

UNIWERSYTET MEDYCZNY im. KAROLA MARCINKOWSKIEGO
W POZNANIU

Jolanta Kamińska

**KLINICZNE ZNACZENIE BADAŃ FARMAKOKINETYCZNYCH
MYKOFENOLANU MOFETYLU I JEGO WPŁYW NA STAN
ODŻYWIENIA U CHORYCH PO PRZESZCZEPIENIU NERKI**

Praca doktorska

Promotor: dr hab. Maria Chrzanowska prof. nadzw. UM

Katedra i Zakład Farmacji Fizycznej
i Farmakokinetyki UMiKM
Kierownik Katedry i Zakładu:
dr hab. Franciszek K. Główka prof. nadzw. UM

Poznań 2011

Słowa kluczowe: transplantacja nerki,
mykofenolan mofetylu,
farmakokinetyka kwasu mykofenolowego i jego glukuronidu,
witaminy i składniki mineralne,
działania niepożądane

*Pani dr hab. Marii Chrzanowskiej prof. nadzw. UM
serdecznie dziękuję za kierownictwo naukowe,
wszechstronną pomoc oraz życzliwość i wyrozumiałość
podczas realizacji pracy*

*Panu dr Maciejowi Głydzie,
Ordynatorowi Oddziału Transplantologii
Szpitala Wojewódzkiego w Poznaniu
dziękuję za umożliwienie realizacji pracy
na podstawie materiału klinicznego,
za wszechstronną pomoc i okazaną życzliwość*

*Pracownikom Oddziału Transplantologii
Szpitala Wojewódzkiego w Poznaniu
dziękuję za pomoc i okazaną życzliwość w czasie
realizacji badań*

*Pani dr hab. Grażynie Dudzie prof. nadzw. UM
z Katedry i Zakładu Bromatologii
serdecznie dziękuję
za cenne wskazówki i merytoryczną dyskusję*

*Pracownikom Katedry i Zakładu
Farmacji Fizycznej i Farmakokinetyki
dziękuję za wszechstronną pomoc i miłą atmosferę
podczas realizacji pracy*

*Pracę dedykuję
Kochanym Rodzicom i Mężowi*

SPIS TREŚCI

| | |
|--|-----------|
| 1. WSTĘP | 9 |
| 2. CZĘŚĆ TEORETYCZNA | 11 |
| 2.1. LEKI IMMUNOSUPRESYJNE..... | 11 |
| 2.1.1. <i>Podział leków immunosupresyjnych</i> | 11 |
| 2.1.2. <i>Działania niepożądane leków immunosupresyjnych</i> | 13 |
| 2.1.3. <i>Aktualne standardy leczenia immunosupresyjnego w Polsce</i> | 15 |
| 2.2. MYKOFENOLAN MOFETYLU | 17 |
| 2.2.1. <i>Farmakokinetyka</i> | 17 |
| 2.2.1.1. Absorpcja | 17 |
| 2.2.1.2. Dystrybucja | 18 |
| 2.2.1.3. Metabolizm | 18 |
| 2.2.1.3.1. Recyrkulacja jelitowo-wątrobowa..... | 20 |
| 2.2.1.3.2. Zmienność farmakogenetyczna w procesie glukuronidacji MPA..... | 21 |
| 2.2.1.4. Eliminacja | 22 |
| 2.2.2. <i>Mechanizm działania</i> | 22 |
| 2.2.3. <i>Wskazania terapeutyczne do stosowania mykofenolanu mofetylu</i> | 24 |
| 2.2.3.1. Dawkowanie mykofenolanu mofetylu u chorych po przeszczepieniu narządów | 24 |
| 2.2.4. <i>Działania niepożądane mykofenolanu mofetylu</i> | 25 |
| 2.2.4.1. Zaburzenia ze strony przewodu pokarmowego | 25 |
| 2.2.4.2. Zaburzenia hematologiczne..... | 26 |
| 2.2.4.3. Infekcje | 26 |
| 2.2.4.4. Inne, rzadziej występujące działania niepożądane..... | 27 |
| 2.2.5. <i>Interakcje mykofenolanu mofetylu</i> | 27 |
| 2.2.5.1. Interakcje z lekami immunosupresyjnymi | 28 |
| 2.2.5.2. Interakcje z innymi lekami | 28 |
| 2.2.6. <i>Terapeutyczne monitorowanie mykofenolanu mofetylu</i> | 29 |
| 2.2.6.1. Różnice międzyosobnicze w farmakokinetyce mykofenolanu mofetylu..... | 30 |
| 2.2.6.2. Zmienność farmakokinetyki w czasie | 31 |
| 2.2.6.3. Terapeutyczne monitorowanie mykofenolanu mofetylu a działania niepożądane..... | 31 |
| 2.2.6.4. Związek między skutecznością kliniczną a stężeniami kwasu mykofenolowego w osoczu..... | 32 |
| 2.2.6.5. Metody analityczne stosowane w monitorowaniu stężenia kwasu mykofenolowego | 32 |
| 2.3. MONITOROWANIE STANU ODŻYWIENIA U CHORYCH PO PRZESZCZEPIENIU NERKI – AKTUALNE STANDARDY..... | 33 |
| 3. CEL PRACY | 38 |
| 4. CZĘŚĆ DOŚWIADCZALNA | 39 |
| 4.1. METODYKA BADAŃ | 39 |
| 4.1.1. <i>Metoda HPLC oznaczania kwasu mykofenolowego i jego glukuronidu</i> | 39 |
| 4.1.1.1. Aparatura..... | 39 |
| 4.1.1.2. Odczynniki | 40 |
| 4.1.1.3. Przygotowanie roztworów wzorcowych i próbek osocza do oznaczeń | 40 |
| 4.1.1.4. Warunki pracy chromatografu cieczowego | 41 |
| 4.1.1.5. Walidacja metody..... | 41 |
| 4.1.2. <i>Metoda HPLC oznaczania α- tokoferolu, retinolu i β-karotenu</i> | 44 |
| 4.1.2.1. Aparatura..... | 44 |
| 4.1.2.2. Odczynniki | 44 |
| 4.1.2.3. Przygotowanie roztworów wzorcowych i próbek osocza do oznaczeń | 45 |
| 4.1.2.4. Warunki pracy chromatografu cieczowego | 45 |
| 4.1.2.5. Walidacja metody..... | 46 |
| 4.1.3. <i>Metoda oznaczania składników mineralnych</i> | 50 |
| 4.2. BADANIA KLINICZNE | 51 |
| 4.3. OBLICZENIA I ANALIZA STATYSTYCZNA | 54 |

| | |
|---|------------|
| 5. WYNIKI | 56 |
| 5.1. WPLYW FUNKCJI NERKI I WĄTROBY NA PARAMETRY FARMAKOKINETYCZNE METABOLITÓW MYKOFENOLANU MOFETYLU | 56 |
| 5.2. INTERAKCJE MYKOFENOLANU MOFETYLU Z INHIBITORAMI KALCYNEURYNY | 67 |
| 5.3. WPLYW MYKOFENOLANU MOFETYLU NA WYSTĘPOWANIE DZIAŁAŃ NIEPOŻĄDANYCH | 71 |
| 5.3.1. <i>Działania niepożądane na przewód pokarmowy</i> | 71 |
| 5.3.1.1. Wpływ mykofenolanu mofetylu na stężenie witamin antyoksydacyjnych | 74 |
| 5.3.1.2. Wpływ mykofenolanu mofetylu na stężenie składników mineralnych | 80 |
| 5.3.2. <i>Działania niepożądane na układ krwiotwórczy</i> | 89 |
| 6. OMÓWIENIE I DYSKUSJA WYNIKÓW | 97 |
| 6.1. WPLYW FUNKCJI NERKI I WĄTROBY NA STĘŻENIA METABOLITÓW MYKOFENOLANU MOFETYLU .. | 97 |
| 6.2. INTERAKCJE MYKOFENOLANU MOFETYLU Z INHIBITORAMI KALCYNEURYNY | 100 |
| 6.3. WPLYW MYKOFENOLANU MOFETYLU NA WYSTĘPOWANIE DZIAŁAŃ NIEPOŻĄDANYCH | 102 |
| 6.3.1. <i>Działania niepożądane na przewód pokarmowy</i> | 102 |
| 6.3.1.1. Wpływ mykofenolanu mofetylu na stężenie witamin antyoksydacyjnych | 103 |
| 6.3.1.2. Wpływ mykofenolanu mofetylu na stężenie składników mineralnych | 105 |
| 6.3.2. <i>Działania niepożądane na układ krwiotwórczy</i> | 107 |
| 7. WNIOSKI | 110 |
| 8. STRESZCZENIE | 112 |
| 9. PIŚMIENNICTWO | 116 |
| 10. ZAŁĄCZNIKI | 128 |

WYKAZ STOSOWANYCH SKRÓTÓW

| | |
|-------------------------|---|
| ACEI | inhibitory konwertazy angiotensyny |
| AcMPAG | acylowy glukuronid kwasu mykofenolowego |
| AIAT | aminotransferaza alaninowa |
| AspAT | aminotransferaza asparaginowa |
| AUC | pole pod krzywą $C = f(t)$ – A rea U nder the C urve |
| AZA | azatiopryna |
| BMI | wskaźnik masy ciała (Queteleta) – B ody M ass I ndex |
| C₀ | stężenie przed podaniem kolejnej dawki leku |
| C_{cr} | stężenie kreatyniny |
| Cl_{cr} | klirens kreatyniny |
| C_{max} | stężenie maksymalne |
| C_{max2} | drugi pik stężenia leku (spowodowany recyrkulacją jelitowo – wątrobową) |
| CMV | wirus cytomegalii |
| CNI | inhibitory kalcyneuryny |
| CsA | cyklosporyna |
| CV | współczynnik zmienności – C oefficient of V ariation |
| GTP | guanozynotrifosforan |
| dGTP | deoksyguanozynotrifosforan |
| EMIT | metoda immunologiczno-enzymatyczna oznaczania MPA – E nzyme M ultiplied I mmunoassay T echnique |
| ESPEN | European Society for Clinical Nutrition and Metabolism |
| FLD | detektor fluorescencyjny - F luorescence D etection |
| GMP | guanozynomonofosforan |
| HPLC | wysokosprawna chromatografia cieczowa – H igh P erformance L iquid C hromatography |
| IMP | inozynomonofosforan |
| IMPDH | dehydrogenaza inozynomonofosforanu |
| IPP | inhibitor pompy protonowej |
| IS | wzorzec wewnętrzny – I nternal S tandard |
| LLOQ | dolna granica oznaczalności – L ower L imit O f Q uantification |
| LOD | wykrywalność – L imit O f D etection |
| MMF | mykofenolan mofetylu |
| MPA | kwas mykofenolowy |
| MPAG | glukuronid kwasu mykofenolowego |
| MPS | mykofenolanu sodu |
| mTOR | mammalian T arget O f R apamycin |
| OR | iloraz szans – O dds R atio |
| RDA | zalecane dzienne spożycie - R ecommended D ietary A llowances |
| SD | odchylenie standardowe – S tandard D eviation |
| S/N | stosunek sygnału do linii szumu - S ignal to N oise ratio |
| t_{max} | czas od momentu podania leku, po którym występuje C _{max} |
| t_{0,5} | biologiczny okres półtrwania |
| Tac | takrolimus |
| UN | azot moczikowy – U rea N itrogen |
| WHR | wskaźnik talia/biodra – W aist/ H ip R atio |

1. WSTĘP

W okresie ostatnich 40 lat doszło do ogromnego rozwoju medycyny transplantacyjnej. Dane epidemiologiczne wskazują na zwiększającą się potrzebę tego sposobu leczenia jako jedynej alternatywy dla chorych ze schyłkową niewydolnością serca, układu oddechowego, wątroby oraz optymalnej metody leczenia nerkozastępczego.

Obecnie żyje na świecie ponad półtora miliona chorych ze schyłkową niewydolnością nerek, którzy są poddawani terapii nerkozastępczej. Na całym świecie obserwuje się epidemiczny wzrost liczby chorych z nefropatią cukrzycową, która staje się główną przyczyną niewydolności nerek. Podobnie stale wzrasta częstość występowania nefropatii nadciśnieniowej. Towarzyszy temu systematyczne starzenie się społeczeństw, co powoduje, że również liczba chorych w podeszłym wieku, u których dochodzi do schyłkowej niewydolności nerek zwiększa się w postępie geometrycznym.

Transplantacja nerki stwarza chorym leczonym przewlekłymi dializami możliwość powrotu do normalnego trybu życia, wolnego od reżimu dializacyjnego. Zwiększa również szansę przeżycia następnych dziesięciu lat w porównaniu z chorymi leczonymi dializami [1].

Powodzenie transplantacji narządów zależy przede wszystkim od opanowania procesu odrzucania. Transplantologia kliniczna stosuje różne schematy immunosupresji, które są stale modyfikowane. Postęp dokonujący się w dziedzinie nowoczesnej immunosupresji wyraża się w osiągnięciu przedłużenia przeżywalności przeszczepu, a przede wszystkim samego biorcy, co jest możliwe m.in. dzięki skutecznemu monitorowaniu terapii, której celem jest nie tylko zapobieganie odrzucaniu przeszczepu, ale także działaniom niepożądanym [2]. Obniżanie naturalnych sił obronnych przez konieczną po transplantacji immunosupresję jest niestety częstą przyczyną zgonów spowodowanych groźnymi infekcjami bakteryjnymi, wirusowymi i grzybiczymi, jak również nowotworami.

Podstawowym lekiem immunosupresyjnym, stosowanym w Polsce do połowy lat 90-tych była azatiopryna (AZA), która znalazła zastosowanie w terapii po przeszczepieniu nerki około 50 lat temu. Zaznacza się jednak wyraźne zmniejszenie udziału tego leku w schematach immunosupresji. Przyczyną tego zjawiska są działania niepożądane u poszczególnych chorych, którzy są genetycznie narażeni na wystąpienie niebezpiecznej mielosupresji podczas leczenia AZA, oraz wprowadzenie nowego leku o większej skuteczności - mykofenolanu mofetylu (MMF, CellCept®), który skutecznie wypiera AZA ze schematów immunosupresji [3, 4].

MMF został zarejestrowany w 1995 r. w Stanach Zjednoczonych i w Kanadzie dla stosowania u dorosłych biorców przeszczepu nerki. Obecnie jest on najszerzej stosowanym na świecie antyproliferacyjnym lekiem immunosupresyjnym u chorych po przeszczepieniu nie tylko nerki, ale także innych narządów unaczynionych [5]. Udział MMF w schematach immunosupresji w Polsce systematycznie się zwiększa. Według raportu Instytutu Transplantologii AM w Warszawie liczba chorych po przeszczepieniu nerki otrzymujących MMF, jako jeden z leków immunosupresyjnych, wzrosła w Polsce z około 26% w latach 1995 – 2000, do 62% w roku 2005, natomiast w USA i Europie lek jest stosowany u około 80% chorych [6, 7].

Obecnie w większości ośrodków transplantologicznych na świecie, jak również w Polsce, MMF jest lekiem z wyboru, najczęściej stosowanym w skojarzeniu z glikokortykosteroidami (GS) oraz inhibitorami kalcyneuryny (CNI) – cyklosporyną (CsA) lub takrolimusem (Tac).

Mimo, że MMF jest zazwyczaj dobrze tolerowany, podstawowym problemem występującym podczas stosowania tego leku są działania niepożądane na przewód pokarmowy wyrażające się dolegliwościami w postaci biegunek, nudności, wymiotów, bólów brzucha i niestrawności. Innymi działaniami niepożądanymi MMF są zaburzenia ze strony układu krwiotwórczego (anemia, leukopenia, małopłytkowość), infekcje (bakteryjne i wirusowe) oraz nowotwory [8-10].

Z powodu działań niepożądanych na przewód pokarmowy istnieje możliwość wystąpienia niedoborów żywieniowych wielu składników odżywczych w tym m.in. składników mineralnych i witamin antyoksydacyjnych. Prawidłowe ich stężenia mogą korzystnie wpływać na zmniejszenie wystąpienia zaburzeń metabolicznych często towarzyszących przyjmowaniu niektórych leków immunosupresyjnych [11].

2. CZĘŚĆ TEORETYCZNA

2.1. LEKI IMMUNOSUPRESYJNE

2.1.1. Podział leków immunosupresyjnych

Obecnie na świecie i w Polsce stosuje się cztery podstawowe grupy leków działania immunosupresyjnym. Należą do nich: GS, CNI (CsA i Tac), antymetabolity (MMF, mykofenolan sodu [MPS] i AZA) oraz inhibitory mTOR (mammalian target of rapamycin): sirolimus i ewerolimus. Podczas indukcji terapii u niektórych chorych oraz w leczeniu ostrego odrzucania stosuje się również preparaty biologiczne – przeciwciała poliklonalne lub monoklonalne. Ze względu na mechanizm działania leki immunosupresyjne można podzielić na trzy grupy: leki hamujące produkcję cytokin biorących udział w aktywacji prozapalnych komórek i ich klonalnej ekspansji (CNI, GS i inhibitory mTOR), leki hamujące podziały komórkowe (MMF, MPS i AZA) oraz preparaty biologiczne, których działanie polega na blokowaniu receptorów komórkowych (Tab. 1) [7].

Tabela 1. Leki immunosupresyjne stosowane w Polsce (podział ze względu na mechanizm działania) [7]

| | | |
|---|-------------------------------|---|
| Leki hamujące produkcję cytokin biorących udział w aktywacji prozapalnych komórek i ich klonalnej ekspansji | Inhibitory kalcyneuryny (CNI) | Cyklosporyna (CsA): <u>Sandimmun</u> <u>Neoral</u> [®] , <u>Equoral</u> [®] |
| | | Takrolimus (Tac): <u>Prograf</u> [®] , <u>Advagraf</u> [®] |
| | Glikokortykosteroidy (GS) | Prednizon: <u>Encorton</u> [®] |
| | | Prednizolon: <u>Encortolon</u> [®] |
| | | Metylprednizolon: <u>Medrol</u> [®] , <u>Metypred</u> [®] |
| | Inhibitory mTOR | Sirolimus: <u>Rapamune</u> [®] |
| Ewerolimus: <u>Certican</u> [®] , <u>Afinitor</u> [®] | | |
| Leki hamujące podziały komórkowe | Nieselektywne | Azatiopryna (AZA): <u>Imuran</u> [®] , <u>Azathioprine VIS</u> [®] |
| | Selektywne | Mykofenolan mofetylu (MMF): <u>CellCept</u> [®] , <u>Myfenax</u> [®] , <u>Mycophenolate mofetil apotex</u> [®] |
| | | Mykofenolan sodu (MPS): <u>Myfortic</u> [®] |
| Preparaty biologiczne blokujące receptory komórkowe | Przeciwciała poliklonalne | Globuliny antytymocytarne lub antylimfocytarne: <u>ATG Fresenius S</u> [®] , <u>Thymoglobuline</u> [®] |
| | Przeciwciała monoklonalne | antyCD3-OKT3 (tylko w imporcie docelowym) |
| | | antyCD25 (IL-2R) basiliximab: <u>Simulect</u> [®] |
| | | antyCD20 – rituximab – <u>MabThera</u> [®] |
| | | antyCD52 – alemtuzumab – <u>MabCampath</u> [®] |

2.1.2. Działania niepożądane leków immunosupresyjnych

Pierwsze schematy immunosupresji stosowane w zapobieganiu ostremu odrzucaniu przeszczepu nerki składały się z GS i AZA i/lub metotreksatu. Głównym działaniem niepożądanym zarówno metotreksatu, jak i AZA była mielotoksyczność. Terapia tymi lekami charakteryzowała się ponadto ograniczoną skutecznością, dlatego wprowadzenie do leczenia CNI: najpierw CsA, a później Tac (jako trzeci lek w schemacie immunosupresji) pozwoliło znacznie zmniejszyć ryzyko ostrego odrzucania przeszczepu [12]. Pomimo wysokiej skuteczności takiej terapii, dużym problemem w długotrwałym leczeniu zarówno CNI, jak i GS jest ich duża toksyczność, która wiąże się z obniżeniem przeżycia nie tylko przeszczepu, ale także chorego.

Nefrotoksyczność i nadciśnienie tętnicze stanowią główne powikłania stosowania CNI. Po 10 latach stosowania CNI zmiany histopatologiczne świadczące o uszkodzeniu przeszczepionej nerki pojawiają się u niemal wszystkich chorych stosujących tę grupę leków i często wiążą się z poważnym uszkodzeniem przeszczepu nerki [13]. Innymi działaniami niepożądanymi CNI są hiperlipidemia, neurotoksyczność, ubytek tkanki kostnej (związany ze stosowaniem CsA) oraz zaburzenia metabolizmu glukozy (częściej u chorych leczonych Tac) (Tab. 2) [7, 14].

Długotrwała terapia GS zwiększa ryzyko powikłań sercowo-naczyniowych z powodu wpływu na rozwój nadciśnienia tętniczego, hiperlipidemii, zaburzeń gospodarki węglowodanowej oraz otyłości. Choroby układu sercowo-naczyniowego są najczęstszą przyczyną zgonów u chorych po przeszczepieniu nerki. Przewlekłe stosowanie GS może także prowadzić do osteoporozy, zaćmy, miopatii, zwiększonej podatności na występowanie infekcji i zmian skórnych, takich jak trądzik czy rozstępy skórne oraz nowotworów [15- 17].

