

Aus der Klinik für Innere Medizin IV
Klinik für Nieren- und Hochdruckkrankheiten
(Direktor: Prof. Dr. med. U. Kunzendorf)
im Universitätsklinikum Schleswig-Holstein, Campus Kiel
an der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel

Untersuchung potentieller Wechselwirkungen der Immunsuppressiva Tacrolimus und Sirolimus auf den Lipidsenker Fluvastatin

Inauguraldissertation
zur
Erlangung der Doktorwürde
der Medizinischen Fakultät
der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel

vorgelegt von
Susanne Assing
aus Norden

Kiel 2010

1. Berichterstatter:

PD Dr. med. L. Renders

2. Berichterstatter:

Prof. Dr. med. T. Valerius

Tag der mündlichen Prüfung:

08.02.2011

Zum Druck genehmigt, Kiel, den

09.12.2010

gez.

Susanne Assing

**Meinen Eltern
in Dankbarkeit gewidmet**

Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis	I
Tabellen- und Abbildungsverzeichnis.....	IV
Abkürzungsverzeichnis	V
1 Einleitung.....	1
1.1 Einsatz von Immunsuppressiva nach Nierentransplantation.....	1
1.1.1 Pharmakokinetische Eigenschaften der Calcineurin- und mTOR-Inhibitoren ..	1
1.1.2 Angriffspunkte für mögliche Interaktionen der Calcineurin- und mTOR-Inhibitoren mit Statinen.....	2
1.2 Einsatz von Statinen nach Nierentransplantation.....	3
1.2.1 Wirkmechanismus der Statine.....	4
1.2.2 Pharmakokinetische Eigenschaften der Statine.....	4
1.2.3 Bekannte Angriffspunkte für mögliche Interaktionen der Statine	5
1.3 Fragestellung und Zielsetzung	8
2 Material und Methoden.....	9
2.1 Studiendesign	9
2.2 Patienten	9
2.2.1 Patientenkollektiv	9
2.2.2 Ein- und Ausschlusskriterien	10
2.3 Pharmaka	11
2.4 Zeitlicher Ablauf der Untersuchung.....	11
2.5 Entnahme und Aufbewahrung der Blutproben.....	12
2.6 Aufarbeitung und Analyse der Blutproben	12
2.6.1 Analytik des Fluvastatins	12
2.6.2 Genotypisierung	13
2.7 Statistische Auswertung	17

3	Ergebnisse	18
3.1	Patientendaten	18
3.2	Begleitmedikation	19
3.3	Lipidstatus	20
3.4	Pharmakokinetik von Fluvastatin unter Tacrolimus bzw. Sirolimus	20
3.5	Pharmakokinetik von Fluvastatin nach OATP-C-Genotypisierung.....	22
3.5.1	SNP 388 A>G.....	22
3.5.2	SNP 521 T>C	22
3.5.3	SNP 11187 G>A.....	23
3.6	Pharmakokinetik von Fluvastatin nach CYP 2C9-Genotypisierung.....	23
3.6.1	SNP CYP 2C9 *2 430 C>T.....	23
3.6.2	SNP CYP 2C9 *3 1075 A>C	23
3.7	Unerwünschte Ereignisse	26
4	Diskussion	27
4.1	Patientenkollektiv.....	27
4.2	Lipidwerte	27
4.3	Einfluss der Immunsuppressiva auf Fluvastatin und Empfehlungen für die Therapie mit Statinen nach Nierentransplantation	28
4.4	Einfluss von OATP-C (OATP1B1)-Polymorphismen auf Statine.....	29
4.5	Bedeutung der CYP 2C9-Polymorphismen	31
5	Zusammenfassung.....	32
6	Literaturverzeichnis	34

7	Anhang	45
7.1	Patientenaufklärung.....	45
7.2	Patienteneinwilligung.....	49
7.3	PCR-Ansätze	51
7.4	Thermocycler	53
7.5	Restriktionsansätze.....	53
8	Danksagung	55
9	Lebenslauf.....	57

Tabellen- und Abbildungsverzeichnis

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Pharmakokinetische Eigenschaften von Cyclosporin A, Tacrolimus, Everolimus und Sirolimus	2
Tabelle 2: Pharmakokinetische Eigenschaften von Atorvastatin, Cerivastatin, Fluvastatin, Lovastatin, Pravastatin und Simvastatin	5
Tabelle 3: Einfluss der Calcineurin- und mTOR-Inhibitoren auf die AUC verschiedener Statine.....	7
Tabelle 4: Primersequenzen für die Amplifikation der PCR-Fragmente, Restriktionsendonukleasen und RFLP-Fragmentlängen	14
Tabelle 5: Patientencharakteristika	19
Tabelle 6: Begleitmedikation	19
Tabelle 7: Pharmakokinetik von Fluvastatin unter Tacrolimus-Therapie bzw. Sirolimus-Behandlung.....	21
Tabelle 8: Einfluss von OATP-C und CYP 2C9 auf die Pharmakokinetik von Fluvastatin...	25

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Darstellung der Resorption und der Abbauwege von Calcineurin- bzw. mTOR-Inhibitoren und Statinen	8
--	---

Abkürzungsverzeichnis

ACE	Angiotensin converting enzyme
ALT	Alanin-Aminotransferase
AST	Aspartat-Aminotransferase
AUC	Area under the (plasma concentration-time) curve
CK	Creatinkinase
C _{max}	Höchstkonzentration
CsA	Cyclosporin A
CSE	Cholesterinsyntheseesterase
CYP 2C9	Cytochrom P450 2C9
CYP 3A4	Cytochrom P450 3A4
DNA	Desoxyribonukleinsäure
dNTP	Desoxyribonukleosid-Triphosphat
EAS	European Atherosclerosis Society
EDTA	Ethylendiamintetraacetat
HDL	High Density Lipoprotein
HMG-CoA	Hydroxy-Methylglutaryl-CoenzymA
LC-MS	Flüssigkeitschromatographie-Massenspektrometrie
LDL	Low Density Lipoprotein
mTOR	mammalian Target Of Rapamycin
NCEP	National Cholesterol Education Program
OATP-C	Organisches-Anion-Transportierendes Polypeptid C (OATP1B1)
PCR	Polymerase chain reaction
P-gp	P-Glycoprotein
RFLP	Restriktionsfragment-Längenpolymorphismus
rpm	Umdrehungen pro Minute
SD	Standardabweichung
SNP	Single-Nukleotid-Polymorphismus
TBE	Tris-Borat-EDTA
TDM	Therapeutic Drug Monitoring
T _{max}	Zeitpunkt des Erreichens von C _{max}
wt	Wildtyp

1 Einleitung

1.1 Einsatz von Immunsuppressiva nach Nierentransplantation

Die Nierentransplantation stellt seit Jahren ein etabliertes Therapieverfahren für Patienten mit terminaler Niereninsuffizienz dar. Vor allem durch Fortschritte im Bereich der Immunsuppression, die eine postoperative Abstoßungsreaktion verhindern sollen, kam es in den vergangenen 15 Jahren zu einem deutlichen Anstieg der Transplantatüberlebensraten (1, 2). Als Standard wird derzeit eine sogenannte Triple-Immunsuppression, teilweise durch eine Induktionstherapie ergänzt, verwendet. Die Triple-Therapie besteht aus einem Calcineurininhibitor (Cyclosporin A, Tacrolimus), einem DNA-Synthesehemmstoff (Mycophenolsäure, Mycophenolat Mofetil, selten Azathioprin) und einem Kortikosteroid (3). Seltener werden mTOR-Inhibitoren (Sirolimus, Everolimus) anstelle von Calcineurininhibitoren in der firstline-Therapie eingesetzt (3).

1.1.1 Pharmakokinetische Eigenschaften der Calcineurin- und mTOR-Inhibitoren

Sowohl Cyclosporin A (CsA) und Tacrolimus aus der Gruppe der Calcineurininhibitoren als auch die mTOR-Inhibitoren Sirolimus und Everolimus können oral verabreicht werden. Die Resorption dieser Substanzen aus dem Gastrointestinaltrakt erfolgt unvollständig (14-60 %), die Eiweißbindung der Wirkstoffe im Blut ist hoch (>90 %). Die Metabolisierung findet neben dem Darm hauptsächlich innerhalb der Leber statt, die anschließende Elimination geschieht vor allem auf biliärem Wege (4-7). Deutliche Unterschiede finden sich bei den Halbwertszeiten, die nach Mehrfachgabe zwischen 8,4 Stunden bei CsA und ca. 60 Stunden bei Sirolimus variieren.

Die folgende Tabelle ermöglicht eine Übersicht über die pharmakokinetischen Eigenschaften der Calcineurin- und mTOR-Inhibitoren.

	Resorption (%)	Metabolismus	t_{1/2} (h)	Elimination
Cyclosporin A	30-60	CYP 3A4	8,4*	biliär
Tacrolimus	14-22	CYP 3A4	ca. 16*	biliär
Everolimus	15	CYP 3A4	ca. 24*	biliär
Sirolimus	14	CYP 3A4	ca. 60*	biliär

Tabelle 1: Pharmakokinetische Eigenschaften von Cyclosporin A, Tacrolimus, Everolimus und Sirolimus (* = nach Mehrfachgabe)

Die Anwendung der meisten Immunsuppressiva setzt eine engmaschige Therapieüberwachung voraus, da die Substanzen eine relativ geringe therapeutische Breite besitzen und somit ein erhöhtes Potential an Nebenwirkungen aufweisen (8, 9). Das aus diesem Grund routinemäßig durchgeführte Monitoring beinhaltet die Bestimmung der Medikamenten-Blutspiegel aus dem Patientenvollblut. Unerwünschte Wirkungen wie eine Überimmunsuppression durch zu hohe Blutspiegel oder die Gefahr einer Transplantatabstoßung bei zu geringen Wirkstoffspiegeln können hierdurch weitestgehend minimiert werden (4, 10).

1.1.2 Angriffspunkte für mögliche Interaktionen der Calcineurin- und mTOR-Inhibitoren mit Statinen

Die Leber gilt als Hauptorgan für die Entgiftung, den Abbau und Abtransport von körpereigenen Stoffen und Arzneimitteln mit fettlöslichen Eigenschaften. Auch die lipophilen Calcineurin- und mTOR-Inhibitoren werden vorwiegend hepatisch durch das Cytochrom P450 3A4 (CYP 3A4)-System metabolisiert (11-14).

Neben den CYP 3A4-Isoenzymen ist das sogenannte P-Glycoprotein (P-gp), eine vor allem im Ileum und Kolon lokalisierte Multisubstanz-Efflux-Pumpe, an der Biotransformation der Immunsuppressiva beteiligt (15, 16). P-gp befindet sich an der apikalen Seite von Epithel- und Endothelzellen. Bereits aufgenommene Substrate binden an intrazelluläre Domänen des Transporters und werden aktiv wieder in den Extrazellulärraum befördert. Somit sorgt P-gp als Membranpumpe vor allem für die Elimination von Arzneimitteln aus der Zelle zurück ins Lumen (17).

Ein weiteres Transportersystem stellt das Organische-Anion-Transportierende Polypeptid C (OATP-C (entspricht OATP1B1)) dar. OATP-C ist unter anderem an der sinusoidalen Plasmamembran von Hepatozyten lokalisiert und für die zelluläre Aufnahme von Substanzen aus dem portalvenösen Blut wie beispielsweise den Statinen verantwortlich (18).

Aufgrund der Verstoffwechslung durch das Cytochrom P450-System, der Elimination mithilfe des P-gp und des OATP-C besteht ein Interaktionsrisiko zwischen Calcineurin- bzw. mTOR-Inhibitoren und Medikamenten, die über den gleichen Abbauweg metabolisiert oder transportiert werden (19).

Unterschiedliche Wirkstoffe können so durch direkte Konkurrenz an den Bindungsstellen der Enzyme die Pharmakokinetik der beteiligten Substanzen beeinflussen. Diese Wechselwirkungen zwischen den konkurrierenden Substraten können einerseits die Pharmakokinetik der Immunsuppressiva verändern, andererseits in selteneren Fällen jedoch auch die der Begleitmedikation (z.B. Statine) betreffen (20, 21).

1.2 Einsatz von Statinen nach Nierentransplantation

Trotz der guten Langzeitüberlebensraten nach Nierentransplantation kommt es, zum Teil auch durch die Immunsuppressiva selbst bedingt, nicht selten zu Alterationen im Lipidstoffwechsel. Sowohl CsA und Tacrolimus als auch Kortikosteroide sind dabei mit dem Auftreten von Hyperlipidämien nach Transplantation assoziiert (22). Als weitere Risikofaktoren für eine mögliche Erhöhung der Lipidwerte gelten genetische Disposition, Diabetes mellitus, Nikotinabusus, fett- und cholesterinreiche Ernährung, Adipositas, geringe körperliche Aktivität und ein vorbestehender arterieller Hypertonus.

Die Hyperlipidämie ist ein bedeutender Faktor für die Entstehung bzw. das Fortschreiten kardiovaskulärer Erkrankungen, der nach wie vor einen wesentlichen Einfluss auf das Langzeitüberleben des Transplantats und letztlich auch des Patienten besitzt. Hierbei kommt es zu einer chronischen Abstoßung bedingt durch Gefäßveränderungen innerhalb des Transplantats, einhergehend mit einer Proliferation der Intima und Media, ähnlich der Entstehung einer Atherosklerose bei Nichttransplantierten (23).

Aufgrund des erhöhten kardiovaskulären Risikos nach Transplantation wird die Indikation für eine lipidsenkende Therapie frühzeitig gestellt. Seit Ende der achtziger Jahre hat sich zunehmend der Einsatz von HMG-CoA-Reduktasehemmern, den Statinen, durchgesetzt (24, 25). Heutzutage werden Statine weltweit am häufigsten eingesetzt und stellen somit die Therapeutika der ersten Wahl zur Behandlung einer bestehenden Hyperlipidämie dar (26).

1.2.1 Wirkmechanismus der Statine

Statine gehören zur Gruppe der Cholesterinsyntheseesterase (CSE)-Hemmer. Ihre Wirkung beruht auf einer kompetitiven Hemmung der 3-Hydroxy-3-Methylglutaryl-CoenzymA (HMG-CoA)-Reduktase in Hepatozyten. Die HMG-CoA-Reduktase katalysiert die Reaktion von Hydroxy-Methylglutaryl-CoA in Mevalonsäure und stellt das geschwindigkeitsbestimmende Enzym innerhalb der Cholesterinbiosynthese dar (26, 27). Durch die Hemmung dieses Enzyms kommt es zu einem intrazellulären Mangel an Cholesterin. Kompensatorisch werden vermehrt Low Density Lipoprotein (LDL)-Rezeptoren auf der Zelloberfläche der Hepatozyten exprimiert, die zu einer gesteigerten Aufnahme von LDL-Cholesterin aus dem Plasma in die Leberzellen führen. Folglich sinkt der Cholesterinspiegel im Plasma. Die intrazelluläre Neusynthese von LDL-Cholesterin bleibt aufgrund der vermehrten LDL-Aufnahme über die Rezeptoren im Sinne einer negativen Rückkopplung gedrosselt.

Der therapeutische Einsatz von Statinen führt beim Menschen zu einer deutlichen Reduktion des Serumcholesterins um 20-40 % sowie der Triglyceride um 10-30 %.

Als häufigste Nebenwirkung gilt neben uncharakteristischen gastrointestinalen Störungen die dosisabhängige, reversible Hepatotoxizität verbunden mit einem Anstieg der Lebertransaminasen im Serum.

Neben ihrem erwünschten lipidsenkenden Effekt haben Statine zusätzlich einen hemmenden Einfluss auf die Proliferation und Migration von glatten Muskelzellen. Dadurch bedingte Nebenwirkungen wie Muskelschmerzen, Myopathien und in schwerwiegenden Fällen Rhabdomyolysen, die über eine Myoglobinämie bis hin zum Nierenversagen führen können, resultieren vermutlich aus einem starken Absinken der Mevalonat-Konzentration in den Hepatozyten (25).

