon-Test)
Patientengruppe	$0,32 \pm 0,48$	$0,39 \pm 0,50$	ns
Kontrollgruppe	$0,45 \pm 0,51$	$0,48 \pm 0,51$	ns
Signifikanz (U-Test)	ns	ns	

Tabelle 21: Anzahl der eingenommenen CSE-Hemmern bzw. Statinen (Mittelwert \pm SD)

3.1.4 Spiegel der Immunsuppressiva

Das gesamte Patientenkollektiv hatte im Zeitraum 3 Monate vor Umstellung bzw. Beobachtungsbeginn einen Cyclosporin A –„through level“ (Talspiegel) von durchschnittlich $166,61 \pm 50,09$ ng/ml. Es gab keine signifikanten Differenzen unter den Gruppen (t-Test nach Student). Die Patientengruppe hatte einen mittleren Talspiegel von $168,12 \pm 52,20$ und die Kontrollgruppe einen Talspiegel von $164,95 \pm 48,85$.

Der mittlere Tacrolimusspiegel (Talspiegelmessung) innerhalb der ersten vier Wochen nach Umstellung lag bei $10,94 \pm 3,63$ ng/ml. Dies liegt innerhalb des Zielspiegels von 8-12 ng/ml, der initial erreicht werden sollte. Für den Zeitraum

nach 4 Wochen bis Ende der Beobachtungszeit hatten die Patienten einen mittleren Tacrolimustalspiegel von $8,62 \pm 2,57$ ng/ml, was etwas oberhalb des anzustrebenden Zielspiegelbereiches von 5-8 ng/ml nach 4 Wochen liegt. Zum Verlauf der mittleren Tacrolimustalspiegel der Patientengruppe siehe auch Abb. 16.

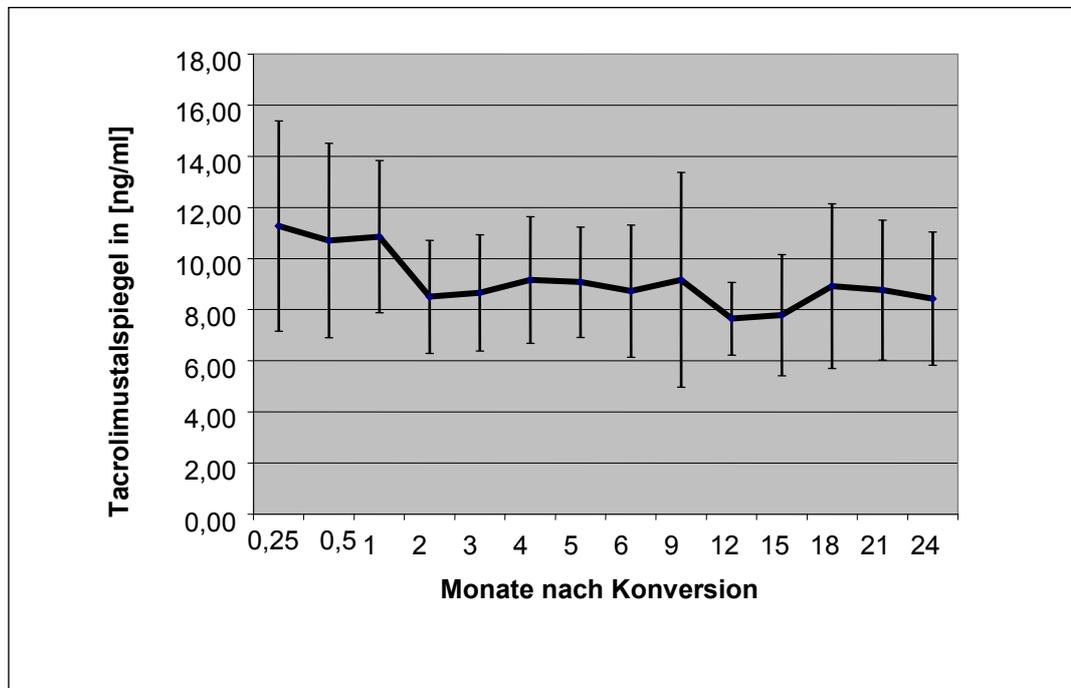


Abbildung 16: Verlauf der Tacrolimustalspiegel in den erst 24 Monaten nach Konversion Mittelwerte \pm SD

In der Kontrollgruppe lag der mittlere CsA-Talspiegel im Beobachtungszeitraum bei $138,98 \pm 35,03$ ng/ml. Der Verlauf während der Beobachtungszeit wird in Abb. 17 gezeigt.

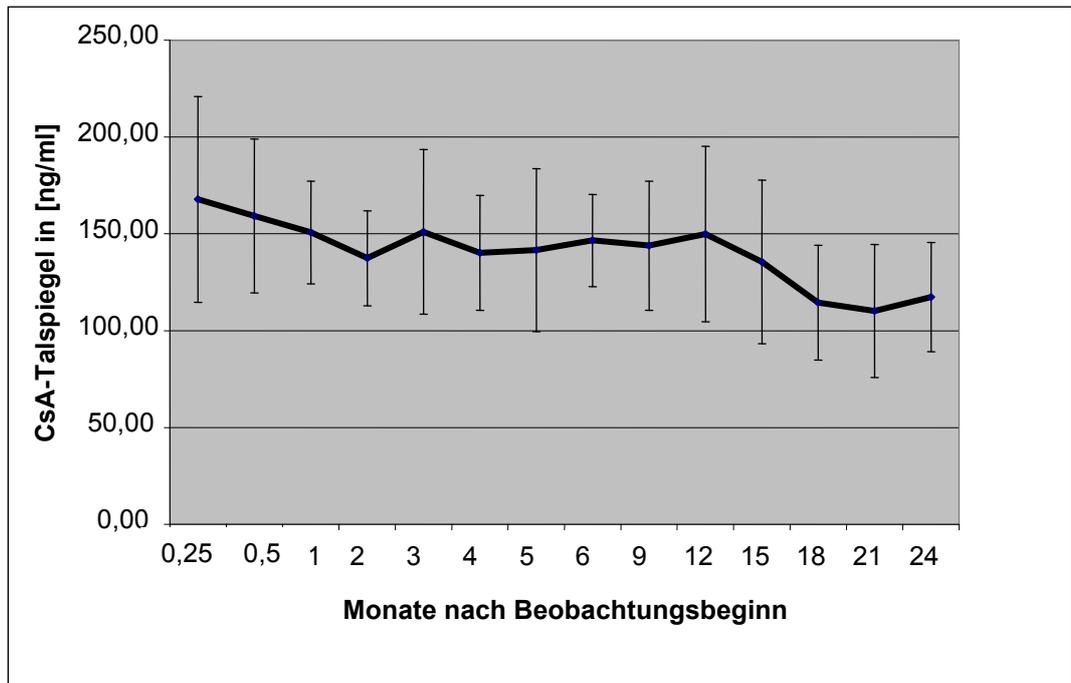


Abbildung 17: Verlauf der CsA-Talspiegel im Beobachtungszeitraum 24 Monate nach Beobachtungsbeginn Mittelwerte ± SD

3.1.5 Weitere Prüfparameter

Zur Überprüfung der diabetogenen Wirkung von Tacrolimus und unter Berücksichtigung der 11 Patienten, die einen Diabetes mellitus aufwiesen, wurde als Langzeitparameter für den Blutzucker der HbA1c-Wert kontrolliert. Für das Gesamtkollektiv verringerte sich der HbA1c-Wert von $6,11 \pm 1,00$ mg/dl auf $5,96 \pm 0,87$. Dieser Unterschied war statistisch gesehen nicht signifikant.

Auch innerhalb der Gruppen änderte sich der HbA1c-Wert nicht signifikant. Tabelle 23 gibt einen Überblick über die HbA1c-Werte der einzelnen Patientengruppen.

	Beobachtungsbeginn	Beobachtungsende	Signifikanz (Wilcoxon- Test)
Patientengruppe	6,02±0,70	6,01±0,92	ns
Kontrollgruppe	6,22±1,27	5,90±0,83	ns
Signifikanz (U-Test)	ns	ns	

Tabelle 22: HbA1c-Werte in % Mittelwerte ± SD

Die zusätzlich zu den normalen Fettstoffwechselfparametern abgenommene Harnsäure wies weder im Gesamtkollektiv, noch innerhalb der Gruppen über den Beobachtungszeitraum statistisch signifikante Unterschiede auf (t-Test bei gepaarten Stichproben). Zwischen den Gruppen gab es ebenfalls keine Unterschiede. Auffällig war lediglich, dass alle Werte deutlich über dem Grenzwert von 6,4 mg/dl für Männer bzw 6,0 mg/dl für Frauen lagen. In Tabelle 24 sind die entsprechenden Werte aufgelistet.

	Beobachtungsbeginn	Beobachtungsende	Signifikanz (Wilcoxon- Test)
Gesamtkollektiv	7,45±1,88	7,73±1,90	ns
Patientengruppe	7,66±1,94	7,95±2,03	ns
Kontrollgruppe	7,21±1,83	7,47±1,75	
Signifikanz (U- Test)	ns	ns	

Tabelle 234: Serum-Harnsäurekonzentration in mg/dl Mittelwerte ± SD

Weiterhin wurde der Hämoglobin-Wert (Hb-Wert) kontrolliert. Der durchschnittliche Hb-Wert des Gesamtkollektivs lag am Beobachtungsbeginn bei 12,52±1,96 g/dl und am Beobachtungsende bei 12,97±1,55. Diese Werte liegen unter dem Normalbereich von 14-18 g/dl. Der Unterschied vor und nach Umstellung war nicht signifikant.

Bei der Betrachtung der einzelnen Gruppen sind die in Tabelle 25 aufgeführten Daten aufgefallen.

	Beobachtungsbeginn	Beobachtungsende	Signifikanz
Patientengruppe	12,02±1,72	12,82±1,64	p<0,01 †
Kontrollgruppe	13,03±2,09	13,09±1,45	ns
Signifikanz	p<0,05 #	ns	

Tabelle 24: Vergleich der Hb-Werte in g/dl Mittelwerte ± SD und Signifikanzen (†)T-Test mit gepaarten Stichproben (#)T-Test nach Student

Bei Beobachtungsbeginn unterschieden sich die Hb-Werte der einzelnen Gruppen noch signifikant.(T-Test nach Student). Im Verlauf der Beobachtung nahm der Hb-Wert der Patientengruppe signifikant zu (T-Test mit gepaarten Stichproben), so dass am Beobachtungsende kein signifikanter Unterschied zwischen den Patientengruppen mehr vorhanden war.

3.1.6 Klinische Nachbeobachtung

Anzahl erneuter Rejektionen, Funktionsverluste und Sterbefälle:

Während der Beobachtungszeit kam es bei der Patientengruppe bei 4 von 31 Patienten nach Umstellung auf Tacrolimus erneut zu einer interstitiell betonten Abstoßungsreaktion, die bei zwei Patienten erfolgreich mit Steroidpulstherapie behandelt werden konnte. Der 3. Patient litt zusätzlich an erheblichen gastrointestinalen Nebenwirkungen und einer Rekurrenz seiner Grunderkrankung SLE, so dass der Patient nach Steroidpulstherapie wieder auf CsA eingestellt wurde. Jedoch kam es, wie auch bei dem 4. Patienten mit Abstoßung, zum vollständigen Funktionsverlust der Niere im weiteren Verlauf. Ein Patient verstarb während der Beobachtungszeit aus unbekanntem Gründen.

Bei der Kontrollgruppe kam es während des Beobachtungszeitraums bei 2 Patienten zu Abstoßungsreaktionen überwiegend chronischer Natur. Bei einem Patienten davon wurde die Immunsuppression von CsA auf Sirolimus (Rapamune®) umgestellt. Bei dem 2. Patienten reichte eine Steroidpulstherapie

aus, um die Nierenfunktion auf dem Ausgangsniveau zu normalisieren. In der Kontrollgruppe gab es keine Funktionsverluste, jedoch ebenfalls einen Todesfall.

3.1.7 Auftreten möglicher unerwünschter Nebenwirkungen unter Tacrolimus bzw. klinische Zeichen und Symptome von unerwünschten Ereignissen bzw. Arzneimittelwechselwirkungen

An unerwünschten Nebenwirkungen bei der Patientengruppe stehen gastrointestinale Nebenwirkungen wie Diarrhö und Magen- bzw. Bauchkrämpfe oder Gastroenteritiden mit einer Häufigkeit von 14/31 im Vordergrund, dies bei Patienten unter Comedikation mit MMF. Hier sei auf die Ergebnisse der Studie B zur Kinetik von Tacrolimus und MMF in Wechselwirkung verwiesen. 11 der 31 Patienten klagten über gehäuftes Auftreten von Unterschenkel- bzw. Knöchelödemen. Mit einer Häufigkeit von 8/31 traten allgemeine Schwäche, Abgeschlagenheit bzw. Müdigkeit oder rezidivierende Harnwegsinfekte auf. Tremor mit einer Häufigkeit von 6/31 zeigte eine dosisabhängige Besserungstendenz. 5 Patienten hatten während der Beobachtungszeit eine Gewichtszunahme von mehr als 10% ihres Ausgangsgewichts. 4 der 31 Patienten klagten über Juckreiz, bei einer Patientin war dieser über den gesamten Körper generalisiert und führte im Verlauf auch zum Absetzen von Tacrolimus und Wiederaufnahme der Immunsuppression mit CsA. Je 3 Patienten hatten Parästhesien an den Extremitäten, oder wiesen Hautausschläge auf. Wiederum 3 Patienten hatten Bronchitiden zum Teil verbunden mit Reizhusten. 2 Patienten klagten über gehäuft auftretende Blutdruckspitzen. Es konnte eine Neumanifestation eines Diabetes mellitus beobachtet werden sowie die Verschlechterung eines vorbekannten Diabetes mellitus. Weiter kam es bei 2 Patienten zum Ausbruch einer CMV-Erkrankung und weitere 2 Patienten klagten zeitweise über Luftnot. Jeweils bei einem Patienten wurde Zahnfleischhyperplasie, Knochenschmerzen, Osteoporose, Zystitis, Lymphozele, Osteoödeme, Angst- und Unruhezustände,

Nebenwirkung	Absolute Häufigkeit (Prozentanteil)
Diarrhoe, Magen-, Bauchkrämpfe oder Gastroenteritiden	14/31 (45,2%)
Unterschenkel- bzw. Knöchelödeme	11/31 (35,5%)
Allgemeine Abgeschlagenheit, Schwäche oder Müdigkeit	8/31 (25,8%)
Rezidivierende Harnwegsinfekte	8/31 (25,8%)
Tremor	6/31 (19,4%)
Gewichtszunahme	5/31 (16,1%)
Juckreiz	4/31 (12,9%)
Parästhesien an den Extremitäten	3/31 (9,7%)
Hautausschläge	3/31 (9,7%)
Bronchitiden	3/31 (9,7%)
Erhöhte Blutdruckspitzen	2/31 (6,5%)
CMV-Erkrankung	2/31 (6,5%)
Luftnot	2/31 (6,5%)
Diabetes mellitus	1/31 (3,2%)
Zahnfleischhyperplasie, Knochenschmerzen, Osteoporose, Zystitis, Lymphozele, Osteoödeme, Angst- und Unruhezustände, Schwindelgefühle, Konzentrationsstörungen, Lustlosigkeit oder Haarausfall	je 1/31 (3,2%)
Urothelcarcinom, Nierenzellkarzinom, Urosepsis, Pneumonie oder malignes Melanom	Je 1/31 (3,2%)

Tabelle 25: Häufigkeit der aufgetretenen Nebenwirkungen bzw. unerwünschte Ereignisse unter Tacrolimustherapie

Schwindelgefühl, Konzentrationsstörungen, Lustlosigkeit und Haarausfall festgestellt.