W przeciwieństwie do CNI MMF nie wykazuje działania nefrotoksycznego, a jego stosowanie wiąże się ze zmniejszeniem ryzyka niewydolności przeszczepu nerki. MMF nie podwyższa stężenia lipidów, nie wpływa na ciśnienie tętnicze oraz hamuje proliferację mięśni gładkich. Wydaje się więc, że MMF ma korzystne działanie w przewlekłej nefropatii alloprzeszczepu nerki. Ze względu na brak wymienionych wyżej działań niepożądanych, MMF można kojarzyć ze wszystkimi lekami immunosupresyjnymi [19].

Tabela 2. Działania niepożądane leków immunosupresyjnych [18]

| DZIAŁANIE | CsA | TAC | Sirolimus | Ewrolimus | MMF/MPS | AZA | GS |
|--|------------------|------------------|------------------|------------------|----------------|------------|-----------------|
| Nefrotoksyczność | +++ | ++ | ± ^a | ± ^a | - | - | |
| Mielotoksyczność | | | | | | | |
| Anemia | - | - | ++ | + | + | + | - |
| Leukopenia | - | ± | + | + | + | + | - |
| Małopłytkowość | HUS ^b | HUS ^b | +++ | +++ | + | + | - |
| Ryzyko sercowo-naczyniowe | | | | | | | |
| Zaburzenia lipidowe | ++ | + | +++ | +++ | - | - | ++ |
| Nadciśnienie tętnicze | +++ | + | - | - | - | - | + |
| Zaburzenia przewodu pokarmowego i metabolizmu glukozy | | | | | | | |
| Zaburzenia żołądkowo-jelitowe | ± | + | - | - | ++ | - | - |
| Cukrzyca potransplantacyjna | ++ | +++ | - | - | - | - | ++ ^a |
| Zaburzenia nerwowo-mięśniowe | | | | | | | |
| | ++ | +++ | + | + | - | - | ± |
| Zmiany kosmetyczne | | | | | | | |
| Łysienie | - | + | - | - | - | ± | ± |
| Otyłość | - | - | - | - | - | - | ++ |
| Hirsutyzm i przerosł dziaśeł | + | - | - | - | - | - | - |
| Inne | | | | | | | |
| Osteoporoza | ± | - | - | - | - | - | ++ |
| Zahamowanie wzrostu | - | - | - | - | - | - | + |
| Gojenie ran | - | - | + | + | - | - | ± |
| Zapalenie jamy ustnej | ± | - | ++ | + | - | - | - |

^a Nasila działanie CNI

^b HUS – Mikroangiopatia zakrzepowa

Chorzy po przeszczepach wykazują często zwiększoną zapadalność na nowotwory, co ma związek ze stosowaną u nich terapią immunosupresyjną powodującą ogólny spadek odporności immunologicznej. W szczególności występowanie chłoniaka nieziarnicznego koreluje z intensywnością stosowanej terapii immunosupresyjnej. U chorych leczonych lekami, które zaburzają kontrolę proliferacji limfocytów B przez limfocyty T (jak CsA i Tac) może dojść do patologicznego rozwoju poliklonalnych komórek B. Leki, które zwiększają ryzyko nieprawidłowości chromosomowych (np. AZA), mogą doprowadzić do wzrostu ryzyka rozwoju chłoniaka. W przeciwieństwie do wymienionych leków, MMF nie zwiększa częstości występowania mutacji punktowych bądź nieprawidłowości chromosomowych. Ponadto MMF działa cytostatycznie nie tylko na limfocyty T, ale także na limfocyty B, w tym na zainfekowane wirusem Epsteina-Barra. Dlatego mało prawdopodobne jest, że dodanie MMF do standardowej terapii immunosupresyjnej zwiększy ryzyko potransplantacyjnego chłoniaka [20].

2.1.3. Aktualne standardy leczenia immunosupresyjnego w Polsce

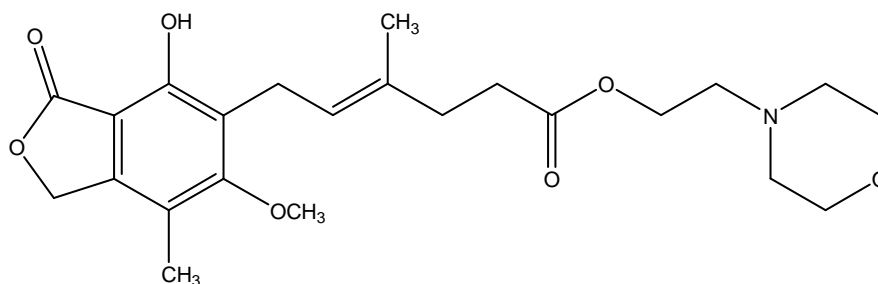
Leczenie immunosupresyjne jest konieczne i niezbędne od momentu przeszczepienia narządu, a często wdrażane jest przed zabiegiem operacyjnym w celu zmniejszenia odpowiedzi immunologicznej. Organizm chorego rozpoznaje przeszczepiony narząd jako obcy, przez co uruchomiona zostaje cała kaskada odpowiedzi humoralnej i komórkowej przeciw przeszczepowi. Leki immunosupresyjne osłabiając działanie układu immunologicznego, pozwalają zmniejszyć częstość i nasilenie procesu ostrego odrzucania oraz uzyskać długotrwałe przeżycie zarówno przeszczepu, jak i biorcy. Leczenie immunosupresyjne polega na stosowaniu kilku leków o różnym mechanizmie działania tak, aby zmniejszyć ryzyko działań niepożądanych przy zachowaniu skuteczności terapii. Leki te dobiera się indywidualnie dla chorego w zależności od rodzaju przeszczepianego narządu, stopnia ryzyka immunologicznego, chorób współistniejących oraz czynności samego przeszczepu (czynniki ryzyka dawcy narządu) [7, 19].

W okresie pooperacyjnym dawki leków powinny być większe, natomiast w późniejszym okresie po przeszczepieniu nerki dawki leków zmniejsza się, a w niektórych przypadkach (np. wystąpienie działań niepożądanych) można nawet wykluczać niektóre leki, pozostawiając przynajmniej dwa leki immunosupresyjne. U chorych większego ryzyka immunologicznego (np. kolejne przeszczepienie, wysokie miano przeciwciał, brak zgodnych antygenów HLA) wskazane jest leczenie indukcyjne. W tym celu stosuje się przeciwciała poliklonalne lub jedno z przeciwciał monoklonalnych przeciw receptorowi dla interleukiny 2 [7].

Standardowym schematem leczenia po przeszczepieniu nerki jest terapia trójlekowa: CNI + lek antyproliferacyjny + GS. Tak dobrany schemat immunosupresji pozwala zminimalizować ryzyko ostrego odrzucania nawet do 20%. Najczęściej stosowanymi schematami leczenia u tych chorych są połączenia CsA z MMF lub Tac z MMF z lub bez GS. U chorych większego ryzyka immunologicznego konieczne jest stosowanie schematu zawierającego Tac, MMF i GS. Stosowanie MMF zamiast AZA znacząco zmniejsza częstość ostrego odrzucania przeszczepionej nerki (nawet o 50%) oraz pozwala obniżyć dawki pozostałych leków immunosupresyjnych, a tym samym uniknąć lub zmniejszyć nasilenie wielu działań niepożądanych związanych z ich stosowaniem. W praktyce klinicznej dąży się także do stopniowego zmniejszania dawek GS, a w niektórych przypadkach odstawia się GS. Doświadczenia polskie ze stosowaniem sirolimusa i ewerolimusa są niewielkie [7]. Według danych z piśmiennictwa leki te charakteryzują się podobną lub gorszą skutecznością w porównaniu do MMF lub CNI [21-23]. Pomimo mniejszej skuteczności inhibitory mTOR mogą stanowić alternatywę wobec CNI, ponieważ charakteryzują się mniejszą od nich nefrotoksycznością [24].

2.2. MYKOFENOLAN MOFETYLU

MMF jest prolekiem kwasu mykofenolowego (MPA). Pod względem chemicznym jest to (E)-6-(1,3-dihydro-4-hydroksy-6-metoksy-7-metylo-3-okso-5-izobenzofuranylo)-4-metylo-4-hekseenonian 2-morfolinoetylu (Ryc. 1), a zatem stanowi ester 2-morfolinoetylowy MPA, będącego aktywnym metabolitem MMF.



Ryc. 1. Wzór strukturalny MMF [25].

2.2.1. Farmakokinetyka

2.2.1.1. Absorpcja

Aktywny immunosupresyjnie MPA charakteryzuje się małą biodostępnością po podaniu doustnym i dlatego w celu zwiększenia absorpcji zastosowano jego postać zestryfikowaną - MMF [19, 26]. Po podaniu doustnym MMF jest szybko i prawie całkowicie wchłaniany z przewodu pokarmowego, a jego bezwzględna biodostępność u zdrowych ochotników i u chorych w późniejszym okresie po przeszczepieniu wynosi ponad 90% [27-30]. W pierwszych dobach po transplantacji biodostępność MMF jest mniejsza i wynosi ok. 80%. Może to być spowodowane zmniejszonym wchłanianiem leku lub osłabioną recyrkulacją jelitowo-wątrobową, występującymi bezpośrednio po przeszczepieniu [31]. Maksymalne stężenie MPA w osoczu po doustnym podaniu MMF występuje po około 1 h, a przyjęcie leku z posiłkiem opóźnia t_{max} nawet o 1 h i zmniejsza stężenie maksymalne (C_{max}) o ok. 20 do 40% [27], jednak nie wpływa na całkowitą ekspozycję organizmu na lek (AUC) [32, 33]. Z tego względu nie zaleca się przyjmowania leku na czczo z powodu nasilenia działania niepożądanego związanego z pojawieniem się zbyt wysokich wartości C_{max} leku [19].

2.2.1.2. Dystrybucja

W osoczu MPA wiąże się głównie z albuminami, w niewielkim stopniu z lipoproteinami. Za działanie immunosupresyjne leku odpowiada wolny, niezwiązany z białkami MPA [19]. W klinicznie istotnych stężeniach MPA i jego główny metabolit: glukuronid MPA - MPAG wiążą się z albuminami odpowiednio w 97% i 82%, a stopień wiązania z albuminami nie zależy od stężenia MPA [34]. U chorych z upośledzoną funkcją wątroby lub nerek stopień wiązania MPA z albuminami może ulec zmianie z powodu hypoalbuminemii, hiperbilirubinemii i/lub mocznicy. U chorych z osłabioną funkcją przeszczepionej nerki zmniejsza się wydalanie MPAG, który może wypierać MPA z połączeń białkowych, stąd kumulacja MPAG u tych chorych prowadzi do wzrostu stężenia wolnego MPA [30, 34, 35].

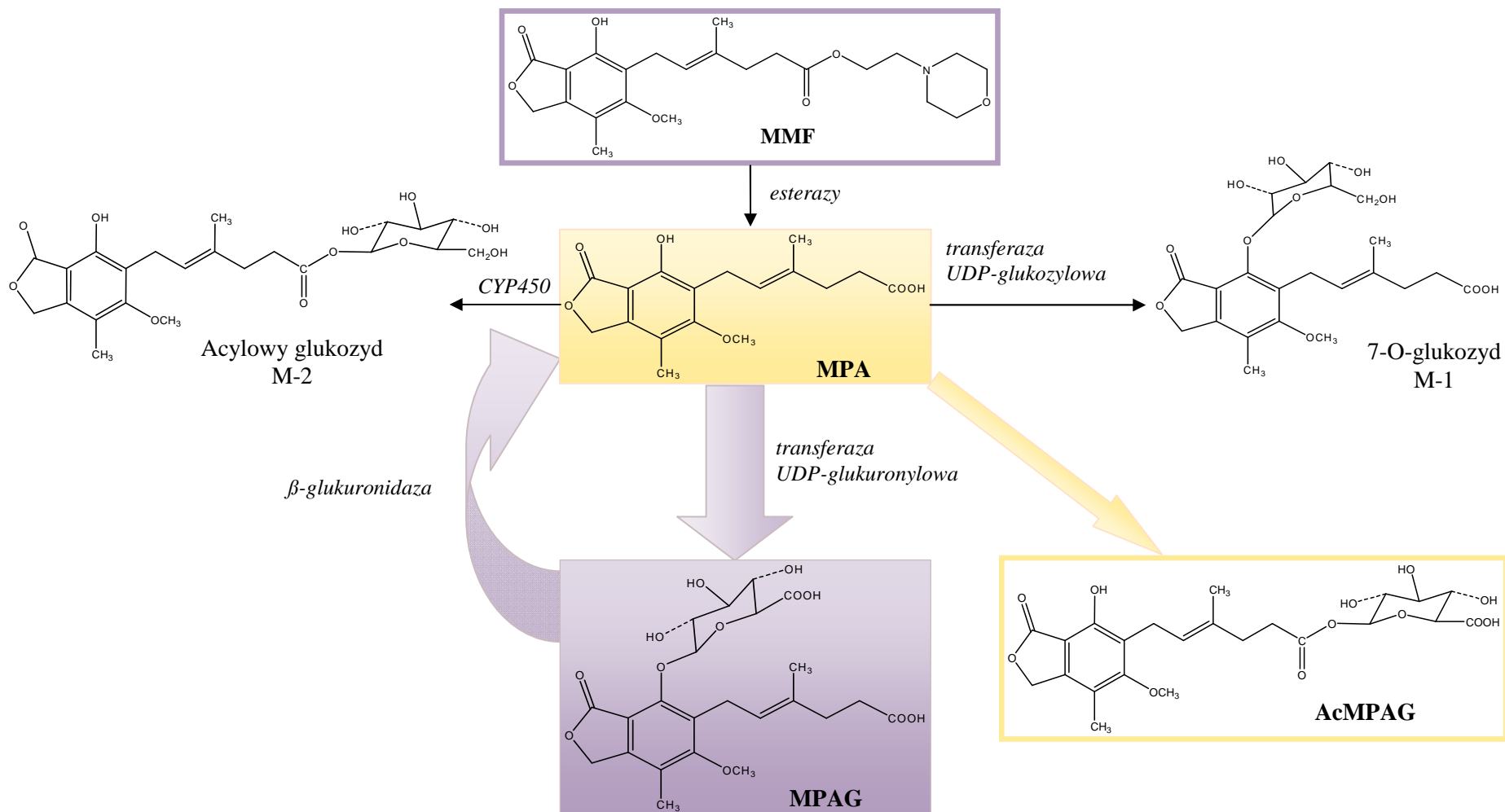
2.2.1.3. Metabolizm

MMF jest szybko i całkowicie hydrolizowany przez esterazy osoczowe i tkankowe do aktywnego metabolitu MPA i dlatego nie jest możliwe oznaczenie stężenia MMF w osoczu. MPA jest metabolizowany w wątrobie, w mniejszym stopniu w nerkach i przewodzie pokarmowym. Główną drogą inaktywacji MPA jest glukuronidacja. MPA posiada dwa potencjalne miejsca glukuronidacji: grupę fenyłową w pozycji 7 pierścienia oraz alifatyczną grupę karboksylową w acylowym łańcuchu bocznym. Głównym produktem glukuronidacji jest nieaktywny farmakologicznie 7-O-glukuronid MPA - MPAG. Acylowy glukuronid (AcMPAG) powstaje w mniejszym stopniu i stanowi od 10 – 20% całkowitej ekspozycji na MPA (Ryc. 2) [36-38].

Początkowo uważano, że AcMPAG jest również nieaktywny immunosupresyjnie [40], jednakże w późniejszych badaniach *in vitro* wykazano jego hamujący wpływ na proliferację limfocytów [41]. Brak aktywności MPAG w odróżnieniu od AcMPAG i samego MPA sugeruje, że wolna grupa hydroksylowa w pozycji 7 pierścienia jest niezbędna dla hamowania dehydrogenazy inozynomonofosforanu (IMPDH), kluczowego enzymu dla mechanizmu działania immunosupresyjnego MPA [38].

MPAG jest zatem głównym metabolitem MPA pozbawionym właściwości immunosupresyjnych. Występuje on zwykle w osoczu w przybliżeniu w 20- do 100-krotnie wyższym stężeniu niż MPA. MPAG wydala się z żółcią i przez nerki, dlatego jego stężenie jest kilkakrotnie wyższe u chorych z upośledzoną czynnością nerek [42, 43].

U zdrowych ochotników biologiczny okres półtrwania leku ($t_{0,5}$) wynosi średnio około 17 godzin [39], według różnych autorów od 15,8 do 18 godzin [19, 25, 30, 34]. Klirens wątrobowy MPA wynosi około 24 l/h, co klasyfikuje go jako lek o średniej ekstrakcji wątrobowej [30].

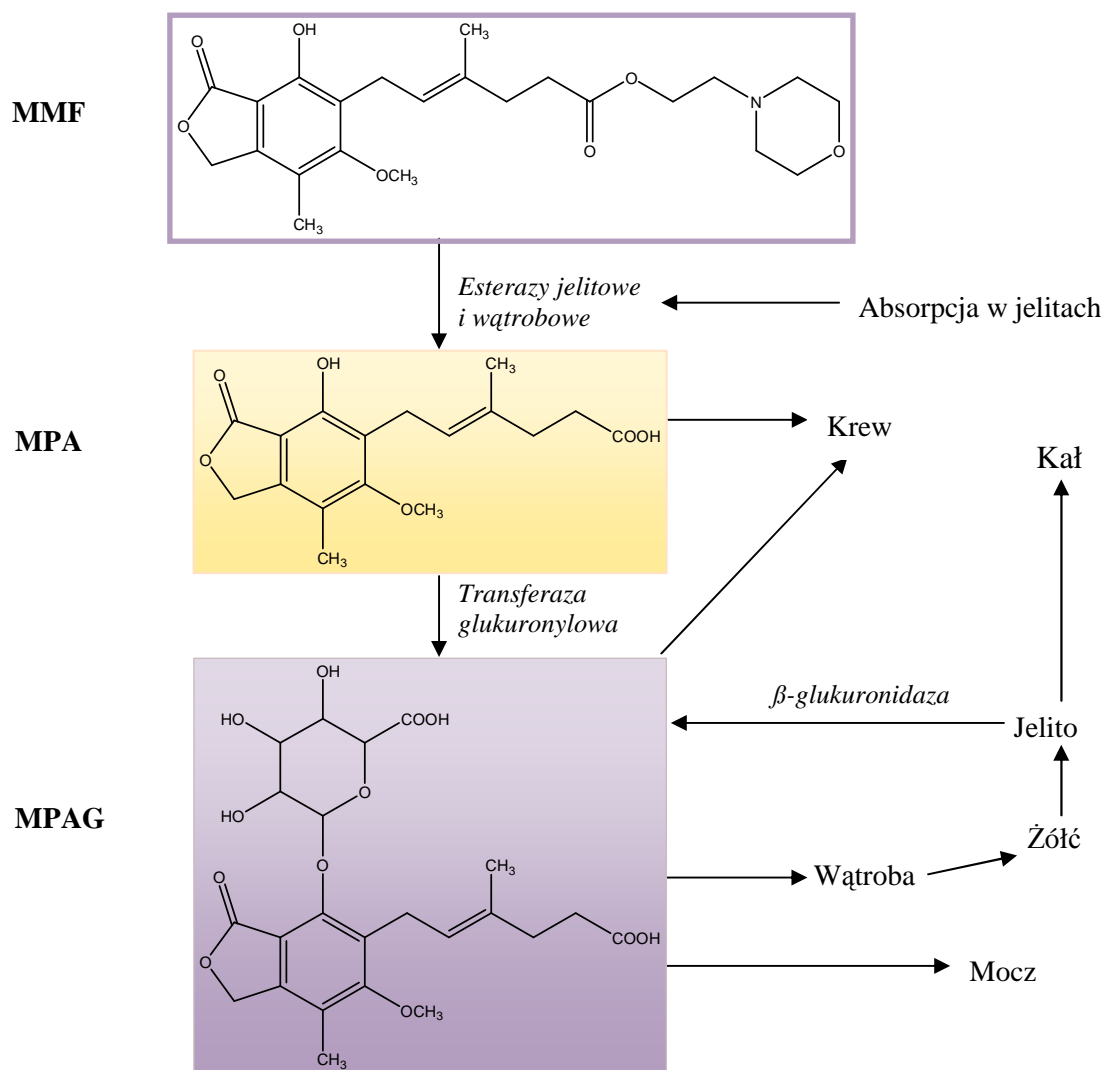


Ryc. 2. Metabolizm MMF [37, 39].

Oprócz glukuronidacji MPA może być również metabolizowany na drodze sprzężania z glukozą. Produktami tego sprzężania są fenyłowy 7-O-glukozyd i produkt utleniania cytochromu P450, acylowy glukozyd, które występują u chorych leczonych MMF w ilościach śladowych i prawdopodobnie nie wykazują klinicznie istotnej aktywności farmakologicznej [37, 38].