1.2.2 Pharmakokinetische Eigenschaften der Statine

Die Substanzen aus der Gruppe der Statine unterscheiden sich teilweise recht deutlich bezüglich ihrer pharmakokinetischen Eigenschaften. So beträgt der vom Gastrointestinaltrakt aufgenommene Anteil je nach Wirkstoff zwischen 30-98 %. Auch die Halbwertszeiten liegen relativ weit auseinander (1,2-14 Std.), wie in Tabelle 2 dargestellt. Bei Lovastatin und Simvastatin handelt es sich um inaktive Vorstufen, die erst in der Leber in ihre eigentliche Wirkform überführt werden. Die restlichen Statine liegen bereits als aktive Substanzen vor.

In Bezug auf ihre Metabolisierung lassen sich die Statine in zwei wesentliche Gruppen einteilen. Atorvastatin, Cerivastatin, Lovastatin und Simvastatin stellen Substrate des CYP 3A4-Enzymsystems dar. Im Gegensatz dazu spielt für die Verstoffwechslung von Fluvastatin das Cytochrom P450 2C9 (CYP 2C9)-Enzym eine wesentliche Rolle. Fluvastatin wird nahezu vollständig vom Intestinaltrakt absorbiert und nach Metabolisierung hepatisch eliminiert (28). Pravastatin wird zum größten Teil zunächst konjugiert und dann biliär eliminiert. Auch die anderen Statine werden vorzugsweise über die Galle ausgeschieden. Tabelle 2 fasst die pharmakokinetischen Eigenschaften der Statine zusammen.

	Resorption (%)	Metabolismus	t _{1/2} (h)	Elimination
Atorvastatin	30	CYP 3A4	14	biliär
Cerivastatin	98	CYP 3A4	2-3	biliär
Fluvastatin	98	CYP 2C9 > CYP 3A4	1,2	biliär
Lovastatin	30	CYP 3A4	3	biliär
Pravastatin	35	Konjugation > CYP 3A4	1,8	biliär, 20 % renal
Simvastatin	60-85	CYP 3A4	3	biliär

Tabelle 2: Pharmakokinetische Eigenschaften von Atorvastatin, Cerivastatin, Fluvastatin, Lovastatin, Pravastatin und Simvastatin

1.2.3 Bekannte Angriffspunkte für mögliche Interaktionen der Statine

Ohne Begleitmedikation unterliegen die Statine einer hohen präsystemischen Elimination durch rasche Aufnahme in die Hepatozyten, wo sie sogleich ihre Hauptwirkung, die Hemmung der Cholesterinbiosynthese, entfalten. Durch diesen First-Pass-Metabolismus weisen sie eine nur geringe systemische Bioverfügbarkeit auf und limitieren somit das Risiko unerwünschter Arzneimittelwirkungen.

Interaktionen über das Cytochrom P450-System und P-Glycoprotein:

Das bereits erwähnte Cytochrom P450 3A4-Isoenzym stellt einen der wichtigsten Angriffspunkte für Interaktionen zwischen Statinen und anderen Medikamenten dar, die über das gleiche Enzymsystem metabolisiert werden. Inhibitoren von CYP 3A4 wie das Antimykotikum Itraconazol führen zu einem verminderten First-Pass-Metabolismus der abhängigen Statine und folglich zu erhöhten Plasmakonzentrationen (29). Bei gleichzeitiger Verabreichung von Atorvastatin und Itraconazol konnte ein Anstieg der Plasmakonzentration des Atorvastatins auf das 2,5-fache nachgewiesen werden (30).

Über den Einfluss von CsA auf die Plasmakonzentration von Statinen liegen bisher die meisten Daten vor. Bei gleichzeitiger Gabe von CsA erhöht sich die AUC (Area under the curve) von Atorvastatin, Cerivastatin, Lovastatin und Simvastatin um ein Mehrfaches (31-35). Soweit bekannt scheinen die Immunsuppressiva Tacrolimus und Everolimus im Gegensatz dazu nur einen geringen Einfluss auf den jeweiligen Statinspiegel zu besitzen, wobei die Datenlage hier lückenhaft ist (35-37).

Daneben sind intrahepatisch gelegene Transportsysteme beschrieben, die für die Aufnahme von Statinen in die Hepatozyten bzw. für deren Elimination aus den Zellen verantwortlich sind. Zu diesen Transportern gehört P-Glycoprotein, welches durch aktiven, transzellulären Membrantransport für die Beförderung von Substanzen aus der Zelle sorgt (17). Cerivastatin und Atorvastatin konnten bereits als Substrate des P-gp nachgewiesen werden (38, 39).

Interaktionen über das Organische-Anion-Transportierende Polypeptid C (OATP1B1):

OATP-C ist ein weiteres, unter anderem intrahepatisch lokalisiertes Transportsystem. Es wird vom Gen SLCO1B1 kodiert und vermittelt die hepatische Aufnahme verschiedener körpereigener und zugeführter Substanzen, darunter auch einiger Statine. So fand neben YAMAZAKI *et al.* auch HATANAKA heraus, dass Pravastatin ein Substrat des OATP-C darstellt (40, 41). Cerivastatin, Fluvastatin und Pitavastatin können ebenfalls über diesen Transporter in die Leberzellen aufgenommen werden (42-44). Als weitere potentielle OATP-Substrate werden Lovastatin, Simvastatin und Atorvastatin beschrieben (45).

Interessanterweise sind Interaktionen zwischen CsA und HMG-CoA-Reduktasehemmern nachgewiesen, die nicht über CYP 3A4 metabolisiert werden. So ergibt sich bei Kombination von CsA mit Fluvastatin ein Anstieg der Statin-Plasmakonzentration bis auf das 3 bis 4-fache (43), unter Pravastatin sogar bis auf das 7 bis 10-fache (46, 47). Hierbei werden Wechselwirkungen zwischen CsA und den OATP-Transportern diskutiert.

In Tabelle 3 ist der Einfluss verschiedener Immunsuppressiva auf die Plasmakonzentrationen der betreffenden Statine dargestellt, angegeben als Veränderungen der Area under the curve (AUC).

	Tacrolimus	Sirolimus	Everolimus	Cyclosporin A
Atorvastatin	nicht untersucht	nicht untersucht	AUC -5 %* (37)	AUC + 6- fach (31, 32, 63)
Cerivastatin	AUC unverändert* (36)	AUC unverändert* (62)	nicht untersucht	AUC + 3-5- fach* (33)
Fluvastatin	AUC unverändert* (siehe Kapitel 3.4)	AUC unverändert* (siehe Kapitel 3.4)	nicht untersucht	AUC + 3-4- fach (43)
Lovastatin	nicht untersucht	nicht untersucht	nicht untersucht	AUC + 4-9- fach (34)
Pravastatin	nicht untersucht	nicht untersucht	AUC -5 % (37)	AUC + 5-7- fach (34, 47)
Simvastatin	AUC unverändert (35)	nicht untersucht	nicht untersucht	AUC + 3-5- fach* (35)

Tabelle 3: Einfluss der Calcineurin- und mTOR-Inhibitoren auf die AUC verschiedener Statine (* = nach Mehrfachgabe; Literaturverweise siehe Kapitel 6)

Interaktionen können also über ganz unterschiedliche Wege zu einer Erhöhung der Statinblutspiegel führen, aus der sich eine Rhabdomyolyse als potentiell lebensgefährliche Nebenwirkung entwickeln kann. Auch wenn die Rhabdomyolyse per se eine seltene Nebenwirkung einer Statintherapie darstellt, sind gerade Interaktionen über das Cytochrom P450-System mit Immunsuppressiva, Antibiotika (z.B. Erythromycin), gegebenenfalls in Kombination mit Statinen, mehrfach beschrieben worden.

So sind bei der Verwendung von Lovastatin mehrfach Rhabdomyolysen, auch in der Kombination mit CsA (48) und anderen Medikamenten beschrieben (49-51). Für Simvastatin konnte ebenfalls ein erhöhtes Risiko bei zusätzlicher Einnahme von CsA gezeigt werden (52-54). Dies gilt allerdings auch für eine Begleitmedikation wie Itraconazol, Mibefradil oder Verapamil (55-58).

Nicht zuletzt wurde das häufig eingesetzte Cerivastatin (früher Lipobay®) aufgrund dieser schwerwiegenden Nebenwirkungen (gehäufte Myopathie-bedingte Todesfälle) im August 2001 vom Markt genommen (59-61).

Abbildung 1 ermöglicht einen Überblick über die Aufnahme- bzw. Abbauege und potentiellen Möglichkeiten einer Interaktion zwischen Immunsuppressiva und Statinen. Die Enzyme für den Arzneimittel-Metabolismus sind in blau, für die Elimination der Substrate in rot und für die zelluläre Aufnahme von Medikamenten, relevant für Statine, in lila dargestellt.

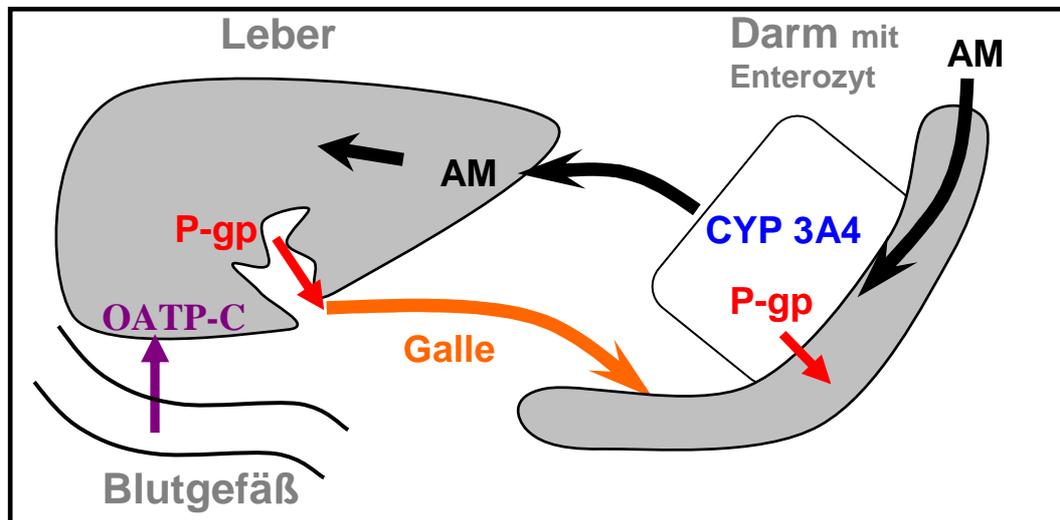


Abbildung 1: Darstellung der Resorption und der Abbauege von Calcineurin- bzw. mTOR-Inhibitoren und Statinen (AM = Arzneimittel, CYP 3A4 = Cytochrom P450 3A4-Enzym, P-gp = P-Glycoprotein, OATP-C = Organisches-Anion-Transportierendes Polypeptid C).

1.3 Fragestellung und Zielsetzung

Das Ziel dieser Studie war, mögliche Effekte der Immunsuppressiva Tacrolimus bzw. Sirolimus auf die Pharmakokinetik des Lipidsenkers Fluvastatin zu untersuchen.

In diesem Zusammenhang wurde in der vorliegenden Arbeit die Bedeutung von Polymorphismen im Transporter-Gen OATP1B1 sowie im CYP 2C9-Enzym für die pharmakokinetischen Eigenschaften von Fluvastatin mit erforscht, um mögliche Verfälschungen der Untersuchungsergebnisse zu vermeiden. Dem liegt die Vermutung zugrunde, dass neben dem Einsatz unterschiedlicher Immunsuppressiva auch vorhandene Gen-Polymorphismen eine Rolle in der Veränderung der Pharmakokinetik von Statinen spielen können, die wiederum zu unerwünschten Wirkungen durch zu hohe Plasmaspiegel oder zu mangelndem Therapieerfolg bei unzureichenden Wirkstoffspiegeln führen.

2 Material und Methoden

2.1 Studiendesign

Bei der vorliegenden Studie handelte es sich um eine offene, nicht randomisierte, nicht verblindete single-center Interaktionsstudie. Die Bestimmung der Pharmakokinetiken von Fluvastatin unter einer Komedikation mit Tacrolimus oder Sirolimus erfolgte unter Steady State-Bedingungen (unverändert bestehende Dosierung von Fluvastatin und Tacrolimus bzw. Sirolimus seit mindestens drei Monaten). Eine Änderung der Statinmedikation im Verlauf der Untersuchungen war nicht vorgesehen. Das begleitende Studienprotokoll inklusive der Patientenaufklärung (siehe Kapitel 7.1) wurden der Ethikkommission des Universitätsklinikums Schleswig-Holstein, Campus Kiel, vorgelegt und von diesem genehmigt (AZ D 424/04, D 425/04). Die Untersuchung wurde unter Berücksichtigung der Richtlinien der Deklaration nach Helsinki durchgeführt. Alle Patienten erhielten vor Untersuchungsbeginn eine ausführliche Aufklärung über die Zielsetzung, die praktische Durchführung, potentielle Nebenwirkungen oder Risiken der Studie und gaben ihr Einverständnis zu den Untersuchungen in schriftlicher Form (siehe Kapitel 7.2).

2.2 Patienten

2.2.1 Patientenkollektiv

In einem Vorscreening wurden zunächst die Patienten identifiziert, die im Universitätsklinikum Schleswig-Holstein, Campus Kiel, eine Kadaver- oder Lebendnierentransplantation erhalten hatten und zum Untersuchungszeitpunkt unter einer Immunsuppression von Tacrolimus oder Sirolimus in Kombination mit dem Lipidsenker Fluvastatin standen.

Die nierentransplantierten Probanden stellen sich in regelmäßigen zeitlichen Abständen in der nephrologischen Ambulanz der Klinik für Nieren- und Hochdruckkrankheiten des Universitätsklinikums Schleswig-Holstein, Campus Kiel, zur Nachsorge vor. Neben einer ausführlichen Anamneseerhebung und körperlichen Untersuchung wird auch eine laborchemische Kontrolle des Urins und des Blutes sowie eine genaue Dokumentation von Art, Anzahl und Dosierung der eingenommenen Pharmaka wie Immunsuppressiva, Antihypertensiva, Lipidsenker und weiterer Begleitmedikamente durchgeführt.

Im Rahmen des Screenings der vorliegenden Studie konnte auf die anhand der Patientenakten erhobenen Daten der nephrologischen Ambulanz zurückgegriffen werden.

Eine gegebenenfalls bestehende Begleitmedikation der Probanden bzw. der Einsatz zusätzlicher Immunsuppressiva wurde gesondert dokumentiert.

2.2.2 Ein- und Ausschlusskriterien

Um in das endgültige Untersuchungskollektiv für die Studie aufgenommen zu werden, musste ein Patient folgende Einschlusskriterien erfüllen:

- Alter zwischen 18 und 65 Jahren
- Zustand nach Transplantation einer Kadaver- oder Lebendniere vor mindestens sechs Monaten (Erst- oder Zweittransplantation)
- Stabile Funktion des Nierentransplantats
- Immunsuppressive Therapie basierend auf Tacrolimus oder Sirolimus in Kombination mit dem Lipidsenker Fluvastatin seit mindestens drei Monaten
- Vorliegen der Patienteneinwilligung in schriftlicher Form

Die Teilnahme an den pharmakokinetischen Untersuchungen unterlag strengen Richtlinien. So wurden Probanden, die ein oder mehrere der nachfolgenden Eigenschaften aufwiesen, von den Untersuchungen ausgeschlossen:

- Medikamentenunverträglichkeit / -nebenwirkungen
- Andere Calcineurin- oder mTOR-Inhibitoren außer Tacrolimus oder Sirolimus
- Bestehende Schwangerschaft oder Stillzeit
- Erhöhung der Leberenzyme (AST, ALT, Bilirubin) um mehr als das Zweifache der Norm
- Erhöhung der Creatinkinase (CK) um mehr als das Zweifache der Norm
- Stoffwechselerkrankungen wie z.B. Störungen bei vorbestehendem Diabetes mellitus
- Erkrankungen des Gastrointestinaltrakts oder der Leber

2.3 Pharmaka

Bei den in der Studie verwendeten und untersuchten Medikamenten handelte es sich ausschließlich um Substanzen, die in Deutschland zugelassen waren. Es wurden folgende Präparate eingesetzt:

- Fluvastatin-Natrium (Locol[®]), 80 mg Retardtabletten (Novartis Pharma GmbH, Nürnberg, Deutschland)
- Tacrolimus (Prograf[®]), 0,5/-1/-5 mg Kapseln (Astellas Pharma GmbH, München, Deutschland)
- Sirolimus (Rapamune[®]), 1/-2 mg überzogene Tabletten (Wyeth Pharma GmbH, Münster, Deutschland)

Die tägliche Dosis von Tacrolimus (Zielspiegel: 8-12 ng/ml) und Sirolimus (Zielspiegel: 5-8 ng/ml) war individuell angepasst. Alle Patienten erhielten zusätzlich Fluvastatin 80 mg/d seit mindestens drei Monaten. Eine Dosisveränderung der eingesetzten Medikamente vor oder während der Untersuchungen erfolgte nicht.