An ernsten Erkrankungen traten drei Krebserkrankungen auf: In einem Fall trat ein Urothelcarcinom auf, im zweiten Fall trat ein malignes Melanom auf, in dem dritten

Fall trat ein Nierenzellcarcinom in einer der nativen Schrumpfnieren auf, welches bislang kurativ behandelt wurde.

Weiter ist das Auftreten einer Urosepsis und einer Pneumonie zu verzeichnen. Tabelle 26 fasst nochmals die erwähnten Nebenwirkungen und Erkrankungen unter Tacrolimus und deren Auftretenshäufigkeit zusammen.

3.1.8 Ergebnisse der BANFF-Klassifikation

Eine Unterteilung der auf Tacrolimus umgestellten Patienten, eingeteilt nach den BANFF-Kriterien zeigte, dass hauptsächlich Patienten mit der BANFF-Klassifikation „Mild chronic allograft nephropathy Grad I“ von der Umstellung auf Tacrolimus profitierten. Diese Patienten (n=11) zeigten eine signifikante ($p < 0,01$) Abnahme der Kreatininwerte nach 24 Monaten um ca. 28% von $2,7 \pm 0,7$ mg/dl auf $1,95 \pm 0,5$ mg/dl. Patienten der BANFF-Klassifikation „Moderate chronic allograft nephropathy Grad II“ (n=7) wiesen nach 24 Monaten lediglich eine Abnahme von 21% von $2,9 \pm 0,7$ mg/dl auf $2,3 \pm 0,6$ mg/dl auf. Patienten anderer BANFF-Klassifikation (n=3) wiesen keine signifikante Veränderung des Serumkreatinin auf.

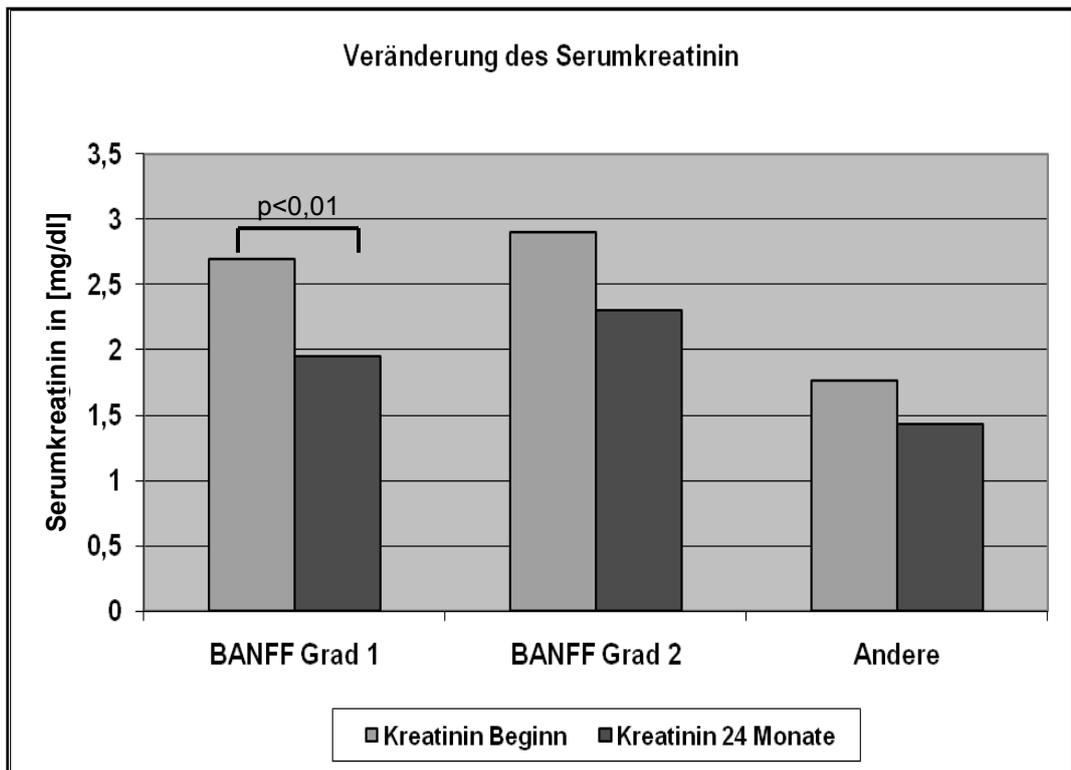


Abbildung 18: Kreatininwertveränderung der Gruppen eingeteilt nach BANFF-Klassifikation zu Beginn und nach 24 Monaten Beobachtungszeit

Auch die Ergebnisse der Nierenfunktion nach Cockcroft und Gault zeigten, dass die Patienten mit BANFF-Klassifikation „Mild chronic allograft nephropathy Grad I“ am meisten von der Umstellung auf Tacrolimus profitierten. Die Nierenfunktion war nach 24 Monaten in dieser Gruppe um 36% signifikant ($p < 0,001$) besser (von $32,4 \pm 9,9$ auf $44,0 \pm 10,0$ ml/min). In den anderen Klassifikationen kam es lediglich zu einer Verbesserung der Nierenfunktion um 30% ($p < 0,05$) (von $32,9 \pm 11,3$ auf $43,0 \pm 18,6$ ml/min) bzw. die Veränderung war wiederum nicht signifikant.

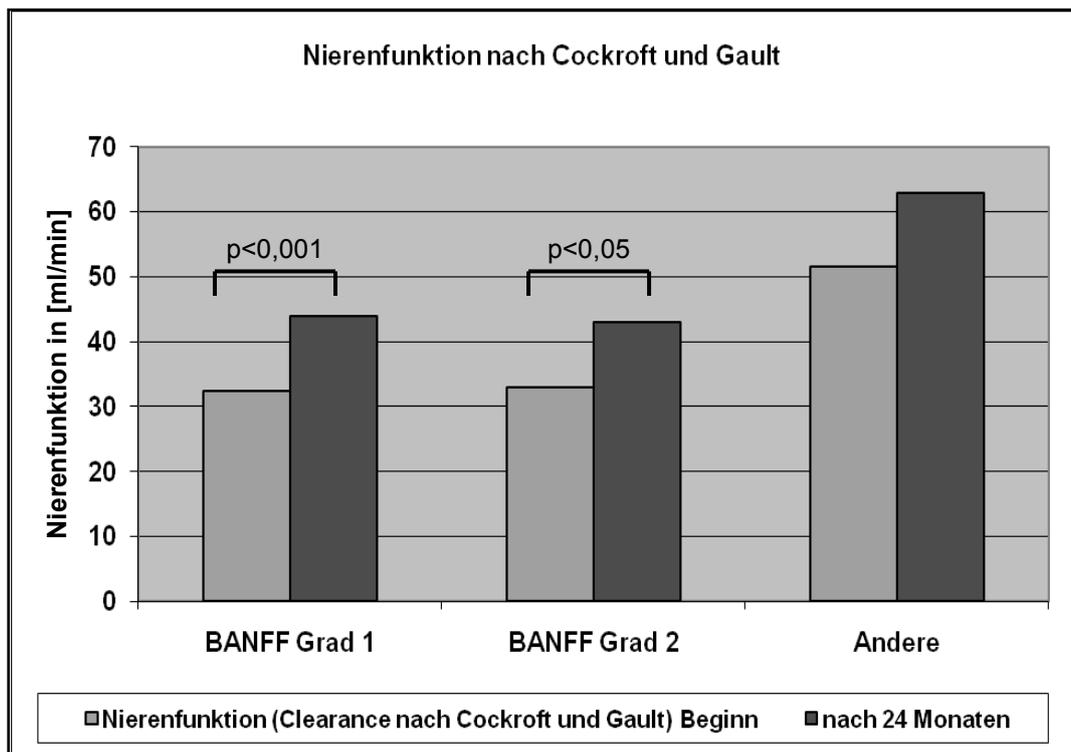


Abbildung 19: Nierenfunktion nach Cockcroft und Gault der Gruppen eingeteilt nach BANFF-Klassifikation zu Beginn und nach 24 Monaten Beobachtungszeit

3.1.9 Vergleich der Basisparameter Studie B

Das gesamte Kollektiv wurde zunächst wie in Studie A unter Punkt 2.3.3 beschrieben untersucht. Dabei hatten 5 der 6 auf Tacrolimus umgestellten Patienten eine durch Biopsie nachgewiesene chronische Abstoßungsreaktion in ihrem Transplantat. Ein Patient wurde aufgrund seiner nicht beherrschbaren Zahnfleischhyperplasie auf Tacrolimus umgestellt. Die Kontrollpatienten wurden ebenfalls wie unter Punkt 2.3.3 beschrieben passend zu den umgestellten Patienten ausgesucht.

Anders als in Studie A wurden die Parameter der Gruppen in Studie B zusätzlich im Zeitraum 4 Monate vor Umstellung auf Tacrolimus bzw. 4 Monate vor Beobachtungsbeginn von Studie A erfasst. Hintergrundgedanke dabei war, Trendwenden durch die Umstellung auf Tacrolimus zu beobachten. Aus diesem Grund wird in den folgenden Tabellen und Abbildungen immer von 3 Zeitabschnitten gesprochen. Zeitabschnitt A ist dabei ca. 4 Monate vor Umstellung auf Tacrolimus bei der Patientengruppe bzw. ca. 4 Monate vor Beobachtungsbeginn von Studie A bei den Kontrollpatienten, Zeitabschnitt B ist

der Bereich zum Zeitpunkt der Umstellung bzw. zum Zeitpunkt des Beobachtungsbeginns von Studie A und Zeitabschnitt C ist das aus Studie A bekannte Beobachtungsende.

Unterschiede im Transplantatalter zum Zeitraum B, Patientenalter, Geschlecht, Gewicht, Körpergröße und daraus resultierendem BMI waren weder unter den Gruppen (T-Test nach Student und U-Test- nach Mann&Whitney) noch zwischen den einzelnen Zeiträumen A,B und C in den einzelnen Gruppen (T-Test für gepaarte Stichproben, Wilcoxon-Test) statistisch signifikant unterscheidbar. Aus diesem Grund zeigt Tabelle 27 diese Parameter als Mittelwerte \pm Standardabweichung ohne Signifikanzen.

Die mittlere Beobachtungszeit im Zeitraum A war bei der Patientengruppe $3,67 \pm 0,82$ Monate und bei der Kontrollgruppe $3,33 \pm 1,63$ Monate. Nach Umstellung wurden die Patienten für durchschnittlich $15,50 \pm 7,84$ Monate weiter verfolgt. Die mittlere Beobachtungszeit der Kontrollgruppe im Zeitabschnitt C endete nach $22,33 \pm 8,14$ Monaten.

	Patientengruppe	Kontrollgruppe
Anzahl (n)	6	6
Transplantatalter im Zeitraum B (Monate)	$11,33 \pm 6,68$	$9,50 \pm 6,16$
Patientenalter im Zeitraum B (Jahre)	$47,50 \pm 5,54$	$49,33 \pm 14,45$
Männer	5 (83%)	4 (66%)
Gewicht (kg)	$77,42 \pm 8,18$	$79,67 \pm 17,69$
Körpergröße (cm)	$175,33 \pm 8,85$	$171,67 \pm 10,54$
BMI	$25,16 \pm 1,53$	$26,73 \pm 3,49$

Tabelle 26: Vergleich der Basisparameter der Untergruppen in Studie B zum Zeitabschnitt B

3.1.10 Daten zur Nierenfunktion in Studie B

Die Patientengruppe wies folgende mittlere Serum-Kreatinwerte auf: Im Zeitabschnitt A $2,21 \pm 0,52$ mg/dl , im Zeitabschnitt B $2,10 \pm 0,41$ mg/dl und im Zeitabschnitt C $2,13 \pm 0,88$ mg/dl. Der Unterschied zwischen den einzelnen Zeitabschnitten war statistisch gesehen nicht signifikant (T-Test bei gepaarten Stichproben).

In der Kontrollgruppe lagen zum Zeitabschnitt A $1,83 \pm 0,49$ mg/dl, zum Zeitabschnitt B $1,85 \pm 0,58$ mg/dl und zum Zeitabschnitt C $2,17 \pm 0,67$ mg/dl vor. Auch hier waren keine signifikanten Unterschiede messbar (T-Test- bei gepaarten Stichproben).

Unterschiede zwischen den Gruppen in den einzelnen Zeitabschnitten waren ebenfalls nicht signifikant (T-Test nach Student), so dass lediglich ein Trend zur Serumkreatininabnahme bei der Patientengruppe und ein leichter Anstieg im Serumkreatinin bei der Kontrollgruppe zu verzeichnen war (Abb. 20).