2.2.1.3.1. Recyrkulacja jelitowo-wątrobowa

MPAG ulega recyrkulacji jelitowo-wątrobowej, wydalając się z żółcią do jelita, gdzie ulega hydrolizie do MPA w obecności enzymu β -glukuronidazy, produkowanej przez bakterie jelitowe i jest ponownie wchłaniany do krwioobiegu (Ryc. 2 i 3). Recyrkulacja jelitowo-wątrobowa powoduje pojawienie się drugiego szczytu stężenia MPA w osoczu ($C_{\max 2}$) po około 6 – 12 h po doustnym podaniu MMF. Z tego względu stężenie MPA przed podaniem kolejnej dawki MMF (C_0) niekoniecznie musi odpowiadać najniższemu stężeniu w przedziale dawkowania leku i może wykazywać duże zróżnicowanie międzypersonne [44]. Stwierdzono, że recyrkulacja jelitowo-wątrobowa bierze udział średnio w ok. 40% (10–60%) całkowitej ekspozycji na MPA [30]. Przemiany MMF u ludzi przedstawia Ryc. 3.



Ryc. 3. Metabolizm, wydalanie i recykulacja jelitowo-wątrobowa MMF [45].

2.2.1.3.2. Zmienność farmakogenetyczna w procesie glukuronidacji MPA

Głównymi izoenzymami odpowiedzialnymi za proces glukuronidacji MPA są UGT1A9 oraz 2B7, prawdopodobnie ze względu na ich wysoką ekspresję w wątrobie i w nerkach [46]. W badaniach *in vitro*, izoenzym UGT1A9 był odpowiedzialny za 55%, 75% i 50% przemian MPA do MPAG, odpowiednio w wątrobie, nerkach i błonie śluzowej jelit [30]. MPAG powstaje również przy udziale UGT1A7, 1A8 i 1A10, które ulegają ekspresji w nerkach i przewodzie pokarmowym.

Proces przemiany MPA do MPAG, a także aktywne wydzielanie leku z żółcią są uwarunkowane genetycznie. Jest to jeden z wielu czynników wpływających na zmienność farmakokinetyczną leku. Uważa się, że w przyszłości badania farmakogenetyczne enzymów biorących udział w metabolizmie MMF będą niezwykle pomocne w optymalizacji dawkowania, w celu zapewnienia skutecznej i bezpiecznej immunosupresji.

2.2.1.4. Eliminacja

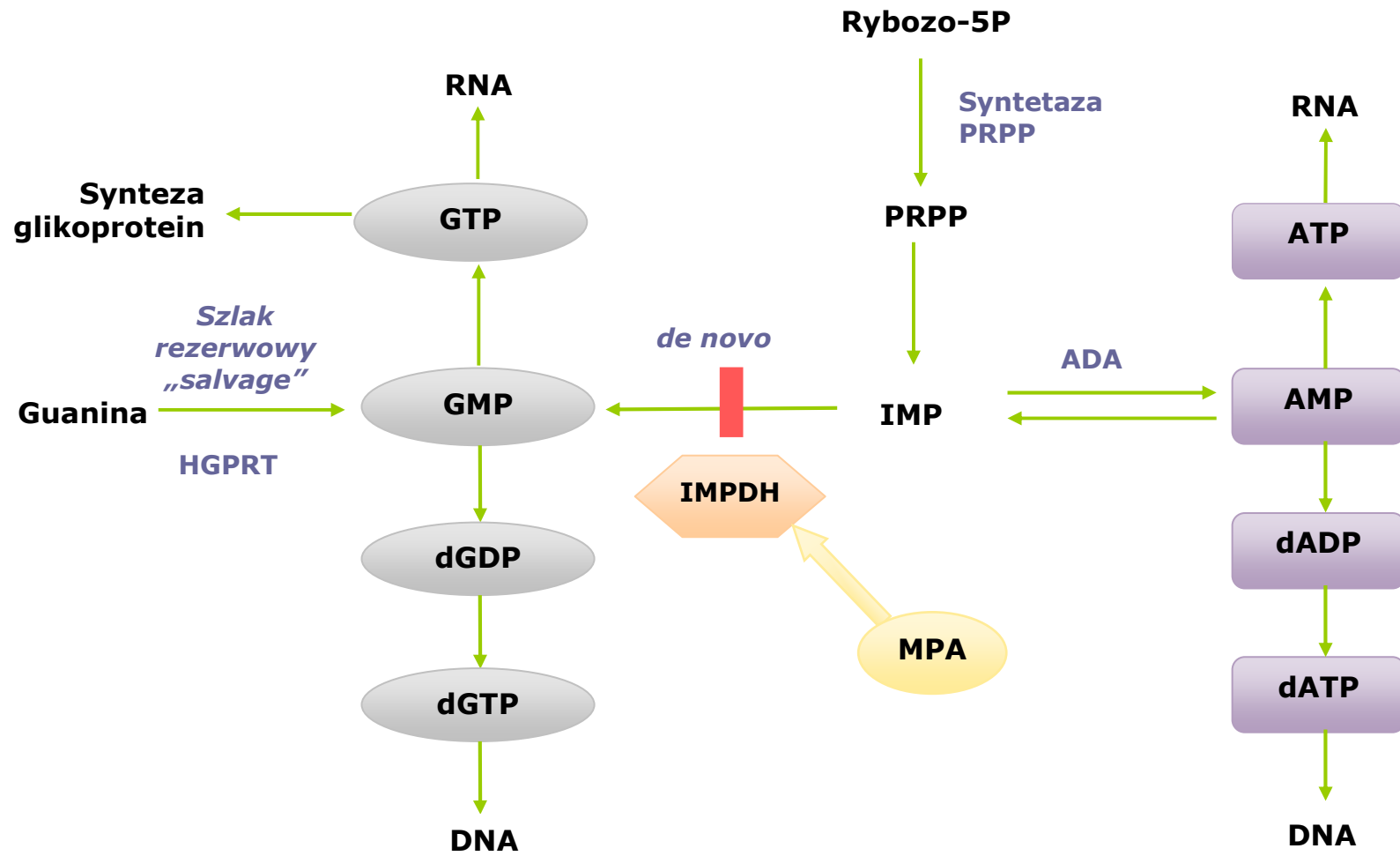
Po podaniu doustnym MMF znakowanego radioizotopem stwierdzono, że ok. 93% podanej dawki zostało wydalone z moczem, a 6% z kałem. Większość podanej dawki wydalana jest z moczem w postaci MPAG (około 87%), natomiast niewielka w postaci MPA (średnio 0,6%) i AcMPAG (średnio 0,3%) [25, 30].

2.2.2. Mechanizm działania

MPA jest specyficznym, silnym, odwracalnym i niekompetycyjnym inhibitorem IMPDH, enzymu niezbędnego w syntezie puryn *de novo* [26]. Enzym ten uczestniczy w przemianie inozynomonofosforanu (IMP) w guanozynomonofosforan (GMP). Szlak ten jest szczególnie ważny w syntezie GMP w aktywowanych limfocytach, ponieważ limfocyty bardziej niż inne komórki zależą od szlaku syntezy puryn *de novo*. Szlak ten dostarcza nukleotydów, szczególnie guanozynotrifosforanu (GTP) i deoksyguanozynotrifosforanu (dGTP), które są niezbędne do syntezy DNA i glikoprotein [19] (Ryc. 4).

MMF działa na wiele etapów odpowiedzi immunologicznej. Podanie MMF zatrzymuje cykl komórkowy w fazie G1, hamuje proliferację limfocytów T i B, dojrzewanie komórek dendrytycznych, produkcję przeciwciał stymulowanych mitogenami i antygenami, stymuluje apoptozę aktywowanych limfocytów T. Poza tym hamuje kostymulację limfocytów T i ich migrację do przeszczepu oraz rozplęgnięcie komórek mięśni gładkich. MMF hamuje pierwotną, ale nie wtórną odpowiedź przeciwciał. Jest to korzystne, ponieważ umożliwia zahamowanie produkcji przeciwciał na antygeny dawcy pozostawiając niezaburzoną odpowiedź humoralną przeciw drobnoustrojom chorobotwórczym [20].

MMF jest skuteczny w indukcji, leczeniu podtrzymującym oraz w profilaktyce ostrego i przewlekłego odrzucania przeszczepu [19].



Ryc. 4. Szlaki biosyntezy puryn [45]

2.2.3. Wskazania terapeutyczne do stosowania mykofenolanu mofetylu

Obecnie lek jest szeroko stosowany w schematach immunosupresji u biorców allogenicznych przeszczepów nerki, serca lub wątroby w skojarzeniu z CNI i GS [7]. Coraz częściej znajduje on także zastosowanie po transplantacjach innych narządów unaczynionych m.in.: płuc, trzustki i jelit, a także w profilaktyce reakcji przeszczepu przeciw gospodarzowi po transplantacji szpiku [19, 25].

Zastosowanie MMF w leczeniu nie związanych z transplantacją stanów chorobowych jest obecnie w trakcie badań. Są to choroby o podłożu autoimmunologicznym bądź immunologiczno-zapalnym, jak np.: reumatoidalne zapalenie stawów, liszaj rumieniowaty układowy, w tym toczeniowe zapalenie nerek, artropatia łuszcycowa, mioпатия zapalna, choroba Leśniowskiego-Crohna, nefropatia IgA, polineuropatia, nużliwość mięśni, łuszczyca, atopowe zapalenie skóry i wiele innych [27, 47-49].

2.2.3.1. Dawkowanie mykofenolanu mofetylu u chorych po przeszczepieniu narządów

Dawkowanie MMF jest różne w zależności od wskazania. Ze względu na dobre i szybkie wchłanianie, MMF jest najczęściej podawany doustnie w dawkach podzielonych. W profilaktyce ostrego odrzucania przeszczepu nerki MMF podaje się doustnie 1,0 g 2 razy dziennie, natomiast w profilaktyce odrzucania przeszczepu serca i wątroby zaleca się 1,5 g 2 razy dziennie [7, 19]. W zapobieganiu odrzucania przeszczepu nerki u dzieci i młodzieży w wieku od 2 do 18 lat podaje się 600 mg/m² doustnie 2 razy dziennie, aż do maksymalnej dawki 1,0 g 2 razy dziennie przy założeniu, że powierzchnia ciała wynosi przynajmniej 1,25 m². Dawkowanie MMF może różnić się także w zależności od zastosowanego równocześnie innego leku immunosupresyjnego. Według zaleceń opracowanych przez Zespół ds. Leczenia Immunosupresyjnego Krajowej Rady Transplantacyjnej i Polskie Towarzystwo Transplantacyjne u chorych po przeszczepieniu nerki standardową dawką, którą należy stosować zarówno w skojarzeniu z CsA, jak i Tac jest 2,0 g/dobę. Wykazano, że zbyt niskie dawki MMF, niezależnie od stosowanego CNI, zwiększają ryzyko wystąpienia ostrego odrzucania. Wiadomo jednak, że przy stosowaniu takiej samej dawki MMF w skojarzeniu z CsA lub Tac, ekspozycja na MPA w przypadku połączenia z Tac może być wyższa o około 20% niż przy stosowaniu MMF z CsA. Dlatego w praktyce klinicznej często stosuje się niższe dawki MMF w połączeniu z Tac niż z CsA [7, 18].

Dawkowanie MMF może być modyfikowane, np. u chorych wysoko zimmunizowanych, w drugich lub kolejnych przeszczepieniach, po epizodzie ostrego odrzucania, zwłaszcza nawrotowego lub leczonego przeciwciałami. Można wówczas zwiększyć dawki MMF do $2 \times$ po 1,5 g. W razie nietolerancji leku, np. wystąpienia leukopenii dawki można zmniejszyć, np. do 750 mg $2 \times$ na dobę. W nietolerancji pokarmowej można rozłożyć dawkę dobową na 3 lub 4 porcje. Zmniejszenie dawki dobowej MMF poniżej 2 g dziennie na ponad tydzień bez terapeutycznego monitorowania leku znacznie zwiększa ryzyko wystąpienia ostrego odrzucania. Przed podjęciem decyzji o zmniejszeniu dawek leku wskazane jest oznaczenie stężenia MPA w osoczu oraz dalsze jego monitorowanie po zmniejszeniu dawki leku [7,19]. Nie ma jednoznacznych zaleceń dotyczących zmiany dawkowania MMF u chorych po przeszczepieniu nerki z niewydolnością wątroby [30, 50]. U chorych po przeszczepieniu nerki z osłabioną jej funkcją należy unikać podawania dawki większej niż 2 g/dobę i zaleca się oznaczenie stężenia wolnego MPA [19, 51].

2.2.4. Działania niepożądane mykofenolanu mofetylu

MMF jest zazwyczaj dobrze tolerowany, a jego profil działań niepożądanych jest korzystny w porównaniu do innych leków immunosupresyjnych. MMF nie wykazuje działania nefrotoksycznego, hepatotoksycznego, ani neurotoksycznego. Nie wpływa też na nadciśnienie tętnicze ani na profil lipidowy [52]. Najczęściej spotykanymi działaniami niepożądanymi związanymi ze stosowaniem MMF są zaburzenia jelitowe, zaburzenia hematologiczne i infekcje, jednakże występują one z podobną częstością jak u chorych leczonych AZA [27, 53, 54]. Istnieją jednak trudności w ustaleniu ścisłej zależności pomiędzy stężeniem MPA a działaniami niepożądanymi, które mogą wynikać z różnicy w funkcji nerki oraz zróżnicowania wewnątrz- i międzyosobniczego farmakokinetyki metabolitów MMF [30]. Dlatego istnieje potrzeba prowadzenia badań, które pomogą ustalić standardy i zalecenia dotyczące stosowania MMF w celu zapobiegania działaniom niepożądanym leku.

2.2.4.1. Zaburzenia ze strony przewodu pokarmowego

Najczęściej spotykane działania niepożądane związane ze stosowaniem MMF dotyczą przewodu pokarmowego i mogą występować nawet u 20% chorych [52]. Zaburzenia te objawiają się w postaci biegunek, bólów brzucha, nudności i wymiotów, braku apetytu, niestrawności oraz sporadycznie krwawień i perforacji przewodu pokarmowego [55, 56]. Mechanizm niepożądanego działania MMF na przewód pokarmowy nadal nie jest znany. Pojawiają się sprzeczne doniesienia dotyczące wpływu stężenia poszczególnych metabolitów

MMF na niepożądane objawy ze strony przewodu pokarmowego [55, 57-59]. W praktyce klinicznej mogą one zależeć także od równocześnie podawanych innych leków (jak Tac czy sirolimus), zakażeń, leczenia antybiotykami, innych stanów chorobowych, jak np. cukrzyca, itp. [55, 60-63]. Niestety, objawy te są często i bezkrytycznie traktowane jako związane ze stosowaniem MMF. W większości przypadków prowadzi to do redukcji dawki MMF, co w przypadku braku monitorowania stężenia metabolitów tego leku zwiększa ryzyko ostrego odrzucania, a w konsekwencji utraty przeszczepu [64, 65].

2.2.4.2. Zaburzenia hematologiczne

Działania niepożądane na układ krwiotwórczy występują u mniej niż 5% chorych leczonych MMF w monoterapii. Są to najczęściej anemia i leukopenia, rzadziej małopłytkowość. Mają one zazwyczaj łagodny przebieg, zależą od stężenia MPA i cofają się po redukcji dawki lub zmianie farmakoterapii [Orvis 2008]. Anemia lub leukopenia występuje o wiele częściej u chorych po przeszczepieniu narządów leczonych kilkoma lekami immunosupresyjnymi równocześnie, odpowiednio od 25-39% i od 11-35% [50]. Może to być spowodowane stosowaniem dodatkowych leków immunosupresyjnych, które również działają mielosupresyjnie, ale także wieloma innymi czynnikami, np. zmniejszoną produkcją erytropoetyny z powodu obniżającej się czynności wydzielniczej nerki przeszczepionej wraz z postępującą jej przewlekłą niewydolnością [66-68]. Również inne stosowane leki, np. leki przeciwwirusowe (gancyklowir), przeciwbakteryjne (sulfametoksazol z trimetoprimem), allopurynol, inhibitory konwertazy angiotensyny (ACEI) lub antagoniści receptora angiotensyny II (sartany) mogą nasilać supresję szpiku [69]. Z tego powodu trudno stwierdzić, czy dany objaw niepożądany jest efektem terapii MMF [25, 27]. Częstość występowania zarówno anemii, leukopenii i małopłytkowości podczas leczenia MMF jest porównywalna z częstością jej występowania u chorych, u których stosuje się schematy immunosupresji zawierające AZA [25, 27, 70, 71].

2.2.4.3. Infekcje

Obserwowano niewielki wzrost ryzyka infekcji, które zwiększa się w miarę zwiększania dawki leku. Częstość występowania infekcji oportunistycznych nie była większa niż u chorych otrzymujących AZA [27, 53, 72]. Infekcje wirusem cytomegali (CMV) u chorych leczonych wysokimi dawkami MMF (3 g/dobę), których nie stosuje się u chorych po przeszczepieniu nerki, występowały istotnie częściej w porównaniu z chorymi leczonymi AZA [53, 71]. U chorych po przeszczepieniu nerki, serca lub wątroby, otrzymujących MMF w skojarzeniu z innymi lekami immunosupresyjnymi, najczęstszymi infekcjami oportunistycznymi były

zakażenie skóry i śluzówek *Candida albicans*, wiremia i objawowe zakażenie CMV, zakażenie wirusem *Herpes simplex* i *zoster*. Infekcje CMV wystąpiły istotnie częściej u chorych leczonych schematem trójlekowym zawierającym MMF, Tac i GS w porównaniu do chorych leczonych Tac i GS [73]. W innym badaniu wykazano, że MMF może nasilać objawy cytomegalii, dlatego należy zachować szczególną ostrożność podczas stosowania tego leku u chorych nosicieli CMV [74].

2.2.4.4. Inne, rzadziej występujące działania niepożądane

Poza wymienionymi działaniami niepożądanymi rzadziej mogą wystąpić różnego rodzaju problemy skórne, tj. pokrzywka, wysypka lub zmiany zapalne [75, 76]. Mimo, że MMF jest znany ze swej niskiej hepatotoksyczności, istnieją pojedyncze doniesienia o wzroście poziomu enzymów wątrobowych i hiperbilirubinemii podczas stosowania MMF [77, 78]. Innymi rzadko występującymi działaniami niepożądanymi są m. in. aplazja czerwonych krwinek, limfopenia, zwłóknienia płuc, trudności w oddychaniu i bóle mięśni [52].

W większości badań nie wykazano zwiększonej kancerogenności u chorych leczonych MMF w porównaniu do chorych leczonych innymi lekami immunosupresyjnymi. Ryzyko wystąpienia choroby nowotworowej wydaje się być bardziej związane z czasem trwania i intensywnością terapii immunosupresyjnej niż z podawaniem MMF [27, 52].

Wykazano ponadto działania niepożądane dla rozwoju płodu (w tym wystąpienie wad rozwojowych, resorpcji płodu przy braku objawów toksyczności u matki) u ciężarnych zwierząt. Ponieważ brak jest odpowiednich, kontrolowanych badań dotyczących ciężarnych kobiet, stosowanie MMF w okresie ciąży ogranicza się do tych przypadków, w których potencjalne korzyści przewyższają ryzyko dla płodu [79]. Lek zaliczany jest do kategorii ciąży C. Badania prowadzone na szczurach wykazały, że MMF jest wydzielany do mleka. Nie ma danych dotyczących przechodzenia leku do pokarmu kobiecego [27].

2.2.5. Interakcje mykofenolanu mofetylu

Pomimo złożonej farmakokinetyki, MMF charakteryzuje się stosunkowo małą liczbą interakcji istotnych klinicznie [80]. Na farmakokinetykę MMF mają wpływ zarówno jednocześnie stosowane leki immunosupresyjne, jak i leki z innych grup terapeutycznych.

2.2.5.1. Interakcje z lekami immunosupresyjnymi

U chorych, u których stosowano CsA obserwowano niższe stężenia MPA (AUC i C_0) o około 30 - 40% w porównaniu do tych chorych, u których stosowano MMF w monoterapii i w skojarzeniu z Tac lub sirolimusem [81-85]. Także C_{max2} było bardziej widoczne u chorych, u których nie stosowano CsA, co może świadczyć o hamującym wpływie CsA na recyrkulację jelitowo-wątrobową. Początkowo uważano, że wyższe stężenia MPA uzyskiwane w skojarzeniu z Tac są spowodowane hamowaniem glukuronidacji MPA przez Tac [84-87]. Jednakże później wykazano, że CsA hamuje wydzielanie MPAG z żółcią przez białko transportowe MRP-2 (multidrug resistance-associated protein 2) [88, 89]. Prowadzi to do zmniejszenia recyrkulacji jelitowo-wątrobowej MPAG, a tym samym zmniejszenia C_{max2} MPA [85, 88, 89]. Z tego powodu zaleca się stosowanie wyższych dawek MMF w terapii skojarzonej z CsA [87, 90]. Hamowanie recyrkulacji jelitowo-wątrobowej przez CsA i spowodowany tym wzrost stężenia MPAG może prowadzić do trudności w interpretacji całkowitego stężenia MPA z powodu możliwości wypierania MPA z połączeń białkowych przez nadmiernie zgromadzony MPAG [35, 91].

Innymi lekami immunosupresyjnymi, które wchodzi w skład schematów immunosupresji z MMF są GS. Indukują one wiele enzymów, w tym transferazę glukuronylową, co może wpływać na stężenie MPA. Stężenie MPA wzrasta wraz z redukcją dawki GS i jest wyższe u chorych, u których nie stosuje się GS [92].