2.4 Zeitlicher Ablauf der Untersuchung

Die an der Studie teilnehmenden Patienten wurden an einem vereinbarten Tag in die nephrologische Ambulanz einbestellt. Sie kamen morgens in nüchternem Zustand, dass bedeutet die letzte Mahlzeit wurde am Vortag vor 22 Uhr eingenommen.

Um die Medikamentenblutspiegel möglichst zeitgenau bestimmen zu können, wurde den Probanden eine Venenverweilkanüle (Optiva, Medex Medical Ltd. Haslingden, Rossendale, Great Britain) gelegt. Über diesen peripher-venösen Zugang fanden über den vorgesehenen Zeitraum von 12 Stunden sämtliche Blutentnahmen statt.

Die erste Blutentnahme erfolgte noch in nüchternem Zustand und vor der morgendlichen Medikamenteneinnahme, um den Blutspiegel ermitteln zu können. Danach nahmen die Patienten wie gewohnt ihre orale Medikation mit genügend Flüssigkeit (ca. 120 ml Wasser) ein, wobei die genaue Uhrzeit dokumentiert wurde. Diese galt als Orientierungsmarke (Startzeit 0) für die folgenden Blutentnahmen.

Weitere Blutproben wurden 30, 60 und 90 Minuten nach Medikamenteneinnahme sowie nach 2, 3, 4, 6, 8, 9, 10, 11 und 12 Stunden entnommen.

Nach Entnahme der letzten Blutprobe wurde die Venenverweilkanüle entfernt. Die Patienten nahmen ihre abendliche Medikation (Tacrolimus) ein, auch hier wurde die Uhrzeit notiert (12 Stunden-Wert für Tacrolimus und Fluvastatin).

Den Patienten unter Sirolimus-Medikation wurde 24 Stunden nach Medikamenteneinnahme, also am folgenden Tag, eine zusätzliche Blutprobe entnommen (24 Stunden-Wert für Sirolimus). Hier kam eine Butterflykanüle (BD Valu-Set, Becton, Dickinson Ind. Cir. Ltda, Brazil) zur Verwendung.

2.5 Entnahme und Aufbewahrung der Blutproben

Bei jeder Blutentnahme wurden zunächst 1-2 ml Vollblut über eine 5 ml-Spritze (BD Discardit 2, Becton Dickinson S.A. Fraga, Spain) abgezogen und verworfen, um mögliche Verfälschungen der Ergebnisse ausschließen zu können. Dann erfolgte die eigentliche Blutprobe mithilfe einer 2,7 ml Vollblut EDTA-Monovette (Sarstedt, Deutschland) und einer 9 ml Vollblut EDTA-Monovette, die vollständig befüllt wurden. Nach erfolgter Probenentnahme wurde die Venenverweilkanüle mit 2 ml isotoner 0,9 %iger NaCl-Lösung (B.Braun AG, Melsungen, Deutschland) und anschließend mit 0,2 ml Heparin-Natriumlösung (B.Braun AG, Melsungen, Deutschland) durchgespült.

Die blutgefüllten Monovetten wurden in Eis gekühlt transportiert und zügig im nephrologischen Labor weiterverarbeitet. Dort wurden die Vollblutproben in den 2,7 ml Monovetten (zur späteren Bestimmung der Tacrolimus- bzw. Sirolimus-Konzentrationen) sofort bei -20 °C bis zur Analyse eingefroren. Der Inhalt der 9 ml Monovetten (zur Fluvastatin-Bestimmung) wurde 4 Minuten lang bei 3 °C und 2000 rpm zentrifugiert (Allegra 21R Zentrifuge, Beckmann Coulter, Seriennr. AGD 99B14, Einstellung: 2000 rpm, 4 Min., 3 °C), das überstehende Plasma mittels Eppendorf-Pipette in ein 1,8 ml Röhrchen (Cryo.s, Greiner bio-one) gefüllt und dieses ebenfalls umgehend bei -20 °C eingefroren.

2.6 Aufarbeitung und Analyse der Blutproben

2.6.1 Analytik des Fluvastatins

Die labortechnische Analyse des Fluvastatins wurde in einem zentralen Labor durchgeführt. Die Quantifizierung von Fluvastatin aus den Plasmaproben der Patienten erfolgte mithilfe der modifizierten Flüssigkeitschromatographie-Massenspektrometrie (LC-MS) mit Fluoreszenzdetektion, die in veränderter Form von AL RAWITHI *et al.* beschrieben wurde (64).

Die Retentionszeiten für Fluvastatin und den verwendeten internen Standard Atorvastatin betragen 11,3 bzw. 14,9 Minuten. Als praktische untere Nachweisgrenze wurde 0,5 ng/ml im Serum bzw. Plasma ermittelt. Die sogenannte inter-run Impräzision betrug 5,3 und 7,5 %, die intra-run Impräzision 3,2 und 9,4 % (Variationskoeffizient bei 50 bzw. 10 ng/ml). Die Methode erwies sich als linear im Bereich von 0,5-1000 ng/ml. Die Richtigkeit wurde durch Wiederfindungsanalysen überprüft, die Wiederfindung für Fluvastatin erreichte 79-87 %. Die Spezifität der Methode wurde mittels Analyse handelsüblicher Qualitätskontrollproben auf Serumbasis überprüft (Lyphochek[®] Therapeutic Drug Monitoring Control, BioRad Laboratories GmbH, München, Deutschland), die mehr als 30 Medikamente aus dem therapeutischen Drug Monitoring (TDM) und Antiepileptika-Bereich in therapeutischer Dosis enthielten. Dabei wurden keine Interferenzen mit der Bestimmungsmethode beobachtet.

2.6.2 Genotypisierung

Im Rahmen unserer Studie erfolgte die Genotypisierung einschließlich der Polymorphismus-Bestimmung für OATP-C sowie CYP 2C9. Die für die Durchführung benötigte genomische DNA wurde zunächst unter Verwendung eines Quiagen Kit (Quiagen, Hilden, Deutschland) aus den vorliegenden Blutproben der Patienten extrahiert.

Die Charakterisierung der isolierten DNA-Proben bezüglich ihrer Polymorphismen auf dem OATP-C- und CYP 2C9-Gen wurde mit dem Verfahren der Polymerasekettenreaktion (PCR) und anschließender Bestimmung der Restriktionsfragment-Längenpolymorphismen (RFLP) durchgeführt.

Auf dem OATP-C-Gen wurden drei unterschiedliche Single-Nukleotid-Polymorphismen (SNPs) bestimmt. Es handelte sich um den SNP 388 A>G, befindlich in Exon 4, des Weiteren um den SNP 521 T>C in Exon 5 und den 11187 G>A-Polymorphismus innerhalb der Promotorregion.

Auf dem Gen CYP 2C9 wurde das Vorkommen zwei weiterer SNPs untersucht. Die Bestimmung umfasste den SNP 430 C>T (*2) sowie den SNP 1075 A>C (*3).

In Tabelle 4 ist ein Überblick über die jeweilige Position der polymorphen Stelle (SNP), die Sequenzfolgen der Primer, die verwendeten Restriktionsendonukleasen und die Länge der zu amplifizierenden DNA-Fragmente gegeben.

Gen	SNP	Primersequenz	Restriktions- enzym	Fragmentlänge, Basenpaar (wt / mut)
OATP-C	388 A>G	<i>vorwärts:</i> 5'-GAC TTT TTA CTG TCA ATA TTA ATT C <i>rückwärts:</i> 5'-TAT TCA GTA GAT AAG CAA AAT G	ClaI	198 123 75
	521 T>C	<i>vorwärts:</i> 5'-GAA ATC ATC AAT GTA AGA AAG CCC <i>rückwärts:</i> 5'-ATC TGG GTC ATA CAT GTG GAT ATA C	Bsa AI	77 26 103
	11187 G>A	<i>vorwärts:</i> 5'-AGT ACA GAC CCT TCT CTC AC <i>rückwärts:</i> 5'-GCA ACC ATA TCA ACA AAT GTC C	ACCI	99 85 26 125 85
CYP 2C9	430 C>T (*2)	<i>vorwärts:</i> TAC AAA TAC AAT GAA AAT ATC ATG <i>rückwärts:</i> CTA ACA ACC AGA CTC ATA ATG	AvaII	527 164 691
	1075 A>C (*3)	<i>vorwärts:</i> AAT AAT AAT ATG CAC GAG GTC CAG AGA TGC <i>rückwärts:</i> GAT ACT ATG AAT TTG GGA CTT C	NsiI	112 29 141

Tabelle 4: Primersequenzen für die Amplifikation der PCR-Fragmente, Restriktionsendonukleasen und RFLP-Fragmentlängen

Polymerasekettenreaktion

Die Polymerasekettenreaktion (PCR) stellt ein Verfahren zur Vervielfältigung beliebiger DNA-Abschnitte dar. DNA-Proben werden zunächst in Zyklen unterschiedlicher Temperatur erhitzt. Hierbei kommt es zu einer Auftrennung der Doppelhelixstruktur des DNA-Stranges. Nach Abkühlen der Reagenz lagern sich bei Unterschreitung einer bestimmten Temperatur zwei Primer, bestehend aus Oligonukleotiden, an jeweils einen der DNA-Stränge zu beiden Seiten des zu amplifizierenden Abschnitts an. Eine im Reaktionsansatz gegenwärtige DNA-Polymerase kann nun den zwischen den Primern liegenden DNA-Abschnitt synthetisieren, gefolgt von einer exponentiellen Vervielfältigung des neu gebildeten Fragments. Als Reaktionsvermittler werden Magnesiumchlorid und Desoxyribonukleosid-Triphosphate (dNTPs) hinzugefügt.

In der beschriebenen Studie wurden zu Beginn der PCR die benötigten Reaktionsansätze hergestellt. Für jedes zu amplifizierende DNA-Fragment (SNP ($n = 5$)) wurde ein spezifischer PCR-Ansatz, der sogenannte Mastermix, vorbereitet (siehe Kapitel 7.3).

Jeder der Mastermix-Ansätze ($n = 5$) wurde für jede DNA-Probe ($n = 5$) pipettiert, so dass insgesamt $n = 25$ Ansätze entstanden.

Nach Fertigstellung der Ansätze wurden pro well (Näpfchen) je $25 \mu\text{l}$ in die PCR-Microtiterplatten (96 Well Reaction Plate, Art.Nr. SP-0074, Fa. PeqLab) gefüllt. Anschließend wurde in jedes well $0,5 \mu\text{l}$ der genomischen DNA hinzugefügt. Die Probenplatten wurden verschlossen und für 20 Sekunden bei 1000 rpm zentrifugiert (Multifuge 3 SCR, Fa. Haereus).

Die Amplifikation der einzelnen DNA-Fragmente wurde im Thermocycler (Thermocycler Applied Biosystems 9700) durchgeführt. Nach Einbringen der Proben in den auf $93 \text{ }^\circ\text{C}$ aufgeheizten Cycler wurde das für den jeweiligen PCR-Ansatz geltende Programm gestartet und bis zum Reaktionsende bei $4 \text{ }^\circ\text{C}$ durchlaufen (siehe Kapitel 7.4).

Restriktionsfragment-Längenpolymorphismus

Mit diesem Verfahren lassen sich die durch PCR gewonnenen DNA-Amplifikate in Fragmente von variabler Anzahl und Länge schneiden. Somit wird eine Unterscheidung der einzelnen Genotypen ermöglicht.

Durch den Einsatz von Restriktionsenzymen (Endonukleasen) wird die DNA an spezifischen Erkennungssequenzen geschnitten. Ist nun eine polymorphe Stelle im Gen vorhanden und

befindet sich diese im Bereich der Erkennungssequenz, so kann die Schnittstelle bei einem Austausch der Basen verloren gehen oder aber auch erst hierdurch erfolgen.

Im Rahmen der Studie wurden je nach Polymorphismus unterschiedliche Reaktionsansätze ($n = 5$) hergestellt, die sich aus sterilem Wasser, dem Restriktionsenzym-spezifischen Puffer und dem Restriktionsenzym selbst zusammensetzten (siehe Kapitel 7.5).

Nachdem die Wells der Microtiterplatte mit 12,5 μ l jedes PCR-Amplifikates befüllt worden waren, wurden 12,5 μ l des Restriktions-Mastermixes hinzupipettiert. Anschließend wurden die Proben über Nacht bei einer Reaktionstemperatur von 37 °C im Thermocycler inkubiert.

Gelelektrophorese

Die nach Abschluss der Restriktion entstandenen DNA-Fragmente stellen aufgrund ihrer Phosphatreste negativ geladene Moleküle dar, die ihrer Größe entsprechend unterschiedlich schnell im elektrischen Feld in Richtung der Kathode wandern.

Durch Einbringen eines Agarosegels in einen flachen Block und Anlegen einer elektrischen Spannung entsteht eine Art molekulares Sieb, welches die DNA-Fragmente je nach Molekülgröße auftrennt. Die Auftrennung folgt dem Prinzip, je kleiner das Fragment, desto schneller ist seine Wanderungsgeschwindigkeit. Fragmente von gleicher Größe wandern gleich schnell und bilden eine sogenannte DNA-Bande.

Die Sichtbarmachung der Bandenmuster erfolgt durch Hinzufügung von Ethidiumbromid zum Gel. Es handelt sich hierbei um einen Farbstoff, der mit der DNA interkaliert und im ultravioletten Licht fluoresziert. Durch einen Vergleich der DNA-Banden lassen sich so die einzelnen Fragmente identifizieren.

Für die Herstellung des 3 %igen Agarose-Gels wurde Agarose in Tris-Borat-EDTA (TBE)-Puffer suspensiert. Nach Aufkochen und anschließendem Abkühlen auf ca. 60 °C wurde Ethidiumbromid (0,16 mg/l) hinzugefügt und mittels Magnetrührer homogen vermischt, um der Entstehung von Luftblasen vorzubeugen. Danach wurde das Gel in eine kammbesetzte Gussform gegossen, die nach vollständigem Erkalten des Gels herausgezogen wurde und Taschen hinterließ.

Das hergestellte Agarosegel wurde nun, von Pufferlösung bedeckt, in die Elektrophoresekammer eingebracht. Die vorbereiteten DNA-Lösungen (bestehend aus jeweils 25 μ l verdautem Restriktionsansatz mit 3 μ l 10 x BlueJuice™ Gel Loading Buffer) wurden in die entsprechenden Geltaschen pipettiert. Für die spätere Auswertung des Gels und eine Größenordnung der Fragmente wurden zusätzlich 10 μ l DNA-Größenstandard (GeneRuler™100bp DNA Ladder) in eine weitere Geltasche pipettiert.

Die Elektrophoresekammer wurde verschlossen und eine Spannung von 400 V für eine Laufzeit von 60 Minuten (90 Minuten für die SNP-Bestimmung von G-11187A) angelegt. Die Stromstärke betrug währenddessen 120 mA.

Nach Ablauf der Elektrophorese wurde das Gel herausgenommen und mit Hilfe eines Ultraviolett-Transilluminators und Fotodrucker (Kodak Image Station 440 CF) fotografiert, entwickelt und ausgewertet.

2.7 Statistische Auswertung

Die durch Genotypisierung erhobenen Daten wurden unter Verwendung des Statistikprogrammes SPSS, Version 12.0, bearbeitet und ausgewertet. Angegeben sind jeweils Mittelwerte (m) und die Standardabweichung (SD) der Mittelwerte.

Als signifikant wurden Ergebnisse bezeichnet, die mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von $< 5\%$ behaftet waren (statistisches Signifikanzniveau: $p < 0,05$).