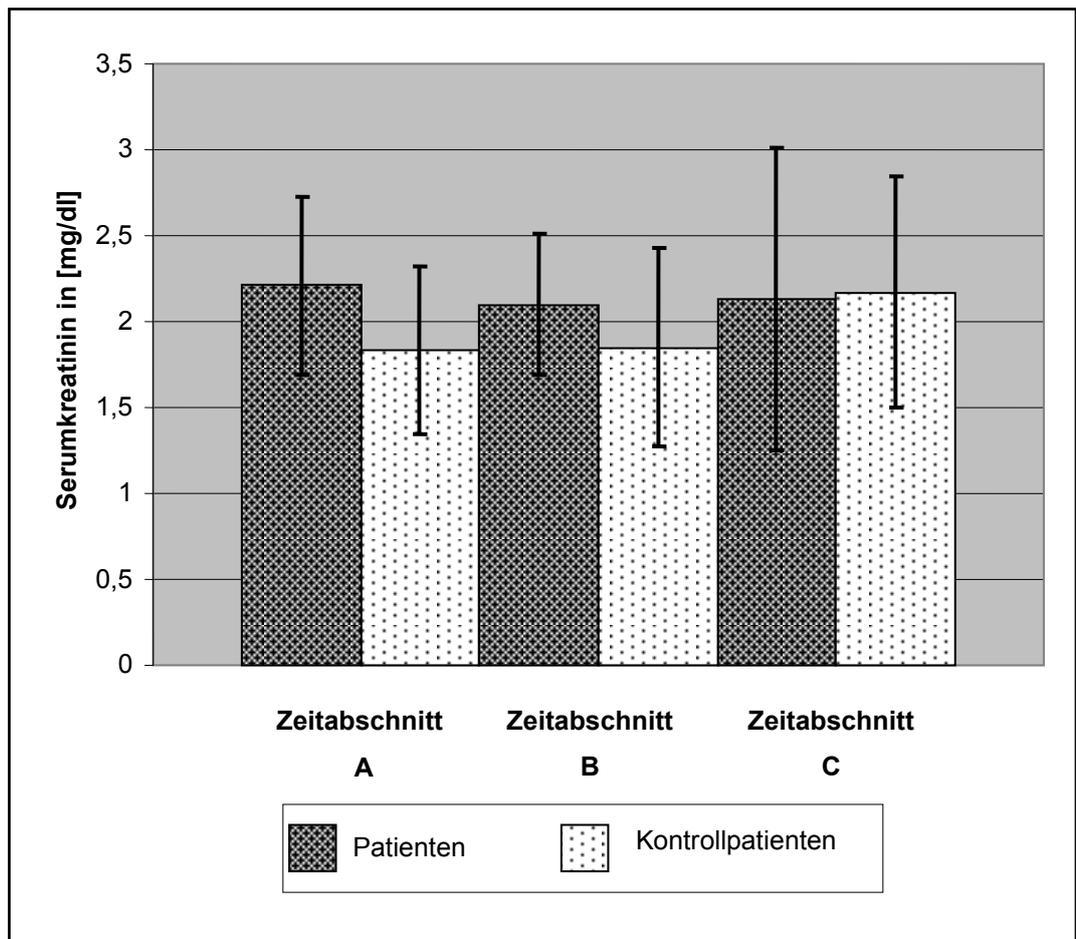


Abbildung 20: Serum-Kreatininwerte (Mittelwerte) der Patienten- und Kontrollgruppe in Studie B

Der positive Trend, der Kreatininwerte, und der negative Verlauf bei der Kontrollgruppe konnte ebenfalls bei der Berechnung der Nierenfunktionen nach Cockcroft und Gault festgestellt werden. Es wurde eine signifikante Abnahme der Nierenfunktion in der Kontrollgruppe zwischen den Zeitabschnitten B und C ermittelt ($p < 0,05$, T-Test bei gepaarten Stichproben). Ansonsten war weder bei der Patientengruppe noch bei der Kontrollgruppe zwischen den einzelnen Zeitabschnitten ein signifikanter Unterschied erkennbar. Ein Vergleich beider Gruppen zu den 3 Zeitabschnitten erfolgte ebenfalls ohne signifikantes Ergebnis. Die Mittelwerte der Nierenfunktionen zu den einzelnen Zeitabschnitten werden im Anschluss in Tabelle 28 aufgeführt.

	Zeitabschnitt A	Zeitabschnitt B	Zeitabschnitt C	Signifikanz
Patienten- gruppe	44,78±13,14	49,42±13,88	51,06±15,19	ns
Kontroll- gruppe	54,61±15,16	56,12±13,94	43,21±11,61	p<0,05 [zw.B und C] sonst ns

Tabelle 27: Nierenfunktionswerte in ml/min (Mittelwerte ± SD) nach Cockcroft und Gault der Patientengruppe

3.1.11 Mykophenolat Mofetil und seine Metaboliten

In Studie B wurden im Speziellen Patienten untersucht, die als immunsuppressive Medikation zusätzlich zu CsA bzw. Tacrolimus (Patientengruppe nach Umstellung) auch Mykophenolat Mofetil (MMF) einnahmen. Um eventuelle Wechselwirkungen zwischen CsA und MMF oder Tacrolimus und MMF, insbesondere in der Kinetik von MMF und dessen Metaboliten MPA MPAG und Acyl-MPAG, feststellen zu können wurde, wie unter Punkt 2.5.3 beschrieben und in den Abbildungen 3 und 6 gezeigt, eine 8-Stunden Kinetik dieser Metaboliten abgenommen. Es wurde jeweils die AUC (Area under the curve) mittels linear-trapezoidaler Flächenberechnung ermittelt. In den Abbildungen 21-23 werden zu den verschiedenen Zeitpunkten abgenommene und berechnete AUCs als Beispiel aufgezeigt.

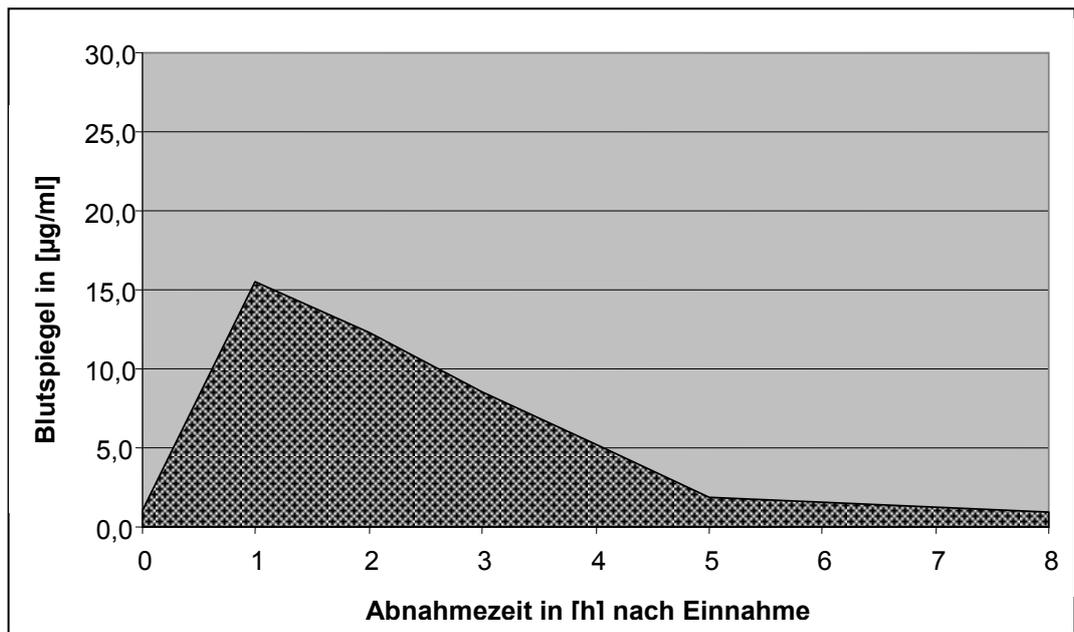


Abbildung 21: Beispiel MPA-Kinetik (AUC) eines Patienten der Patientengruppe zum Zeitpunkt I nach Abb.3

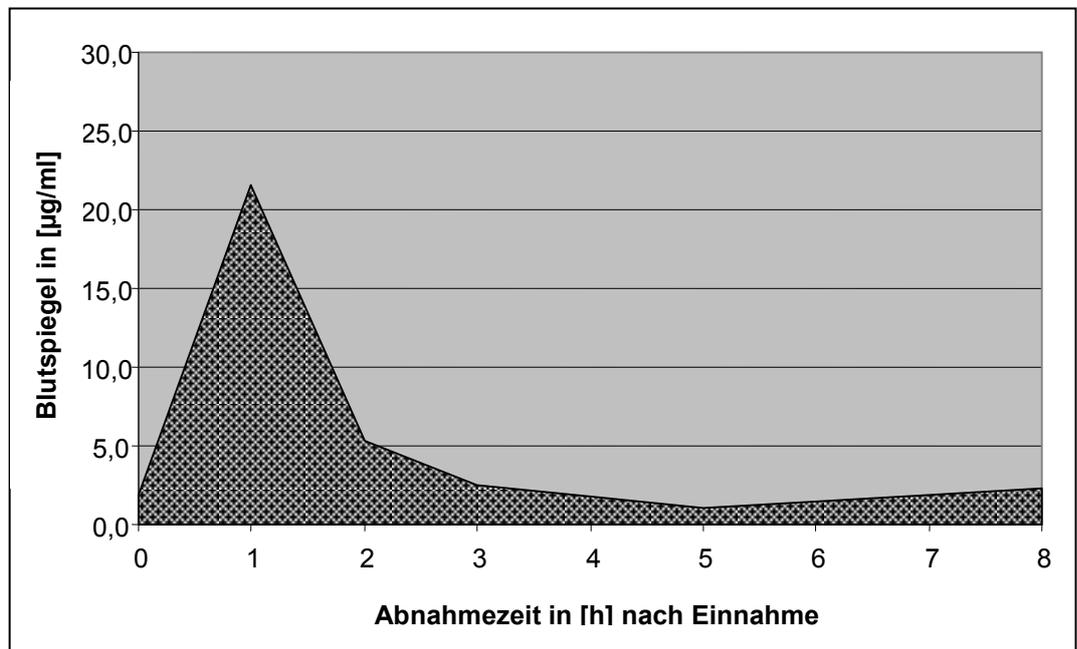


Abbildung 22: Beispiel MPA-Kinetik (AUC) eines Patienten der Patientengruppe zum Zeitpunkt II nach Abb.3

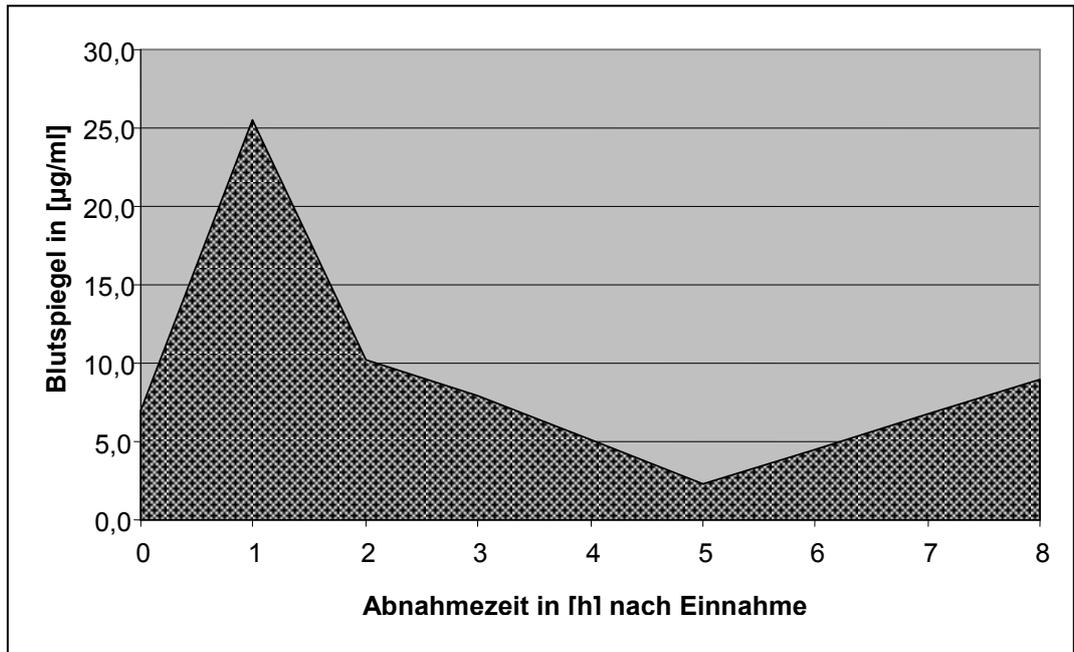


Abbildung 23: Beispiel MPA-Kinetik (AUC) eines Patienten der Patientengruppe zum Zeitpunkt III nach Abb.3

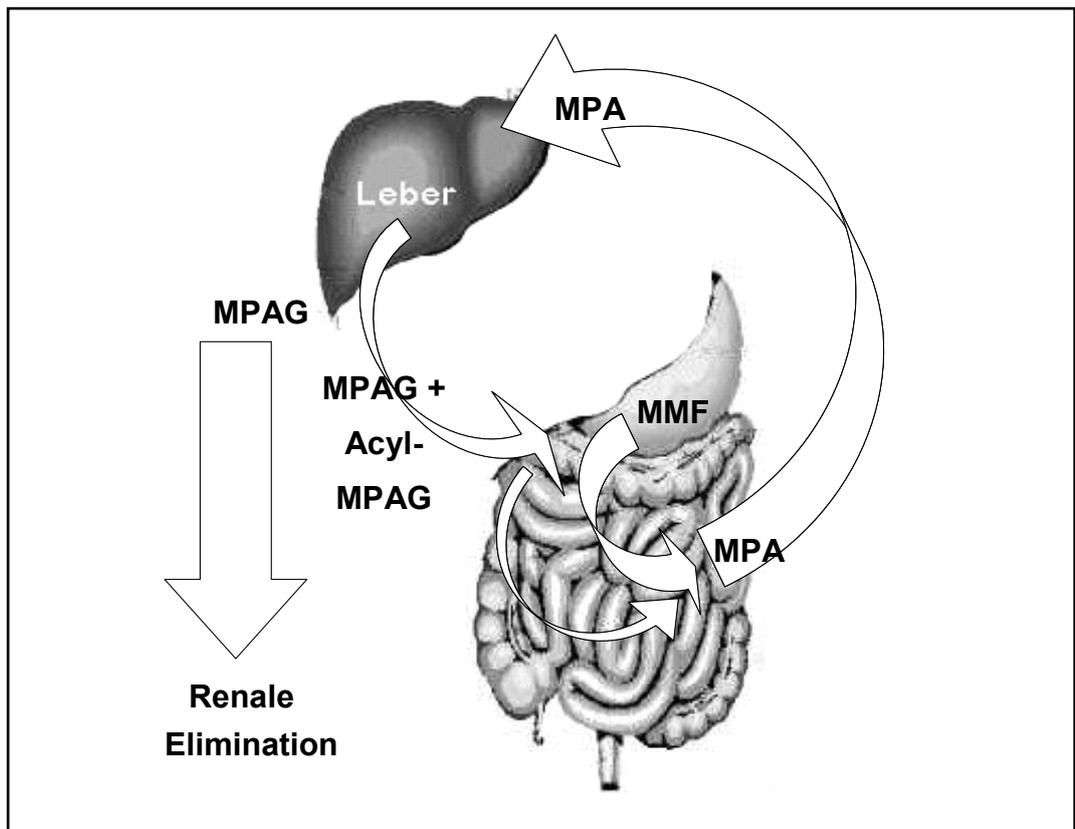


Abbildung 24: Pharmakokinetik von MMF frei nach B. Tönshoff et al und Bullingham et al [47,48]

Die folgenden Ergebnisse der AUCs wurden wegen der Vergleichbarkeit auf 1g eingenommenes MMF normiert, da während der Beobachtungszeit bei einzelnen Patienten intraindividuell die Einnahme von MMF zwischen 2 und 0,5 g schwankte.