2.2.5.2. Interakcje z innymi lekami

MMF wchodzi w interakcje na różnych etapach losów leku w organizmie. Przyjmowanie preparatów zobojętniających kwas solny zawierających glin lub magnez zmniejsza biodostępność MMF. Podobnie przyjmowanie leków z grupy inhibitorów pompy protonowej (IPP) zmniejsza ekspozycję na MPA o 20 – 30% [7]. Preparaty zawierające dwuwartościowe jony, tj. wapń i żelazo mogą hamować absorpcję MMF [32, 93, 94], jednak interakcja MMF z żelazem jest podważana [95, 96].

Niektóre leki mogą zmniejszać stężenie MPA z powodu wpływu na recyrkulację jelitowo-wątrobową. Takimi lekami są żywice jonowymienne, jak np. cholestyramina [97], leki o właściwościach adsorbujących, jak sewelamer [98] oraz większość antybiotyków, w tym cefalosporyny, fluorochinolony, makrolidy, karbapenemy, penicyliny i sulfonamidy, które wyjąłwiają przewód pokarmowy z bakterii saprofitycznych produkujących glukuronidazy [30, 99]. Wykazano jednak, że tylko interakcja z norfloksacyną i metronidazolem jest istotna klinicznie [52, 80].

Stosunkowo niedawno odkryto istotną klinicznie interakcję MMF z rozyglitazonem polegającą na zwiększeniu stężenia MPA [80, 100]. Mechanizm tej interakcji nie został jeszcze poznany [80].

Inne leki, jak furosemid i kwas acetylosalicylowy mogą zwiększać stężenie wolnego MPA z powodu wypierania go z połączeń z białkami [39]. Dodatkowo kwas acetylosalicylowy oraz inne niesteroidowe leki przeciwzapalne, jak kwas niflumowy, diflunisal, kwas flufenamowy i mefenamowy hamują glukuronidację MPA, zwiększając jego stężenie [101]. Odwrotnie działa ryfampicyna, która indukuje transferazę glukuronylową przyspieszając metabolizm MPA i zmniejszając jego stężenie [102].

MMF podlega interakcjom także na etapie eliminacji z takimi lekami, jak probenecyd, acyklowir, gancyklowir i walgancyklowir z powodu hamowania sekrecji kanalikowej MPA w nerkach [99]. Łączne stosowanie MMF i wymienionych leków przeciwwirusowych prowadzi do wzrostu stężenia obu stosowanych leków, jednak interakcja ta może nie być istotna klinicznie. Zaleca się jednak ostrożność przy stosowaniu tych leków u chorych z niewydolnością nerek [103].

2.2.6. Terapeutyczne monitorowanie mykofenolanu mofetylu

Terapia monitorowana na podstawie pomiaru stężenia leku i/lub jego aktywnego metabolitu w osoczu jest najlepszą metodą prowadzenia skutecznej i bezpiecznej immunosupresji. W taki sposób prowadzi się terapię u chorych leczonych CsA i Tac, natomiast immunosupresyjna terapia za pomocą MMF jest zazwyczaj kontrolowana na podstawie klinicznej oceny stanu chorego. Według zaleceń opracowanych przez Zespół ds. Leczenia Immunosupresyjnego Krajowej Rady Transplantacyjnej i Polskie Towarzystwo Transplantacyjne, terapeutyczne monitorowanie MPA nadal nie jest rutynową metodą postępowania, pomimo że istnieją wskazania do monitorowania tego leku [18].

Farmakokinetyka MPA charakteryzuje się dużą zmiennością zarówno między-, jak i wewnątrzsobniczą. Parametry farmakokinetyczne mogą zmieniać się wraz z upływem czasu od transplantacji, a także w zależności od funkcji nerki, stężenia albumin, interakcji z innymi lekami, itp. Wykazano, że występowanie ryzyka ostrego odrzucania i działań niepożądanych jest najmniejsze dla wartości AUC_{0-12h} MPA od 30 do 60 mg·h/l. Pomimo, że terapeutyczne monitorowanie MPA nie jest stosowane rutynowo, istnieje jednak coraz więcej doniesień o potrzebie monitorowania stężenia MPA, a także pozostałych metabolitów MMF, które charakteryzują się również dużą zmiennością międzysobniczą farmakokinetyki. Monitorowanie metabolitów MMF jest także istotne z powodu wąskiego indeksu terapeutycznego, interakcji z innymi lekami immunosupresyjnymi oraz trudności w ocenie

odpowiedzi farmakologicznej, czy też wykrycia przyczyny działań niepożądanych [35, 104, 105].

Terapeutyczne monitorowanie MMF może dostarczyć więcej informacji o skuteczności i bezpieczeństwie leczenia niż sama ocena kliniczna. Jest ono szczególnie przydatne dla zapobiegania ostremu odrzucaniu przeszczepu, ponieważ w wielu badaniach wykazano istotną zależność ryzyka odrzucania od AUC MPA [91, 106-108]. Odrzucanie alloprzeszczepu może ponadto być trudne do wykrycia klinicznie, ponieważ jego objawy nie są charakterystyczne i często pojawiają się dopiero po poważnym uszkodzeniu narządu przeszczepionego [50, 109].

Sugeruje się przydatność kliniczną monitorowania metabolitów MMF w następujących sytuacjach:

- na początku leczenia w celu określenia profilu farmakokinetycznego chorego w pierwszym tygodniu po transplantacji, następnie w kolejnym tygodniu oraz po 1 i 2 miesiącach;
- przed ważnymi zmianami w terapii immunosupresyjnej, jak zmiana dawkowania MMF lub towarzyszących leków immunosupresyjnych: CsA, Tac lub GS;
- w okresie istotnych zmian klinicznych, takich jak odrzucanie, infekcje lub podejrzenie działań niepożądanych;
- przy podejrzeniach, że chory nie stosuje się do zaleceń lekarskich [19, 110, 111].

Dla celów klinicznych najczęściej korzysta się z pojedynczego pobrania krwi w czasie t_0 (tj. przed podaniem kolejnej dawki MMF). Oznaczenie C_0 MPA ma jednak małą wartość kliniczną ze względu na niewielką korelację z AUC [19, 112]. Chociaż pełne, 12 - godzinne AUC lepiej obrazuje całkowitą ekspozycję organizmu na lek i lepiej koreluje ze skutecznością kliniczną, to jednak wymaga pobierania wielu próbek, co może być niedogodne dla chorego i czyni metodę bardziej pracochłonną i kosztowną [44, 109]. W celu zminimalizowania tych przeszkód opracowuje się algorytmy, które pozwalają obliczyć AUC_{0-12h} na podstawie kilku pomiarów stężeń, najczęściej w ciągu 2 godzin po przyjęciu leku przez chorego. Jest to tzw. „strategia ograniczonej ilości próbek” [109, 111, 112]. Zalecany zakres wartości C_0 MPA wynosi od 1 - 3,5 mg/l, natomiast dla AUC_{0-12h} od 30 - 60 mg·h/l [110, 113-115].

2.2.6.1. Różnice międzysobnicze w farmakokinetyce mykofenolanu mofetylu

Farmakokinetyka MPA wykazuje duże różnice międzysobnicze i może się zmieniać w określonych populacjach chorych, w zależności od płci, rasy, wieku, z powodu zmian w wiązaniu z białkami, towarzyszących stanów chorobowych (osłabienie funkcji nerki i wątroby, anemia) lub interakcji ze stosowanymi łącznie z MMF innymi lekami immunosupresyjnymi [50, 55].

U chorych z osłabioną czynnością przeszczepionej nerki na farmakokinetykę i farmakodynamikę MPA może wpływać kilka czynników patofizjologicznych:

- mechanizm konkurencyjnego wypierania MPA z połączeń z albuminami przez wysokie stężenia MPAG, który kumuluje się u chorych z upośledzoną funkcją przeszczepionej nerki,
- obniżone stężenie albumin,
- obniżone pH osocza prowadzące do zmian w łączeniu MPA z albuminami,
- inne czynniki obejmujące zmianę struktury albumin bądź wypieranie z połączeń białkowych przez endogenne związki mocznicowe [44, 50].

U tych chorych obserwuje się wzrost wolnej frakcji MPA, co może powodować wzrost aktywności farmakologicznej i często w konsekwencji wzrost toksyczności leku. Stan ten wymaga monitorowania stężenia MPA w osoczu (szczególnie jego wolnej frakcji) i ewentualnej zmiany dawkowania MMF [51, 105, 116].

2.2.6.2. Zmienność farmakokinetyki w czasie

Parametry farmakokinetyczne mogą się zmieniać u chorych w trakcie długotrwałej terapii immunosupresyjnej. AUC MPA wzrasta nawet o 50 - 100% w ciągu pierwszych 3 – 6 miesięcy terapii [18, 50]. Zmiany te mogą być spowodowane wieloma czynnikami, jak np. sukcesywnym zmniejszaniem dawki GS u tych chorych, wzrostem stężenia albumin, co sprawia, że stężenie wolnej frakcji MPA może pozostać niezmienione [19, 30]. Zmienność parametrów farmakokinetycznych może być także spowodowana zmianami we wchłanianiu leku i spadkiem klirensu MPA w czasie [117]. Wymagany poziom immunosupresji również zmienia się w czasie. Bezpośrednio po transplantacji ryzyko ostrego odrzucania jest najwyższe, zatem optymalny zakres stężeń terapeutycznych jest wyższy u chorych krótko po przeszczepie i np. po upływie 1 roku [30].

2.2.6.3. Terapeutyczne monitorowanie mykofenolanu mofetylu a działania niepożądane

W późniejszym okresie po przeszczepieniu większą wagę przywiązuje się do zminimalizowania działań niepożądanych niż do zapobiegania odrzucaniu przeszczepu. Redukcja dawki MMF będąca konsekwencją działań niepożądanych może prowadzić jednak do wystąpienia stężeń subterapeutycznych i osłabienia efektu klinicznego [26, 118]. Pomiar stężenia leków immunosupresyjnych mogą być pomocne dla stwierdzenia przyczyny pojawiających się zdarzeń niepożądanych [44]. Ponieważ leczenie immunosupresyjne stosuje się u biorców przeszczepu przez całe życie lub do momentu utraty funkcji narządu

przeszczepionego, należy doprowadzić stężenia MPA i innych leków immunosupresyjnych do optymalnego zakresu stwarzającego odpowiedni poziom immunosupresji przy minimalnym ryzyku działań niepożądanych [44, 118].

2.2.6.4. Związek między skutecznością kliniczną a stężeniami kwasu mykofenolowego w osoczu

Kluczowym enzymem, od którego zależy skuteczność kliniczna MMF jest IMPDH [54, 91, 119]. Udowodniono, że istnieje odwrotna korelacja pomiędzy stężeniem MPA a aktywnością tego enzymu. Istnieje jednak duże (ponad 8-krotne) zróżnicowanie międzypersoniczne w aktywności IMPDH. Wykazano, że chorzy z obniżoną aktywnością IMPDH oznaczoną przed przeszczepieniem częściej wymagali redukcji dawki MMF z powodu działań niepożądanych i odwrotnie – chorzy o podwyższonej aktywności tego enzymu częściej byli hospitalizowani z powodu ostrego odrzucania przeszczepu [50]. Oznaczenie aktywności IMPDH nie jest jeszcze wykonywane w praktyce klinicznej, ale coraz częściej sugeruje się potrzebę takich oznaczeń. Metoda pomiaru aktywności IMPDH jest jednak bardziej czasochłonna i kosztowna w porównaniu z oznaczeniem MPA [109, 120].

2.2.6.5. Metody analityczne stosowane w monitorowaniu stężenia kwasu mykofenolowego

Metody analityczne oznaczania stężeń MPA obejmują wysokosprawną chromatografię ciekową (HPLC) oraz metodę immunologiczno-enzymatyczną (EMIT). Dla celów klinicznych dopuszczalne jest stosowanie obu metod, jednakże należy wziąć pod uwagę, że w przypadku metody EMIT oznaczone stężenia MPA są zazwyczaj wyższe o 5 – 40% w porównaniu z metodą HPLC. Powodem tej różnicy jest reakcja krzyżowa przeciwciał MPA zastosowanych w metodzie EMIT z aktywnym immunosupresyjnie AcMPAG [30]. Metoda EMIT jest szybsza i łatwiejsza, i dlatego w praktyce klinicznej jest częściej wykorzystywana do oznaczeń MPA, natomiast metoda HPLC z powodu większej specyficzności, a przez to dokładności znalazła zastosowanie w badaniach naukowych. Oprócz wymienionych metod obecnie w trakcie badań jest nowa enzymatyczna metoda oznaczania stężenia całkowitego i wolnego MPA [50].

2.3. MONITOROWANIE STANU ODŻYWIENIA U CHORYCH PO PRZESZCZEPIENIU NERKI – AKTUALNE STANDARDY

Stan odżywienia człowieka ma istotny wpływ na jego zdrowie i jakość życia. Prawidłowe żywienie polega na dostarczeniu organizmowi niezbędnych składników pokarmowych w ilościach, które pozwolą mu utrzymać wszystkie czynności biologiczno-fizjologiczne na optymalnym poziomie. Pożywienie powinno również dostarczać człowiekowi składników pokrywających jego potrzeby związane z budową i regeneracją komórek i tkanek [121, 122].

Ocena stanu odżywienia oraz analiza czynników ryzyka wystąpienia niedożywienia u chorych po przeszczepieniu nerki spotyka się z coraz większym zainteresowaniem wśród lekarzy, ponieważ występowanie niedożywienia zaostrza przebieg chorób współistniejących, pogarsza rokowanie, zwiększa śmiertelność i chorobowość, podnosi koszty opieki zdrowotnej oraz obniża jakość życia chorego [123].

Niedożywienie to zespół objawów niedoboru podstawowych składników odżywczych, takich jak: węglowodany, białka, tłuszcze, witaminy lub składniki mineralne. Może ono wynikać z niedostatecznej podaży składników odżywczych w sytuacji normalnego lub zwiększonego ich zapotrzebowania, albo nadmiernej utraty lub zaburzeń wchłaniania [124]. U chorych po przeszczepieniu nerki leczonych MMF niedożywienie może być spowodowane nie tylko dolegliwościami ze strony przewodu pokarmowego, które często prowadzą do zaburzeń trawienia i wchłaniania składników odżywczych, ale także chorobami współistniejącymi, jak np. cukrzyca potransplantacyjna, przewlekłe zapalenie wątroby, infekcje, które często występują u chorych po przeszczepieniu narządów, niezależnie od zastosowanego schematu immunosupresji oraz stosowaniem u tych chorych wielu innych leków (Tab. 3) [55, 61, 123, 125, 126].

Tabela 3. Interakcje wybranych leków z witaminami i składnikami mineralnymi [125]

| Grupa leków | Witaminy i składniki mineralne |
|--|--|
| Zmniejszenie wchłaniania | |
| tetracykliny niektóre leki moczopędne inhibitory pompy protonowej glikokortykosteroidy | wapń, żelazo, magnez żelazo, witaminy: A, D, K, B ₁₂ witamina B ₁₂ witamina B ₆ , kwas foliowy |
| Zaburzenia metabolizmu | |
| glikokortykosteroidy tetracykliny | witamina D witamina C |
| Zwiększenie wydalania | |
| glikokortykosteroidy furosemid, hydrochlorotiazyd salicylany i niesteroidowe leki przeciwzapalne | potas, wapń, cynk sód, potas, wapń ^a , magnez żelazo |

^a furosemid zwiększa, a hydrochlorotiazyd zmniejsza wydalanie wapnia

Leki immunosupresyjne, a w szczególności GS i CNI wywierają działania niepożądane w postaci takich zaburzeń, jak zwiększony katabolizm białek, otyłość, hiperlipidemia, nietolerancja glukozy, nadciśnienie tętnicze, hiperkaliemia, hipomagnezemia, a ponadto prowadzą do zaburzeń metabolizmu witaminy D. Działania niepożądane tych leków nakładają się na problemy zdrowotne, które często towarzyszą chorym z niewydolnością nerek, jak niedożywienie białkowo-energetyczne, zaburzenia lipidowe, nadciśnienie i nadczynność przytarczyc. Dlatego też u chorych po przeszczepieniu nerki występuje zwiększone ryzyko chorób serca i układu krążenia, które są głównymi czynnikami ryzyka zgonu w tej grupie chorych [123, 127]. Ze względu na występujące zaburzenia metaboliczne, będące skutkiem współistniejących schorzeń lub stosowania leków immunosupresyjnych, dieta chorych po przeszczepieniu nerki zawiera pewne ograniczenia. Bardzo ważne jest utrzymanie prawidłowej masy ciała i odpowiedniej podaży białka i tłuszczów zarówno we wczesnym, jak i późnym okresie po transplantacji. U niektórych chorych może być konieczna regulacja zawartości wapnia, magnezu, sodu i potasu w diecie i/lub suplementacja witaminami. Ponadto u niektórych chorych funkcja przeszczepu nie jest całkowicie przywrócona, a u innych obserwuje się postępujące upośledzenie funkcji narządu przeszczepionego, co wiąże się częściowo z koniecznością powrotu do terapii dietetycznej, stosowanej w okresie leczenia zachowawczego [128].

Do oceny stanu odżywienia stosuje się wywiad i badanie ogólnolekarskie oraz badania antropometryczne, badania biochemiczne i immunologiczne [121, 129]. Wywiad i badanie

ogólnolekarskie służą do wstępnej oceny stanu odżywienia, np. zauważenie objawów niedoborów określonych składników odżywczych (Tab. 4).

Tabela 4. Wybrane składniki odżywcze i objawy niedoborów [122, 129]

| Składnik odżywczy | Objawy niedoborów |
|--------------------------|--|
| Witamina A | Sucha, szorstka skóra, stany zapalne błon śluzowych, choroby oczu, jak kseroftalmia, keratomalacja, „kurza ślepotą”, brak apetytu i utrata smaku |
| Witamina E | Sucha, szorstka skóra, niedokrwistość, schorzenia krążenia i stany zakrzepowe naczyń krwionośnych, osłabienie mięśni |
| Potas | Zaburzenia w pracy układu nerwowo-mięśniowego (zmniejszona pobudliwość), zaburzenia w pracy mięśnia sercowego (dodatkowe skurcze), zaburzenia pracy nerek, zaparcia, dłuższy czas gojenia się ran, nerwowość, zaburzenia koncentracji, senność, omdlenia |
| Wapń | Oslabienie kości i zębów, zaburzenia w pracy układu nerwowego i mięśniowego, zaburzenia krzepnięcia krwi, zaburzenia rytmu serca, krwotoki z nosa, niedociśnienie tętnicze, stany depresyjne i lękowe |
| Magnez | Nadmierna pobudliwość nerwowo-mięśniowa, skurcze mięśni, zaburzenia pracy serca, osłabienie, zaburzenia łaknienia, bóle głowy, depresje, zaburzenia snu |
| Żelazo | Bładość błon śluzowych, niedokrwistość, zanik brodawek językowych |
| Cynk | Zaburzenia odbioru bodźców sensorycznych (smak, zapach), upośledzenie słuchu, zaburzenia widzenia, zmniejszenie odporności organizmu na infekcje, łysienie, zmiany skórne i upośledzenie gojenia ran |
| Miedź | Niedokrwistość, mrowienia, brak koncentracji, zmniejszenie odporności organizmu na infekcje, niealkoholowe stłuszczenie wątroby, złe samopoczucie i zwiększona podatność na oparzenia słoneczne |

Badania antropometryczne pozwalają w łatwy sposób stwierdzić zaburzenia w stanie odżywienia. Najczęściej używanym i najbardziej przydatnym do antropometrycznej oceny stanu odżywienia są pomiar masy ciała i/lub obliczenie na jej podstawie wskaźnika Queteleta zwanego wskaźnikiem masy ciała BMI (Body Mass Index) [121, 129]. Wskaźnik ten oblicza się z następującego wzoru:

$$\text{BMI} = \text{masa ciała (kg)} / \text{wzrost (m}^2\text{)}.$$

Interpretację wartości BMI wg European Society for Clinical Nutrition and Metabolism (ESPEN) przedstawiono w Tabeli 5.

Tabela 5. Ocena stanu odżywienia wg ESPEN

| BMI (kg/m ²) | Interpretacja |
|--------------------------|----------------------------|
| < 18 | Niedożywienie |
| 18,0 – 19,0 | Ryzyko niedożywienia |
| 20,0 – 24,9 | Prawidłowy stan odżywienia |
| 25,0 – 29,9 | Nadwaga |
| 30,0 – 40,0 | Otyłość |
| > 40 | Otyłość olbryzmia |

W badaniu antropometrycznym korzysta się także z tzw. wskaźnika WHR (Waist/Hip Ratio), który umożliwia ocenę rozmieszczenia tłuszczu podskórnego w organizmie. WHR oblicza się dzieląc obwód talii przez obwód bioder. Wskaźnik ten umożliwia podział otyłości na:

- androidalną, czyli centralną, brzuszную lub typu „jabłko” (u mężczyzn > 1,00; u kobiet > 0,85)
- gynoidalną, czyli obwodową, pośladkowo – udową lub typu „gruszka” (u mężczyzn < 1,00; u kobiet < 0,85) [121, 129].