Unterschiedliche Ergebnisse zwischen zwei Gruppen wurden durch Anwendung des nicht-parametrischen U-Tests nach Mann und Whitney berechnet.

Ein Vergleich von Werten zwischen mehr als zwei Gruppen wurde mit dem Kruskal-Wallis Test durchgeführt.

Für die pharmakokinetischen Untersuchungen der Studie wurde das non-kompartiment Modell angewandt. Die beiden Parameter AUC im Steady State ($AUC(0-12)$) und die dosisangepasste AUC wurden nach der linearen Trapezregel berechnet. Die Werte für die maximal erreichte Konzentration (C_{max}) und der Zeitpunkt der maximalen Konzentration (T_{max}) konnten direkt den entsprechenden Konzentrations-Zeitprofilen entnommen werden. Die terminale Halbwertszeit von Fluvastatin ($t_{1/2}$) wurde mit der linearen Regressionsanalyse nach log-Transformation der letzten Datenpunkte nach Akaikes Informationskriterium erhoben. Die so berechneten Werte wurden unter Anwendung des gepaarten t-Tests mit historischen Kontrollen verglichen und als arithmetisches Mittel (m) \pm arithmetische Standardabweichung (SD) dargestellt.

Die Darstellung der Ergebnisse erfolgte mit der Software WinNonlin, Version 5.0 (Pharsight Corporation, Mountain View, USA). Zur Berechnung der einzelnen Mittelwerte sowie deren Standardabweichung wurde das Tabellenkalkulationsprogramm Excel 2003 für Windows XP (Microsoft Corporation, Redmond, WA, USA) verwendet.

3 Ergebnisse

3.1 Patientendaten

Insgesamt konnten 25 Studienteilnehmer in die Untersuchung eingeschlossen werden, die in zwei Behandlungsgruppen (Tacrolimus (n = 15 Patienten), Sirolimus (n = 10 Patienten)) aufgeteilt waren. Es handelte sich dabei um 18 männliche (72 %) und 7 weibliche (28 %) Probanden.

Das Alter der Patienten zum Zeitpunkt der Untersuchungen lag im Mittel bei $54,2 \pm 13,1$ Jahren (min. 27 Jahre, max. 74 Jahre).

Das Körpergewicht wies einen Median von $76,3 \pm 16,5$ kg auf, wobei das minimale Gewicht bei 45,2 kg und das maximale bei 113,1 kg lag.

Die Bestimmungen der Körpergröße ergaben einen Mittelwert von $172,4 \pm 9,4$ cm (min. 158 cm, max. 192 cm).

Von den 25 Patienten des Gesamtkollektivs gaben 2 Patienten an, Raucher zu sein. In 3 Fällen war eine Zuordnung nicht möglich (siehe Tabelle 5).

Als Nierentransplantat hatten 4 (16 %) Patienten zuvor ein Lebendorgan und 21 (84 %) eine Kadaverspende erhalten.

Die Transplantation selbst lag zum Zeitpunkt der Untersuchung unterschiedlich lange zurück (min. 4 Monate, max. 79 Monate). Im Mittel lag die Nierentransplantation $29,1 \pm 21,3$ Monate zurück.

Bei allen Patienten blieb die Medikation der Immunsuppressiva sowie die Dosierung des Fluvastatins während des gesamten Untersuchungszeitraums unverändert.

In der folgenden Tabelle sind die für unsere Untersuchungen relevanten Patientencharakteristika zusammengefasst.

Patienten	(n)	25
männlich/weiblich	(n)	18 / 7
Alter	(Jahre \pm SD)	54,2 \pm 13,1
Zeit nach Transplantation	(Monate \pm SD)	29,1 \pm 21,3
Körpergewicht	(kg \pm SD)	76,3 \pm 16,5
Körpergröße	(cm \pm SD)	172,4 \pm 9,4
Raucher	(n)	2

Tabelle 5: Patientencharakteristika (n = Anzahl; die anderen Daten sind als Mittelwerte (m) \pm Standardabweichung (SD) angegeben)

3.2 Begleitmedikation

10 Patienten unterlagen einer Begleitmedikation mit Mycophenolat Mofetil (500-1000 mg/d), 1 Proband nahm das Kortikoidpräparat Prednisolon ein (5-10 mg/d) und 14 Patienten wurden mit einer Kombination aus beiden Medikamenten behandelt.

Die immunsuppressive, lipidsenkende sowie antihypertensive Komedikation der Patienten ist in Tabelle 6 dokumentiert.

Prednisolon	(n)	15
Mycophenolat Mofetil	(n)	24
AT1-Rezeptorblocker	(n)	8
ACE-Hemmer	(n)	12
Schleifendiuretika	(n)	5
Calcium-Antagonisten	(n)	8
Betablocker	(n)	7
Alphablocker	(n)	2
Clonidin	(n)	1

Tabelle 6: Begleitmedikation (n = Anzahl)

3.3 Lipidstatus

Der Mittelwert des Gesamtcholesterins lag beim untersuchten Patientenkollektiv bei $197,48 \pm 61,46$ mg/dl (min. 114 mg/dl, max. 362 mg/dl). Insgesamt 9 Patienten wiesen (36 %) erhöhte Cholesterinwerte auf: bei 4 Probanden (16 %) zeigten sich Werte zwischen 200 und 250 mg/dl und 5 Probanden (20 %) hatten Werte oberhalb von 250 mg/dl. Bei immerhin 16 Patienten (64 %) lagen die Konzentrationen des Gesamtcholesterins unter 200 mg/dl und somit innerhalb des Normbereichs.

Die Bestimmung der LDL-Cholesterinwerte im Serum ergab einen Median von $113,76 \pm 47,19$ mg/dl (min. 56 mg/dl, max. 277 mg/dl). Bei der Mehrzahl der Patienten befanden sich die LDL-Werte unterhalb von 130 mg/dl und damit im Normbereich (19 Patienten, 76 %). Moderat erhöhte Werte zeigten sich bei 3 Probanden (12 %), während ebenfalls 3 Patienten (12 %) stark erhöhte Werte von über 160 mg/dl aufwiesen.

Die Serumkonzentration des High Density Lipoprotein (HDL)-Cholesterins betrug im Mittel $49,44 \pm 16,44$ mg/dl (min. 23 mg/dl, max. 92 mg/dl).

Der Medianwert der Triglyceridkonzentration lag bei $261,28 \pm 197,74$ mg/dl (min. 69 mg/dl, max. 793 mg/dl).

3.4 Pharmakokinetik von Fluvastatin unter Tacrolimus bzw. Sirolimus

Die Ergebnisse aus den Berechnungen der pharmakokinetischen Parameter von Fluvastatin beschränkten sich auf ein Kollektiv aus 22 Probanden, da bei 3 Patienten keine Fluvastatinblutspiegel bestimmt werden konnten. Bei einem Probanden lag eine unzureichende gastrointestinale Resorption vor, bei zwei weiteren Patienten wurden Fehler in der labortechnischen Auswertung der Datensätze registriert.

Einer immunsuppressiven Therapie mit Tacrolimus unterlagen 14 Patienten (63,6 %). Dabei handelte es sich um 9 männliche (64,3 %) und 5 weibliche (35,7 %) Probanden.

Die Dosierung lag im Mittel bei $5,74 \pm 3,37$ mg/d (min. 2 mg/d, max. 14 mg/d).

Die Gruppe der mit Sirolimus behandelten Patienten umfasste insgesamt 8 Probanden, darunter 6 Männer (75 %) und 2 Frauen (25 %). Die mittlere Dosierung von Sirolimus betrug $1,36 \pm 0,67$ mg/d (min. 1 mg/d, max. 3 mg/d).

Die AUC₍₀₋₁₂₎ von Fluvastatin betrug bei den mit Tacrolimus behandelten Patienten im Mittel $426,44 \pm 176,45$ ng ml⁻¹ h und bei den Patienten unter Sirolimus $418,64 \pm 276,64$ ng ml⁻¹ h. Somit zeigte die AUC₍₀₋₁₂₎ von Fluvastatin keine wesentlichen Unterschiede ($p = 0,785$) in

Kombination mit Tacrolimus oder Sirolimus. Auch die dosisangepasste AUC wies nur geringfügig höhere Werte bei den Tacrolimuspatienten auf ($10,02 \pm 7,18 \text{ ng ml}^{-1} \text{ h}$ bzw. $7,11 \pm 3,89 \text{ ng ml}^{-1} \text{ h}$ bei Sirolimus, $p = 0,525$). In Bezug auf den Zeitpunkt des Erreichens der maximalen Fluvastatin-Konzentration (T_{\max}) zeigten sich Unterschiede, wobei die Probanden unter Tacrolimus im Mittel nach $1,5 \pm 0,71 \text{ h}$ die maximale Konzentration erreichten, während die Sirolimusgruppe $3,38 \pm 2,06 \text{ h}$ benötigte, ohne dass ein Signifikanzniveau erreicht wurde ($p = 0,483$). Die maximale Konzentration selbst (C_{\max}) betrug unter Tacrolimusmedikation im Mittel $119,52 \pm 59,14 \text{ ng/ml}$ und unter Sirolimus $90,68 \pm 61,39 \text{ ng/ml}$ ($p = 0,66$).

Sowohl die ermittelten Werte für die Fluvastatin-Halbwertszeit als auch für dessen Clearance wiesen keine eindeutigen Differenzen auf (siehe Tabelle 7).

Aufgrund der sich im direkten Vergleich zwischen Tacrolimus- und Sirolimuspatienten nicht unterschiedenen $AUC(0-12)$ -Werte wurde das Kollektiv für die weiteren pharmakogenetischen Untersuchungen als ein Gesamtkollektiv betrachtet.

Eine Übersicht der Ergebnisse der pharmakokinetischen Untersuchungen von Fluvastatin ist in Tabelle 7 dargestellt, jeweils berechnet für die Einzelkollektive der Tacrolimus- bzw. Sirolimuspatienten.

	AUC(0-12)	AUC- dosis- angepasst	t_{1/2}	C_{max}	T_{max}	Clearance
	(ng ml ⁻¹ h)	(ng ml ⁻¹ h)	(h)	(ng/ml)	(h)	(ml/h)
Tacrolimus	426,44 ± 176,45	10,02 ± 7,18	6,59 ± 4,57	119,52 ± 59,14	1,5 ± 0,71	0,27 ± 0,21
Sirolimus	418,64 ± 276,64	7,11 ± 3,89	4,93 ± 2,39	90,68 ± 61,39	3,38 ± 2,06	0,22 ± 0,11
p	0,785	0,525	0,575	0,66	0,483	0,74

Tabelle 7: Pharmakokinetik von Fluvastatin bei n = 14 Patienten unter Tacrolimus-Therapie bzw. bei n = 8 Patienten mit Sirolimus-Behandlung (als Mittelwerte (m) ± Standardabweichung (SD) angegeben)

3.5 Pharmakokinetik von Fluvastatin nach OATP-C-Genotypisierung

Im OATP-C-Gens wurden insgesamt drei SNPs bestimmt. Darunter befanden sich der in Exon 4 befindliche Polymorphismus 388 A>G, der SNP 521 T>C in Exon 5 sowie der in der Promoterregion lokalisierte SNP 11187 G>A.

3.5.1 SNP 388 A>G

Die Allelhäufigkeiten innerhalb unseres Gesamtkollektivs verteilten sich wie folgt: Dem homozygoten 388 AA-Genotyp konnten 8 Patienten (36,4 %) zugeordnet werden, während sich 4 Probanden (18,2 %) homozygot für 388 GG zeigten. Der SNP 388 GA wurde bei insgesamt 10 Patienten (45,5 %) nachgewiesen.

Die AUC(0-12) der Probanden mit AA-Polymorphismus lagen im Mittel bei $327,80 \pm 125,64$ ng ml⁻¹ h, die Mittelwerte des heterozygoten SNP AG und GG betrugen $396,29 \pm 163,11$ ng ml⁻¹ h bzw. $683,49 \pm 440,51$ ng ml⁻¹ h. Ein Vergleich dieser Ergebnisse zeigte, dass sich die Werte nicht signifikant unterschieden ($p = 0,67$).

Bezüglich der dosisangepassten AUC ergaben sich ebenfalls keine Abweichungen der Mittelwerte und ihrer Standardabweichungen ($p = 0,94$). Auch ein Vergleich der Parameter T_{max} und C_{max} wies keine signifikanten Unterschiede auf (p jeweils $> 0,05$).

Die berechneten Mittelwerte und deren Standardabweichungen der pharmakokinetischen Fluvastatinparameter sind in Tabelle 8 dargestellt.

3.5.2 SNP 521 T>C

Zu den Trägern des 521 TT-Polymorphismus zählten 15 Patienten (68,2 %), den SNP 521 TC wiesen 5 Probanden (22,7 %) auf und den CC-Polymorphismus besaßen 2 Patienten (9,1 %).

Die AUC(0-12) des CC-Genotyps lagen im Mittel bei $861,05 \pm 625,98$ ng ml⁻¹ h, die AUC-Werte der TC- und TT-Polymorphismen bei $447,0 \pm 150,60$ ng ml⁻¹ h bzw. $357,21 \pm 157,44$ ng ml⁻¹ h. Der statistische Vergleich ergab ein $p = 0,73$ und somit keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen.

Die dosisangepasste AUC lag wiederum bei dem SNP 521 CC am höchsten und betrug $12,15 \pm 8,7$ ng ml⁻¹ h, während die Werte für 521 TC im Mittel bei $6,39 \pm 8,7$ ng ml⁻¹ h und die des 521 TT-Polymorphismus bei $9,39 \pm 6,86$ ng ml⁻¹ h lagen. Mit einem $p = 0,51$ ergab sich auch hier keine statistische Signifikanz. Die pharmakokinetischen Parameter T_{max}, C_{max} und

$t_{1/2}$ sowie die Fluvastatin-Clearance können der Tabelle 8 entnommen werden. Im direkten Vergleich wiesen auch diese Ergebnisse keine signifikanten Unterschiede auf.

3.5.3 SNP 11187 G>A

Innerhalb des Patientenkollektivs konnte bei 2 Probanden (9,1 %) der SNP 11187 G>A durch Genotypisierung nachgewiesen werden. Statistische Berechnungen mit Daten von 2 Patienten sind jedoch nicht hinreichend aussagekräftig, so dass darauf verzichtet wurde, den SNP 11187 G>A in weitere Berechnungen einzubeziehen.

3.6 Pharmakokinetik von Fluvastatin nach CYP 2C9-Genotypisierung

Im Hinblick auf das CYP 2C9-Gen wurden zwei Polymorphismen bestimmt. Es handelte sich dabei um den SNP CYP 2C9 *2 430 C>T sowie den Polymorphismus von CYP 2C9 *3 1075 A>C.

3.6.1 SNP CYP 2C9 *2 430 C>T

Aus dem Gesamtkollektiv konnten 20 Patienten (90,9 %) dem wt/wt-Genotyp (Wildtyp) und 2 Patienten (9,1 %) dem *2/*2, *1/*2-Genotyp zugeordnet werden.

Die Bestimmung der AUC(0-12) ergab für den SNP wt/wt $432,46 \pm 227,23 \text{ ng ml}^{-1} \text{ h}$, der SNP *2/*2, *1/*2 zeigte einen Mittelwert von $334,99 \pm 97,04 \text{ ng ml}^{-1} \text{ h}$. Es bestand kein signifikanter Unterschied zwischen den Ergebnissen ($p = 0,48$). Auch die C_{\max} wies beim wt/wt-Polymorphismus höhere Werte auf als bei dem *2/*2, *1/*2-Genotyp ($112,28 \pm 66,51 \text{ ng/ml}$ bzw. $76,55 \pm 43,45 \text{ ng/ml}$), jedoch nicht von statistischer Aussagekraft ($p = 0,31$). Die maximale Konzentration wurde beim Wildtyp schneller erreicht als bei vorhandenem SNP *2/*2, *1/*2 (T_{\max} : $2 \pm 1 \text{ h}$ bzw. $4 \pm 2 \text{ h}$). Das Signifikanzniveau konnte weder hier noch bei T_{\max} , der Clearance oder der Halbwertszeit erreicht werden (siehe Tabelle 8).