Bei den Ergebnissen der 8-Stunden Kinetiken kamen keine statistisch signifikanten Unterschiede weder zwischen den Gruppen noch zwischen den einzelnen Abnahmezeitpunkten zum Vorschein. Aus diesem Grund konnten hier nur Trendrichtungen festgestellt werden. Einen Überblick über die ermittelten Werte geben Tabelle 29 und 30 wieder.

	Zeitpunkt I	Zeitpunkt II	Zeitpunkt III	Signifikanz
MPA	36,76±10,91	37,32±40,99	41,18±18,15	ns
MPAG	1423,30±472,08	757,66±620,32	885,47±339,66	ns
Acyl-MPAG	11,20±6,96	5,93±8,89	3,89±2,21	ns

Tabelle 28: AUCs der Patientengruppe zu den Zeitpunkten I, II und III nach Abb.3 (Mittelwerte ± SD) in [(µg/ml) / (8h x 1g MMF)]

	Zeitpunkt I	Zeitpunkt III	Signifikanz
MPA	40,61±7,43	39,16±7,74	ns
MPAG	1511,97±418,88	1430,20±423,81	ns
Acyl-MPAG	8,13±5,68	8,48±3,80	ns

Tabelle 29: AUCs der Kontrollgruppe zu den Zeitpunkten I, II und III nach Abb.3 (Mittelwerte ± SD) in [(µg/ml) / (8h x 1g MMF)]

Die Werte zeigen bei der Patientengruppe einen Anstieg des MPA und eine gleichzeitige Abnahme von MPAG und Acyl-MPAG nach Umstellung auf Tacrolimus. Im Gegensatz dazu sinken die Werte der Kontrollgruppe leicht ab.

3.1.12 Inulin- und PAH-Clearances als Vergleich der Nierenfunktion und der endogenen Kreatininclearance

Als ausführlichere Nierenfunktionsuntersuchung wurde in Studie B eine Inulinclearance zur Abschätzung der GFR durchgeführt. Wahrscheinlich auch aufgrund der geringen Anzahl an Untersuchungsteilnehmern sind dabei wiederum keine signifikanten Unterschiede in den Ergebnissen aufgetreten. Die Untersuchungen wurden bei beiden Gruppen zu den Zeitpunkten I und III nach Abb. 3 durchgeführt.

Für die Inulinclearance wurden folgende Ergebnisse (Mittelwerte \pm SD) ermittelt: Die Patientengruppe (n=6) hatte zum ersten Termin eine durchschnittliche Inulinclearance von $23,68 \pm 7,46$ ml/min. Zum Zeitpunkt III hatten die Patienten eine Inulinclearance von $23,70 \pm 10,20$ ml/min. Bei der Kontrollgruppe (n=6) konnte ebenfalls keine großartige Veränderung der Inulinclearance festgestellt werden. Zum Zeitpunkt I war die Clearance bei $24,69 \pm 13,37$ und zum Zeitpunkt III war sie bei $23,62 \pm 16,39$ ml/min.

Zur Messung des effektiven renalen Plasmaflusses wurde parallel zu der Inulinclearance eine PAH-Clearance durchgeführt. Wie auch schon zuvor bei der Inulinclearance konnten auch bei der PAH-Clearance keine signifikanten Unterschiede weder zwischen den Gruppen noch zwischen den Abnahmezeitpunkten I und III festgestellt werden. Die Ergebnisse der PAH-Clearance entnehmen sie Tabelle 31.

	Zeitpunkt I	Zeitpunkt III	Signifikanz
Patientengruppe	$173,46 \pm 32,56$	$151,90 \pm 37,21$	ns
Kontrollgruppe	$161,90 \pm 53,23$	$175,49 \pm 67,39$	ns

Tabelle 30: PAH-Clearances (Mittelwerte \pm SD) zum den Zeitpunkten I und III in ml/min

Diese Ergebnisse zeigen einen leichten Anstieg des effektiven renalen Plasmaflusses bei der Kontrollgruppe und einen Abfall bei der Patientengruppe. Auch bei der im Anschluss aus dem Quotienten von Inulin- und PAH-Clearance errechneten Filtrationsfraktion kamen keine signifikanten Unterschiede vor. Die Patientengruppe hatte zunächst zum Zeitpunkt I, der Umstellung, eine mittlere Filtrationsfraktion von $0,14 \pm 0,03$ und zum Zeitpunkt III, 3 Monate nach Umstellung, eine Filtrationsfraktion von $0,16 \pm 0,06$. Der Normalwertbereich wurde also 3 Monate nach Umstellung von der Patientengruppe im Mittel erreicht. Die Filtrationsfraktion der Kontrollgruppe zeigte keine Änderungen auf und blieb bei einem Wert von $0,15 \pm 0,04$ konstant (Abb.25).

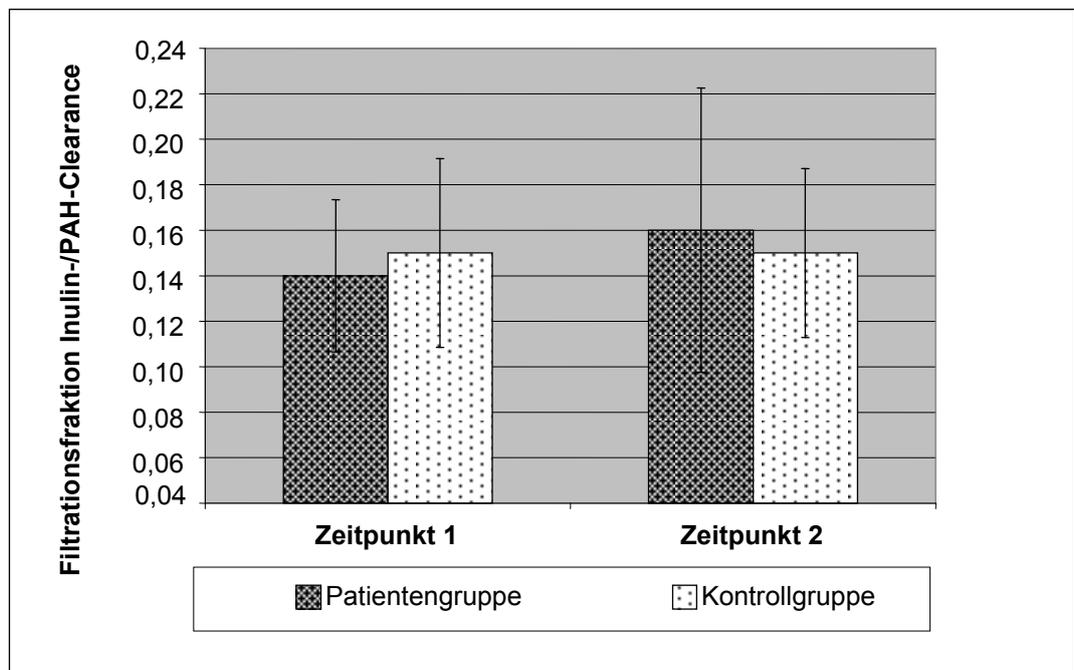


Abbildung 25: Filtrationsfraktionen der einzelnen Gruppen zu den Zeitpunkten I und III

3.1.13 Nebenwirkungen und unerwünschte Ereignisse

3.1.13.1 Erneute akute Rejektionen und Sterbefälle

In der Patientengruppe gab es eine überwiegend interstitiell betonte akute Abstoßungsreaktion. Wie unter Punkt 3.1.6 bereits beschrieben, litt Patient Nr. 3 von 6 gleichzeitig unter Rekurrenz seiner Grunderkrankung, S.L.E., und unter nicht unerheblichen gastrointestinalen Beschwerden wie Übelkeit, Erbrechen, starken Magen- und Bauchkrämpfen und Diarrhö. Zusätzlich klagte der Patient zunächst über häufiges Jucken bzw. Brennen der Haut an vereinzelt Stellen. Im Verlauf unter Tacrolimustherapie weitete sich dieser Pruritus über den gesamten Körper aus. Dies war der Grund, warum der Patient nach Steroidstosstherapie wieder zurück auf CsA konvertiert wurde. Leider kam es bei dem Patienten im weiteren Verlauf zu keiner Funktionsverbesserung mehr, so dass 3 Monate nach Umstellung auf Tacrolimus die Dialysetherapie wieder eingeleitet wurde. Ansonsten gab es in der Patientengruppe keine weiteren akuten Abstoßungen oder Sterbefälle.

In der Kontrollgruppe gab es ebenfalls eine Abstoßungsreaktion. Wie unter Punkt 3.1.6 beschrieben, handelte es sich um eine eher chronische Abstoßungsreaktion, die mit einer Konversion der Immunsuppression von CsA auf Rapamune behoben wurde. Ansonsten gab es auch in der Kontrollgruppe keine weiteren Abstoßungen, Funktionsverluste und Sterbefälle.

3.1.13.2 Auftreten möglicher unerwünschter Nebenwirkungen unter Tacrolimus bzw. klinische Zeichen und Symptome von unerwünschten Ereignissen bzw. Arzneimittel-wechselwirkungen

In der Kontrollgruppe wurde bei 2 Patienten eine leichte Gingivahyperplasie festgestellt. Bei einem Patienten traten Ödeme an Unterschenkeln bzw. den Knöcheln auf. Des weiteren klagte ein Patient über Müdigkeit tagsüber, ohne nachts Einschlaf- oder Durchschlafschwierigkeiten zu haben. Ansonsten wurde in der Kontrollgruppe über keine weiteren unerwünschten Ereignisse geklagt.

Bei der Patientengruppe hingegen traten mehr Wechselwirkungen bzw. unerwünschte Ereignisse in Erscheinung.

Als schwere unerwünschte Ereignisse traten bei der Patientengruppe die bereits oben unter Rejektionen, Funktionsverluste und Sterbefälle erwähnten gastrointestinale und neurosensorischen Nebenwirkungen des Patienten mit anschließendem Funktionsverlust auf.

Bei einem Patienten wurde ein neu entwickelter Diabetes mellitus Typ II diagnostiziert. Des Weiteren hatte ein anderer Patient ein bisher kurativ behandeltes Nierencarcinom in einer der Nativnieren und zusätzlich ein malignes Melanom der Haut. Ein Zusammenhang zur Tacrolimustherapie kann hierbei nicht ausgeschlossen werden, wäre aber auch unter CsA vorstellbar [13].

Als weniger schwere Ereignisse klagte dieser Patient, wie zwei weitere Patienten auch, über leichte Benommenheit, Müdigkeit oder Abgeschlagenheit am Tage. Hinzu kam ein Tremor in beiden Händen, der wie bei einem weiteren Patienten dosisabhängige Besserungstendenzen aufwies. 3 von 6 Patienten klagten über Diarrhö, und 2 von 6 Patienten hatten Ödeme an Unterschenkeln oder Knöcheln.

Patientengruppe	Kontrollgruppe
Nierencarcinom	
Melanom der Haut	
Schwere Diarrhöe	
Schwerer Pruritus	
Transplantatfunktionsverlust	
Diabetes Mellitus Typ 2	
Tremor in den Händen	
Unterschenkel-/Knöchelödeme	Unterschenkel-/Knöchelödeme
Benommenheit, Müdigkeit und Abgeschlagenheit	Müdigkeit
	Gingivahyperplasie

Tabelle 31: Nebenwirkungen und unerwünschte Ereignisse in Studie B

3.1.14 Pharmakogenetische Bestimmungen der Polymorphismen in Cytochrom P450 3A5 und in dem Multi-Drug-Resistance-Gen (MDR1) an Exon 21 und 26

Bei der pharmakogenetischen Bestimmung wurden von allen 12 Patienten die Polymorphismen von Cytochrom P450 3A5 und dem MDR1-Gen in den Exons 21 und 26 bestimmt. Die Tabellen 33 und 34 zeigen die ermittelten Ergebnisse für die Patientengruppe und die Kontrollgruppe.

MDR1 Exon 26	MDR1 Exon 21	CYP 3A5
TT	TT	*3/*3
TT	TT	*3/*3
TT	GT	*3/*3
TT	GT	*3/*3
CC	GG	*3/*3
CC	GG	*3/*3

Tabelle 32: Genotypen der Polymorphismen von CYP 3A5, Exon 21 und Exon 26 des MDR1-Gen der Patientengruppe

MDR1 Exon 26	MDR1 Exon 21	CYP 3A5
TT	TT	*3/*3
TT	GT	*3/*3
TT	GA	*1/*1
CT	GT	*3/*3
CT	GT	*1/*3
CC	GA	*3/*3

Tabelle 34: Genotypen der Polymorphismen von CYP 3A5, Exon 21 und Exon 26 des MDR1-Gen der Kontrollgruppe

3.1.14.1 Polymorphismus im MDR1-Gen Exon 26

Bei der Betrachtung des Polymorphismus im MDR1-Gen Exon 26 zeigte sich, dass Patienten mit dem Genotyp CC deutlich höhere CSA-Talspiegel (144,81

ng/ml; 126,84 ng/ml; ns; p=0,31) aufwiesen und dass hier die mittlere CSA-Tagesdosis (258,73 mg; 195,60 mg; ns; p=0,85) deutlich höher lag als bei Patienten mit den Genotypen CT und TT. Die daraus berechneten CSA-Spiegel pro mg eingenommenem CSA lagen bei dem CC Genotyp deutlich niedriger als bei den Genotypen CT und TT (0,58 ng/ml pro mg; 0,64 ng/ml pro mg; ns; p=0,09). Diese Unterschiede waren bei der relativ geringen Fallzahl nicht signifikant.