Wykazano istotny związek pomiędzy otyłością androidalną, a występowaniem choroby niedokrwiennej serca, nadciśnienia tętniczego, udaru mózgu, hiperlipoproteinemii, hiperinsulinemii i cukrzycy typu 2.

Badania biochemiczne stanu odżywienia dzielimy na:

- oceniające stan odżywienia białkowego (pomiar stężenia albumin, transferyny, prealbuminy, białka wiążącego retinol, fibronektyny);
- oceniające stan odżywienia witaminowego;
- oceniające stan odżywienia w składniki mineralne;
- oceniające stan gospodarki lipidowej;
- inne badania, jak badanie morfologii krwi oceniające liczbę erytrocytów, leukocytów, stężenie hemoglobiny, oraz badanie stężenia mocznika i stężenia kreatyniny (C_{cr}) w osoczu oraz stężenia glukozy na czczo [121, 129].

W praktyce klinicznej u chorych w późniejszym okresie po przeszczepieniu nerki rutynowo (przy okazji wizyty w poradni transplantacyjnej) bada się stężenie wapnia, sodu i potasu, morfologię krwi, stężenie azotu mocznikowego (UN), C_{cr} i glukozy na czczo. Sporadycznie natomiast oznacza się stężenie albumin oraz bada profil lipidowy, częściej u chorych o wyższym ryzyku chorób metabolicznych (np. BMI > 30) [123, 128]. Bardzo rzadko bada się

stężenie witamin i pozostałych składników mineralnych. Witaminy antyoksydacyjne m.in. tokoferole, retinol i karotenoidy odgrywają istotną rolę w organizmie z powodu neutralizacji wolnych rodników tlenowych, których nadmierne wytwarzanie może być przyczyną wielu procesów chorobowych. Zapobiegają one także procesom peroksydacyjnym i nowotworowym, dlatego istotny jest ich odpowiedni udział w diecie [130-132]. Oprócz wymienionych witamin szczególną rolę przypisuje się składnikom mineralnym m.in. ze względu na ich udział w licznych procesach antyoksydacyjnych. Prawidłowe stężenia witamin i składników mineralnych mogą korzystnie wpływać na zmniejszenie wystąpienia zaburzeń metabolicznych często towarzyszących przyjmowaniu niektórych leków immunosupresyjnych [11].

Badania immunologiczne stanu odżywienia polegają na pomiarze całkowitej liczby limfocytów w 1 mm^3 krwi obwodowej, badaniu stężenia immunoglobulin w surowicy krwi lub na testach opóźnionej nadwrażliwości, opartych na reakcji antygen-przeciwciała. Badania immunologiczne cechuje jednak niedostateczna obiektywność i powtarzalność. Tego typu badań stanu odżywienia nie stosuje się u chorych po transplantacji, ponieważ tacy chorzy mają obniżoną odporność nie z powodu niedożywienia, ale z powodu stosowanej u nich terapii immunosupresyjnej [126, 129].

3. CEL PRACY

Celem pracy była ocena profili farmakokinetycznych MPA i MPAG u chorych w późniejszym okresie po przeszczepieniu nerki leczonych MMF w różnych schematach immunosupresji oraz analiza wpływu funkcji nerki i innych czynników klinicznych na parametry farmakokinetyczne (AUC_{0-4h} , C_0 i C_{max}) MPA i MPAG. Celem pracy była także ocena wpływu stosowania MMF na występowanie działań niepożądanych oraz na stan odżywienia chorych wybranymi składnikami mineralnymi i witaminami antyoksydacyjnymi.

Aby zrealizować ten cel postanowiono:

- zbadać farmakokinetykę MPA i MPAG w zależności od klirensu kreatyniny (Cl_{cr});
- porównać profile farmakokinetyczne MPA i MPAG w zależności od zastosowanego CNI: CsA lub Tac;
- zbadać związek pomiędzy parametrami farmakokinetycznymi metabolitów MMF a występowaniem działań niepożądanych (głównie na przewód pokarmowy i na układ krwiotwórczy);
- zbadać wpływ MMF na stan odżywienia chorych pod względem oceny stężenia witamin antyoksydacyjnych (retinolu, α -tokoferolu i β -karotenu) oraz wybranych składników mineralnych w osoczu.

Założeniem badań była próba odpowiedzi na następujące pytania:

- w jaki sposób farmakokinetyka metabolitów MMF zależy od funkcji nerki i od stosowanych leków immunosupresyjnych?
- czy wysokie stężenia aktywnych metabolitów MMF są istotnie związane ze zdarzeniami niepożądanymi?
- czy stan odżywienia chorych wybranymi witaminami i składnikami mineralnymi jest związany z terapią immunosupresyjną za pomocą MMF?

4. CZĘŚĆ DOŚWIADCZALNA

4.1. METODYKA BADAŃ

4.1.1. Metoda HPLC oznaczania kwasu mykofenolowego i jego glukuronidu

Stężenia MPA i MPAG w osoczu oznaczano metodą HPLC z detekcją UV [133, 134], stosując jako wzorzec wewnętrzny (IS) indometacynę. W celu obliczenia stężenia MPAG przeprowadzano hydrolizę enzymatyczną MPAG w obecności β -glukuronidazy o aktywności 89,4 j/ml i ponownie oznaczano stężenia MPA metodą HPLC. Stężenia MPAG w osoczu chorych leczonych MMF obliczano z różnicy między stężeniem molowym MPA po hydrolizie enzymatycznej a stężeniem MPA przed hydrolizą:

$$C_{\text{MPAG}} = C_{\text{MPA po hydrolizie enzymatycznej}} - C_{\text{MPA przed hydrolizą}}$$

4.1.1.1. Aparatura

W badaniach stosowano wysokosprawny chromatograf cieczowy HP 1100 z detektorem UV sterowany komputerem (Hewlett-Packard, Wiedeń, Austria); kolumnę chromatograficzną Supelcosil™ LC-18-DB (25 cm×4,6 mm; 5 μ m) Supelco, USA; prekolumnę Supelguard™ LC-18-DB (2 cm×4,6 mm; 5 μ m), Supelco, USA; zestaw do sączenia roztworów dla celów HPLC (Sartorius, Goettingen, Niemcy); filtry membranowe S&S Nylon, wielkość porów 0,45 μ m (Sigma-Aldrich, Niemcy); aparat do demineralizacji wody Simplicity® UV (Millipore, Francja); pH-metr uniwersalny, automatyczny (CyberScan, Singapur); urządzenie do odgazowywania roztworów metodą ultradźwiękową UM-4 (Unitra, Polska); wirówkę EBA 12 R (Hettich, Niemcy); urządzenie do odparowywania próbek Techne Dri-Block DB 3 (Thermo-DUX, Wielka Brytania); termostatowaną łaźnię wodną z wstrząsaniem typ 357 (Zakłady Aparatury Precyzyjno-Medycznej „Premed”, Marki k/Warszawy); wagę analityczną BP 110 S (Sartorius, Niemcy); wytrząsarkę typ 358 S (Elpan, Polska); miniwytrząsarkę MS1 (IKA-Works Inc., USA); fiołki szklane o pojemności 2 ml (Hewlett-Packard, Wiedeń, Austria); pipety automatyczne 20-5000 μ l (Eppendorf, Niemcy); próbówki polipropylenowe zakręcane

o pojemności 2 ml (Sarstedt, Niemcy); probówki z EDTA o pojemności 5 ml (Sarstedt, Niemcy) i zestaw szkła laboratoryjnego.

4.1.1.2. Odczynniki

MPA (Sigma-Aldrich, Niemcy); MPAG (Roche Pharmaceuticals, Palo Alto, USA)*; indometacyna (Sigma-Aldrich, Niemcy); acetonitryl i metanol (J. T. Baker, Holandia); kwas orto-fosforowy 85% (Sigma-Aldrich, Niemcy); chloroform (J. T. Baker, Holandia); osocze ludzkie (Regionalne Centrum Krwiodawstwa i Krwiolecznictwa w Poznaniu); β -glukuronidaza HP-2 z *Helix pomatia*, roztwór zawierający 116300 jednostek/ml, (Sigma-Aldrich, Niemcy); woda demineralizowana.

4.1.1.3. Przygotowanie roztworów wzorcowych i próbek osocza do oznaczeń

Z roztworów podstawowych MPA i IS o stężeniach 1000 mg/l w metanolu, przygotowano roztwory wzorcowe MPA w metanolu o stężeniach 5, 10, 20, 50, 100 i 150 mg/l, zawierające IS o stężeniu 100 mg/l. Do 180 μ l osocza zdrowych ochotników dodawano 20 μ l roztworów wzorcowych, uzyskując w ten sposób następujące stężenia MPA w próbce osocza: 0,5; 1; 2; 5; 10 i 15 mg/l oraz stałe stężenie IS 10 mg/l. Do osocza chorych (180 μ l) dodawano 20 μ l IS o takim samym stężeniu jak do krzywej wzorcowej. Do uzyskanych próbek osocza o objętości 200 μ l dodawano 1 ml acetonitrylu, próbki wytrząsano 10 min i umieszczano w lodzie na 10 min. Po tym czasie próbki wirowano 10 min przy $10000 \times g$ w temperaturze 4°C, pobierano 600 μ l supernatantu do kolejnych probówek i odparowywano do sucha pod azotem w temperaturze 40°C. Suchą pozostałość rozpuszczano w 200 μ l fazy ruchomej, przenoszono do fiolek szklanych i analizowano metodą HPLC.

Korzystając z roztworu podstawowego MPAG w metanolu o stężeniu 2000 mg/l przygotowano roztwory wzorcowe MPAG w metanolu o stężeniach 250, 500, 750, 1000 i 1500 mg/l. Roztwory MPAG o objętości 20 μ l dodawano do 180 μ l osocza zdrowych ochotników, uzyskując następujące stężenia MPAG: 25, 50, 75, 100, 150 i 200 mg/l, natomiast do 180 μ l osocza chorych dodawano 20 μ l metanolu. Następnie pobierano po 50 μ l roztworu do szklanych probówek i do każdej dodawano 20 μ l roztworu IS o stężeniu 200 mg/l oraz 950 μ l roztworu β -glukuronidazy o aktywności 89,4 j/ml. Roztwór β -glukuronidazy o aktywności 89,4 j/ml otrzymano pobierając 0,038 ml enzymu o aktywności 116300 j/ml i uzupełniając do 50 ml buforem fosforanowym o pH 4,5-5,0. Po zmieszaniu probówki ogrzewano 1 h w łaźni wodnej

* Dziękuję Pani Sabinie Hadulco z Roche Pharmaceuticals (Palo Alto, USA) za bezpłatne udostępnienie próbki MPAG do badań.

w temperaturze 36-37°C. Po inkubacji, do próbek dodawano 2,5 ml acetonitrylu, próbki wytrząsano 10 min, umieszczano w lodzie na 10 min, a następnie wirowano 10 min przy $800 \times g$ w temperaturze pokojowej. Z każdej próbki pobierano 2 ml supernatantu do kolejnych próbek, dodawano 1 ml fazy ruchomej oraz 2 ml chloroformu (przechowywanego w temperaturze -20°C). Próbki wytrząsano 10 min i wirowano 10 min przy $800 \times g$ w temperaturze pokojowej. Z każdej próbki pobierano 1,8 ml fazy organicznej i odparowywano do sucha w atmosferze azotu w temperaturze 40°C. Suchą pozostałość rozpuszczano w 200 μ l fazy ruchomej, przenoszono do fiolek szklanych i analizowano metodą HPLC.

4.1.1.4. Warunki pracy chromatografu cieczowego

Faza ruchoma składała się z acetonitrylu i kwasu orto-fosforowego o stężeniu 50 mmol/l (50:50; v/v). Temperatura kolumny, objętość nastrzyku i prędkość przepływu fazy ruchomej wynosiły odpowiednio 25°C, 30 μ l i 1 ml/min, a detekcja następowała przy długości fali $\lambda = 214$ nm.

4.1.1.5. Walidacja metody

Krzywe wzorcowe ($n = 4$) były liniowe w zakresie stężeń MPA od 0,5 do 15 mg/l i MPAG od 25 do 200 mg/l. Współczynniki korelacji krzywych wzorcowych MPA i MPAG mieściły się odpowiednio w zakresie od 0,9993-0,9999 i od 0,9919-0,9984. Uśrednione równanie regresji liniowej dla MPA miało postać: $y = 0,1583 \cdot x - 0,0133$, natomiast dla MPAG: $y = 0,0122 \cdot x - 0,0771$, gdzie „y” oznacza stosunek powierzchni piku MPA do piku IS, natomiast „x” oznacza stężenie teoretyczne MPA. Wykrywalność (LOD – limit of detection) dla MPA i MPAG przy stosunku sygnału do linii szumu (S/N) = 3:1 wynosiła odpowiednio 0,05 mg/l i 0,8 mg/l, natomiast dolna granica oznaczalności (LLOQ - lower limit of quantification) odpowiednio 0,5 mg/l (przy współczynniku zmienności [CV] = 11,1%) i 25 mg/l (CV = 12,5%) (Tab. 6).

Precyzja analizy MPA w ciągu dnia wyrażona jako CV wynosiła 4,3% dla stężenia 1 mg/l i 2,2% dla stężenia 5 mg/l, a dla MPAG 6,5% dla stężenia 50 mg/l i 3,6% dla stężenia 200 mg/l. W analizie między dniami precyzja dla MPA i MPAG w zakresie stężeń krzywej wzorcowej wynosiła odpowiednio 3,2% i 6,9% (Tab. 6). Średnia dokładność bezwzględna metody w analizie w ciągu dnia i między dniami dla MPA wynosiła odpowiednio 3,7% i 3,5%, a dla MPAG odpowiednio 5,0% i 3,6%.

Odzysk MPA wynosił 95,5% i 89,8% odpowiednio dla stężeń 1 i 5 mg/l (Tab. 6). Dla MPAG nie wyznaczano odzysku, ponieważ MPAG był oznaczany jako MPA metodą pośrednią po hydrolizie MPAG.

Tabela 6. Wyniki walidacji metody HPLC oznaczania MPA i MPAG

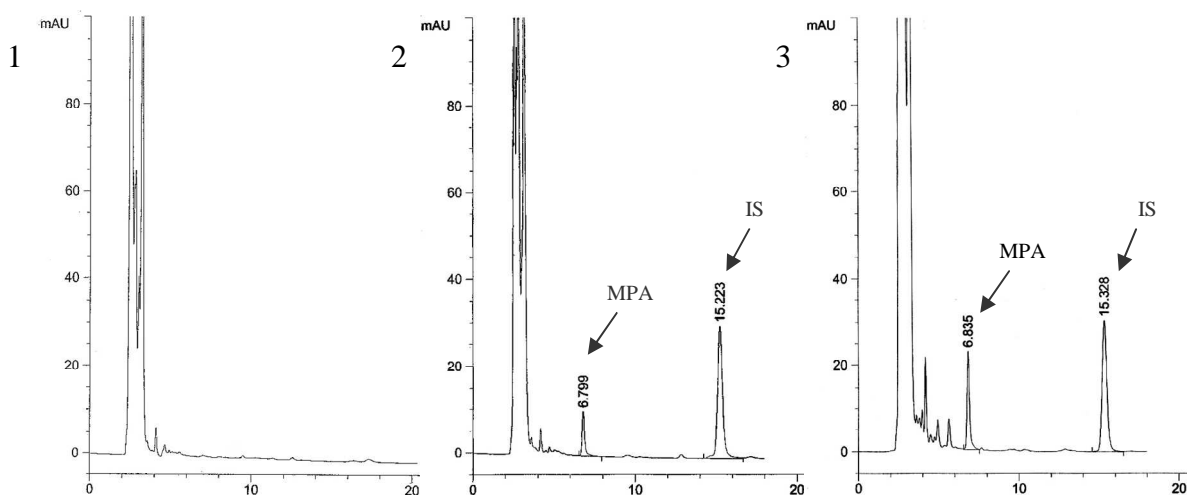
| | MPA | MPAG |
|----------------------------|-------------------------------|-------------------------------|
| Liniowość (mg/l) | 0,5 – 15 | 25 - 200 |
| Równanie prostej | $y = 0,1583 \cdot x - 0,0133$ | $y = 0,0122 \cdot x - 0,0771$ |
| Współczynnik korelacji | 0,9993 – 0,9999 | 0,9919 – 0,9984 |
| LOD (mg/l) | 0,05 | 0,8 |
| LOQ (mg/l) | 0,5 (CV = 11,1%) | 25 (CV = 12,5%) |
| Precyzja (CV,%) | w ciągu dnia | 4,3 i 2,2 ^a |
| | między dniami ^c | 3,2 |
| Dokładność bezwzględna (%) | w ciągu dnia ^c | 3,7 |
| | między dniami ^c | 3,5 |
| Odzysk (%) ^a | 95,5 i 89,8 | - |

^a Odpowiednio dla stężeń 1 i 5 mg/l

^b Odpowiednio dla stężeń 50 i 200 mg/l

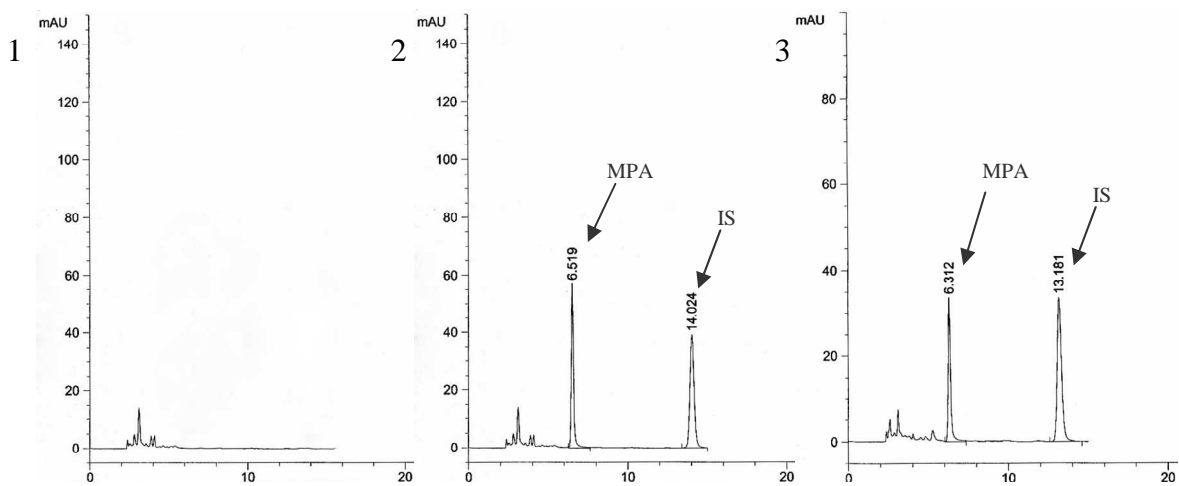
^c Średnie wartości w zakresie krzywej wzorcowej

Chromatogramy próbek osocza kontrolnego, osocza z MPA zawierającego IS oraz przykładowej próbki osocza chorego leczonego MMF, CsA i prednizonem przedstawiono na Ryc. 5. Chromatogramy próbek osocza po hydrolizie β -glukuronidazą (osocza kontrolnego, osocza z MPAG zawierającego IS oraz przykładowej próbki osocza chorego leczonego MMF, CsA i prednizonem) przedstawiono na Ryc. 6. Na chromatogramach nie obserwowano pików pochodzących od substancji endogennych lub innych leków stosowanych przez chorych w zakresie czasu retencji MPA i IS, który wynosił odpowiednio $6,7 \pm 0,3$ min i $14,5 \pm 0,4$ min.



Ryc. 5. Przykładowe chromatogramy HPLC MPA:

- 1 - osocze kontrolne,
- 2 - osocze z MPA o stężeniu 1 mg/l zawierające IS,
- 3 - osocze chorego leczonego MMF zawierające IS.



Ryc. 6. Przykładowe chromatogramy HPLC MPA po hydrolizie MPAG:

- 1 - osocze kontrolne,
- 2 - osocze z MPAG o stężeniu 100 mg/l zawierające IS,
- 3 - osocze chorego leczonego MMF zawierające IS.

4.1.2. Metoda HPLC oznaczania α -tokoferolu, retinolu i β -karotenu

Stężenie α -tokoferolu i retinolu w osoczu oznaczano walidowaną metodą HPLC w odwróconym układzie faz z detekcją odpowiednio fluorescencyjną (FLD) i UV [135].

Stężenie β -karotenu oznaczano walidowaną metodą HPLC w normalnym układzie faz z detekcją UV* [136].

4.1.2.1. Aparatura

Do oznaczeń α -tokoferolu i retinolu w osoczu korzystano z wysokosprawnego chromatografu cieczowego HP 1100 z detektorem UV i FLD sterowanego komputerem (Hewlett-Packard, Wiedeń, Austria); kolumny chromatograficznej Supelcosil™ LC-18-DB (25 cm×4,6 mm; 5 μ m) Supelco, USA i prekolumny Supelguard™ LC-18-DB (2 cm×4,6 mm; 5 μ m), Supelco, USA.