3.6.2 SNP CYP 2C9 *3 1075 A>C

Die Genotypisierung von CYP 2C9 *3 ergab bei 20 Patienten (90,9 %) den wt/wt-Typ und bei 2 Patienten (9,1 %) den *1/*3- Typ.

Die mittlere Fluvastatin-AUC(0-12) bei den Trägern des *1/*3-Genotyps lag um 300 % höher verglichen mit den Ergebnissen beim Wildtyp. Im Einzelnen lagen die Werte im Mittel bei

1042,96 ± 444,06 ng ml⁻¹ h beim *1/*3-Genotyp bzw. 361,67 ± 155,17 ng ml⁻¹ h beim wt/wt-Genotyp. Dieser Unterschied erreichte mit einem $p = 0,03$ statistische Signifikanz.

Auch die C_{\max} von Fluvastatin unterschied sich signifikant ($p = 0,009$) und betrug bei den Trägern des heterozygoten *1/*3-Genotyps im Mittel 282,50 ± 38,00 ng/ml, während sie beim Wildtyp bei 91,68 ± 47,07 ng/ml lag.

Die dosisangepasste AUC verfehlte bei ebenfalls höheren Mittelwerten für den heterozygoten *1/*3-Genotyp eine statistische Signifikanz ($p = 0,08$).

Die Zeit zum Erreichen der maximalen Konzentration (T_{\max}) war bei dem SNP *1/*3 nicht signifikant geringer ($p = 0,34$). Ebenso wiesen die Ergebnisse für die Clearance sowie für die Halbwertszeit niedrigere Werte beim *1/*3-Genotyp auf, aber auch hier wiederum ohne Nachweis einer statistischen Signifikanz.

In Tabelle 8 sind die pharmakokinetischen Parameter von Fluvastatin bezüglich der jeweiligen OATP-C- bzw. CYP 2C9-Polymorphismen dargestellt.

	AUC(0-12)	AUC- dosis- angepasst	t _{1/2}	Tmax	Cmax	Clearance
	(ng ml ⁻¹ h)	(ng ml ⁻¹ h)	(h)	(h)	(ng/ml)	(ml/h)
OATP-C						
T521C	357,21	9,39	7,42	2,47	97,15	0,281
TT	± 157,44	± 6,86	± 4,54	± 1,56	± 59,55	± 0,219
TC	447,0	6,39	2,87	1,4	114,98	0,192
	± 150,60	± 2,17	± 0,90	± 0,48	± 35,29	± 0,075
CC	861,05	12,15	2,98	2	183,2	0,169
	± 625,975	± 8,7	± 0,38	± 0	± 137,3	± 0,121
p	0,73	0,51	0,24	0,12	0,89	0,24
A388G	327,80	6,05	3,06	108,3	5,68	0,199
AA	± 125,64	± 2,09	± 2,22	± 78,88	± 2,11	± 0,078
AG	396,29	10,96	7,35	1,75	94,36	0,319
	± 163,11	± 9,19	± 5,94	± 0,7	± 38,97	± 0,295
GG	683,49	9,77	3,18	1,5	141,18	0,183
	± 440,51	± 6,28	± 0,35	± 0,5	± 86,66	± 0,115
p	0,67	0,94	0,24	0,74	0,53	0,24
CYP 2C9						
*2 wt/wt	432,46	8,47	5,40	2	112,28	0,26
	± 227,23	± 6,02	± 3,22	± 1	± 66,51	± 0,18
*2/*2, *1/*2	334,99	13,78	11,80	4	76,55	0,082
	± 97,04	± 4,85	± 0,07	± 2	± 43,45	± 0,029
p	0,48	0,9	0,36	0,63	0,31	0,9
*3 wt/wt	361,67	8,3	6,2	2,28	91,68	0,269
	± 155,17	± 5,75	± 4,01	± 1,26	± 47,07	± 0,179
*1/*3	1042,96	15,52	3,75	1,25	282,5	0,073
	± 444,06	± 5,33	± 1,15	± 0,75	± 38	± 0,025
P	0,03	0,08	0,73	0,34	0,009	0,08

Tabelle 8: Einfluss von OATP-C und CYP 2C9 auf die Pharmakokinetik von Fluvastatin bei n = 22 nierentransplantierten Patienten unter Tacrolimus (n = 14) oder Sirolimus (n = 8)

3.7 Unerwünschte Ereignisse

Während des gesamten Untersuchungszeitraumes traten keinerlei unerwünschte Nebenwirkungen der eingesetzten Medikamente auf. Es gab keine Ereignisse, die zu einer Unterbrechung oder gar zu einem Abbruch der Studie hätten führen können. Alle Patienten vertrugen ihre individuell eingestellte Medikation, so dass in keinem Fall eine Veränderung des geplanten Therapieregimes erforderlich wurde.

4 Diskussion

4.1 Patientenkollektiv

Das Patientenkollektiv stellte sich in beiden Untersuchungsgruppen (Tacrolimus- und Sirolimuspatienten) homogen dar.

4.2 Lipidwerte

Die European Atherosclerosis Society (EAS) bezeichnet in ihren Richtlinien Gesamtcholesterinkonzentrationen von über 200 mg/dl im Serum als erhöht, wobei sie zwischen einer milden und einer schweren Erhöhung differenziert (65). Werte zwischen 200 und 250 mg/dl gelten demnach als milde Form der Cholesterinerhöhung, wohingegen Werte jenseits von 250 mg/dl als schwer erhöht eingestuft werden. Nach dieser Definition zeigten 64 % der untersuchten Patienten unter Fluvastatintherapie eine befriedigende Senkung des Serumcholesterins.

Gemäß den Empfehlungen des National Cholesterol Education Program (NCEP) befinden sich LDL-Konzentrationen zwischen 130 und 160 mg/dl im grenzwertig erhöhten Bereich, darüber hinausreichende Werte gelten als stark erhöht (66). Empfohlen werden Werte unterhalb von 130 mg/dl bei Patienten ohne erhöhtes Risikoprofil. Mit einem Mittelwert von $113,76 \pm 47,19$ mg/dl für das LDL-Cholesterin konnte dieses Ziel bei 76 % der Patienten erreicht werden. 58 % der untersuchten Probanden hatten einen LDL-Cholesterin-Wert von <100 mg/dl, was den Zielgrößen der EAS für Risikopatienten entspricht. In der Gesamtbetrachtung fand sich unter Einsatz von täglich 80 mg Fluvastatin eine gute Senkung des LDL-Cholesterins.

Das NCEP empfiehlt im Hinblick auf das HDL-Cholesterin im Serum Werte oberhalb von 35 mg/dl. Innerhalb unseres Kollektivs lag die Mehrheit der Werte im empfohlenen Bereich (19 Patienten, 76 %), von denen 6 Patienten (24 %) HDL-Werte oberhalb von 60 mg/dl aufwiesen, denen laut NCEP ein protektiver Effekt zuzuschreiben ist.

Gemäß der EAS sollten die Triglyceride unter 200 mg/dl liegen. Konzentrationen zwischen 200 und 500 mg/dl werden als moderat erhöht, solche über 500 mg/dl als stark erhöht angesehen. In unserer Studie zeigten sich bei 13 Patienten (52 %) Triglyceridwerte im empfohlenen Referenzbereich. Die Werte von 9 Probanden (36 %) ließen sich als moderat

erhöht einordnen, bei 3 Patienten (12 %) lagen die Konzentrationen jenseits der Grenze von 500 mg/dl und somit im stark erhöhten Bereich.

Insgesamt wurde bei etwa 75 % der Probanden eine befriedigende Einstellung des LDL- und HDL-Cholesterins erreicht. Die bei erhöhtem kardiovaskulärem Risikoprofil anzustrebenden Werte von <100 mg/dl LDL-Cholesterin wurden im Mittel knapp verfehlt. In diesen Fällen sollten alternative Konzepte, wie beispielsweise die Gabe des Cholesterin-Resorptionsinhibitors Ezetimib diskutiert werden (67, 68). Die zum Teil deutlich erhöhten Triglyceride fanden sich vor allem in der mit Sirolimus therapierten Patientengruppe. Die Hypertriglyceridämie ist hier als eigenständige Nebenwirkung des Immunsuppressivums beschrieben und erfordert gegebenenfalls den Einsatz ergänzender Medikamente wie Fenofibrat, das jedoch in Einzelfällen zum Auftreten eines akuten Nierenversagens führen kann und aus diesem Grund durchaus kontrovers zu diskutieren ist (69).

4.3 Einfluss der Immunsuppressiva auf Fluvastatin und Empfehlungen für die Therapie mit Statinen nach Nierentransplantation

In vielen Transplantationszentren werden bevorzugt Fluvastatin und Pravastatin aufgrund ihres günstigeren Interaktionspotentials, unter anderem auch nach Nierentransplantation, eingesetzt (62, 70-73). In der zugrundeliegenden Arbeit konnte gezeigt werden, dass weder Tacrolimus noch Sirolimus einen Einfluss auf den Fluvastatinspiegel besitzen. Die angegebenen AUC- und C_{max}-Werte von Fluvastatin (als 80 mg Retardkapsel) entsprechen dabei den Werten, die auch bei gesunden Testpersonen ohne Komedikation unter Steady State-Bedingungen erreicht werden (74).

Damit scheint eine Kombinationsbehandlung von Sirolimus bzw. Tacrolimus mit Fluvastatin im Hinblick auf mögliche Statin-Nebenwirkungen relativ sicher zu sein. Diese Schlussfolgerung entspricht auch der bisherigen klinischen Erfahrung und wird durch weitere pharmakokinetische Untersuchungen anderer Statine in Kombination mit Sirolimus, Everolimus und Tacrolimus bestätigt (47, 49-51, 54, 57, 59-63).

Zusammengefasst ergeben sich folgende Empfehlungen für den Einsatz verschiedener Statine bei nierentransplantierten Patienten:

Das Cytochrom P450 3A4-Substrat Lovastatin sollte bei geringerer Wirkungsstärke und einem hohen Interaktionspotential nicht mehr verwendet werden (31-34). Der Einsatz von Atorvastatin und Simvastatin als weitere CYP 3A4-Substrate erscheint selbst nach Dosisreduktion aus pharmakologischer Sicht nicht unbedenklich, da auch hier Interaktionen,

vor allem unter Begleitmedikation von Azolen, Makrolidantibiotika oder Verapamil, bis hin zu nachfolgenden Rhabdomyolysen beschrieben sind (30-41, 71, 72, 75-78). Der Einsatz dieser Lipidsenker mit hohem Interaktionspotential ist daher aus Sicht des Transplantationsmediziners nicht empfehlenswert bzw. nur dann gerechtfertigt, wenn eine Therapie mit Fluvastatin oder Pravastatin nicht effektiv durchgeführt werden kann. Alternativ ist in diesem speziellen Fall eine zusätzliche Gabe des Lipidsenkers Ezetimib zur Senkung des Cholesterins zu diskutieren. Aber auch hier sind Interaktionen keinesfalls ganz auszuschließen und daher wird beispielsweise zu Beginn einer Kombinationstherapie von Ezetimib mit Cyclosporin A eine Dosisreduktion von Ezetimib auf 5 mg/d empfohlen (67, 68). Ein sogenanntes Sicherheitsmonitoring der Statin-Nebenwirkungen muss am Tag 7 nach Erstgabe und anschließend alle 4 Wochen im Rahmen der Transplantationsnachsorge erfolgen. Das Monitoring muss ebenfalls die Kontrolle der Blutspiegel der verwendeten Calcineurin- oder mTOR-Inhibitoren beinhalten, da die Wechselwirkungen höchst komplex sind und die Patienten häufig mit mehr als 5-10 verschiedenen Medikamenten therapiert werden. Eine Myositis als Zeichen der statinbedingten Nebenwirkungen beginnt dabei schleichend und auch Erhöhungen der Creatinkinase (CK) entstehen nicht über Nacht, sondern entwickeln sich im Verlauf von Wochen bis Monaten. Eine gezielte Patientenanamnese ist neben der laborchemischen Verlaufskontrolle mit Bestimmung der CK-Werte ein wichtiger Bestandteil der Transplantationsnachsorge.

Nachdem ein Einfluss von Tacrolimus bzw. Sirolimus auf die Pharmakokinetik von Fluvastatin ausgeschlossen werden konnte, wurden die Daten beider Kollektive zusammengefasst betrachtet, um so eine höhere Aussagekraft bezüglich der weiteren Polymorphismus-Untersuchungen zu erreichen.

4.4 Einfluss von OATP-C (OATP1B1)-Polymorphismen auf Statine

Die Familie der OATPs stellt eine Gruppe von Genen dar, die einen aktiven Transport von Substanzen über Zellmembranen in verschiedenen Organen vermittelt. Je nach Subtyp werden sie unter anderem in Leber, Niere, Intestinum sowie im Gehirn exprimiert (79).

Zu den körpereigenen Substraten der OATPs zählen die endogen gebildeten Gallensäuren, Schilddrüsenhormone, Prostanoiden und Steroidhormone. Unter den von außen zugeführten Substraten befinden sich Digitalisglykoside, Angiotensin converting enzyme (ACE)-Hemmer und verschiedene Antibiotika. Daneben konnte auch die Gruppe der HMG-CoA-Reduktase-Inhibitoren, die Statine, als weiteres Substrat der OATPs identifiziert werden (80).

Von den zahlreichen OATP-Subtypen richteten wir in der vorliegenden Studie unser Augenmerk auf das OATP-C (OATP1B1), das in der basolateralen Membran der Hepatozyten lokalisiert ist (56). Neben Pravastatin und Cerivastatin konnte auch Pitavastatin als Substrat der OATP-C nachgewiesen werden (53, 55, 81).

MWINYI *et al.* untersuchten 2004 in einer weiteren Studie den möglichen Einfluss von OATP-C-Haplotypen auf die Pharmakokinetik von Pravastatin und stellten fest, dass die AUC₍₀₋₆₎ von Pravastatin bei Trägern des *5 (T521C)-Haplotyps signifikant höher war als die bei Patienten mit *1a oder *1b (A388G)-Haplotyp (79). Sie schlossen daraus, dass die Expression von *5 zu einer Verzögerung der hepatischen Aufnahme des Pravastatins führt, während ein Vorhandensein des *1b-Haplotyps diese zu beschleunigen scheint.

Die Untersuchung von NIEMI *et al.* bestätigte eine Assoziation von hohen Pravastatin-Konzentrationen und dem Vorhandensein bestimmter Haplotypen (82). Des Weiteren zeigten sie einen Zusammenhang zwischen Polymorphismen im OATP-C-Gen und der Pharmakokinetik von Pravastatin, indem sie nachwiesen, dass die AUC₍₀₋₁₂₎ bei Trägern des 11187 GA-Genotyps um 98 % höher lag als beim GG-Typ. Patienten mit einem 521 TC-Genotyp wiesen eine um 106 % höhere AUC als der homozygote TT-Typ auf.

TIRONA *et al.* demonstrierten 2001 die Abhängigkeit der SNP-Häufigkeit von der ethnischen Zugehörigkeit (83). Sie verglichen Amerikaner mit Amerikanern afrikanischer Herkunft und stellten fest, dass der SNP 388 AG mit einer Häufigkeit von 74 % bei Afro-Amerikanern und der 521 TC-Polymorphismus bei 14 % der untersuchten Amerikaner auftrat.

In der vorliegenden Studie untersuchten wir mögliche Wechselwirkungen zwischen Polymorphismen im Transporter-Gen OATP-C und der Pharmakokinetik von Fluvastatin. Unsere Ergebnisse lieferten keinen Anhalt für eine unterschiedliche Beeinflussung der Metabolisierung von Fluvastatin zwischen Trägern des OATP-C 521 TT-Genotyps oder CC-Genotyps. Ebenso wenig wurde die Verstoffwechslung des Statins vom Vorhandensein des OATP-C 388 AA oder -GG beeinflusst. Es lässt sich somit sagen, dass in unserer Studie die pharmakokinetischen Parameter von Fluvastatin im Gegensatz zu denen anderer Lipidsenker keine Abhängigkeit von Polymorphismen im OATP-C-Gen aufwiesen. Dies steht im Einklang mit kürzlich erschienenen Publikationen, in denen eine Einflussnahme von OATP-C-Polymorphismen auf die Pharmakokinetik von Fluvastatin ebenfalls nicht nachgewiesen werden konnte (84-86).