Ein Vergleich der einzelnen Genotypen mit den gemessenen MMF-Metaboliten-Spiegeln (MPA, MPAG und Acyl-MPAG) ergab keine Unterschiede.

Die erreichten Tacrolimus-Talspiegel unterschieden sich zwischen den Genotypen CC und TT nur geringfügig (12,3 ng/ml, 12,5 ng/ml). Die benötigte Einzeldosis war beim Genotyp CC etwas geringer als bei TT Typ (4,0 mg, 5,3mg), wobei beide Unterschiede nicht signifikant waren.

Sowohl der Genotyp CC als auch die Genotypen CT und TT wiesen in der Studie Nebenwirkungen auf. Ein besonders schwerer Fall bzw. ein gehäuftes Auftreten von Nebenwirkungen konnte keinem Genotypen zugeordnet werden. Tabelle 35 zeigt die aufgetretenen Nebenwirkungen der einzelnen Genotypen.

MDR Ex 26	Nebenwirkungen
CC	Reizhusten; Abgeschlagenheit; US-Ödeme; schmerzhaftes Hautexanthem, Jucken und Brennen der Haut; Übelkeit; ausgeprägte Darmkrämpfe,
CT	leichte Gingivahyperplasie; Tremor; Knöchelödeme;
TT	Diabetes Typ 2, pAVK Oberschenkeltyp Fontain Stadium 2b-3; Müdigkeit tagsüber aber keine Schlafprobleme nachts; Knöchelödeme; Tremor in Händen; malignes Melanom; leichte Benommenheit; Nierenzellcarcinom re. Nativniere; reversible Gingivahyperplasie; Diarrhö

Tabelle 35: Nebenwirkungen unter den einzelnen Genotypen von MDR1 Exon

3.1.14.2 Polymorphismus im MDR1-Gen Exon 21

Ein Vergleich der einzelnen Genotypen des Polymorphismus im MDR1-Gen Exon 21 mit den CSA-Talspiegeln, der mittleren CSA-Tagesdosis und dem CSA-Spiegel pro mg eingenommenem CSA ergab keine signifikanten Unterschiede. Die Werte der CSA-Spiegel pro mg eingenommenem CSA lagen nur unwesentlich auseinander (GG: 0,69 ng/ml pro mg; GA/GT: 0,62 ng/ml pro mg; TT: 0,52 ng/ml pro mg; ns). Wie beim Polymorphismus von MDR1 Exon 26 war auch hier kein Bezug der einzelnen Genotypen auf Nebenwirkungen feststellbar. Ebenfalls konnten keine Unterschiede in den Spiegeln der MMF-Metaboliten festgestellt werden. Die Tacrolimus-Talspiegel verhielten sich wie auch im Exon 26 unauffällig : Genotyp GG, GA/GT und TT → 12,3 ng/ml, 12,8 ng/ml, 12,2 ng/ml. Die benötigte Einzeldosis zeigte leichte Unterschiede zwischen den Genotypen auf, diese waren ebenfalls nicht signifikant: 4mg; 4,5 mg und 6 mg.

3.1.14.3 Polymorphismus im CYP 3A5 Gen

In der Kontrollgruppe traten bei einem Patienten der Genotyp *1/*1 und bei einem zweiten Patienten der Genotyp *1/*3 auf. Die anderen 10 Patienten der Kontrollgruppe und der Patientengruppe wiesen den Genotyp *3/*3 auf. Aufgrund der Verteilung der einzelnen Genotypen war eine statistische Auswertung bei diesem Polymorphismus nicht möglich.

4 Diskussion

Die vorliegende Arbeit zeigt, dass die Umstellung von Cyclosporin A auf Tacrolimus bei Patienten mit einer „chronischen allograft Nephropathie“ (CAN) bzw. chronischen Abstoßungsreaktion nach Nierentransplantation zu einer Stabilisierung und auch Verbesserung der Nierenfunktion führen kann. Dies wurde bei unserer Untersuchung bis zu 30 Monate nach Umstellung auf Tacrolimus beobachtet. Die Serum-Kreatininwerte der Patienten wurden durch die Umstellung auf Tacrolimus signifikant besser. In der gleichen Zeit nahmen der Serum-Kreatininwerte in der Vergleichsgruppe unter Cyclosporin A signifikant zu. Dies wurde zuvor auch schon bei gesunden Probanden [49], bei nierentransplantierten Patienten ohne CAN oder chronischer Abstoßungsreaktion [50] und bei Patienten mit erhöhtem Risiko für eine chronische Abstoßungsreaktion [51] gezeigt. So zeigte Weid T. einen Abfall der Serumkreatininwerte, bei auf Tacrolimus umgestellten Patienten, im Mittel von 2,5 mg/dL auf 2,3 mg/dL nach 24 Monaten. Die auf Cyclosporin A belassenen Patienten hatten mit gleichem Ausgangswert einen Anstieg des Serumkreatinin auf 2,6 mg/dL im Beobachtungszeitraum von 24 Monaten ($p=0,01$). Artz et al zeigten eine Stabilisierung der Nierenfunktion nach Umstellen auf Tacrolimus und einen Anstieg der Serumkreatininwerte unter beibehalten der Cyclosporin A Therapie von $142 \pm 48 \mu\text{mol/L}$ auf $157 \pm 62 \mu\text{mol/L}$ ($p<0,05$).

In der hier vorliegenden Arbeit bestätigte die Nierenfunktion nach Cockcroft und Gault die Aussage der Serum-Kreatininwerte:

Zunächst bestand bei Beobachtungsbeginn ein deutlicher Unterschied zwischen den Gruppen bezüglich der Nierenfunktion. Die Patientengruppe verbesserte seine Nierenfunktion unter Tacrolimustherapie ($p<0,01$), wohingegen die Kontrollgruppe unter Cyclosporin A in der Nierenfunktion nach Cockcroft und Gault abnahm. Nach 24 bzw. 30 Monaten Beobachtungszeit hatten beide Gruppen dasselbe Nierenfunktionsniveau erreicht bei deutlich unterschiedlichen Ausgangswerten zu Beginn.

Auch die Gruppen der Studie B zeigten diese Tendenzen auf jedoch nicht auf signifikantem Niveau. Auch diese Tatsache wurde in der Literatur bereits mehrfach diskutiert. Artz et al [50] kamen 2004 zu dem gleichen Ergebnis, dass die Nierenfunktion in der Tacrolimusgruppe stabilisiert wurde ($60 \pm 22 \text{ mL/min}$ und 64

± 33 mL/min nach 2 Jahren), und die Cyclosporin A Gruppe in ihrer Nierenfunktion einbüßte (59 ± 26 mL/min auf 49 ± 22 mL/min). Diese Ergebnisse wurden aber anhand der endogenen Kreatinin Clearance gemessen und nicht nach Cockcroft und Gault berechnet.

Aus diesem Grund wurde bei dieser Arbeit die Studie B mit 6 Patienten durchgeführt, die die Nierenfunktion mit dem Goldstandard, der Inulin- und PAH-Clearance-Messung, näher untersuchte.

Die Inulin- und PAH-Clearances, stellvertretend für die glomeruläre Filtrationsrate und den renalen Plasmafluss, brachten jedoch keine signifikanten Ergebnisse bzw. Unterschiede hervor. Dies ist durch die geringe Fallzahl in den einzelnen Gruppen verursacht. Eine vereinfachte Untersuchungsmethode, die nicht so zeit- und materialaufwendig wäre, wie die hier vorgestellte Methode, könnte für weitere Untersuchungen herangezogen werden. Neuere Methoden zur Messung der Nierenfunktion, wie die Bestimmung des Cystatin C [52] und der Berechnung der Nierenfunktion mit der MDRD-Formel [53] sind billiger, zeitsparender und finden deshalb im klinischen Alltag immer mehr Anwendung.

Eine Unterteilung der auf Tacrolimus umgestellten Patienten, eingeteilt nach Banff Kriterien zeigte, dass hauptsächlich Patienten mit der Banff Klassifikation „Mild chronic allograft nephropathy Grad I“ von der Umstellung auf Tacrolimus profitierten. Diese Patienten zeigten eine signifikante ($p < 0,01$) Abnahme der Kreatininwerte nach 24 Monaten um ca. 28% von 2,7 mg/dl auf 1,95 mg/dl. Patienten der Banff Klassifikation „Moderate chronic allograft nephropathy Grad II“ wiesen nach 24 Monaten lediglich eine Abnahme von 21% von 2,9 mg/dl auf 2,3 mg/dl auf. Patienten anderer Banffklassifikation wiesen keine signifikante Veränderung des Kreatinin auf.

Auch die Ergebnisse der Nierenfunktion nach Cockcroft und Gault zeigten, dass die Patienten mit Banffklassifikation „Mild chronic allograft nephropathy Grad I“ am meisten von der Umstellung auf Tacrolimus profitierten. Die Nierenfunktion war nach 24 Monaten in dieser Gruppe um 36% signifikant ($p < 0,001$) besser (von 32,4 auf 44,0 ml/min). In den anderen Klassifikationen kam es lediglich zu einer Verbesserung der Nierenfunktion um 30% ($p < 0,05$) (von 32,9 auf 43,0 ml/min) bzw. die Veränderung war wiederum nicht signifikant.

Es erscheint daher sinnvoll, Patienten mit dem Verdacht auf eine CAN frühzeitig durch Biopsie abzuklären und ggf. zu konvertieren, da eine Umstellung auf

Tacrolimus am effektivsten im frühen Stadium der Banff Klassifikation „Mild chronic allograft nephropathy Grad I“ ist. Dies würde auch sogenannte „Protokollbiopsien“ unterstützen, die unabhängig vom klinischen Verlauf durchgeführt werden, da durch sie eventuell stattfindende CAN in dem milden Stadium Grad I häufiger diagnostiziert und anschließend behandelt werden könnten. Schon 2003 wurden solche Protokollbiopsien propagiert, d.h. zeitlich geplante Biopsien unabhängig vom klinischen Verlauf [61].

Hypertonie und Hyperlipidämie tragen zur Verschlechterung der Nierenfunktion bei einer chronischen allograft Nephropathie bei. Aus diesem Grund muss eine Therapie der CAN immer eine Optimierung dieser Faktoren beinhalten. In unseren Untersuchungsgruppen kam es zu keiner signifikanten Änderung der Blutdruckparameter während des Beobachtungszeitraumes. Jedoch konnten wir zeigen, dass die CAN Patienten zunächst deutlich mehr Antihypertensiva benötigten um die gleichen Blutdruckwerte zu erreichen. Es konnte leider nicht gezeigt werden, ob die signifikante Erhöhung des Anteils an ACE-Hemmern und AT1-Antagonisten oder die Umstellung auf FK506 zur Auflösung dieses Unterschiedes führte. Es wurde aber schon früher gezeigt, dass Tacrolimus mit einem weniger negativen Effekt auf den Blutdruck assoziiert ist als CsA [28].

Auch bei den Blutlipidwerten konnte unsere Studie leider keine Veränderungen aufgrund der Umstellung auf FK506 nachweisen, da beide Gruppen zumindest im Gesamtcholesterin signifikant abnahmen. Vor kurzem erschienene Studien zeigen einen deutlichen Abfall der Serumlipidwerte LDL und der Triglyceride nach Umstellung auf FK506 bei Nierentransplantierten Patienten mit stabiler Funktion [50]. Zuvor hatten bereits McCune et al [54] eine Abnahme der Cholesterol, LDL, und Apolipoprotein B Werte nach Umstellung auf FK506 gezeigt.

Während des gesamten Beobachtungszeitraumes gab es weder in der Patientengruppe noch in der Kontrollgruppe signifikante Veränderungen im Glukosestoffwechsel, gemessen anhand des HbA1c-Wertes. Jedoch gab es zwischenzeitlich in der Patientengruppe, die auf Tacrolimus umgestellt wurde eine Verschlechterung eines zuvor bekannten Diabetes mellitus. Weiter kam es zu einer Neuentwicklung eines zuvor noch nicht bekannten Diabetes mellitus. In einer Metaanalyse von 2005 wurde gezeigt, dass die primäre Therapie mit Tacrolimus anstatt Cyclosporin A mit einem deutlich höheren Risiko eines insulinpflichtigen

Diabetes mellitus einhergeht [62]. Die gleiche Metaanalyse zeigte auch einen signifikanten Zusammenhang zwischen Tacrolimus Dosis und dem Neuauftreten eines Diabetes mellitus.

Auch unsere Beobachtung der gehäuften Nebenwirkungen unter Tacrolimustherapie werden in der Metaanalyse von Webster et al [62] bestätigt. Die Analyse zeigte eine signifikant höhere Rate an Kopfschmerzen, Tremor, Übelkeit, Erbrechen, Blähungen, Diarrhoe und Hypomagnesiämie unter Tacrolimuspatienten.

Da bei unseren Patienten im Verlauf durchschnittlich etwas zu hohe Talspiegel gemessen wurden, lässt sich ein Zusammenhang mit den unerwünschten Nebenwirkungen nicht ganz ausschließen.

Eine geringer Anzahl an akuten und chronischen Abstoßungen unter Tacrolimus, wie sie in der Literatur beschrieben wird [62] konnte in unserer Studie nicht gezeigt werden. Unter Tacrolimus traten bei unserer Studie vier Abstoßungen gegenüber zwei Abstoßungen unter Cyclosporin A auf. Auch gab es unter Tacrolimustherapie zwei Funktionsverluste ohne Abstoßung. Dies mag mit an dem vorsortierten (CAN-Patienten) Patientenkollektiv liegen.

Die pharmakokinetische Untersuchung in den Untergruppen der Studie B brachte leider auch wegen der geringen Fallzahl keine neuen signifikanten Ergebnisse. Zuvor veröffentlichte Ergebnisse von Zucker K. et al [55], Filler G. et al [56] und Van Gelder T. et al [57] bestätigen die Vermutung, dass die Umstellung von CsA auf Fk506 eine Erhöhung der MPA-Spiegel verursacht. Dies begründen Zucker K. et al und Van Gelder T. et al mit dem Wegfall der Inhibierung der Glukuronidierung von MPA zu MPAG unter CsA. Eine vor kurzem erschienene Studie von Naito T. et al [58] zeigt keine Unterschiede zwischen CsA und FK506 bezüglich der Pharmakokinetik von MPA auf, jedoch schildert sie eine erhöhte MPAG/MPA Rate unter Patienten mit CsA-Therapie. Dies wurde durch die Inhibierung der biliären Exkretion von MPAG unter CsA begründet. Die Autoren spekulierten, dass FK506 behandelte Patienten öfters MPA intestinal ausgesetzt sind und einer höheren Toxizität unterliegen als CsA Patienten. Damit begründen sie die Tatsache, dass z.B. Durchfälle als typische Nebenwirkung von MMF häufiger bei FK506 Patienten auftritt [59;60].