Oznaczenia β -karotenu wykonywano na wysokosprawnym chromatografie cieczowym WATERS 600 z detektorem fotodiodowym UV-VIS sterowanym komputerem stosując kolumnę chromatograficzną LiChrosorb® Si 60 (25 cm×4 mm; 5 μ m) Merck, Niemcy i prekolumnę LiChrospher® Si 60 (4 mm×4 mm; 5 μ m) Merck, Niemcy.

Ponadto korzystano z wirówki Centrifuge 5804 (Eppendorf, Niemcy); spektrofotometru UV-VIS (Carl Zeiss, Niemcy); urządzenia do odparowywania próbek Techne Dri-Block DB 3 (Thermo-DUX, Wielka Brytania); aparatu do demineralizacji wody Simplicity® UV (Millipore, Francja); urządzenia do odgazowywania roztworów metodą ultradźwiękową UM-4 (Unitra, Polska); wagi analitycznej BP 110 S (Sartorius, Goettingen, Niemcy); wytrząsarki typu 358 S (Elpan, Lubawa, Polska) oraz miniwytrząsarki MS1 (IKA-Works Inc., USA).

4.1.2.2. Odczynniki

Retinol, octan retinolu, α -tokoferol i β -karoten (Sigma-Aldrich, Niemcy); 2,6-di-tert-butylo-4-hydroksytoluen - BHT (Sigma-Aldrich, Niemcy); metanol i n-heksan (J.T. Baker, Holandia); 1,4-dioksan (Sigma-Aldrich, Niemcy); etanol 760 g/l (PWW Polmos S.A., Polska); woda demineralizowana.

* Dziękuję Pani Prof. dr hab. Małgorzacie Nogali-Kałużkiej z Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu za umożliwienie wykonania oznaczeń β -karotenu oraz Panu dr Aleksandrowi Sigerowi za pomoc przy oznaczeniach.

4.1.2.3. Przygotowanie roztworów wzorcowych i próbek osocza do oznaczeń

Stężenia roztworów podstawowych oznaczanych witamin obliczano na podstawie zmierzonej absorbancji przy ich λ_{maks} wynoszących 325 nm, 290 nm i 450 nm, odpowiednio dla retinolu, α -tokoferolu i β -karotenu oraz znanych z piśmiennictwa współczynników absorbancji właściwej ($A_{1\text{cm}}^{1\%}$), które wynoszą odpowiednio 1835, 75,8 i 2590.

Z roztworów podstawowych α -tokoferolu i retinolu w etanolu absolutnym o stężeniach odpowiednio 500 i 50 mg/l przygotowano roztwory wzorcowe w metanolu o stężeniach 0; 25; 50; 100; 150 i 300 mg/l α -tokoferolu i 0,5; 1; 2,5; 5; 10 i 20 mg/l retinolu, które zawierały IS (octan retinolu) o stężeniu 50 mg/l. Z roztworu podstawowego β -karotenu w n-heksanie o stężeniu 50 mg/l przygotowano roztwory wzorcowe β -karotenu w n-heksanie o stężeniach 1; 2,5; 5; 10; 15 i 20 mg/l (bez IS).

Do 200 μ l wody dodawano 20 μ l przygotowanych roztworów badanych witamin, uzyskując w ten sposób stężenia α -tokoferolu: 1; 2,5; 5; 10; 15 i 30 mg/l i retinolu: 0,05; 0,1; 0,25; 0,5; 1 i 2 mg/l, (zawierające IS o stałym stężeniu) oraz β -karotenu: 0,1; 0,25; 0,5; 1; 1,5 i 2 mg/l. Dla oznaczenia witamin do 200 μ l osocza otrzymanego z krwi pobranej choremu na czczo dodawano 20 μ l roztworu IS w metanolu o stężeniu 50 mg/l, a w przypadku oznaczeń β -karotenu do 200 μ l osocza dodawano 20 μ l n-heksanu. Następnie do próbek o objętości 220 μ l dodawano 0,5 ml wody i 0,5 ml 0,04% roztworu BHT w etanolu oraz 1 ml 0,04% roztworu BHT w n-heksanie. Próbkę wytrząsano 5 min, wirowano 10 min przy $1000 \times g$, a po odwirowaniu pobierano 0,7 ml warstwy organicznej, którą odparowywano do sucha pod azotem w temperaturze 40°C. Suchą pozostałość rozpuszczano w 200 μ l fazy ruchomej, przenoszono do fiolek szklanych i analizowano metodą HPLC.

4.1.2.4. Warunki pracy chromatografu cieczowego

Podczas oznaczeń retinolu i α -tokoferolu fazę ruchomą stanowił metanol zawierający 0,025% BHT. Temperatura kolumny, objętość nastrzyku i prędkość przepływu fazy ruchomej wynosiły odpowiednio 20°C, 20 μ l i 1,2 ml/min. Detekcja następowała przy długości fali $\lambda = 325$ nm dla retinolu oraz przy długości fali wzbudzenia 295 nm i emisji 330 nm dla α -tokoferolu.

Przy oznaczaniu β -karotenu faza ruchoma składała się z mieszaniny n-heksanu z dioksanem w stosunku objętościowym 97:3. Prędkość przepływu fazy ruchomej wynosiła 1,5 ml/min, a objętość nastrzyku 20 μ l. Detekcja następowała przy długości fali $\lambda = 450$ nm.

4.1.2.5. Walidacja metody

Krzywe wzorcowe były liniowe w zakresie stężeń α -tokoferolu od 1 – 30 mg/l ($n = 6$), retinolu od 0,05 - 2 mg/l ($n = 6$) i β -karotenu od 0,1 - 2 mg/l ($n = 4$). Współczynniki korelacji krzywych wzorcowych badanych witamin mieściły się w zakresie od 0,9980-0,9997 dla α -tokoferolu, od 0,9945-0,9996 dla retinolu i od 0,9991-0,9998 dla β -karotenu. Uśrednione równanie regresji liniowej dla α -tokoferolu miało postać: $y = 0,1452 x$, dla retinolu: $y = 0,4955 x + 0,0405$ i dla β -karotenu: $y = 124735 x - 5780$, gdzie „x” oznacza stężenie teoretyczne badanego związku, natomiast „y” oznacza stosunek powierzchni piku badanego związku do piku IS, a w przypadku β -karotenu jego powierzchnię piku. LOD dla α -tokoferolu, retinolu i β -karotenu przy $S/N = 3:1$ wynosiła odpowiednio 0,5; 0,01 i 0,006 mg/l, natomiast LLOQ odpowiednio 1 mg/l (CV = 11,0%); 0,05 mg/l (CV = 19,1%) i 0,1 mg/l (CV = 12,9%) (Tab. 7).

Tabela 7. Wyniki walidacji metody HPLC analizy α -tokoferolu, retinolu i β -karotenu

| | α -Tokoferol | Retinol | β -Karatol |
|----------------------------|----------------------------|--------------------------|--------------------------|
| Liniowość (mg/l) | 1,0 – 30,0 | 0,05 – 2,00 | 0,1 – 2,0 |
| Równanie prostej | $y = 0,1452 x$ | $y = 0,4955 x + 0,0405$ | $y = 124735 x - 5780$ |
| Współczynnik korelacji | 0,9980 – 0,9997 | 0,9945 – 0,9996 | 0,9991 – 0,9998 |
| LOD (mg/l) | 0,5 | 0,01 | 0,006 |
| LLOQ (mg/l) | 1,0 (CV = 11,0%) | 0,05 (CV = 19,1%) | 0,1 (CV = 12,9%) |
| Precyzja (CV,%) | w ciągu dnia | 10,6 i 9,5 ^a | 3,7 i 8,2 ^b |
| | między dniami ^d | 8,8 | 7,4 |
| Dokładność bezwzględna (%) | w ciągu dnia ^d | 7,4 | 4,8 |
| | między dniami ^d | 5,7 | 3,5 |
| Odzysk (%) | 98,2 i 113,9 ^a | 84,8 i 88,0 ^b | 55,6 i 61,2 ^c |

^a Odpowiednio dla 5 i 15 mg/l

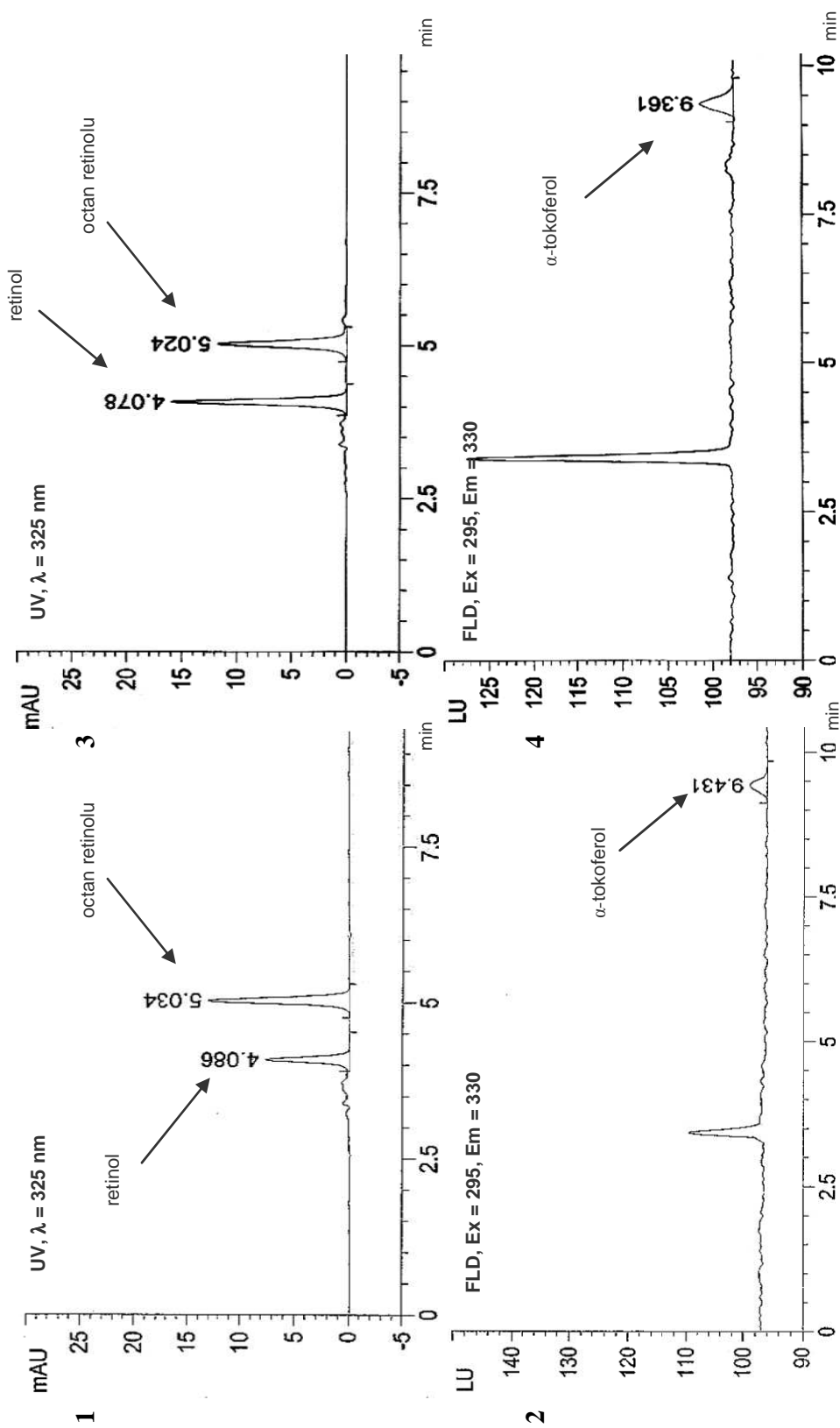
^b Odpowiednio dla 0,25 i 1 mg/l

^c Odpowiednio dla 0,5 i 2 mg/l

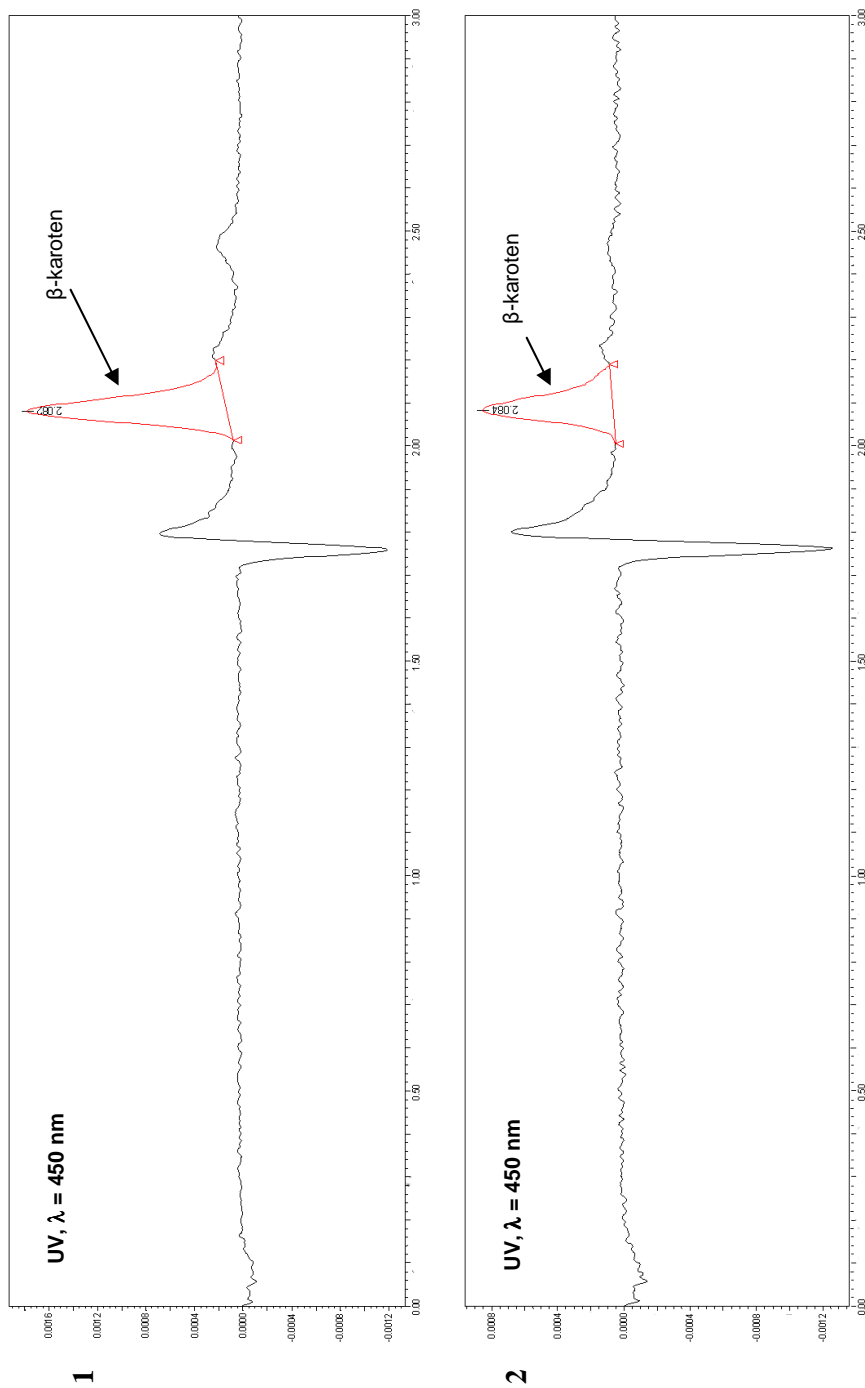
^d Średnie wartości w zakresie krzywej wzorcowej

Precyzja metody wyrażona jako CV dla α -tokoferolu w ciągu dnia wynosiła 10,6% dla stężenia 5 mg/l i 9,5% dla stężenia 15 mg/l, dla retinolu 3,7% dla stężenia 0,25 mg/l i 8,2% dla stężenia 1 mg/l oraz dla β -karotenu 2,8% dla stężenia 0,5 mg/l i 1,6% dla stężenia 2 mg/l, natomiast między dniami średnie wartości CV dla całego zakresu stężeń krzywych wzorcowych oznaczanych witamin wynosiły odpowiednio 8,8; 7,4 i 7,8% (Tab. 7). Średnie dokładności bezwzględne stosowanej metody w analizie w ciągu dnia (w zakresie krzywej wzorcowej) dla α -tokoferolu, retinolu i β -karotenu wynosiły odpowiednio 7,4; 4,8 i 6,7%, a między dniami odpowiednio 5,7; 3,5 i 4,1%. Średni odzysk dla α -tokoferolu, retinolu i β -karotenu wynosił odpowiednio $106,1 \pm 11,1\%$; $86,4 \pm 2,3\%$ i $58,4 \pm 4,0\%$.

Przykładowe chromatogramy próbek zawierających α -tokoferol, retinol i IS z zakresu krzywej wzorcowej oraz osocza chorego leczonego MMF, CsA i prednizonem zawierającego IS przedstawiono na Ryc. 7. Na Ryc. 8 przedstawiono chromatogramy próbki zawierającej β -karoten z zakresu krzywej wzorcowej i osocza chorego leczonego MMF, CsA i prednizonem. Na chromatogramach nie obserwowano pików pochodzących od substancji endogennych lub innych leków stosowanych przez chorych w zakresie czasów retencji badanych witamin i IS. Średni czas retencji dla α -tokoferolu, retinolu i IS wynosił odpowiednio $9,4 \pm 0,4$ min; $4,1 \pm 0,3$ min i $5,0 \pm 0,3$ min, a dla β -karotenu $2,1 \pm 0,2$ min.



Ryc. 7. Chromatogramy HPLC retinolu o stężeniu 1 mg/l (1) i α -tokoferolu o stężeniu 15 mg/l (2) oraz chromatogramy chorego po przeszczepieniu nerki leczonego MMF, CsA i prednizonem (3 i 4).



Ryc. 8. Chromatogramy HPLC β -karotenu o stężeniu 1,5 mg/l (1) i osocza chorego po przeszczepieniu nerki leczonego MMF, CsA i prednizonem (2).

4.1.3. Metoda oznaczania składników mineralnych

Stężenie analizowanych składników mineralnych (żelaza, cynku, miedzi i magnezu) w osoczu chorych oznaczano metodą atomowej spektrometrii absorpcyjnej, stosując aparat AAS-3 (Carl Zeiss, Niemcy)*.

W celu oznaczenia stężenia żelaza, cynku i miedzi osocze chorych rozcieńczono dwukrotnie 0,01% wodnym roztworem Tritonu X-100 (Merck, Niemcy), natomiast dla oznaczenia stężenia magnezu osocze rozcieńczono 20-krotnie wodnym roztworem Tritonu X-100 i LaCl_3 (Merck, Niemcy) o stężeniach odpowiednio 0,01% i 0,05%. Rozcieńczenia osocza wykonywano w celu uzyskania stężeń badanych składników mineralnych w zakresach krzywych wzorcowych.

Krzywe wzorcowe dla żelaza i cynku wykonywano w zakresie stężeń od 0,5 – 2,5 ppm (odpowiednio od 8,9 – 44,7 $\mu\text{mol/l}$ i od 7,6 – 38,2 $\mu\text{mol/l}$), a dla magnezu i miedzi od 0,25 – 2,00 ppm (odpowiednio od 0,01 – 0,08 mmol/l i od 3,9 – 31,4 $\mu\text{mol/l}$). Precyzję metody oznaczono względem materiału certyfikowanego Human Multi-Sera Level 2 firmy Randox (Wielka Brytania). Dla żelaza, cynku, miedzi i magnezu wynosiła ona odpowiednio: 95,6%; 105,7%; 104,4% i 99,6%.

Stężenia sodu, potasu i wapnia uzyskano z kartotek chorych. Oznaczenia ww. składników mineralnych wykonuje się w laboratorium szpitalnym podczas każdej wizyty chorego w poradni transplantacyjnej.

* Pani dr n. farm. Joannie Suliburskiej z Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu dziękuję za wykonanie oznaczeń składników mineralnych.

4.2. BADANIA KLINICZNE

Badaniem objęto 110 chorych po przeszczepieniu nerki leczonych MMF w skojarzeniu z innymi lekami immunosupresyjnymi, najczęściej CNI i GS (grupa badana) oraz 45 chorych w grupie kontrolnej, którą stanowili chorzy po przeszczepieniu nerki leczeni schematami immunosupresji nie zawierającymi MMF, ani MPS*. Schematy immunosupresji w grupie kontrolnej zawierały najczęściej GS (n = 42) i CNI (n = 36), rzadziej AZA (n = 16) lub sirolimus (n = 12). Zarówno grupa badana, jak i kontrolna obejmowała chorych w późniejszym okresie po przeszczepieniu nerki (> 6 miesięcy). Badania prowadzono we współpracy z Oddziałem Transplantologii Szpitala Wojewódzkiego w Poznaniu. Charakterystykę chorych grupy badanej i kontrolnej przedstawiono w Tabeli 8.

W grupie badanej oznaczano 4-godzinne profile farmakokinetyczne MPA (n = 110) i MPAG (n = 51). Krew od chorych uczestniczących w badaniach pobierano do próbek z EDTA w następujących punktach czasowych: na czczo, przed porannym zażyciem MMF (czas 0), a następnie po 40 minutach, 1, 2, 3 i 4 godzinach po doustnym zażyciu leku. Próbkę wirowano i pobierano osocze, które przechowywano w temperaturze -20°C do czasu analizy.