4.5 Bedeutung der CYP 2C9-Polymorphismen

Um Verfälschungen der pharmakokinetischen Ergebnisse vorzubeugen, wurden die Patienten auch hinsichtlich des Vorhandenseins eines CYP 2C9 *1/*3-Genotyps untersucht, der sich bei 2 Patienten (8 %) nachweisen ließ. Die mittlere Fluvastatin-AUC(0-12) bei den Trägern des CYP 2C9 *1/*3-Genotyps lag, wie bereits in der Literatur von KIRCHHEINER *et al.* beschrieben, signifikant höher verglichen mit den Ergebnissen beim Wildtyp (87). Auf die weitere Auswertung der pharmakokinetischen Parameter hatten diese Patienten keinen Einfluss.

5 Zusammenfassung

Eine Triple-Therapie, bestehend aus einem Calcineurin- oder mTOR-Inhibitor, einem DNA-Synthesehemmstoff und einem Kortikosteroid stellt in vielen Universitäten die Standardtherapie nach Nierentransplantation dar. Calcineurin- bzw. mTOR-Inhibitoren werden über das Cytochrom P450 3A4-System metabolisiert. Dabei besteht die Gefahr, dass es zu Interaktionen mit Medikamenten wie z.B. Antibiotika oder Statinen kommen kann, die über den gleichen Metabolisierungsweg verfügen. Zusätzliche Bedeutung für eine Interaktion mit Statinen scheinen auch P-Glycoproteine bzw. Organische-Anion-Transportierende Polypeptide (OATP-Cs) zu besitzen, so dass auch Substanzen ohne Verstoffwechslung über das Cytochrom P450 3A4-System mit den genannten Immunsuppressiva interagieren können. Klassischerweise beeinflusst dabei die Komedikation die Blutspiegel der Immunsuppressiva. Diese Interaktion ist für den klinischen Verlauf nach Transplantation von wesentlicher Bedeutung, besonders hinsichtlich des Nebenwirkungspotentials der Immunsuppressiva. Wechselwirkungen, die nur die Blutspiegel der Komedikation erhöhen, sind deutlich seltener beschrieben. Für einzelne Substanzen aus der Gruppe der Statine konnte allerdings genau dieser Interaktionstyp, vor allem in Kombination mit Cyclosporin A, nachgewiesen werden, der in Einzelfällen zu klinisch relevanten Myopathien bis hin zu Rhabdomyolysen führte.

In der vorliegenden Untersuchung wurde diesbezüglich geprüft, ob die Kombination von Tacrolimus bzw. Sirolimus mit Fluvastatin einen Einfluss auf die Pharmakokinetik des Lipidsenkens besitzt. Um Verfälschungen der Ergebnisse zu vermeiden, wurde zusätzlich der Einfluss von Polymorphismen im OATP-C-Gen sowie im CYP 2C9-System untersucht, unter dem es gleichermaßen zu Veränderungen der Statin-Blutspiegel kommen kann.

25 Patienten im Alter von $54,2 \pm 13,1$ Jahren, aufgeteilt in 2 Behandlungsgruppen (Tacrolimus (n = 15), Sirolimus (n = 10)) nahmen an unserer Studie teil. Für die Bestimmung der pharmakokinetischen Parameter von Fluvastatin ($AUC_{(0-12)}$, dosisangepasste AUC, $t_{1/2}$, T_{max} , C_{max} und Clearance) konnten die Daten von n = 22 Probanden ausgewertet werden.

Bei gesunden Probanden unter einer Fluvastatin-Monotherapie fanden sich vergleichbare Ergebnisse wie bei Patienten unter einer Kombinationsbehandlung von Fluvastatin mit Tacrolimus bzw. Sirolimus. Somit konnte diese Arbeit erstmals nachweisen, dass kein Einfluss der verwendeten Immunsuppressiva auf die Pharmakokinetik von Fluvastatin

(Locol[®], eingesetzt in Form von 80 mg Retardtabletten) besteht. Folglich unterscheiden sich die nach Transplantation einsetzbaren Calcineurininhibitoren (Cyclosporin A, Tacrolimus) bezüglich ihres Interaktionspotentials, da unter Cyclosporin A eine mehrfache Erhöhung der Fluvastatin-Bluttalspiegel bekannt geworden ist.

Die nierentransplantierten Patienten unserer Studie wurden außerdem im Hinblick auf vorhandene Gen-Polymorphismen des OATP-C (388 A>G; 521 T>C; 11187 G>A) sowie des CYP 2C9-Enzyms untersucht, da hier ein Einfluss auf die Bluttalspiegel einzelner Statine beschrieben worden ist.

In Analogie zu anderen publizierten Untersuchungen ließ sich auch in der vorliegenden Arbeit kein Zusammenhang zwischen OATP-C-Polymorphismen und den Blutsiegeln von Fluvastatin nachweisen.

Der Effekt des CYP 2C9 *1/*3-Genotyps war bereits bekannt und wurde durch unsere Studie erneut bestätigt.

Zusammenfassend bestätigen unsere Untersuchungen, dass Calcineurin- und mTOR-Inhibitoren ein unterschiedliches Interaktionspotential mit den auf dem Markt befindlichen Statinen besitzen. Dabei zeigen unsere Studienergebnisse, dass unter einer Kombinationstherapie von Fluvastatin mit Tacrolimus bzw. Sirolimus kein klinisch relevantes Wechselwirkungspotential besteht. Soweit derzeit beschrieben, scheinen Tacrolimus und mTOR-Inhibitoren (Sirolimus, Everolimus) im Gegensatz zu Cyclosporin A ein geringeres Interaktionspotential mit Statinen zu besitzen.

6 Literaturverzeichnis

- 1 **WEBSTER AC, WOODROFFE RC, TAYLOR RS, CHAPMAN JR, CRAIG JC (2005)**
Tacrolimus versus cyclosporine as primary immunosuppression for kidney transplant recipients: meta-analysis and meta-regression of randomised trial data. *BMJ* **331**: 810
- 2 **DABROWSKA-ZAMOJCIN E, PAWLIK A, DOMANSKI L, ROZANSKI J, DROZDIK M (2005)**
Cyclosporine and sirolimus interaction in a kidney transplant patient. *Transplant Proc* **37**: 2317-2319
- 3 **BUDDE K, GIESSING M, LIEFELDT L, NEUMAYER HH, GLANDER P (2006)**
Modern immunosuppression following renal transplantation standard or tailored medication? *Urologe A* **45**: 9-17
- 4 **SEWING KF (1994)**
Pharmacokinetics, dosing principles and blood level monitoring of FK506. *Transplant Proc* **26**: 3267-3269
- 5 **LUKAS JC, SUAREZ AM, VALVERDE MP, CALVO MV, LANAO JM, CALVO R, ET AL. (2005)**
Time-dependent pharmacokinetics of cyclosporine (Neoral[®]) in de novo renal transplant patients. *J Clin Pharm Ther* **30**: 549-557
- 6 **ZIMMERMAN JJ, KAHAN BD (1997)**
Pharmacokinetics of sirolimus in stable renal transplant patients after multiple oral dose administration. *J Clin Pharmacol* **37**: 405-415
- 7 **BUDDE K, FRITSCH L, WAISER J, GLANDER P, SLOWINSKI T, NEUMAYER HH (2005)**
Pharmacokinetics of the immunosuppressant everolimus in maintenance renal transplant patients. *Eur J Med Res* **10**: 169-174

-
- 8 **GALLANT-HAIDNER HL, TREPANIER DJ, FREITAG DG, YATSCOFF RW (2000)**
Pharmacokinetics and metabolism of sirolimus. *Ther Drug Monit* **22**: 31-35

 - 9 **KOVARIK JM, TEDESCO H, PASCUAL J, CIVATI G, BIZOT MN, GEISSLER J, ET AL. (2004)**
Everolimus therapeutic concentration range defined from a prospective trial with reduced-exposure cyclosporine in de novo kidney transplantation. *Ther Drug Monit* **26**: 499-505

 - 10 **BIRSAN T, LOINIG C, BODINGBAUER M, WEKERLE T, ROCKENSCHAUB S, BERLAKOVICH G, ET AL. (2004)**
Comparison between C0 and C2 monitoring in de novo renal transplant recipients: retrospective analysis of a single-center experience. *Transplantation* **78**: 1787-1791

 - 11 **CHRISTIANS U, SEWING KF (1993)**
Cyclosporine metabolism in transplant patients. *Pharmacol Ther* **57**: 291-345

 - 12 **LAMPEN A, CHRISTIANS U, GÜNGERICH FP, WATKINS PB, KOLARS JC, BADER A, GONSCHIOR AK, DRALLE H, HACKBARTH I, SEWING KF (1995)**
Metabolism of the immunosuppressant tacrolimus in the small intestine; cytochrome P450, drug interactions, and interindividual variability. *Drug Metab Dispos* **23**: 1315-1324

 - 13 **JACOBSEN W, SERKOVA N, HAUSEN B, MORRIS RE, BENET LZ, CHRISTIANS U (2001)**
Comparison of the in vitro metabolism of the macrolide immunosuppressants sirolimus and RAD. *Transplant Proc* **33**: 514-515

 - 14 **RENDERS L, FRISMAN M, UFER M, MOSYAGIN I, HAENISCH S, OTT U, CALIEBE A, DECHANT M, BRAUN F, KUNZENDORF U, CASCORBI I (2007)**
CYP 3A5 genotype markedly influences the pharmacokinetics of tacrolimus and sirolimus in kidney transplant recipients. *J Clin Pharm Ther* **81** (2):1-7

 - 15 **SAEKI T, UEDA K, TANIGAWARA Y, HORI R, KOMANO T (1993)**
Human p-glycoprotein transports cyclosporine A and FK 506. *J Biol Chem* **268**: 6077-6080

-
- 16 **CROWE A, LEMAIRE M (1998)**
In vitro and in situ absorption of SDZ-RAD using a human intestinal cell line (caco-2) and a single pass perfusion model in rats: comparison with rapamycin. *Pharm Res* **15**: 1666-1672
- 17 **SIEGMUND W, CASCORBI I, WEITSCHIES W, KROEMER HK (2003)**
Arzneimitteltransporter, Bedeutung für die Klinik. *Internist* **44**: 219-226
- 18 **HAGENBUCH B, MEIER PJ (2004)**
Organic anion transporting polypeptides of the OATP/ SLC21 family: phylogenetic classification as OATP/ SLCO superfamily, new nomenclature and molecular/ functional properties. *Pflugers Arch* **447**: 653-665
- 19 **KIM RB, WANDEL C, LEAKE B ET AL. (1999)**
Interrelationship between substrates and inhibitors of human CYP 3A4 and p-glycoprotein. *Pharm Res* **16**: 408-414
- 20 **JONES TE, MORRIS RG, MATHEW TH (1997)**
Diltiazem-cyclosporine pharmacokinetic interaction-dose-response relationship. *Br J Clin Pharmacol* **44**: 499-504
- 21 **JENSEN C, JORDAN M, SHAPIRO R, SCANTLEBURY V, HAKALA T, FUNG J, ET AL. (1994)**
Interaction between tacrolimus and erythromycin. *Lancet* **344**: 825
- 22 **AAKHUS S, DAHL K, WIDEROE TE (1996)**
Hyperlipidemia in renal transplant patients. *J Intern Med* **239** (5): 407-415
- 23 **COLVIN RB (2003)**
Chronic allograft nephropathy. *N Engl J Med* **349**: 2288-2290
- 24 **LENTINE KL, BRENNAN DC (2004)**
Statin use after renal transplantation: a systematic quality review of trial-based evidence. *Nephrol Dial Transplant* **19**: 2378-2386

-
- 25 **JAMAL SM, EISENBERG MJ, CHRISTOPOULOS S (2004)**
Rhabdomyolysis associated with hydroxymethylglutaryl-coenzyme A reductase inhibitors. *Am Heart J* **147**: 956-965
- 26 **TACHIBANA-IIMORI R, TABARA Y, KUSUHARA H, KOHARA K, KAWAMOTO R ET AL. (2004)**
Effect of genetic polymorphism of OATP-C (SLCO1B1) on lipid-lowering response to HMG-CoA reductase inhibitors. *Drug Metab Pharmacokin* **19** (5): 375-380
- 27 **GARCIA MJ, REINOSO RF, SANCHEZ NAVARRO Q, PROUS JR (2003)**
Clinical pharmacokinetics of statins. *Methods Find Exp Clin Pharmacol* **25** (6): 457-481
- 28 **FISCHER V, JOHANSON L, HEITZ F, TULLMAN R, GRAHAM E, BALDECK JP ET AL. (1999)**
The 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase inhibitor fluvastatin: effect on human cytochrome P-450 and implications for metabolic drug interactions. *Drug Metab Dispos* **27** (3): 410-416
- 29 **NEUVONEN PJ, KANTOLA T, KIVISTÖ KT (1998)**
Simvastatin but not pravastatin is very susceptible to interaction with the CYP 3A4 inhibitor itraconazole. *Clin Pharmacol Ther* **63**: 332-341
- 30 **MAZZU AL, LASSETER KC, SHAMBLEN EC, AGARWAL V, LETTIERI J, SUNDARESEN P (2000)**
Itraconazole alters the pharmacokinetics of atorvastatin to a greater extent than either cerivastatin or pravastatin. *Clin Pharmacol Ther* **68**: 391-400
- 31 **HERMANN M, ASBERG A, CHRISTENSEN H, HOLDAAS H, HARTMANN A, REUBSAET JL (2004)**
Substantially elevated levels of atorvastatin and metabolites in cyclosporine-treated renal transplant recipients. *Clin Pharmacol Ther* **76**: 388-391

-
- 32 **ASBERG A, HARTMANN A, FJELDSA E, BERGAN S, HOLDAAS H (2001)**
Bilateral pharmacokinetic interaction between cyclosporine and atorvastatin in renal transplant recipients. *Am J Transplant* **1**: 382-386
- 33 **MUCK W, MAI I, FRITSCH L, OCHMANN K, ROHDE G, UNGER S, ET AL. (1999)**
Increase in cerivastatin systemic exposure after single and multiple dosing in cyclosporine-treated kidney transplant recipients. *Clin Pharmacol Ther* **65**: 251-261
- 34 **OLBRICHT C, WANNER C, EISENHAUER T, KLIEM V, DOLL R, BODDAERT M, ET AL. (1997)**
Accumulation of lovastatin, but not pravastatin, in the blood of cyclosporine-treated kidney graft patients after multiple doses. *Clin Pharmacol Ther* **62**: 311-321
- 35 **ICHIMARU N, TAKAHARA S, KOKADO Y, WANG JD, HATORI M, KAMEOKA H, ET AL. (2001)**
Changes in lipid metabolism and effect of simvastatin in renal transplant recipients induced by cyclosporine or tacrolimus. *Atherosclerosis* **158**: 417-423
- 36 **RENDERS L, HAAS CS, LIEBELT J, OBERBARNSCHEID M, SCHÖCKLMANN HO, KUNZENDORF U (2003)**
Tacrolimus and cerivastatin pharmacokinetics, efficacy and safety after single and multiple dosing of cerivastatin in renal transplant recipients. *Br J Clin Pharmacol* **56**: 214-219
- 37 **KOVARIK JM, HARTMANN S, HUBERT M, BERTHIER S, SCHNEIDER W, ROSENKRANZ B, ET AL. (2002)**
Pharmacokinetic and pharmacodynamic assessments of HMG-CoA reductase inhibitors when coadministered with everolimus. *J Clin Pharmacol* **42**: 222-228
- 38 **KIVISTÖ KT, ZUKUNFT J, HOFMANN U, NIEMI M, REKERSBRINK S, SCHNEIDER S, LUIPPOLD G, SCHWAB M, EICHELBAUM M, FROMM MF (2004)**
Characterisation of cerivastatin as a p-glycoprotein substrate: studies in p-glycoprotein-expressing cell monolayers and mdr1a/b knock-out mice. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol* **370**: 124-130