Zur Beherrschung der chronischen Transplantatabstoßung und somit zur Stabilisierung der Transplantatfunktion trägt auch die unter Tacrolimus relativ gesehen höheren MPA Konzentrationen bei [48; 63].

Dadurch wird in Summe bei geringerer Calcineurintoxizität eine höhere immunsuppressive Potenz erreicht. Die positive Tacrolimus / MMF – Wirkung konnte auch durch die sogenannte ELITE Studie [64] bei Primärbehandlung von nierentransplantierten Patienten mit diesem Immunsuppressionsregime gezeigt werden: diese Behandlungsgruppe schnitt nach 3 Jahren Beobachtung am besten ab, was die Transplantatfunktion anging.

Unsere Ergebnisse zeigten keine signifikanten Unterschiede in der Pharmakokinetik bzw. der Pharmakodynamik von CSA und Tacrolimus bezüglich der untersuchten Polymorphismen des Cyp3A5 sowie des MDR1-Gens an Exon 26 und an Exon 21. Eine durch die Literatur vorgegebene Verbindung des Genotyp TT im MDR1 Gen in Exon 26 und signifikant höher benötigten Dosen des CSA und Tacrolimus konnte nicht bestätigt werden. Auch die signifikant höheren CSA bzw. Tacrolimus-Spiegel bei Genotyp *3/*3 des Polymorphismus im Cyp3A5 Gen konnten in unserer Studie aufgrund einer nicht repräsentativen Genotyp-Verteilung nicht gezeigt werden. Ein Zusammenhang einzelner Genotypen der drei untersuchten Polymorphismen mit aufgetretenen Nebenwirkungen konnte ebenfalls nicht hergestellt werden. Es traten bei allen Genotypen Nebenwirkungen auf. Es ergab sich einzig ein gewisser, jedoch nicht signifikanter Trend zu höheren CSA-Talspiegeln bei Patienten mit dem Genotyp CC, einem Polymorphismus im MDR1-Gen Exon 26. Weitergehende Untersuchungen an höheren Fallzahlen könnten hier Aufschluss geben.

Der in der Literatur kontrovers diskutierte Einfluss des Polymorphismus im Exon 26 auf die Pharmakokinetik und Pharmakodynamik von Tacrolimus konnte in unserer Studie nicht belegt werden.

Da unter den bestimmten Proben der Patienten lediglich zwei Proben mit dem Genotyp *1/*3 bzw. *1/*1 gewesen sind, ist jegliche statistische Auswertung reine Spekulation. Die in der Literatur angegebenen, bis zu 5,8 fach höheren, Tacrolimus-Spiegel bei *3/*3 Genotyp konnten in dieser Studie nicht überprüft werden, da die beiden anderen Genotypen in der Kontrollgruppe auftraten. In der zu Beginn erwähnten Studie von Haufroid et al [38] wurde bei Typ *3/*3 bei gleicher Dosis ein signifikant höherer Tacrolimus-Spiegel gemessen als bei Typ

*1/*1. In der Studie von Hesselink et al [39] wurde bei Typ *3/*3 ein um das dreifach höherer Tacrolimusspiegel gemessen als bei Typ *1/*3. Der Vergleich des Typ *3/*3 mit dem Typ *1/*1 ergab in dieser Studie einen bis zu 5,8 fach höheren Talspiegel bei gleicher Dosis.

Leider konnte dies durch unsere Studie weder gestützt noch widerlegt werden, da alle auf Tacrolimus umgestellten Patienten den Typ *3/*3 aufwiesen. Unsere Patienten hatten 8 Wochen nach Umstellung einen mittleren Tacrolimus-Talspiegel von 12,4 ng/ml unter einer mittleren Dosis von 4,8 mg/die.

5 Zusammenfassung und Schlussbetrachtung

Die Umstellung der immunsuppressiven Therapie von CsA auf Tacrolimus bei nierentransplantierten Patienten mit einer chronischen allograft Nephropathie in der hier dargelegten Studie zu einer Verbesserung der Nierenfunktion geführt hat. Einflüsse der Umstellung auf Tacrolimus auf den Blutdruck und die Blutfettwerte, die zu einer Progression der CAN führen, konnten nicht gezeigt werden. Eine Veränderung der pharmakokinetischen Bedingungen von MMF und seinen Metaboliten MPA, MPAG und Acyl-MPAG konnte weder gezeigt noch ausgeschlossen werden. Auch genetische Untersuchungen, wie die oben aufgeführte Polymorphismusbestimmung, werden in der Zukunft an Bedeutung gewinnen. Ob diese Methoden in den klinischen Alltag als Routineuntersuchungen eingebracht werden sollten steht derzeit noch zur Diskussion. Aufgrund der relativ hohen Anzahl an schweren Nebenwirkungen unter Tacrolimus Therapie, und dem Neuauftreten von malignen Karzinomen wird die Umstellung von CsA auf FK506 bei CAN auf Basis der hier dargelegten Ergebnisse als Möglichkeit empfohlen, wobei eine intensivierete Kontrolle und Beobachtung der Patienten erfolgen sollte. Zur Früherkennung chronischer Abstoßungsreaktionen sollten sogenannte Protokollbiopsien, auch ohne klinische Anzeichen regelmäßig durchgeführt werden. Zur Früherkennung chronischer Abstoßungsreaktionen in Abgrenzung von anderen Ursachen wie Calcineurintoxizität oder humoral vermitteltler akuter Abstoßungsreaktionen sollten großzügig sogenannte Protokollbiopsien- Biopsie bereits vor Verschlechterung der Transplantatfunktion- bei Patienten mit hohem immunologischen Risiko durchgeführt werden.

Insgesamt trägt die Neuentwicklung der Immunsuppressiva im Bereich der Nierentransplantation zur Verbesserung der Transplantatüberlebensstatistik bei, indem mehr und geringer toxische Immunsuppressiva zur Verfügung stehen.

Die vorliegende Studie zeigt, dass eine solch gute Therapieoption bei chronischer Transplantatabstoßung durch die Kombination Tacrolimus / MMF aber auch durch Tacrolimus / Kortikoid gegeben ist.

6 Literaturverzeichnis

1. **Land W. and Vincenti F.:** Toxicity-Sparing protocols using Mycophenolate Mofetil in renal transplantation. *Transplantation* 80(2S): 221-234, 2005
2. **Paul L.C.:** Chronic allograft nephropathy: An update. *Kidney Int* 56: 783-793, 1999
3. **Solez K., Vincenti F., Filo RS.:** Histopathologic findings from 2-year protocol biopsies from a U.S. multicenter kidney transplant trial comparing tacrolimus versus cyclosporine: a report of the FK506 Kidney Transplant Study Group. *Transplantation* 66: 1736-1740, 1998
4. **Solez K., Axelsen RA., Benediktsson H., et al.:** International standardization of criteria for the histologic diagnosis of renal allograft rejection: the Banff working classification of kidney transplant pathology. *Kidney Int* 44: 411-422, 1993
5. **Mihatsch MJ., Nickeleit V., Gudat F.:** Morphologic criteria of chronic renal allograft rejection. *Transplant Proc* 31: 1295-1297, 1999
6. **Racusen LC., Solez K., Colvin RB., et al.:** The Banff 97 working classification of renal allograft pathology. *Kidney Int* 55: 713-723, 1999
7. **Chapman JR., O'Connell PJ., Nankivell BJ.:** Chronic Renal Allograft Dysfunction. *J. Am Soc Nephrol* 16: 3015-3026, 2005
8. **Racusen LC., et al.:** The Banff 97 working classification of renal allograft pathology. *Kidney Int* 55: 713-723, 1999
9. **Opelz G., Wujciak T., Ritz E., Collaborative Transplant Study:** Association of chronic kidney graft failure with recipient blood pressure. *Kidney Int* 53: 217-222, 1998
10. **Massy ZA., Guijarro C., Wiederkehr MR., MA JZ., Kasiske BL.:** Chronic renal allograft rejection: Immunologic and nonimmunologic risk factors. *Kidney Int* 49: 518-524, 1996
11. **Hrvacevic R, Ignjatovic Lj, Vavic N.:** Use of mycophenolate mofetil in Kidney transplantation. *Vijnosanit Pregl* 58(4): 415-9, 2001 Jul-Aug
12. **Buell JF., Gross TG., Woodle ES.:** Malignancy after Transplantation. *Transplantation* 80: 254-264, 2005

13. **Guba M., Graeb C., Jauch KW., Geissler EK.:** Pro and anti-cancer effects of immunosuppressive agents used in organ transplantation. *Transplantation* 77(12): 1777-1782, 2004
14. **Reichenspumer H.:** Overview of tacrolimus-based immunosuppression after heart or lung transplantation. *J Heart Lung Transplant* 24: 119, 2005
15. **Pirsch JD., Miller J., Deierhoi MH., et al:** Comparison of tacrolimus (FK506) and cyclosporine for immunosuppression after cadaveric renal transplantation. *Transplantation* 63: 977-983, 1997
16. **Miller J., Mendez R., Pirsch JD., Jensik SC.:** Safety and efficacy of tacrolimus in combination with mycophenolate mofetil (MMF) in cadaveric renal transplant recipients. FK506/MMF Dose-Ranging Kidney Transplant Study Group. *Transplantation* 69(5): 875-80, 2000 Mar 15
17. **The Tricontinental Mycophenolate Mofetil Study Group:** A blinded, randomized clinical trial of mycophenolate mofetil for the prevention of acute rejection in cadaveric renal transplantation. The Tricontinental Mycophenolate Mofetil Study Group. *Transplantation* 61(7): 1029-37, 1996 Apr 15
18. **Mourad M., Malaise J., Eddour DC., De Meyer M., König J., Schepers R., Squifflet JP. and Wallemacq P.:** Correlation of Mycophenolic Acid Pharmacokinetic Parameters with Side Effects in Kidney Transplant Patients Treated with Mycophenolate Mofetil. *Clinical Chemistry* 47:1: 88-94, 2001
19. **Ashan N., Johnson Ch., Gonwa T., Halloran Ph., Stegall M., Hardy m., Metzger R., Shield III Ch., Rocher L., Scandling J., Sorensen J., Mulloy L., Light J., Corwin C., Danovitch G., Wachs M., Van Veldhuisen P., Salm K., Tolzman D., Fitzsimmons W.E.:** Randomized trial of Tacrolimus plus Mycophenolate Mofetil or Azathioprine versus Cyclosporine Oral Solution (Modified) plus Mycophenolate Mofetil after cadaveric Kidney transplantation : results at 2 years. *Transplantation* 72(2): 245-250, 2001 July 27
20. **Noble S., Markham A.:** Cyclosporine: A review of the pharmacokinetic properties, clinical efficacy and tolerability of a microlesion-based formulation (Neoral). *Drugs* 50: 924-941, 1995
21. **Witzke O., Becker G., Erhard J., Lutkes P., Szabo A., Philipp T., Heemann U.:** Tacrolimus rescue therapy in patients with rejection and long-term dialysis after kidney transplantation. *Clin Nephrol* 9: 24-27, 1998

22. **Manu MA., Tanabe K., Ishikawa N., Tokumoto T., Oshima T., Shinmura H., Harano M., Otsubo S., Inui M., Kanematsu A., Fuchinoue S., Toma H.:** Tacrolimus rescue for resistant rejection, chronic rejection and immunoglobulin A nephropathy of renal allografts under primary cyclosporine A immunosuppression. *Transplant Proc* 31(7): 2853-5, 1999
23. **Nishioka T., Imanishi M., Akiyama T., Kurita T., Kokado Y., Takahara S., Ito K., Sagawa S., Higashi Y., Otomo Y., Hayashi T.:** Is tacrolimus effective for persistent renal allograft rejection? *Hinyokoka Kyo* 44: 369-72, 1998
24. **Corey HE., Tellis V., Schechner R., Greenstein SM.:** Improved renal allograft survival in children treated with FK 506 (tacrolimus) rescue therapy. *Pediatr Nephrol* 10(6): 720-2, 1996
25. **Jiang H., Sakuma S., Fujii Y., Akiyama Y., Ogawa T., Tamura K., Kobayashi M., Fujitsu T.:** Tacrolimus versus Cyclosporine A: a comparative study on rat renal allograft survival. *Transpl Int* 12: 92-9, 1999
26. **Hricik DE., Mayes JT., Schulak JA.:** Independent effects of cyclosporine and prednisone on posttransplant hypercholesterolemia. *Am J Kidney Dis* 18(3): 353-358, 1991 Sep
27. **Taylor DO., Barr ML., Radovancevic B., Renlund DG., Mentzer RM. Jr., Smart FW., Tolman DE., Frazier OH., Young JB, Van Veldhuisen P.:** A randomized multicenter comparison of tacrolimus and cyclosporine immunosuppressive regimens in cardiac transplantation: decreased hyperlipidemia and hypertension with tacrolimus. *J Heart Lung Transplant* 18: 336, 1999
28. **Ligtenberg G., Hene RJ., Blankestijn PJ., Koomans HA.:** Cardiovascular risk factors in renal transplant patients: cyclosporin A versus tacrolimus. *J Am Soc Nephrol* 12: 368-373, 2001
29. **Krämer BK., Zülke C., Kammerl MC. et al.:** Cardiovascular risk factors and estimated risk for CAD in a randomized trial comparing calcineurin inhibitors in renal transplantation. *Am J Transplant* 3: 982-987, 2003
30. **Mayer AD. for the European Tacrolimus Multicentre Renal Study Group:** Chronic rejection and graft half-life: five-year follow-up of the European tacrolimus multicenter renal study. *Transplant Proc* 34: 1491-1492, 2002
31. **Vincenti F., Jensik SC., Filo RS., Miller J., Pirsch J.:** A long term comparison of tacrolimus (FK506) and cyclosporine in kidney transplantation:

- evidence for improved allograft survival at five years. *Transplantation* 73: 775-782, 2002
32. **Graham RM.**: Cyclosporine : mechanisms of action and toxicity. *Cleve Clin J Med* 61: 308, 1994
 33. **Blume C., Hollenbeck M., Ivens K., Hetzel G.R., Grabensee B.**: Conversion from Cyclosporin to Tacrolimus prevents transplant function loss due to acute steroid-resistant or chronic rejection in renal allograft recipients. *Transplantation Proc* 33: 3161-3163, 2001
 34. **Hall SD., Thummel KE., Watkins PB., Lown KS., Benet LZ., Paine MF. et al**: Molecular and physical mechanisms of first-pass extraction. *Drug Metab Dispos* 27: 161-166, 1999
 35. **Zhang Y., Benet LZ.**: The gut as a barrier to drug absorption: combined role of cytochrome P450 3A and P-glycoprotein. *Clin Pharmacokinet* 40: 159-168, 2001
 36. **Saeki T., Ueda K., Tanigawara Y., Hori R., Komano T.**: Human P-glycoprotein transports cyclosporin A and FK506. *J Biol Chem* 268: 6077-6080, 1993
 37. **Eichelbaum M., Fromm MF. and Schwab M.**: Clinical Aspects of the MDR1 (ABCB1) Gen Polimorphism. *Ther Drug Monit* 26 (2): 2004
 38. **Haufroid V., Mourad M., Van Kerckhove V., Wawrzyniak J., De Meyer M., Eddour DC., Malaise J., Lison D., Squifflet JP. and Wallemacq P.**: The effect of Cyp3A5 and MDR1(ABCB1) polimorphisms on cyclosporine and tacrolimus dose requirements and through blood levels in stable renal transplant patients. *Pharmacogenetics* 14: 147-154, 2004
 39. **Dennis A., Hesselink MD., Ron H.N. van Schaik, PhD, Jan Lindemans, PhD, Willem Weimar, MD, PhD, and Teun von Gelder, MD, PhD.** : Genetic polimorphisms of the CYP3A4, CYP3A5 and MDR-1 genes and pharmacogenetics of the calcineurin inhibitors cyclosporine and tacrolimus. *Clinical Pharmacology & Therapeutics* 74 Number 3: 2003
 40. **Shipkova M., Niedmann PD., Armstrong VW., Schütz E., Wieland E., Shaw LM., and Oellerich M.**: Simultaneous determination of mycophenolic acid and its glucuronide in human plasma using a simple high-performance liquid chromatography procedure. *Clinical Chemistry* 44:7: 1481-1488, 1998

41. **Shipkova M., Schütz E., Armstrong VW., Niedmann PD., Oellerich M., and Wieland E.:** Determination of the Acyl Glucuronide Metabolite of Mycophenolic Acid in Human Plasma by HPLC and Emit. *Clinical Chemistry* 46:3: 365-372, 2000
42. **Shipkova M., Armstrong VW., Wieland E., Niedmann PD., Schütz E., Brenner-Weiß G., Voihsel M., Braun F. and Oellerich M.:** Identification of glucoside and carboxyl-linked glucuronide conjugates of mycophenolic acid in plasma of transplant recipients treated with mycophenolate mofetil. *British Journal of Pharmacology* 126: 1075-1082, 1999
43. **Cole BR., Giangiacocono J., Ingelfinger JR., Robson AM.:** Measurement of renal function without urine collection. A critical evaluation of the constant-infusion technic for determination of inulin and para-aminohippurate.. *New England Journal of Medicine* 287(22): 1109-14, 1972 Nov 30
44. **Berkson J. and Boothby WM.:** Studies of the energy of metabolism of normal individuals. A comparison of the estimation of basal metabolism from (1) a linear formula and (2) "surface area". *American Journal of Physiology* 116: 485 - 494, Juni 1936
45. **Furuno T., Landi MT., Ceroni M., Caporaso N., Bernucci I., Nappi G., Martignoni E., Schaeffeler E., Eichelbaum M., Schwab M., Zanger UM.:** Expression polymorphism of the blood-brain barrier component P-glycoprotein (ABCB1) in relation to Parkinson's disease. *Pharmacogenetics* 12: 529-534, 2002
46. **Cockcroft DW. and Gault MH.:** Prediction of creatinin clearance from serum creatinin. *Nephron* 16: 31-41, 1976
47. **Tönshoff B., Weber LT., Höcker B., Köpf S., Zimmerhackl LB., Armstrong VW., Oellerich M.:** Der Stellenwert des Immunsuppressivums Mycophenolatmofetil bei pädiatrischen Nierentransplantatempfängern. *Transplantationsmedizin* 16: 26-37, 2004
48. **Bullingham R., Nicholls AJ., Kamm BR.:** Clinical pharmacokinetics of mycophenolate mofetil. *Clin Pharmacokinet* 34: 429-455, 1998
49. **Klein IH., Abrahams A., Van Ede T. et al.** Different effects of tacrolimus and cyclosporine on renal haemodynamics and blood pressure in healthy subjects. *Transplantation* 73: 732, 2002

50. **Artz MA., Boots JMM., Ligtenberg G., Roodnat JI., Christiaans MHL., Vos PF., Moons PH., Borm G. and Hilbrands LB..** Conversion from Cyclosporine to Tacrolimus improves quality-of-life indices, renal graft function and cardiovascular risk profile. *Am J of Transplat* 4: 937-945, 2004
51. **Weid T. for the CRAF Study Group.** Tacrolimus as secondary intervention vs. cyclosporine continuation in patients at risk for chronic renal allograft failure. *Clin. Transplant.* 19(5): 573-580, 2005
52. **Coll E., Botey A., Alvarez L., Poch E., Quinto L., Saurina A., et al.** Serum cystatin C as a new marker for noninvasive estimation of glomerular filtration rate and as a marker for early renal impairment. *Am J Kidney Dis* 36: 29-34, 2000
53. **K/DOQI clinical practice guidelines for chronic kidney disease:** evaluation, classification and stratification. *Am J Kidney Dis* 39: 1-266, 2002
54. **McCune TR., Thacker LR.II, Peters TG., et al.** Effects of tacrolimus on hyperlipidemia after successful renal transplantation: a Southern Organ Procurement Foundation multicenter clinical study. *Transpl* 65(1): 87-92, 1998
55. **Zucker K., Rosen A., Tsaroucha A., et al.** Augmentation of mycophenolate mofetil pharmacokinetics in renal transplantpatients receiving prograf and cellcept in combination therapy. *Transpl Proc* 29:334, 1997
56. **Filler G., Zimmering M., Mai I..** Pharmacokinetics of mycophenolate mofetil are influenced by concomitant immunosuppression. *Pediatr Nephrol* 14:100, 2000
57. **VanGelder T., Klupp J., Barten MJ., Christians U., and Morris RE..** Comparison of the effects of tacrolimus and cyclosporine on the pharmacokinetics of mycophenolic acid. *Ther Drug Monit* 23:119-128, 2001
58. **Naito T., Shinno K., Maeda T., et al.** Effects of calcineurin inhibitors on pharmacokinetics of mycophenolic acid and its glucuronide metabolite during the maintenance period following renal transplantation. *Biol Pharm Bull* 29(2): 275-280, 2006
59. **Lipsky JL.** Mycophenolate Mofetil. *The Lancet* 348: 1357-1359, Nov 16 1996
60. **Toda T., Motoki T., Kurosawa N., et al.** The relationship between dose of mycophenolate Mofetil and the occurrence of Cytomegalovirus infection and diarrhea in renal transplant recipients. *Yakugaku Zasshi* 125(2): 177-185, 2005

61. **Furness PN, Philpott CM, Chorbadian MT et al.** Protocol biopsy of the stable renal transplant: a multicenter study of methods and complication rates. *Transplantation* 76: 969-973, 2003
62. **Angela C Webster, Rebecca C Woodroffe, Rod S Taylor, Jeremy R Chapman, Jonathan C Craig.** Tacrolimus versus ciclosporin as primary immunosuppression for kidney transplant recipients : meta-analysis and meta-regression of randomized trial data. *BMJ* 2005 Oct 8;331(7520):810.
63. **Y.Le Meur, M. Büchler, A. Thierry, S. Caillard, F.Villemain, S. Lavaud, I.Etienne, P.-F. Westeel, B.H. de Ligny, L. Rostaing, E. Thervet, J.C. Szelag, J.-P. Rérolle, A. Rousseau, G. Touchard and P. Marquet.** Individualized Mycophenolate Mofetil Dosing Based on Drug Exposure Significantly Improves Patient Outcomes After Renal Transplantation. *American Journal of Transplantation* 2007;7:2496-2503.
64. **G.Ciancio, G.W. Burke, J.J. Gaynor, P. Ruiz, D. Roth, W. Kupin, A. Rosen and J. Miller.** A Randomized Long-Term Trial of Tacrolimus/Sirolimus versus Tacrolimus/Mycophenolate versus Cyclosporine/Sirolimus in Renal Transplantation: Three-Year Analysis. *Transplantation* 2006; 81:845-852.
65. **A. Heyrovsky:** A new method for the determination of inulin in plasma and urine *Clinica Chimica Acta* 1957; 1 : 470-474.
66. **A. C. Bratton, E. K. Marshall, et al:** A New Coupling Component For Sulfanilamide Determination. *J. Biol. Chem.* 1939; 128: 537-550.
67. **E. Schnurr, W. Lahme, H. Kuppers:** Measurement of renal clearance of inulin and PAH in the steady state without urine collection. *Clinical Nephrology* 1980; 13(1): 26-29.

7 Anhang

7.1 Patienteninformation (Muster)

Prospektive Langzeituntersuchung für nierentransplantierte Patienten, die bei chronischer Transplantatabstoßung von Cyclosporin auf Tacrolimus umgestellt werden sollen

Patienteninformation und Einverständniserklärung

Sehr geehrte Patientin,
sehr geehrter Patient !

Einleitung

Nach der bei Ihnen erfolgreich durchgeführten Nierentransplantation haben Sie zur Unterdrückung der natürlichen Abstoßungsreaktion des Körpers gegen das Transplantat eine Therapie mit Sandimmun optoral® (Wirkstoff:Cyclosporin A), Urbasoin bzw. DecortinH (Wirkstoff: Methylprednisolon) und möglicherweise mit Cell Cept® (Wirkstoff: Mykophenolat Mofetil) erhalten. Im Rahmen der trotz dieser immunsuppressiven Therapie auftretenden Abstoßungsreaktionen seit der Transplantation sind möglicherweise bereits verschiedenen Abstoßungsbehandlungen durchgeführt worden. Dennoch hat sich in Ihrem Transplantat nun – wie es die entnommene Gewebeprobe aus ihrer transplantierten Niere zeigt – eine sogenannte „chronische Abstoßungsreaktion“ entwickelt. Bei der chronischen Transplantatabstoßung kann es zu einer weiteren Funktionsverschlechterung Ihrer transplantierten Niere bis hin zum Transplantatverlust kommen. Prograf® (Wirkstoff: Tacrolimus) ist ein Medikament, das ebenfalls für Patienten nach Nierentransplantation zugelassen ist und möglicherweise sogar ein geringeres Potenzial an Nebenwirkungen als Sandimmun optoral® aufweist.

Eine an dieser Klinik im Pilotversuch durchgeführte Untersuchung zeigt, dass der Wechsel eines Teils der immunsuppressiven Therapie auf den Verlauf der chronischen Abstoßung günstig einwirkt. So kann eine medikamentöse Umstellung von Sandimmun optoral® auf Prograf® bei nierentransplantierten Patienten mit einer chronischen Transplantatabstoßung eine weitere Funktionsverschlechterung der transplantierten Niere aufhalten und sogar in einigen Fällen zu einer Erholung der Nierenfunktion führen.

Ziel der Medikamentenstudie:

Durch die Umstellung Ihrer immunsuppressiven Therapie mit einem Wechsel von Sandimmun optoral® auf Prograf® soll die chronische Abstoßungsreaktion Ihrer transplantierten Niere abgemildert oder sogar beendet werden. Damit verbunden soll die Funktion Ihres Transplantats auf dem jetzigen Stand erhalten oder sogar verbessert werden. Auf jeden Fall soll eine weitere Funktionsverschlechterung bis hin zum Funktionsverlust Ihres Transplantats verhindert werden.

Durchführung der Medikamentenstudie:

Sie werden bereits im Rahmen Ihrer Nachsorge nach Nierentransplantation in unserer nephrologischen Ambulanz regelmäßig betreut und untersucht. Nach einer im Rahmen dieser Nachsorge durchgeführten Untersuchung, die jeweils mit einer laborchemischen Kontrolle (Ihrer Nierenfunktionswerte, Ihres Blutbilds, Ihrer Fettstoffwechselfparameter sowie Ihres Glucosehaushalts und Ihres Cyclosporinspiegels) und gegebenenfalls bei Patientinnen mit einem Schwangerschaftstest verbunden ist, werden Sie anstelle von Sandimmun optoral® ab sofort Prograf® erhalten. Auch dieses Medikament wird zweimal am Tag zu festen Zeitpunkten oral einzunehmen sein und anhand des Medikamentenspiegels kontrolliert und gegebenenfalls noch in der Dosis angepasst werden. Die ersten Kontrollen werden daher engmaschig erfolgen, ca. einmal pro Woche. Bei diesen und den folgenden, im Abstand von maximal 3 Monaten notwendigen Kontrolluntersuchungen wird der Sie betreuende Arzt erneut Ihre Nierenfunktion und weitere Laborwerte sowie Ihren Blutdruck kontrollieren, um den Einfluss des neu erhaltenen Medikaments auf insbesondere Ihre Nierenfunktion, aber auch auf Ihr gesamtes Befinden zu überprüfen. Insgesamt werden Sie mindestens zwei Jahre im Rahmen dieser Medikamentenstudie beobachtet werden, es sei denn, der Sie betreuende Arzt müsste das Medikament Prograf® aus medizinischen Gründen absetzen oder Ihr Transplantat würde trotz Therapie seine Funktion aufgeben. Eine erneute Gewebeprobeentnahme aus Ihrem Transplantat im Ablauf dieser zwei Jahre ist wünschenswert.

Mögliche Risiken durch die Teilnahme an dieser Medikamentenstudie:

Prograf® (Wirkstoff: Tacrolimus) wird als Kapsel zweimal täglich oral zu festen Zeiten eingenommen. Die bei Ihnen vor der Umstellung übliche weitere immunsuppressive Therapie mit Methylprednisolon (z.B. Urbason® oder Decortin H®) und ggf. Mykophenolat Mofetil (Cellcept®) wird nicht verändert. Nachdem Prograf® in der Dosis auf einen Zielspiegel von maximal 12ng/ml angepasst worden ist, wird es im Allgemeinen gut vertragen. Eine möglicherweise auftretende Nebenwirkung stellt ein chronisches Zittern der Hände (Tremor) dar und ist zumeist mit einer weiteren, individuellen Dosisverringerung zu beenden. Selten tritt eine Störung des Glucosehaushalts im Sinne einer Überzuckerung (Hyperglykämie) auf, die unter Umständen eine mittel- oder langfristige Insulintherapie erfordern würde und die ein Absetzen von Prograf® zur Folge hätte. Bei Patienten mit Diabetes mellitus muss gegebenenfalls die Insulintherapie angepasst werden. Die Gefahr für eine etwaige Schwangerschaft unter der Einnahme von Prograf® besteht in einer gehäuften Missbildungsrate.