Chorzy w grupie badanej i kontrolnej nie różnili się pod względem masy ciała, Cl_{cr} i C_{cr} oraz pod względem odsetka chorych stosujących GS, ACEI, sartany, diuretyki poza lekami hepatoprotekcyjnymi oraz pod względem suplementacji badanymi składnikami mineralnymi poza wapniem (Tab. 8). W grupie badanej chorzy byli leczeni MMF najczęściej w skojarzeniu z GS i CNI: CsA (n = 39) lub Tac (n = 43). Chorzy leczeni MMF i CsA lub MMF i Tac nie różnili się pod względem płci, wieku, okresu po przeszczepieniu nerki, Cl_{cr} oraz C_{cr} . Średnia dawka MMF w schemacie z Tac była o ok. 60% mniejsza w porównaniu ze średnią dawką MMF w schemacie z CsA lub MMF bez CNI (Tab. 9).

Wpływ funkcji nerki na farmakokinetykę MPA i MPAG analizowano w grupie badanej (n = 110) w zależności od Cl_{cr} powyżej i poniżej 60 ml/min, natomiast wpływ funkcji wątroby analizowano w grupach chorych leczonych lub nie leczonych lekami hepatoprotekcyjnymi. Chorzy przyjmujący leki hepatoprotekcyjne charakteryzowali się istotnie wyższymi aktywnościami zarówno AlAT (odpowiednio $42,5 \pm 23,2$ U/l vs $28,4 \pm 16,0$ U/l; $p < 0,001$), jak i AspAT (odpowiednio $31,4 \pm 11,6$ U/l vs $24,1 \pm 8,6$ U/l; $p < 0,001$) w porównaniu do chorych nieprzyjmujących tych leków.

* Na prowadzenie badań uzyskano zgodę Komisji Bioetycznej przy Uniwersytecie Medycznym w Poznaniu (uchwała nr 211/09).

Tabela 8. Charakterystyka chorych uczestniczących w badaniach

| | Grupa badana (n = 110) | Grupa kontrolna (n = 45) | Wszyscy chorzy (n = 155) |
|---|--|--|-----------------------------|
| Wartości średnie ± SD | | | |
| Wiek (lata) | 43 ± 12 ^a (17 – 69) | 49 ± 13 ^a (20 – 72) | 45 ± 12 (17 – 72) |
| Okres po przeszczepieniu nerki (lata) | 4,3 ± 2,7 ^a (0,5 - 11,3) | 6,6 ± 3,0 ^a (0,8 - 12,6) | 4,9 ± 3,0 (0,5 - 12,6) |
| Masa ciała (kg) | 74,1 ± 15,5 | 70,2 ± 13,4 | 73,0 ± 15,0 |
| Powierzchnia ciała (m ²) | 1,86 ± 0,22 | 1,80 ± 0,20 | 1,84 ± 0,21 |
| BMI (kg/m ²) | 25,9 ± 4,7 | 24,9 ± 4,1 | 25,6 ± 4,5 |
| C _{cr} (mg/dl) | 1,88 ± 0,77 | 1,75 ± 0,73 | 1,85 ± 0,76 |
| Cl _{cr} (ml/min) | 56,8 ± 24,5 | 51,6 ± 19,5 | 55,3 ± 23,2 |
| AlAT (U/l) | 32,1 ± 19,5 | 30,9 ± 17,9 | 31,8 ± 19,0 |
| AspAT (U/l) | 25,7 ± 9,8 | 26,0 ± 10,3 | 25,8 ± 9,9 |
| Liczba chorych | | | |
| Płeć (M/K) | 63/47 ^a | 17/28 ^a | 80/75 |
| Leczenie GS | 101 (91,0%) | 42 (93,3%) | 143 (91,7%) |
| Stosowanie leków hepatoprotekcyjnych | 32 (29,1%) ^a | 6 (13,3%) ^a | 38 (24,5%) |
| Leczenie ACEI lub sartanami | 18 (16,4%) | 12 (26,7%) | 30 (19,4%) |
| Leczenie diuretykami pętlowymi, tiazydowymi lub analogami tiazydów | 39 (35,5%) | 14 (31,1%) | 53 (34,2%) |
| Suplementacja żelazem | 28 (25,5%) | 8 (17,8%) | 36 (23,2%) |
| Suplementacja wapniem | 35 (31,8%) ^a | 7 (15,6%) ^a | 42 (27,1%) |
| Suplementacja potasem | 10 (9,1%) | 5 (11,1%) | 15 (9,7%) |

^a różnice istotne statystycznie (grupa badana vs grupa kontrolna)

Tabela 9. Charakterystyka chorych w grupie badanej w zależności od zastosowanego CNI.
Dane przedstawiono jako średnie arytmetyczne \pm SD

| | MMF/CsA (n = 39) | MMF/Tac (n = 43) | MMF bez CNI (n = 28) |
|---------------------------------|-------------------------------|------------------------------|------------------------------|
| Płeć (M/K) ^a | 23/16 | 23/20 | 17/11 |
| Wiek (lata) | 40 \pm 14 (17 – 69) | 43 \pm 10 (24 – 58) | 47 \pm 11 (25 – 67) |
| Okres po przeszczepieniu (lata) | 4,7 \pm 3,2 (0,2 - 10,8) | 3,1 \pm 2,0 (0,1 - 8,1) | 5,2 \pm 2,4 (0,8 - 9,4) |
| Cl _{cr} (ml/min) | 60,8 \pm 26,8 | 60,1 \pm 24,2 | 45,4 \pm 18,5 |
| C _{cr} (mg/dl) | 1,72 \pm 0,56 | 1,75 \pm 0,73 | 2,35 \pm 0,93 |
| Stosowanie GS ^a | 38 (97,4%) | 34 (79,1%) | 27 (96,4%) |
| Dobowa dawka MMF (g) | 1,73 \pm 0,35 ^b | 1,06 \pm 0,27 ^b | 1,85 \pm 0,33 ^b |

^a liczba chorych

^b różnice istotne statystycznie (grupa leczona schematem MMF/CsA vs MMF/Tac oraz MMF bez CNI vs MMF/Tac)

Witaminy antyoksydacyjne (retinol, α -tokoferol i β -karoten) oraz składniki mineralne (żelazo, magnez, cynk i miedź) oznaczano u 106 chorych, w tym u 61 z grupy badanej oraz u 45 chorych z grupy kontrolnej, natomiast pozostałe składniki mineralne (potas, sód i wapń) uzyskano z kartotek wszystkich chorych (n = 155). Witaminy i składniki mineralne oznaczano wyłącznie w próbce osocza pobranej na czczo. Z każdym chorym przeprowadzано osobiście jednorazowo wywiad żywieniowy (ankieta w załączniku, rozdział 10), pozwalający ocenić wielkość spożycia w ciągu 24 godzin poprzedzających pobranie próbek krwi. Informacje dotyczące suplementacji witaminami i składnikami mineralnymi uzyskiwano na podstawie ankiety i danych z kartotek chorych. Brano pod uwagę okres 6 miesięcy poprzedzających badanie, o ile suplementacja trwała dłużej niż 3 miesiące lub minimum miesiąc bezpośrednio przed badaniem. Charakterystykę chorych, u których oznaczano witaminy i składniki mineralne przedstawiono w rozdziale 5.3.1.1.

4.3. OBLICZENIA I ANALIZA STATYSTYCZNA

Obliczono następujące parametry farmakokinetyczne MPA i MPAG: C_0 , C_{max} i AUC_{0-4h} , stosując metodę trapezów. Dla zbadania wpływu różnych czynników (np. Cl_{cr} , rodzaju stosowanego CNI) na parametry farmakokinetyczne metabolitów MMF, stężenia MPA i MPAG korygowano o dobową dawkę MMF wyrażoną w gramach. Wpływ stężenia metabolitów MMF na wyniki analizowanych parametrów biochemicznych oraz na występowanie zdarzeń niepożądanych określano na podstawie nieskorygowanych o dawkę MMF parametrów farmakokinetycznych metabolitów tego leku. Zróżnicowanie międzyosobnicze parametrów farmakokinetycznych MPA i MPAG wyrażono jako CV. Cl_{cr} obliczano ze wzoru Cockrofta–Gaulta.

Uzyskane wyniki analizowano w zależności od stosowanych leków immunosupresyjnych, stanu klinicznego, m.in. funkcji nerki: dla Cl_{cr} powyżej lub poniżej 60 ml/min oraz funkcji wątroby w grupach leczonych i nie leczonych lekami hepatoprotekcyjnymi. Dla zbadania wpływu MMF na występowanie zdarzeń niepożądanych ze strony przewodu pokarmowego i układu krwiotwórczego analizowano parametry farmakokinetyczne metabolitów MMF u chorych, u których wystąpiły te zdarzenia w porównaniu z chorymi, u których nie obserwowano występowania zdarzeń niepożądanych. Zaburzenia ze strony przewodu pokarmowego określano na podstawie przepisywanych przez lekarza antagonistów receptora histaminowego - H_2 (ranitydyna, famotydyna) oraz IPP w dniu badania. Anemię analizowano na podstawie stężeń hemoglobiny poniżej 12 i 14 g/dl odpowiednio dla kobiet i mężczyzn. Pozostałe działania niepożądane na układ krwiotwórczy analizowano na podstawie norm dla liczby leukocytów w zakresie od $4,8 - 10,8 \cdot 10^9/l$ i dla płytek krwi od $130 - 400 \cdot 10^9/l$. Hematokryt analizowano w grupach powyżej lub poniżej 37 i 42%, a liczbę erytrocytów w grupach powyżej lub poniżej $4,2$ i $4,6 \cdot 10^{12}/l$, odpowiednio u kobiet i mężczyzn. Wymienione wyżej wartości parametrów morfologii krwi przyjęto na podstawie norm laboratorium Szpitala Wojewódzkiego w Poznaniu, w którym oznaczano te parametry u wszystkich chorych uczestniczących w badaniach.

Dla stężeń składników mineralnych w osoczu osób dorosłych przyjęto następujące normy: dla sodu 137 - 145 mmol/l; potasu 3,6 - 5,0 mmol/l; wapnia 2,10 - 2,55 mmol/l na podstawie norm laboratorium Szpitala Wojewódzkiego w Poznaniu, natomiast dla magnezu 0,70 - 1,05 mmol/l; żelaza 10,6 - 28,3 $\mu\text{mol}/l$; cynku 10,1 - 16,8 $\mu\text{mol}/l$ i miedzi 11 - 24,4 $\mu\text{mol}/l$ na podstawie danych z piśmiennictwa [137,138].

Na podstawie wywiadu żywieniowego przeprowadzono analizę spożycia składników mineralnych, wykorzystując komputerowe bazy danych przygotowane w programie Microsoft

Access 2000. Stanowią one poszerzoną wersję „Tabel wartości odżywczej produktów spożywczych” [139]. W ocenie wielkości spożycia dla potasu i sodu przyjęto minimalne normy spożycia wynoszące odpowiednio 3500 mg/dobę i 575 mg/dobę. W odniesieniu do pozostałych składników mineralnych przyjęto normy zalecanego dziennego spożycia (RDA), tj. 900 mg/dobę dla wapnia, 280 - 350 mg/dobę dla magnezu, 15 - 18 mg/dobę dla żelaza, 13 - 16 mg/dobę dla cynku oraz 2,0 - 2,5 mg/dobę dla miedzi. W odniesieniu do badanych witamin antyoksydacyjnych przyjęto następujące normy RDA: 10 mg/dobę dla α -tokoferolu, 1 mg/dobę dla retinolu i 5 mg/dobę dla β -karotenu [122].

Analizę statystyczną wyników przeprowadzono w oparciu o program komputerowy Statistica 8.0 firmy StatSoft. Jako poziom istotności przyjęto wartość $p < 0,05$. Dla oceny normalności rozkładu badanych zmiennych zastosowano test Shapiro-Wilka. W celu zbadania różnic pomiędzy badanymi grupami zastosowano test Manna-Whitney'a, a w przypadku uzyskania normalności rozkładu zastosowano test t Studenta. Korelacje badano testem Spearmana, natomiast dla par zmiennych o rozkładzie normalnym obliczano współczynnik korelacji Pearsona. Aby sprawdzić dane pod względem jakościowym (różnice w liczebnościach grup) zastosowano test χ^2 Pearsona.

Dla zbadania wpływu stosowania MMF i parametrów farmakokinetycznych MPA na występowanie działań niepożądanych zastosowano dodatkowo regresję logistyczną umożliwiającą obliczenie tzw. ilorazu szans (OR). OR pozwala ocenić krotność zmian ryzyka przy wzroście o jednostkę zmiennej traktowanej jako czynnik ryzyka. Mała liczba chorych, u których oznaczono stężenia MPAG, nie pozwoliła na zastosowanie tej analizy dla zbadania wpływu parametrów farmakokinetycznych MPAG na występowanie działań niepożądanych.

Aby zbadać interakcje pomiędzy takimi czynnikami jak: płeć, wiek, okres po przeszczepieniu nerki, białkomocz, stężenie hemoglobiny, Cl_{cr} , itp. i ich wpływ na stężenia metabolitów MMF oraz na stężenia badanych składników mineralnych i witamin antyoksydacyjnych zastosowano wieloczynnikową analizę wariancji (ANOVA) oraz wieloczynnikową analizę regresji, zwaną również regresją wieloraką. W analizie regresji wieloczynnikowej badano istotność modeli oraz istotność poszczególnych czynników wchodzących w skład tego modelu. Pomimo braku istotności statystycznej niektórych czynników, wyłączenie danego czynnika z modelu często powodowało zmniejszenie współczynnika korelacji oraz obniżenie lub brak istotności całego modelu. Modeli nieistotnych statystycznie nie przedstawiano w tabelach.

5. WYNIKI

5.1. WPŁYW FUNKCJI NERKI I WĄTROBY NA PARAMETRY FARMAKOKINETYCZNE METABOLITÓW MYKOFENOLANU MOFETYLU

W grupie badanej Cl_{cr} znajdował się powyżej lub poniżej 60 ml/min, odpowiednio u 41 i 69 chorych (Tab. 10). Chorzy w tych podgrupach nie różnili się statystycznie istotnie pod względem płci, wieku, okresu po przeszczepieniu nerki, masy ciała i dobowej dawki MMF. Liczebność chorych leczonych CsA lub Tac również nie różniła się statystycznie pomiędzy badanymi grupami. W grupie chorych z prawidłową i z osłabioną funkcją nerki średnie wartości C_{cr} wynosiły odpowiednio $1,31 \pm 0,26$ mg/dl i $2,19 \pm 0,73$ mg/dl ($p < 0,001$), a Cl_{cr} $81,1 \pm 21,1$ ml/min i $42,4 \pm 11,5$ ml/min ($p < 0,001$).

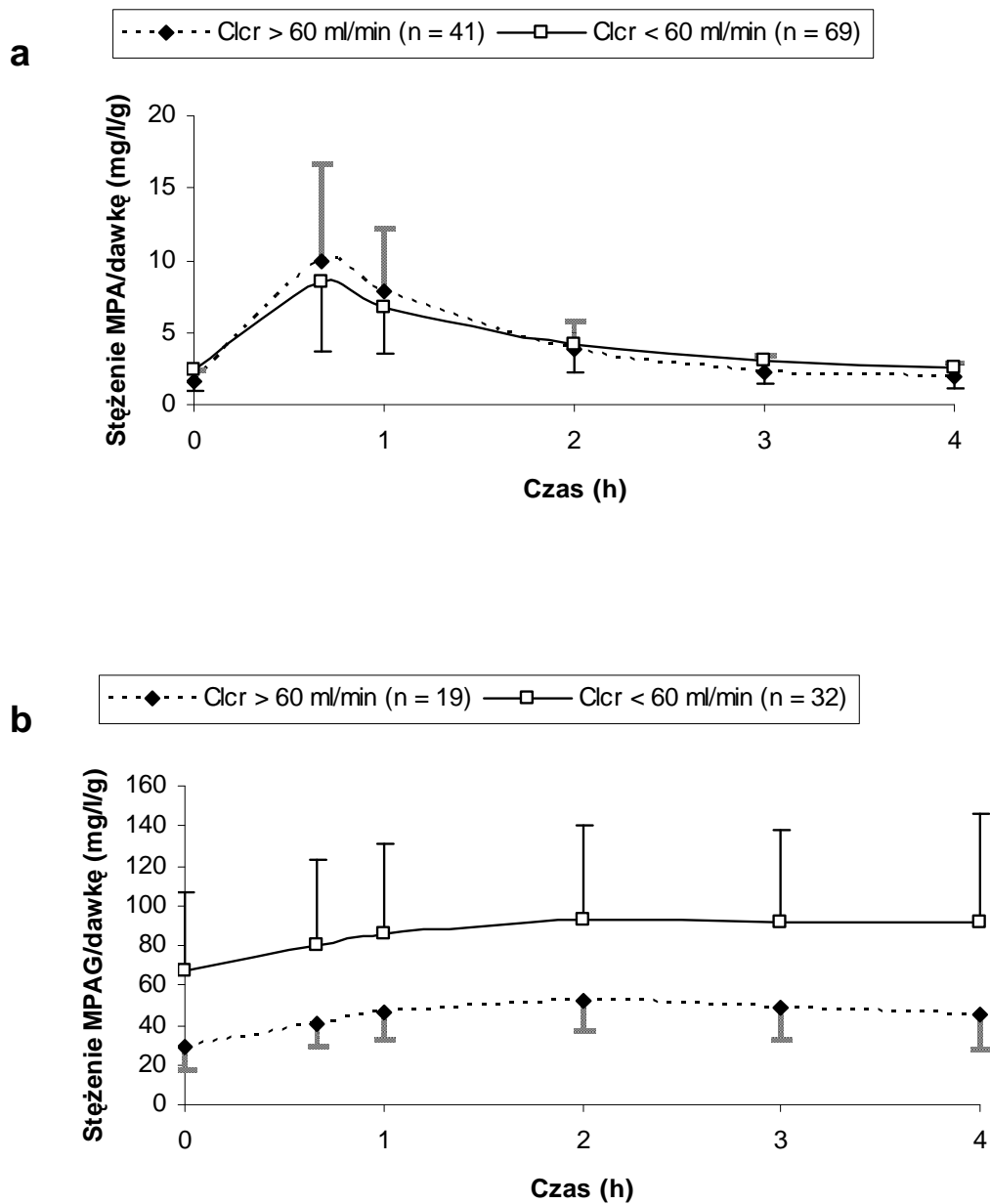
Dla parametrów farmakokinetycznych MPA i MPAG obserwowano wysokie wartości CV. Wyższe wartości tego współczynnika obserwowano dla C_0 (zarówno MPA, jak i MPAG) w porównaniu do pozostałych parametrów farmakokinetycznych (Tab. 11).

Skorygowane o dawkę MMF wartości C_0 MPA u chorych z osłabioną funkcją nerki były statystycznie istotnie większe niż u chorych z prawidłową funkcją nerki ($2,36 \pm 1,38$ mg/l/g vs $1,54 \pm 0,82$ mg/l/g; $p = 0,002$), natomiast AUC_{0-4h} i C_{max} nie różniły się istotnie pomiędzy badanymi grupami chorych (odpowiednio $18,30 \pm 6,95$ mg·h/l/g vs $17,85 \pm 7,40$ mg·h/l/g i $9,41 \pm 4,22$ mg/l/g vs $10,88 \pm 6,15$ mg/l/g; Ryc. 9, Tab. 11). Parametry farmakokinetyczne MPAG (AUC_{0-4h} , C_0 i C_{max}) były statystycznie istotnie większe u chorych z osłabioną funkcją nerki (odpowiednio $350,50 \pm 171,90$ mg·h/l/g vs $184,96 \pm 53,99$ mg·h/l/g, $p < 0,001$; $67,30 \pm 39,66$ mg/l/g vs $29,44 \pm 11,62$ mg/l/g, $p < 0,001$ i $108,29 \pm 53,24$ mg/l/g vs $54,85 \pm 14,96$ mg/l/g, $p < 0,001$). Podobne różnice dla parametrów farmakokinetycznych MPA i MPAG pomiędzy badanymi grupami zaobserwowano w poszczególnych schematach immunosupresji, jednakże różnice w wartościach C_0 MPA nie były istotne statystycznie (Tab. 12). Z powodu zbyt małej liczby chorych w grupie chorych nie leczonych CNI nie testowano wpływu funkcji nerki na badane parametry farmakokinetyczne w tej grupie chorych.