-
- 39 **WU X, WHITFIELD LR, STEWART BH (2000)**
Atorvastatin transport in the caco-2 cell model: contributions of p-glycoprotein and the proton-monocarboxylic acid co-transporter. *Pharm Res* **17**: 209-215
- 40 **YAMAZAKI M, SUZUKI H, SUGIYAMA Y (1996)**
Recent advances in carrier-mediated hepatic uptake and biliary excretion of xenobiotics. *Pharm Res* **13**: 497-513
- 41 **HATANAKA T (2000)**
Clinical pharmacokinetics of pravastatin: mechanisms of pharmacokinetic events. *Clin. Pharmacokin* **39**: 397-412
- 42 **SHITARA Y, ITOH T, SATO H, LI AP, SUGIYAMA Y (2003)**
Inhibition of transporter-mediated hepatic uptake as a mechanism for drug-drug interaction between cerivastatin and cyclosporine. *J Pharmacol Exp Ther* **304** (2): 610-616
- 43 **PARK JW, SIEKMEIER R, LATTKE P, MERZ M, MIX C, SCHULER S, ET AL. (2001)**
Pharmacokinetics and pharmacodynamics of fluvastatin in heart transplant recipients taking cyclosporine A. *J Cardiovasc Pharmacol Ther* **6**: 351-361
- 44 **HIRANO M, MAEDA K, SHITARA Y, SUGIYAMA Y (2004)**
Contribution of OATP2 (OATP1B1) and OATP8 (OATP1B3) to the hepatic uptake of pitavastatin in humans. *J Pharmacol Exp Ther* **311** (1): 139-146
- 45 **HSIANG B, ZHU Y, WANG Z, WU Y, SASSEVILLE V, YANG WP, KIRCHGESSNER TG (1999)**
A novel human hepatic organic anion transporting polypeptide (OATP2). *J Biol Chem* **274**: 37161-37168
- 46 **HEDMAN M, NEUVONEN PJ, NEUVONEN M, HOLMBERG C, ANTIKAINEN M (2004)**
Pharmacokinetics and pharmacodynamics of pravastatin in pediatric and adolescent cardiac transplant recipients on a regimen of triple immunosuppression. *Clin Pharmacol Ther* **75**: 101-109

-
- 47 **REGAZZI MB, IACONA I, CAMPANA C, RADDATO V, LESI C, ET AL. (1993)**
Altered disposition of pravastatin following concomitant drug therapy with cyclosporine in transplant recipients. *Transplant Proc* **25**: 2732-2734
- 48 **ALEJANDRO DS, PETERSEN J (1994)**
Myoglobinuric acute renal failure in a cardiac transplant patient taking lovastatin and cyclosporine. *J Am Soc Nephrol* **5**: 153-160
- 49 **CHU PH, CHEN WJ, CHIANG CW, LEE YS (1997)**
Rhabdomyolysis, acute renal failure and hepatopathy induced by lovastatin monotherapy. *Jpn Heart J* **38**: 541-545
- 50 **CORPIER CL, JONES PH, SUKI WN, LEDERER ED, QUINONES MA, SCHMIDT SW, ET AL. (1988)**
Rhabdomyolysis and renal injury with lovastatin use. Report of two cases in cardiac transplant recipients. *Jama* **260**: 239-241
- 51 **EAST C, ALIVIZATOS PA, GRUNDY SM, JONES PH, FARMER JA (1988)**
Rhabdomyolysis in patients receiving lovastatin after cardiac transplantation. *N Engl J Med* **318**: 47-48
- 52 **WEISE WJ, POSSIDENTE CJ (2000)**
Fatal rhabdomyolysis associated with simvastatin in a renal transplant patient. *Am J Med* **108**: 351-352
- 53 **GUMPRECHT J, ZYCHMA M, GRZESZCZAK W, KUZNIEWICZ R, BURAK W, ZYWIEC J, ET AL. (2003)**
Simvastatin-induced rhabdomyolysis in a cyclosporine-treated renal transplant recipient. *Med Sci Monit* **9**: CS89-91
- 54 **TONG J, LAPORT G, LOWSKY R (2005)**
Rhabdomyolysis after concomitant use of cyclosporine and simvastatin in a patient transplanted for multiple myeloma. *Bone Marrow Transplant* **36**: 739-740

-
- 55 **VLAHAKOS DV, MANGINAS A, CHILIDOU D, ZAMANIK A, ALIVIZATOS PA (2002)**
Itraconazole-induced rhabdomyolysis and acute renal failure in a heart transplant recipient treated with simvastatin and cyclosporine. *Transplantation* **73**: 1962-1964
- 56 **MAXA JL, MELTON LB, OGU CC, SILLS MN, LIMANNI A (2002)**
Rhabdomyolysis after concomitant use of cyclosporine, simvastatin, gemfibrozil, and itraconazole. *Ann Pharmacother* **36**: 820-823
- 57 **WOMBOLT DG, JACKSON A, PUNN R, SMITH S, MCCUNE TR, WILLIAMS PB (1999)**
Case report: rhabdomyolysis induced by mibefradil in a patient treated with cyclosporine and simvastatin. *J Clin Pharmacol* **39**: 310-312
- 58 **CHIFFOLEAU A, TROCHU JN, VEYRAC G, PETIT T, ABADIE P, BOURIN M, ET AL. (2003)**
Rhabdomyolysis in cardiac transplant recipient due to verapamil interaction with simvastatin and cyclosporine treatment. *Therapie* **58**: 168-170
- 59 **STAFFA JA, CHANG J, GREEN L (2002)**
Cerivastatin and reports of fatal rhabdomyolysis. *N Engl J Med* **346**: 539-540
- 60 **FUHRMANS V (2002)**
Bayer discloses higher death toll from Baycol[®]. *Wall Street J* **21**: A10
- 61 **RODRIGUEZ ML, MORA C, NAVARRO JF (2000)**
Cerivastatin-induced rhabdomyolysis. *Ann Intern Med* **132**: 598
- 62 **RENDERS L, CZOCK D, SCHÖCKLMANN HO, KUNZENDORF U (2003)**
Pharmacokinetics of cerivastatin in combination with sirolimus and cyclosporine in patients with kidney transplants. *Int J Clin Pharmacol Ther* **4**: 499-503
- 63 **RENDERS L, MAYER-KADNER I, KOCH CH, SCHÄRFFE S, BURKHARDT K, VEELKEN R, SCHMIEDER R, HAUSER IA (2001)**
Efficacy, safety and drug-interactions of the new HMG-CoA reductase inhibitors cerivastatin and atorvastatin in cyclosporine-treated renal transplant recipients. *Nephrol Dial Transplant* **16**: 141-146

-
- 64 **AL RAWITHI S, HUSSEIN RF, ALZHRANI A. (2003)**
Sensitive assay for the determination of fluvastatin in plasma utilizing high-performance liquid chromatography with fluorescence detection. *Ther Drug Monit* **25** (1): 88-92
- 65 **SCHWANDT P, RICHTER WO (1995)**
Handbuch der Fettstoffwechselstörungen. *Schattauer Verlag Stuttgart, New York*
- 66 **NATIONAL CHOLESTEROL EDUCATION PROGRAM (1994)**
Second report of the expert panel on detection, evaluation and treatment of high blood cholesterol in adults. *Circulation* **89** (3): 1333-1445
- 67 **ITO MK (2005)**
Comment: suprathreshold response to ezetimibe administered with cyclosporine. *Ann Pharmacother* **39**: 2141
- 68 **PUTHENPARUMPIL JJ, KEOUGH-RYAN T, KIBERD M, LAWEN J, KIBERD BA (2005)**
Treatment of hypercholesterolemia with ezetimibe in the kidney transplant population. *Transplant Proc* **37**: 1033-1035
- 69 **ANGELES C, LANE BP, MILLER F, NORD EP (2004)**
Fenofibrate-associated reversible acute allograft dysfunction in 3 renal transplant recipients: biopsy evidence of tubular toxicity. *Am J Kidney Dis* **44** (3): 543-550
- 70 **HOLDAAS H, FELLSTROM B, COLE E, NYBERG G, OLSSON AG, PEDERSEN TR, ET AL. (2005)**
Long-term cardiac outcomes in renal transplant recipients receiving fluvastatin: the ALERT extension study. *Am J Transplant* **5**: 2929-2936
- 71 **ASBERG A (2003)**
Interactions between cyclosporine and lipid-lowering drugs: implications for organ transplant recipients. *Drugs* **63**: 367-378

-
- 72 **CHRISTIANS U, JACOBSEN W, FLOREN LC (1998)**
Metabolism and drug interactions of 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase inhibitors in transplant patients: are the statins mechanistically similar? *Pharmacol Ther* **80**: 1-34
- 73 **KEOGH A, MACDONALD P, KAAAN A, ABOYOUN C, SPRATT P, MUNDY J (2000)**
Efficacy and safety of pravastatin vs simvastatin after cardiac transplantation. *J Heart Lung Transplant* **19**: 529- 537
- 74 **PRASAD PP, STYPINSKI D, VYAS KH, GONASUN L (2004)**
Lack of interaction between modified-release fluvastatin and amlodipine in healthy subjects. *Clinical Drug Investigation* **24** (6): 323-333
- 75 **SOCHMAN J, PODZIMKOVA M (2005)**
Not all statins are alike: induced rhabdomyolysis on changing from one statin to another one. *Int J Cardiol* **99**: 145-146
- 76 **STIRLING CM, ISLES CG (2001)**
Rhabdomyolysis due to simvastatin in a transplant patient: are some statins safer than others? *Nephrol Dial Transplant* **16**: 873-874
- 77 **KOTANKO P, KIRISITS W, SKRABAL F (2002)**
Rhabdomyolysis and acute renal graft impairment in a patient treated with simvastatin, tacrolimus, and fusidic acid. *Nephron* **90**: 234-235
- 78 **WONG WM, WAI-HUNG SHEK T, CHAN KH, CHAU E, LAI KC (2004)**
Rhabdomyolysis triggered by cytomegalovirus infection in a heart transplant patient on concomitant cyclosporine and atorvastatin therapy. *J Gastroenterol Hepatol* **19**: 952-953
- 79 **MWINYI J, JOHNE A, BAUER S, ROOTS I, GERLOFF T (2004)**
Evidence for inverse effects of OATP-C (SLC21A6) *5 and *1b haplotypes on pravastatin kinetics. *Clin Pharmacol Ther* **75** (5): 415-421

-
- 80 **MIKKAICHI T, SUZUKI T, TANEMOTO M, ITO S, ABE T (2004)**
The organic anion transporter (OATP-C) family. *Drug Meta Pharmacokin* **19** (3): 171-179
- 81 **NAKAI D, NAKAGOMI R, FURUTA Y, TOKUI T, ABE T, IKEDA T ET AL. (2001)**
Human liver-specific organic anion transporter, LST-1, mediates uptake of pravastatin by human hepatocytes. *J Pharmacol Exp Ther* **297** (3): 861-867
- 82 **NIEMI M, SCHAEFFELER E, LANG T, FROMM MF, NEUVONEN M ET AL. (2004)**
High plasma pravastatin concentrations are associated with single nucleotide polymorphisms and haplotypes of organic anion transporting polypeptide-C (OATP-C, SLCO1B1). *Pharmacogenetics* **14**: 429-440
- 83 **TIRONA RG, LEAKE BF, MERINO G, KIM RB. (2001)**
Polymorphisms in OATP-C. *J Biol Chem* **276** (38): 35669-35675
- 84 **IEIRI I, HIGUCHI S, SUGIYAMA Y (2009)**
Genetic polymorphisms of uptake (OATP1B1, 1B3) and efflux (MRP2, BCRP) transporters: implications for inter-individual differences in the pharmacokinetics and pharmacodynamics of statins and other clinically relevant drugs. *Expert Opin Drug Metab Toxicol* **5** (7): 703-729
- 85 **KALLIOKOSKI A, NIEMI M (2009)**
Impact of OATP transporters on pharmacokinetics. *Br J Pharmacol* **158** (3): 693-705
- 86 **KESKITALO JE, KURKINEN KJ, NEUVONEN M, BACKMAN JT, NEUVONEN PJ, NIEMI M (2009)**
No significant effect of ABCB1 haplotypes on the pharmacokinetics of fluvastatin, pravastatin, lovastatin, and rosuvastatin. *Br J Clin Pharmacol* **68** (2): 207-213
- 87 **KIRCHHEINER J, KUDLICZ D, MEISEL C, BAUER S, MEINEKE I, ROOTS I, BROCKMÖLLER J (2003)**
Influence of CYP 2C9 polymorphisms on the pharmacokinetics and cholesterol-lowering activity of (-)-3S,5R-fluvastatin and (+)-3R,5S-fluvastatin in healthy volunteers. *Clin Pharmacol Ther* **74** (2): 186-194

7 Anhang

7.1 Patientenaufklärung

Untersuchungen von Wechselwirkungen der Medikamente Sirolimus bzw. Tacrolimus und Fluvastatin nach Nierentransplantation

Sehr geehrte Patientin, sehr geehrter Patient,

Sie sind nierentransplantiert und werden derzeit mit den Medikamenten Rapamune® (Sirolimus) bzw. Prograf® (Tacrolimus) als sogenannte Immunsuppressiva zum Schutz der Niere vor einer Abstoßungsreaktion behandelt. Zusätzlich erhalten Sie einen sogenannten Fettsenker (Locol® (Fluvastatin)), der dazu dient, die ggf. vorhandenen erhöhten Blutfette zu erniedrigen. Auch wenn diese Therapieform seit längerem bekannt ist und durchgeführt wird, wissen wir derzeit nur wenig, in wie weit sich die oben genannten Medikamente gegenseitig im Blut beeinflussen. Hiermit möchten wir Sie bitten, an einer Blutuntersuchung teilzunehmen, die von der Klinik für Nieren- und Hochdruckkrankheiten des Universitätsklinikums Schleswig-Holstein, Campus Kiel, durchgeführt wird.

Die Teilnahme an der Blutuntersuchung ist dabei immer freiwillig und kann jederzeit ohne Angabe von Gründen durch Sie beendet werden, ohne dass Ihnen dadurch Nachteile in Ihrer medizinischen Betreuung entstehen.

Untersuchungen dieser Art sind notwendig, um verlässliche neue medizinische Forschungsergebnisse zu gewinnen. Notwendige Voraussetzung für die Durchführung dieser Untersuchung ist jedoch, dass Sie Ihr Einverständnis zur Teilnahme an dieser Untersuchung schriftlich erklären. Bitte lesen Sie den folgenden Text als Ergänzung zum Informationsgespräch mit Ihrem Arzt sorgfältig durch und zögern Sie bitte nicht, Fragen zu stellen.

Ziel der Untersuchung:

Mit der engmaschigen Messung der Blutspiegel der Medikamente Sirolimus bzw. Tacrolimus und Fluvastatin im Zeitraum über 12 Stunden mit einer zusätzlichen Blutentnahme nach 24 Stunden soll untersucht werden, ob über die Zeit im Vergleich zu vorhandenen Daten aus Voruntersuchungen ähnliche oder andere Medikamentenblutspiegelkurven nachgewiesen werden können. Da erhöhte oder erniedrigte Blutspiegel dieser Medikamente auch in Abhängigkeit von Ihren Stoffwechsellzymen (u.a. sogenannte Cytochrom P450-Enzyme) variieren können, werden diese Stoffwechsellzyme einmalig auch anhand einer Blutprobe untersucht.

Ablauf der Untersuchung:

Nach dieser Aufklärung werden in einer sogenannten Screeningphase Daten aus der Ambulanzakte erhoben (zur Person und Laborwerte). Nach Kontrolle der Ein- und Ausschlusskriterien, Ihr Einverständnis vorausgesetzt, werden für diese Untersuchung an einem vereinbarten Tag die Medikamentenblutspiegel von Sirolimus bzw. Tacrolimus und Fluvastatin über 12 Stunden (Blutentnahme vor Einnahme der Tabletten und 30, 60, 90 Minuten nach Tabletteneinnahme sowie nach 2, 3, 4, 6, 8, 9, 10, 11, 12 und ggf. nochmals nach 24 Stunden) gemessen (Tag 1).

Insgesamt erfolgen 13 Blutentnahmen über eine Kunststoffverweilkanüle, die mindestens einmal am Tag 1 gelegt werden muss. Ca. 2 Wochen später erfolgt nochmals eine Kontrollblutuntersuchung, bei der zusätzlich auch die Enzymaktivität des Cytochrom P450-Enzyms gemessen werden soll. Die Gesamtmenge des entnommenen Blutes beträgt ca. 120 ml innerhalb von 3 Wochen.