Daher müssen Frauen, die im gebärfähigen Alter sind und eine immunsuppressive Therapie mit Prograf® einnehmen, vor der Medikamentenstudie einen Schwangerschaftstest durchführen und sollten während der Einnahme von Prograf® eine vom Studienarzt akzeptierte Methode der Empfängnisverhütung praktizieren.

Jede zusätzliche Behandlung sollte nur im Einvernehmen mit Ihrem betreuenden Arzt erfolgen.

Mögliche Nutzen durch die Teilnahme an der Medikamentenstudie:

Wir hoffen, Ihnen mit der Umstellung Ihrer immunsuppressiven Therapie auf Prograf® Ihre Transplantatfunktion durch eine Ausheilung oder zumindest Abmilderung der chronischen Transplantatabstoßung länger erhalten zu können. Zumindest sollte der Zeitraum bis zu einer irreversiblen Funktionsverschlechterung Ihres Transplantats deutlich länger sein als unter der vorherigen Therapie.

Einverständniserklärung zur Teilnahme an der Medikamentenstudie:

Vor Beginn der Medikamentenstudie muss eine Einverständniserklärung von Ihnen unterschrieben werden. Fragen Sie daher den Sie betreuenden Krankenhausarzt alles, was Sie im Hinblick auf Ihre Transplantatfunktion und auf die Einnahme des Medikaments Prograf® wissen möchten. Sie können diese

Therapieumstellung auch gerne einige Tage überdenken und mit Ihrem Hausarzt oder Ihrem Dialysearzt vor Ihrer Zustimmung besprechen, sollten uns dann aber kurzfristig über ihre Entscheidung informieren, damit wir Sie über andere sinnvolle Maßnahmen hinsichtlich der Therapie der chronischen Transplantatabstoßung weiter beraten können.

Sie sind berechtigt, jederzeit ohne Angaben von Gründen die Therapie mit Prograf® zu beenden, ohne dass Ihnen dadurch Nachteile entstehen. Dies wird weder das Verhältnis zu Ihrem betreuenden Arzt noch Ihre zukünftige medizinische Versorgung beeinflussen. Sie sollten dies allerdings in Absprache mit uns tun, da Sie anstelle von Prograf® dann wieder ein anderes immunsuppressives Medikament einnehmen müssten, um nicht das Risiko eines akuten Transplantatverlusts durch eine Lücke in der immunsuppressiven Therapie einzugehen.

Vertraulichkeit

Vertraulichkeit im Umgang mit Ihren Krankenhausunterlagen und den erhobenen Daten wird garantiert. Persönliche Daten (Name, Adresse etc.) werden anonymisiert, um einen ausreichenden Datenschutz sicherzustellen. Die im Rahmen dieser Medikamentenstudie erhobenen medizinischen Daten können zu Prüfzwecken an den Auftraggeber bzw. an die zuständige Überwachungsbehörde oder die zuständige Bundesbehörde weitergegeben werden. Auch, soweit es sich um personenbezogene Daten handelt, kann dem Auftraggeber oder den zuständigen Behörden Einsicht gewährt werden.

7.2 Einverständniserklärung (Muster)

Prospektive Langzeituntersuchung für nierentransplantierte Patienten, die bei chronischer Transplantatabstoßung von Cyclosporin auf Tacrolimus umgestellt werden sollen

Einverständniserklärung

Über die Therapieumstellung auf Prograf® (Wirkstoff: Tacrolimus)

Herr/Frau: _____ **(Name in Druckschrift)**

Die Patienteninformation habe ich gelesen und mit meinem betreuenden Arzt besprochen. Zusätzliche Fragen wurden ausreichend beantwortet.

Insbesondere wurde ich darauf hingewiesen, dass der Erfolg der Therapie mit Prograf® in Hinblick auf den Funktionserhalt meines Nierentransplantats zwar wahrscheinlich, aber nicht zu garantieren ist. Auch über mögliche Nebenwirkungen des Präparats wurde ich unterrichtet, die nach medizinischer Abwägung auch einmal zum Absetzen des Medikaments führen könnten. Ich bin mir bewusst, dass ich zur sorgfältigen Kontrolle meiner Medikamentenspiegel, meiner Nierenfunktionsparameter sowie meiner gesamten Befindlichkeit zunächst in engmaschiger Betreuung, dann in zumindest dreimonatiger Betreuung durch die nephrologische Ambulanz der Uniklinik Düsseldorf stehen muss.

Mir ist bekannt, dass gebärfähige Frauen nach Ausschluss des Bestehens einer Schwangerschaft während der Einnahme von Prograf® eine sichere Empfängnisverhütung praktizieren müssen.

Eine Kopie der Einverständniserklärung habe ich erhalten. Ich bin berechtigt, jederzeit ohne Angabe von Gründen die Einnahme von Prograf® zu beenden und werde meinen betreuenden Arzt über diesen Entschluss dann unverzüglich benachrichtigen.

Datenschutzrechtliche Einwilligung:

Ich willige hiermit ein, dass im Rahmen der klinischen Prüfung eine Aufzeichnung von Krankheitsdaten erfolgt. Mit der wissenschaftlichen Auswertung meiner medizinischen Daten in anonymisierter Form bin ich einverstanden. Der Weitergabe dieser Daten an den Auftraggeber bzw. an die zuständige Überwachungsbehörde oder die zuständige Bundesbehörde stimme ich zu. Soweit es sich um personenbezogene Daten handelt, bin ich mit einer möglichen Einsichtnahme durch den Auftraggeber oder die zuständigen Behörden einverstanden.

Ort, Datum:

Ort, Datum:

Unterschrift des Arztes/der Ärztin

Unterschrift der Patientin/des Patienten

7.3 Lebenslauf

Thorsten Jens Uwe Marcard

25. Februar 1976 In Esslingen am Neckar geboren
- 1982-1986 Grundschule in Hochdorf bei Plochingen
- 1986-1996 Gymnasium in Plochingen
- 06/1996 Abschluss der allgemeinen Hochschulreife (Abitur)
- 07/1996-08/1997 Zivildienst bei DRK Kreisverband Esslingen als ausgebildeter Rettungshelfer stationiert auf der Rettungswache Plochingen 2. Mann auf dem RTW
- 09/1997-03/1998 Studienplatz suchend
- 04/1998 Beginn des Medizinstudiums in Düsseldorf
- 11/2002-06/2005 Neben dem Studium für 16 Stunden pro Woche Angestellter der Deutschen Stiftung Organtransplantation dort im Bereich Warteliste bzw. Studienbetreuung zuständig
- 12/2006 Abschluss des Medizinstudiums mit erfolgreicher Teilnahme am Hammerexamen
- 01/2007 Erhalt der Approbation als Arzt
- Seit 02/2007 Angestellter an der Klinik für Nephrologie der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf als wissenschaftlicher Mitarbeiter
06. Oktober 2007 Standesamtliche und kirchliche Hochzeit mit Frau Swantje + 10. Mai 2008 Marcard geb. Clauß

Danksagung

Nach Abschluss meiner Arbeit danke ich Frau PD Dr. C. Blume für die Überlassung des Themas, für die jederzeit fördernde Unterstützung während der gesamten Zeit sowie für richtungsbestimmende Hinweise bei der Themenbearbeitung.

An zweiter Stelle möchte ich allen Patientinnen und Patienten danken, die sich dieser wissenschaftlichen Arbeit zur Verfügung gestellt haben.

Weiter möchte ich einen herzlichen Dank an die fleißigen Damen des nephrologischen Labors schicken, die mir stets mit Rat und Tat bei den Auswertungen der Proben beistanden.

Des Weiteren danke ich der Klinik für Nephrologie für die Möglichkeit der Einsicht in die Krankenakten von Patientinnen und Patienten aus Ambulanz und Station.

Am Ende danke ich meiner Familie und meiner lieben Ehefrau für die seelische und moralische Unterstützung.

Nierenfunktion, Nebenwirkungen und Medikamentenspiegel bei Konversionstherapie von Cyclosporin A auf Tacrolimus bei nierentransplantierten Patienten mit chronischer Transplantatabstoßung

Hintergrund und Ziel der Studie: Die chronische allograft Nephropathie (CAN) ist die häufigste Ursache eines Transplantatverlustes nach Nierentransplantation mit einer Prävalenz von 60-70% im Biopsat. Immer wieder wurde vorgeschlagen, dass durch eine Umstellung der immunsuppressiven Therapie von Cyclosporin A (CsA) auf Tacrolimus bei Patienten mit CAN ein Sistieren der chronischen Abstoßungsvorgänge und eine Verbesserung der Transplantatfunktion erreicht würde. Wir konvertierten daher ein Kollektiv von nierentransplantierten Patienten aus den Jahren 2000 – 2004 mit biopsisch nachgewiesener CAN oder mit CsA-induzierter Gingivahyperplasie auf Tacrolimus und erstellten eine Verlaufsbeobachtung.

Patienten und Methoden: 31 Patienten (n=24 mit CAN, n = 5 mit chronischer Transplantatfunktionsverschlechterung und n=2 mit Gingivahyperplasie, Gruppe A) wurden mit im Transplantatalter, Patientenalter und nach Möglichkeit Geschlecht gematchten Patienten, ohne Nachweis einer CAN, die weiterhin Cyclosporin A bekamen (Gruppe B) verglichen. Es wurden Nierenparameter zur Ermittlung der Nierenfunktion nach Cockcroft und Gault, Blutdruck - gemessen am mittleren arteriellen Druck (MAD)-, Blutfettwerte und Nebenwirkungen der Immunsuppressiva dreimonatlich festgehalten. Die Nierenparameter der 31 Patienten wurden ebenfalls unter dem Aspekt der Einteilung nach den BANFF-Kriterien miteinander verglichen. In einer Untergruppe von n = 6 Patienten wurden die 8-h-Kinetik von Mykophenolsäure (MPA) sowie dessen Metabolite MPA-Glukuronid und Acyl-MPA-Glukuronid vor und nach Konversion auf Tacrolimus untersucht.

Ergebnisse: Vor Umstellung auf Tacrolimus zeigte Gruppe A eine signifikant schlechtere Transplantatfunktion als Gruppe B ($p < 0,001$; $2,6 \pm 0,9$ mg/dl vs. $1,7 \pm 0,5$ mg/dl bzw. $37,0 \pm 15,0$ ml/min vs. $52,3 \pm 13,2$ ml/min). 24 Monate nach Umstellung auf Tacrolimus gab es zwischen den Patientengruppen keine signifikanten Unterschiede bezüglich des Serumkreatininwertes mehr ($2,0 \pm 0,6$ vs. $1,8 \pm 0,7$ mg/dl). Auch die Berechnungen der Nierenfunktion nach Cockcroft und Gault brachte vergleichbare Ergebnisse nach 24 Monaten Beobachtung ($46,4 \pm 14,7$ in A vs. $48,3 \pm 14,2$ ml/min in B). Gruppe A zeigte demnach eine signifikante Transplantatfunktionsverbesserung ($p < 0,0001$), während Gruppe B eine stabile Funktion aufwies. Nach 30 Monaten zeigte Gruppe A weiterhin eine gegenüber dem Zeitraum vor Konversion signifikant bessere Transplantatfunktion ($2,0 \pm 0,7$ mg/dl vs. $2,6 \pm 0,9$ mg/dl bzw. $51,6 \pm 18,4$ ml/min vs. $37,0 \pm 15,0$ ml/min), während Gruppe B eine stabile Funktion gegenüber der Ausgangstransplantatfunktion zu Beginn der Studie aufwies ($47,7 \pm 11,6$ ml/min vs. $52,3 \pm 13,2$ ml/min).

Da unter Tacrolimus in der Untergruppe im Trend höhere MPA Spiegel gemessen wurden, stützt dies die These einer höheren immunsuppressiven Wirkung trotz niedrigerer Calcineurintoxizität unter der Kombinationstherapie Tacrolimus / Mycophenolat Mofetil. Der MAD war zur Beginn und Ende der Studie in beiden Gruppen nicht signifikant unterschiedlich. Vor Konversion war die Anzahl verabreichter Antihypertensiva signifikant ($p < 0,05$) in Gruppe A höher als in Gruppe B ($3,10 \pm 1,56$; $2,31 \pm 1,42$), zu Beobachtungsende nicht mehr. Der Anteil an ACE-Hemmern bzw. AT1-Antagonisten nahm in Gruppe A von $0,32 \pm 0,54$ auf $0,70 \pm 0,65$ signifikant ($p < 0,01$) zu, so dass dieser Aspekt für die Transplantatfunktionsverbesserung eine Rolle spielen könnte. Tacrolimus zeigte ein Nebenwirkungsprofil mit vornehmlich gastrointestinalen Beschwerden in 45,2% sowie neurologischen Beschwerden in 38,7% der Patienten wie Tremor, Juckreiz und Parästhesien oder allgemeine Leistungsschwäche in 25,8 % der Patienten. Die Stadieneinteilung der CAN-Patienten nach Banff zeigte, dass Patienten mit Banff-Klassifikation „Mild chronic allograft nephropathy Grad I“ von der Umstellung auf Tacrolimus am meisten profitierten, indem sie eine signifikante ($p < 0,01$) Abnahme der Kreatininwerte nach 24 Monaten von $2,7 \pm 0,7$ mg/dl auf $1,95 \pm 0,5$ mg/dl aufwiesen. Patienten der Banff Klassifikation II wiesen demgegenüber nur eine nicht signifikante Abnahme des Kreatininwerts von $2,9 \pm 0,7$ mg/dl auf $2,3 \pm 0,6$ mg/dl auf. Patienten anderer Banffklassifikation wiesen keine signifikante Veränderung des Kreatininwerts auf.

Schlußfolgerung: Unsere Ergebnisse zeigen, dass die Umstellung von Cyclosporin A auf Tacrolimus eine sinnvolle therapeutische Maßnahme bei Patienten mit CAN ist. Es konnte gezeigt werden, dass besonders Patienten mit einer chronischen Abstoßung der BANFF-Klassifikation Grad I von einer Umstellung auf Tacrolimus profitierten. In die Tacrolimuswirkung geht möglicherweise die Wirkung von unter Tacrolimus relativ höheren MPA-Spiegeln ein.


Thorsten Marcard


Frau PD Dr. med. C. Blume