Mögliche Risiken durch Teilnahme an dieser Untersuchung:**a) Blutentnahme:**

Durch die Punktion einer Vene und das Legen einer sogenannten Venenverweilkanüle können Infekte und lokale Blutungen auftreten. Dabei kann es zu einer Venenentzündung kommen. Die Blutentnahme kann unter Umständen etwas schmerzhaft sein.

b) Medikamente:

Für die Untersuchung werden keine neuen, Ihnen nicht vertraute Medikamente angesetzt, so dass keine durch die Untersuchung bedingten zusätzlichen medikamentösen Risiken bestehen. Da Nebenwirkungen durch Fettsenker im Bereich der Muskeln aber nicht grundsätzlich

ausgeschlossen werden können, werden Sie im Rahmen der Untersuchungen überwacht. Sollte während der Untersuchung eine außergewöhnliche Muskelschwere, zunehmende Schmerzen in den Beinen oder ein roter Urin von Ihnen beobachtet werden, so sollten Sie unverzüglich Kontakt mit dem Arzt aufnehmen, um die Ursache zu klären. Die Beschwerden entwickeln sich dabei selten innerhalb eines Tages sondern über mehrere Tage bis Wochen. In sehr seltenen Fällen sind unter einer Therapie mit Fettsenkern, zu denen auch Fluvastatin gehört, schwere Muskelentzündungen, Nierenversagen sowie Todesfälle beschrieben worden. Da Sie den Fettsenker allerdings schon über 3 Monate vertragen haben, sind entsprechende Nebenwirkungen sehr unwahrscheinlich.

Datenschutz:

Die gesetzlichen Datenschutzbestimmungen werden eingehalten. Sofern und soweit Sie einwilligen, werden die im Rahmen der Untersuchung erhobenen medizinischen Daten getrennt von Ihren persönlichen Angaben (z.B. Name, Geburtsdatum, Geschlecht) aufgezeichnet und mit einem verschlüsselten Code versehen, der nur Ihrem Arzt die Zuordnung der medizinischen Daten zu Ihrer Person ermöglicht.

Die Weitergabe der Daten erfolgt ausschließlich zu statistischen Zwecken und Sie werden ausnahmslos darin nicht namentlich genannt.

Die Ergebnisse der Untersuchung werden ohne Bezugsmöglichkeit auf Ihre Person voraussichtlich in einer medizinischen Fachzeitschrift veröffentlicht.

Versicherung:

Eine Versicherung für die Blutentnahmen besteht nicht. Bei im Rahmen der Blutabnahme entstandenen Komplikationen ist der entsprechende Arzt selbstverständlich haftpflichtversichert.

Fragerecht / Mitteilungspflicht:

Für weitere Fragen im Zusammenhang mit dieser Untersuchung stehen Ihnen Ihr behandelnder Arzt und seine Mitarbeiter gern zur Verfügung. Auch Fragen, die Ihre Rechte als Patient und Teilnehmer an dieser Untersuchung betreffen, werden Ihnen gerne beantwortet.

Name / Anschrift der Kontaktperson:.....

Ständig erreichbar unter:.....

Bitte denken Sie auch daran, dass Sie den Anweisungen des Arztes während der Untersuchung folgen und ihn über jegliche Veränderungen Ihres Gesundheitszustandes unverzüglich unterrichten müssen. Gleiches gilt für eingetretene Schwangerschaften, nicht untersuchungsbedingte ärztliche Maßnahmen und andere Maßnahmen, die Ihre Teilnahme an der Untersuchung beeinflussen können.

Freiwilligkeit der Teilnahme:

Sie sind berechtigt, jederzeit ohne Angabe von Gründen über Ihre Teilnahme zu entscheiden bzw. die Therapie zu beenden und aus der Untersuchung auszuschneiden, ohne dass Ihnen dadurch irgendwelche Nachteile entstehen. Dies beeinflusst in keiner Weise Ihr Verhältnis zu Ihrem betreuenden Arzt oder Ihre übliche ärztliche Versorgung. Bevor Sie die Untersuchung abbrechen, sollten Sie dies mit Ihrem behandelnden Arzt besprechen, damit er Sie über mögliche medizinische Konsequenzen informieren kann. Andererseits kann auch der Sie betreuende Arzt die Behandlung abbrechen, falls Gründe der Arzneimittelsicherheit dafür sprechen.

7.2 Patienteneinwilligung

Untersuchungen von Wechselwirkungen der Medikamente Sirolimus bzw. Tacrolimus und Fluvastatin nach Nierentransplantation

Hiermit erteile ich,, geboren am, die Zustimmung zur Teilnahme an der Blutspiegeluntersuchung nach Nierentransplantation.

Ich bin über diese Untersuchung von meinem behandelnden Arzt

Herrn / Frau umfassend aufgeklärt worden und habe den Sinn, Zweck, mögliche Vorteile und Risiken dieser Untersuchung verstanden.

Die Patientenaufklärung habe ich erhalten, durchgelesen und alle offenen Fragen konnten zu meiner Zufriedenheit beantwortet werden.

Datenschutzrechtliche Patienteneinwilligung (§ 40 Abs.1, Satz 2 und Abs.2, AMG):

Ich bin darüber informiert worden, dass bei dieser wissenschaftlichen Untersuchung persönliche Daten und medizinische Befunde über mich erhoben werden. Die Weitergabe, Speicherung und Auswertung dieser untersuchungsbezogenen Daten erfolgt nach den gesetzlichen Bestimmungen und setzt vor Teilnahme an der Untersuchung die folgende freiwillige Einwilligung voraus:

1.) Ich erkläre mich damit einverstanden, dass im Rahmen der Untersuchung erhobene Daten / Krankheitsdaten auf Fragebögen und elektronischen Datenträgern aufgezeichnet und ohne Namensnennung weitergegeben werden an

a) den Auftraggeber dieser Untersuchung (PD Dr. med. L. Renders, Universitätsklinikum Schleswig-Holstein, Campus Kiel) zur wissenschaftlichen Auswertung

b) die zuständige Überwachungsbehörde (Landesamt oder Bezirksregierung) oder Bundesoberbehörde (Bundesamt für Arzneimittel und Medizinprodukte, Bonn) zur Überprüfung der ordnungsgemäßen Durchführung der Untersuchung

2.) Außerdem erkläre ich mich damit einverstanden, dass ein autorisierter und zur Verschwiegenheit verpflichteter Beauftragter des Auftraggebers, der zuständigen deutschen Überwachungsbehörde oder der zuständigen Bundesbehörde in meine beim Prüfarzt vorhandenen personenbezogenen Daten Einsicht nimmt, soweit dies zur Überprüfung der Untersuchung notwendig ist.

Für diese Maßnahme entbinde ich den Prüfarzt von der ärztlichen Schweigepflicht.

Einer wissenschaftlichen Auswertung der anonymisierten Daten und einer möglichen Veröffentlichung der Ergebnisse stimme ich zu.

Ich gebe hiermit meine freiwillige Zustimmung zur Teilnahme an dieser Untersuchung. Ich bin berechtigt, jederzeit ohne Angabe von Gründen die Therapie zu beenden und aus der Untersuchung auszuscheiden.

Eine Kopie dieser Einwilligungserklärung und der Patientenaufklärung habe ich erhalten.

.....
Ort, Datum (vom Patienten einzutragen)

.....
Patienten-Unterschrift

.....
Ort, Datum

.....
Ärztin-/Arzt-Unterschrift

7.3 PCR-Ansätze

Mastermix-Herstellung zur Amplifizierung des Exon 4-Fragments:

- 16,85 μ l Wasser (steril)
 - 2,5 μ l 10x Puffer ohne MgCl₂
 - 2,5 μ l dNTPs 2 mM
 - 2,0 μ l 25 mM MgCl₂
 - 0,5 μ l Primer OATP-C Exon 4 vorwärts
 - 0,5 μ l Primer OATP-C Exon 4 rückwärts
 - 0,15 μ l Polymerase (Invitrogen)
-
- 25 μ l Gesamtvolumen

Mastermix-Herstellung zur Amplifizierung des Exon 5-Fragments:

- 16,85 μ l Wasser (steril)
 - 2,5 μ l 10x Puffer ohne MgCl₂
 - 2,5 μ l dNTPs 2 mM
 - 2,0 μ l 25 mM MgCl₂
 - 0,5 μ l Primer OATP-C Exon 5 vorwärts
 - 0,5 μ l Primer OATP-C Exon 5 rückwärts
 - 0,15 μ l Polymerase (Invitrogen)
-
- 25 μ l Gesamtvolumen

Mastermix-Herstellung zur Amplifizierung des Promoter-Fragments:

- 16,85 μ l Wasser (steril)
 - 2,5 μ l 10x Puffer ohne MgCl₂
 - 2,5 μ l dNTPs 2 mM
 - 2,0 μ l 25 mM MgCl₂
 - 0,5 μ l Primer OATP-C Promoter vorwärts
 - 0,5 μ l Primer OATP-C Promoter rückwärts
 - 0,15 μ l Polymerase (Invitrogen)
-
- 25 μ l Gesamtvolumen

Mastermix-Herstellung zur Amplifizierung des CYP 2C9 *2-Fragments:

- 16,85 μ l Wasser (steril)
 - 2,5 μ l 10x Puffer ohne MgCl₂
 - 2,5 μ l dNTPs 2 mM
 - 2,0 μ l 25 mM MgCl₂
 - 0,5 μ l Primer CYP 2C9 *2 vorwärts
 - 0,5 μ l Primer CYP 2C9 *2 rückwärts
 - 0,15 μ l Polymerase (Invitrogen)
-
- 25 μ l Gesamtvolumen

Mastermix-Herstellung zur Amplifizierung des CYP 2C9 *3 -Fragments:

- 16,85 μ l Wasser (steril)
 - 2,5 μ l 10x Puffer ohne MgCl₂
 - 2,5 μ l dNTPs 2 mM
 - 2,0 μ l 25 mM MgCl₂
 - 0,5 μ l Primer CYP 2C9 *3 vorwärts
 - 0,5 μ l Primer CYP 2C9 *3 rückwärts
 - 0,15 μ l Polymerase (Invitrogen)
-
- 25 μ l Gesamtvolumen

7.4 Thermocycler

Temperaturprogramm für den Thermocycler:

- Start-Denaturierung 2 Minuten bei 94 °C
- 35 Zyklen bestehend aus:*
- Denaturierung 30 Sekunden bei 94 °C
 - Annealing 30 Sekunden bei 58 °C
 - Elongation 30 Sekunden bei 72 °C
 - Termination 7 Minuten bei 72 °C
- Reaktionsende:* Probeentnahme bei 4 °C

7.5 Restriktionsansätze

Restriktionsansatz zur Mutationsanalyse an Position A-388G auf Exon 4:

- 9,5 µl steriles, destilliertes Wasser
 - 2,5 µl Restriktionsenzym-spezifischer Puffer
 - 0,5 µl ClaI (Restriktionsenzym)
-
- 12,5 µl Gesamtvolumen

Restriktionsansatz zur Mutationsanalyse an Position T-521C auf Exon 5:

- 9,5 µl steriles, destilliertes Wasser
 - 2,5 µl Restriktionsenzym-spezifischer Puffer
 - 0,5 µl Bsa AI (Restriktionsenzym)
-
- 12,5 µl Gesamtvolumen

Restriktionsansatz zur Mutationsanalyse an Position G-11187A auf dem Promoter:

- 9,5 µl steriles, destilliertes Wasser
 - 2,5 µl Restriktionsenzym-spezifischer Puffer
 - 0,5 µl AccI (Restriktionsenzym)
-
- 12,5 µl Gesamtvolumen

Restriktionsansatz zur Mutationsanalyse an Position C-430T im CYP 2C9-Gen:

- 9,5 µl steriles, destilliertes Wasser
 - 2,5 µl Restriktionsenzym-spezifischer Puffer
 - 0,5 µl AvaII (Restriktionsenzym)
-
- 12,5 µl Gesamtvolumen

Restriktionsansatz zur Mutationsanalyse an Position A-1075C auf dem CYP 2C9-Gen:

- 9,5 µl steriles, destilliertes Wasser
 - 2,5 µl Restriktionsenzym-spezifischer Puffer
 - 0,5 µl NsiI (Restriktionsenzym)
-
- 12,5 µl Gesamtvolumen

8 Danksagung

An dieser Stelle möchte ich mich zunächst bei den *Patienten* bedanken, die an den zeitaufwendigen Untersuchungen teilgenommen und die Erstellung dieser Arbeit ermöglicht haben.

Ich danke insbesondere dem Direktor der Klinik für Nieren- und Hochdruckkrankheiten des Universitätsklinikums Schleswig-Holstein, Campus Kiel, *Herrn Prof. Dr. med. U. Kunzendorf*, sowie meinem Doktorvater, *Herrn PD Dr. med. L. Renders*, für die freundliche Überlassung des Themas, die fachliche Betreuung und Beratung sowie die Unterstützung bei der Planung, der Durchführung und der Auswertung dieser Arbeit. *Herrn Dr. Degel* gilt mein Dank für die Hilfe bei der Analytik von Fluvastatin.

Weiterhin möchte ich mich bei unserer study nurse, *Frau A. Fülbier*, für die ausgesprochen gute Zusammenarbeit bedanken. Sie hat es mir ermöglicht, meine Archivarbeit zu leisten, stand mir jederzeit ratgebend zur Seite und zeigte großes Interesse am Gelingen des klinisch-praktischen Teils dieser Arbeit.

Ein besonderer Dank gilt der Kooperation mit dem Institut für Pharmakologie (Direktor: Prof. Dr. Dr. I. Cascorbi), namentlich *Frau Dr. M. Frisman*, die die pharmakogenetischen Untersuchungen durchgeführt und mich mit den angewandten Methodiken vertraut gemacht hat.

Ein weiterer Dank gilt den *Schwestern und Pflegern* der nephrologischen Station 6a und den *Mitarbeitern* der Nierentransplantations-Ambulanz des Universitätsklinikums Schleswig-Holstein, Campus Kiel, die mich bei der praktischen Durchführung der Untersuchungen unterstützt haben.

Ausgesprochen dankbar bin ich auch *meinen Brüdern* und *engsten Freunden*, durch deren Hilfe während der intensiven Endphase die Regeln der Rechtschreibung gewahrt und die äußere Form der Arbeit verfeinert wurden.

Und ganz besonders *meinen Eltern* möchte ich für ihr uneingeschränktes Vertrauen in mich, ihre optimistischen Aufmunterungen, ihr geduldiges Zuhören und ihren Rückhalt in den schwierigen Phasen bei der Erstellung dieser Arbeit danken.

9 Lebenslauf

Persönliche Angaben

Vor- und Zuname: Susanne Assing
Geburtsdatum: 19.03.1981
Geburtsort: Norden
Staatsangehörigkeit: deutsch
Konfession: evangelisch-lutherisch
Familienstand: ledig

Schulausbildung

1987 – 1991 Grundschule in Hage
1991 – 1993 Orientierungsstufe in Hage
1993 – 2000 Ulrichsgymnasium in Norden
Abschluss: Allgemeine Hochschulreife

Studium

10/2000 Studium der Humanmedizin an der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel
08/2002 Ärztliche Vorprüfung
08/2003 Erster Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
03/2006 Zweiter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
06/2007 Dritter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
Abschluss: Approbation als Ärztin

Dissertation

seit 12/2005 Dissertation in der Klinik für Innere Medizin IV, Klinik für Nieren- und Hochdruckkrankheiten (Direktor: Prof. Dr. med. U. Kunzendorf) des Universitätsklinikums Schleswig-Holstein, Campus Kiel, an der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel, unter Leitung von PD Dr. med. L. Renders;
Titel: „**Untersuchung potentieller Wechselwirkungen der Immunsuppressiva Tacrolimus und Sirolimus auf den Lipidsenker Fluvastatin**“

Berufliche Tätigkeit

seit 08/2007 Assistenzärztin in der Abteilung für Gynäkologie und Geburtshilfe im Kreiskrankenhaus Gifhorn

Wolfsburg, den