Tabela 10. Charakterystyka chorych w grupie badanej w zależności od funkcji nerki

| | $Cl_{cr} > 60$ ml/min (n = 41) | $Cl_{cr} < 60$ ml/min (n = 69) | Wszyscy chorzy z grupy badanej (n = 110) |
|---|--|---|--|
| Liczba chorych | | | |
| Płeć (M/K) | 29/12 | 34/35 | 63/47 |
| CsA/Tac | 18/16 | 21/27 | 39/43 |
| Bez CNI | 7 | 21 | 28 |
| Leczenie GS | 33 | 67 | 100 |
| Białkomocz | 2 | 21 | 23 |
| Wartości średnie \pm SD | | | |
| Wiek (lata) | 39 \pm 11 (17 - 67) | 46 \pm 12 (19 - 69) | 43 \pm 12 (17 - 69) |
| Okres po przeszczepieniu (lata) | 4,1 \pm 2,8 (0,6 - 10,8) | 4,3 \pm 2,7 (0,1 - 11,3) | 4,3 \pm 2,8 (0,1 - 11,3) |
| Masa ciała (kg) | 78,1 \pm 18,2 | 71,7 \pm 13,2 | 74,1 \pm 15,5 |
| BMI (kg/m ²) | 26,6 \pm 4,9 | 25,4 \pm 4,5 | 25,9 \pm 4,7 |
| Powierzchnia ciała (m ²) | 1,91 \pm 0,25 | 1,82 \pm 0,19 | 1,86 \pm 0,22 |
| Dobowa dawka MMF (g) | 1,48 \pm 0,45 | 1,52 \pm 0,49 | 1,50 \pm 0,47 |
| Dobowa dawka CsA (mg) | 158,9 \pm 43,7 | 176,8 \pm 77,9 | 168,5 \pm 64,2 |
| Dobowa dawka Tac (mg) | 6,2 \pm 3,7 | 4,7 \pm 2,6 | 5,3 \pm 3,1 |
| Hb (g/dl) | 13,8 \pm 1,4 ^a (11,4 - 16,7) | 12,7 \pm 1,5 ^a (9,7 - 15,6) | 13,1 \pm 1,5 (9,5 - 16,7) |
| C _{cr} (mg/dl) | 1,31 \pm 0,26 ^a (0,70 - 1,80) | 2,19 \pm 0,73 ^a (1,00 - 4,80) | 1,88 \pm 0,77 (0,70 - 4,80) |
| Cl _{cr} (ml/min) | 81,1 \pm 21,1 ^a (60,5 - 154,6) | 42,4 \pm 11,5 ^a (17,0 - 59,7) | 56,8 \pm 24,5 (17,0 - 154,6) |

^a różnice istotne statystycznie



Ryc. 9. Profile farmakokinetyczne MPA (a) i MPAG (b) skorygowane o dawkę MMF w zależności od funkcji nerki ($Cl_{cr} > 60$ ml/min vs < 60 ml/min). Wyniki przedstawiono jako wartości średnie \pm SD.

Tabela 11. Parametry farmakokinetyczne MPA i MPAG skorygowane o dawkę MMF (wartości średnie \pm SD) w zależności od funkcji nerki

| Parametry farmakokinetyczne | Cl _{cr} > 60 ml/min | CV (%) | Cl _{cr} < 60 ml/min | CV (%) | p ^a | Wszyscy chorzy | CV (%) |
|--------------------------------|------------------------------|--------|------------------------------|--------|----------------|---------------------|--------|
| MPA/dawkę | | | | | | | |
| n = 41 | | | | | | | |
| AUC _{0-4h} (mg·h/l/g) | 17,85 \pm 7,40 | 41,4 | 18,30 \pm 6,95 | 38,0 | 0,573 | 18,09 \pm 7,08 | 39,1 |
| C ₀ (mg/l/g) | 1,54 \pm 0,82 | 53,3 | 2,36 \pm 1,38 | 58,7 | 0,002 | 2,05 \pm 1,26 | 61,5 |
| C _{max} (mg/l/g) | 10,88 \pm 6,15 | 56,5 | 9,41 \pm 4,22 | 44,8 | 0,297 | 9,91 \pm 5,04 | 50,8 |
| MPAG/dawkę | | | | | | | |
| n = 19 | | | | | | | |
| AUC _{0-4h} (mg·h/l/g) | 184,96 \pm 53,99 | 29,2 | 350,50 \pm 171,90 | 49,0 | < 0,001 | 288,83 \pm 160,95 | 55,7 |
| C ₀ (mg/l/g) | 29,44 \pm 11,62 | 39,5 | 67,30 \pm 39,66 | 58,9 | < 0,001 | 53,19 \pm 36,95 | 69,5 |
| C _{max} (mg/l/g) | 54,85 \pm 14,96 | 27,3 | 108,29 \pm 53,24 | 49,2 | < 0,001 | 88,38 \pm 50,19 | 56,8 |

^a porównanie pomiędzy chorymi z Cl_{cr} > 60 i < 60 ml/min

Tabela 12. Parametry farmakokinetyczne MPA i MPAG skorygowane o dawkę MMF (wartości średnie \pm SD) u chorych leczonych MMF w schemacie z Tac lub CsA w zależności od funkcji nerki

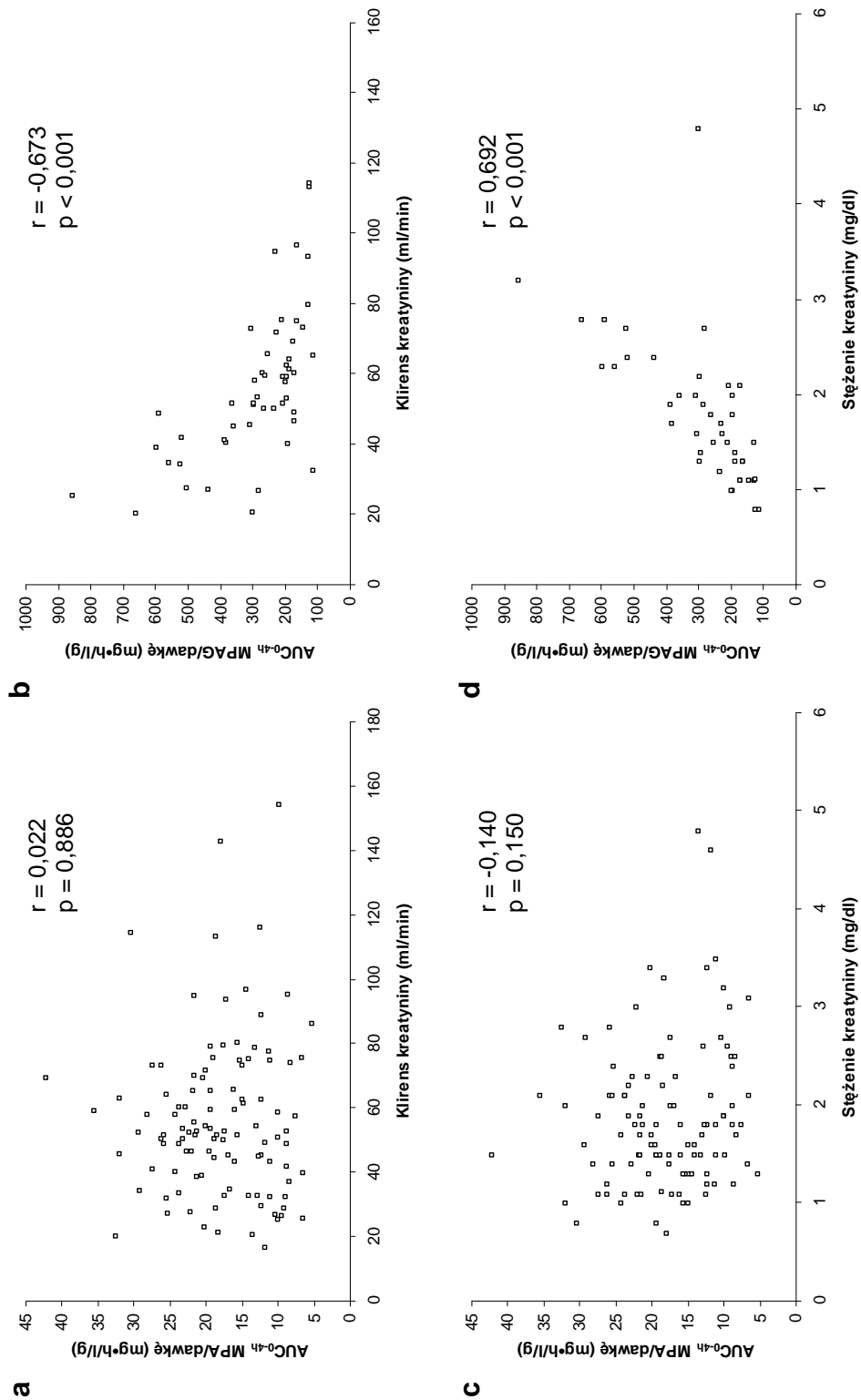
| Parametry farmakokinetyczne | MMF/Tac | | p ^a | MMF/CsA | | p ^a |
|--------------------------------|------------------------------|------------------------------|----------------|------------------------------|------------------------------|----------------|
| | Cl _{cr} < 60 ml/min | Cl _{cr} > 60 ml/min | | Cl _{cr} < 60 ml/min | Cl _{cr} > 60 ml/min | |
| MPA/dawkę | n = 27 | n = 16 | | n = 21 | n = 18 | |
| AUC _{0-4h} (mg·h/l/g) | 19,87 \pm 6,35 | 18,39 \pm 5,80 | 0,454 | 17,46 \pm 8,12 | 17,49 \pm 8,45 | 0,978 |
| C ₀ (mg/l/g) | 2,56 \pm 1,43 | 1,84 \pm 0,64 | 0,171 | 1,87 \pm 1,18 | 1,21 \pm 0,84 | 0,069 |
| C _{max} (mg/l/g) | 9,98 \pm 3,54 | 11,65 \pm 5,23 | 0,393 | 9,27 \pm 4,93 | 10,43 \pm 7,48 | 0,945 |
| MPAG/dawkę | n = 13 | n = 9 | | n = 13 | n = 8 | |
| AUC _{0-4h} (mg·h/l/g) | 321,34 \pm 137,06 | 172,98 \pm 45,54 | 0,004 | 399,11 \pm 203,43 | 188,71 \pm 62,11 | 0,002 |
| C ₀ (mg/l/g) | 59,21 \pm 36,24 | 28,78 \pm 9,72 | 0,025 | 76,84 \pm 45,83 | 29,07 \pm 15,04 | 0,002 |
| C _{max} (mg/l/g) | 108,22 \pm 54,38 | 51,73 \pm 14,12 | 0,007 | 117,00 \pm 57,05 | 55,75 \pm 16,19 | 0,001 |

^a porównanie pomiędzy chorymi z Cl_{cr} > 60 i < 60 ml/min

W regresji jednoczynnikowej wartości C_0 MPA w grupie badanej korelowały ujemnie z Cl_{cr} ($r = -0,330$, $p < 0,001$) i dodatnio z C_{cr} ($r = 0,217$, $p = 0,023$). Stwierdzono ponadto istotną statystycznie ujemną korelację Cl_{cr} oraz dodatnią korelację C_{cr} z parametrami farmakokinetycznymi MPAG (zarówno dla AUC_{0-4h} , C_0 , jak i C_{max} ; Tab. 13, Ryc. 10). Podobne korelacje zaobserwowano u chorych leczonych MMF w schemacie z CsA lub Tac, jednakże korelacja C_{cr} z C_0 MPA u chorych leczonych CsA była nieistotna statystycznie.

Tabela 13. Regresja jednoczynnikowa Cl_{cr} i C_{cr} z parametrami farmakokinetycznymi MPA i MPAG u chorych leczonych MMF w skojarzeniu z CsA lub Tac

| | MMF/CsA | | MMF/Tac | | Wszyscy chorzy | |
|--------------------------------------|---------|-------------------|---------|-------------------|----------------|-------------------|
| | r | p | r | p | r | p |
| Cl_{cr} (ml/min) | | | | | | |
| MPA/dawkę | n = 39 | | n = 43 | | n = 110 | |
| AUC_{0-4h} (mg·h/l/g) | -0,039 | 0,813 | -0,050 | 0,756 | 0,022 | 0,886 |
| C_0 (mg/l/g) | -0,377 | 0,018 | -0,333 | 0,029 | -0,330 | < 0,001 |
| C_{max} (mg/l/g) | 0,042 | 0,798 | 0,209 | 0,180 | 0,202 | 0,055 |
| MPAG/dawkę | n = 22 | | n = 21 | | n = 51 | |
| AUC_{0-4h} (mg·h/l/g) | -0,797 | < 0,001 | -0,671 | 0,001 | -0,673 | < 0,001 |
| C_0 (mg/l/g) | -0,833 | < 0,001 | -0,704 | < 0,001 | -0,737 | < 0,001 |
| C_{max} (mg/l/g) | -0,798 | < 0,001 | -0,600 | 0,003 | -0,629 | < 0,001 |
| C_{cr} (mg/dl) | | | | | | |
| MPA/dawkę | n = 39 | | n = 43 | | n = 110 | |
| AUC_{0-4h} (mg·h/l/g) | -0,221 | 0,176 | 0,153 | 0,333 | -0,140 | 0,150 |
| C_0 (mg/l/g) | 0,104 | 0,530 | 0,307 | 0,045 | 0,217 | 0,023 |
| C_{max} (mg/l/g) | -0,244 | 0,134 | -0,192 | 0,217 | -0,209 | 0,051 |
| MPAG/dawkę | n = 22 | | n = 21 | | n = 51 | |
| AUC_{0-4h} (mg·h/l/g) | 0,761 | < 0,001 | 0,756 | < 0,001 | 0,692 | < 0,001 |
| C_0 (mg/l/g) | 0,743 | < 0,001 | 0,691 | < 0,001 | 0,671 | < 0,001 |
| C_{max} (mg/l/g) | 0,780 | < 0,001 | 0,625 | 0,002 | 0,641 | < 0,001 |



Ryc. 10. Korelacje pomiędzy AUC_{0-4h} MPA lub MPAG a Cl_{cr} (odpowiednio a i b) i AUC_{0-4h} MPA lub MPAG a C_{cr} (odpowiednio c i d) u chorych w grupie badanej.

Analiza regresji wieloczynnikowej (Tab. 14 i 15), w której badano wpływ Cl_{cr} na C_0 , AUC_{0-4h} i C_{max} MPA i MPAG z uwzględnieniem takich czynników jak: płeć, masa ciała, rodzaj zastosowanego CNI, stężenie hemoglobiny, białkomocz oraz dawka MMF wykazała podobne zależności dla badanych parametrów farmakokinetycznych i Cl_{cr} do obserwowanych w regresji jednoczynnikowej. Dodatkowo niektóre parametry farmakokinetyczne MPA i MPAG korelowały z płcią, z rodzajem zastosowanego CNI lub masą ciała. Dla wszystkich nieskorygowanych parametrów farmakokinetycznych MPA i MPAG obserwowano istotną statystycznie dodatnią korelację z dawką MMF. Tylko dla C_{max} MPA obserwowano niewielką ujemną korelację z masą ciała. Wszystkie badane parametry farmakokinetyczne MPAG oraz AUC_{0-4h} MPA zależały od płci. U kobiet obserwowano wyższe wartości wymienionych parametrów. Skorygowane o dawkę MMF wartości C_0 MPA były niższe, natomiast C_0 i AUC_{0-4h} MPAG były wyższe u chorych leczonych CsA w porównaniu do Tac. Obserwowano także ujemną korelację AUC_{0-4h} i C_{max} MPAG z hemoglobiną. Nie obserwowano wpływu cukrzycy i białkomoczu na badane parametry farmakokinetyczne.

Tabela 14. Wieloczynnikowa analiza regresji parametrów farmakokinetycznych MPA

| | Zależność | Cząstkowe wartości p | Uogólnione wartości p | Współczynniki korelacji r |
|--|-----------|----------------------|-----------------------|---------------------------|
| C₀ MPA (mg/l) | | | | |
| Cl _{cr} (ml/min) | Ujemna | 0,004 | | |
| Leczenie MMF z CsA/Tac ^a | Ujemna | 0,071 | 0,001 | 0,426 |
| Dawka MMF (g) | Dodatnia | 0,008 | | |
| AUC_{0-4h} MPA (mg·h/l) | | | | |
| Cl _{cr} (ml/min) | - | 0,694 | | |
| Płeć (kobiety/mężczyźni) ^b | Dodatnia | 0,017 | < 0,001 | 0,593 |
| Dawka MMF (g) | Dodatnia | < 0,001 | | |
| C_{max} MPA (mg/l) | | | | |
| Cl _{cr} (ml/min) | Dodatnia | 0,069 | | |
| Masa ciała (kg) | Ujemna | 0,055 | 0,007 | 0,438 |
| Dawka MMF (g) | Dodatnia | 0,002 | | |
| C₀ MPA/dawkę (mg/l/g) | | | | |
| Cl _{cr} (ml/min) | Ujemna | 0,003 | | |
| Leczenie MMF z CsA/Tac ^a | Ujemna | 0,005 | < 0,001 | 0,435 |
| AUC_{0-4h} MPA/dawkę (mg·h/l/g) | | | | |
| Cl _{cr} (ml/min) | - | 0,613 | | |
| Płeć (kobiety/mężczyźni) ^b | Dodatnia | 0,017 | 0,015 | 0,449 |
| Leczenie MMF z CsA/Tac ^a | Ujemna | 0,061 | | |
| C_{max} MPA/dawkę (mg/l) | | | | |
| Cl _{cr} (ml/min) | Dodatnia | 0,055 | | |
| Masa ciała (kg) | Ujemna | 0,012 | 0,036 | 0,332 |

^a oznacza korelację dla CsA

^b oznacza korelację dla kobiet

Tabela 15. Wieloczynnikowa analiza regresji parametrów farmakokinetycznych MPAG

| | Zależność | Cząstkowe wartości p | Uogólnione wartości p | Współczynniki korelacji r |
|---|-----------|----------------------|-----------------------|---------------------------|
| C₀ MPAG (mg/l) | | | | |
| Cl _{cr} (ml/min) | Ujemna | < 0,001 | | |
| Płeć (kobiety/mężczyźni) ^a | Dodatnia | < 0,001 | < 0,001 | 0,842 |
| Dawka MMF (g) | Dodatnia | < 0,001 | | |
| AUC_{0-4h} MPAG (mg·h/l) | | | | |
| Cl _{cr} (ml/min) | Ujemna | < 0,001 | | |
| Płeć (kobiety/mężczyźni) ^a | Dodatnia | < 0,001 | < 0,001 | 0,847 |
| Dawka MMF (g) | Dodatnia | < 0,001 | | |
| C_{max} MPAG (mg/l) | | | | |
| Cl _{cr} (ml/min) | Ujemna | < 0,001 | | |
| Płeć (kobiety/mężczyźni) ^a | Dodatnia | < 0,001 | < 0,001 | 0,832 |
| Dawka MMF (g) | Dodatnia | < 0,001 | | |
| C₀ MPAG/dawkę (mg/l/g) | | | | |
| Cl _{cr} (ml/min) | Ujemna | < 0,001 | | |
| Płeć (kobiety/mężczyźni) ^a | Dodatnia | < 0,001 | < 0,001 | 0,873 |
| Leczenie MMF z CsA/Tac ^b | Dodatnia | 0,047 | | |
| AUC_{0-4h} MPAG/dawkę (mg·h/l/g) | | | | |
| Cl _{cr} (ml/min) | Ujemna | < 0,001 | | |
| Hemoglobina (g/dl) | Ujemna | 0,015 | | |
| Płeć (kobiety/mężczyźni) ^a | Dodatnia | < 0,001 | < 0,001 | 0,903 |
| Leczenie MMF z CsA/Tac ^b | Dodatnia | 0,015 | | |
| C_{max} MPAG/dawkę (mg/l) | | | | |
| Cl _{cr} (ml/min) | Ujemna | < 0,001 | | |
| Hemoglobina (g/dl) | Ujemna | 0,027 | | |
| Płeć (kobiety/mężczyźni) ^a | Dodatnia | < 0,001 | < 0,001 | 0,806 |

^a oznacza korelację dla kobiet^b oznacza korelację dla CsA

W grupie badanej (n = 110) obserwowano ujemną korelację pomiędzy C₀ MPA a AIAT (r = -0,227; p = 0,018) i na granicy istotności pomiędzy C₀ MPA i AspAT (r = -0,189; p = 0,050) (Tab. 16). Wartości C₀ MPA były istotnie niższe u chorych przyjmujących leki hepatoprotekcyjne (1,43 ± 1,03 mg/l vs 2,32 ± 1,26 mg/l; p < 0,001) (Tab. 17). Podobnych zależności nie obserwowano jednak dla pozostałych parametrów farmakokinetycznych zarówno MPA, jak i MPAG.

Tabela 16. Korelacje parametrów farmakokinetycznych MPA i MPAG skorygowanych o dawkę MMF z aktywnością AIAT lub AspAT u chorych w grupie badanej

| | AIAT | | AspAT | |
|--------------------------------|--------|--------------|--------|--------------|
| | r | p | r | p |
| MPA/dawkę (n = 110) | | | | |
| AUC _{0-4h} (mg·h/l/g) | -0,013 | 0,895 | -0,022 | 0,819 |
| C ₀ (mg/l/g) | -0,227 | 0,018 | -0,189 | 0,050 |
| C _{max} (mg/l/g) | 0,071 | 0,462 | 0,075 | 0,438 |
| MPAG/dawkę (n = 51) | | | | |
| AUC _{0-4h} (mg·h/l/g) | -0,018 | 0,900 | -0,129 | 0,366 |
| C ₀ (mg/l/g) | -0,031 | 0,829 | -0,024 | 0,866 |
| C _{max} (mg/l/g) | 0,014 | 0,922 | -0,098 | 0,494 |

Tabela 17. Parametry farmakokinetyczne MPA i MPAG skorygowane o dawkę MMF w zależności od funkcji wątroby (wartości średnie ± SD)

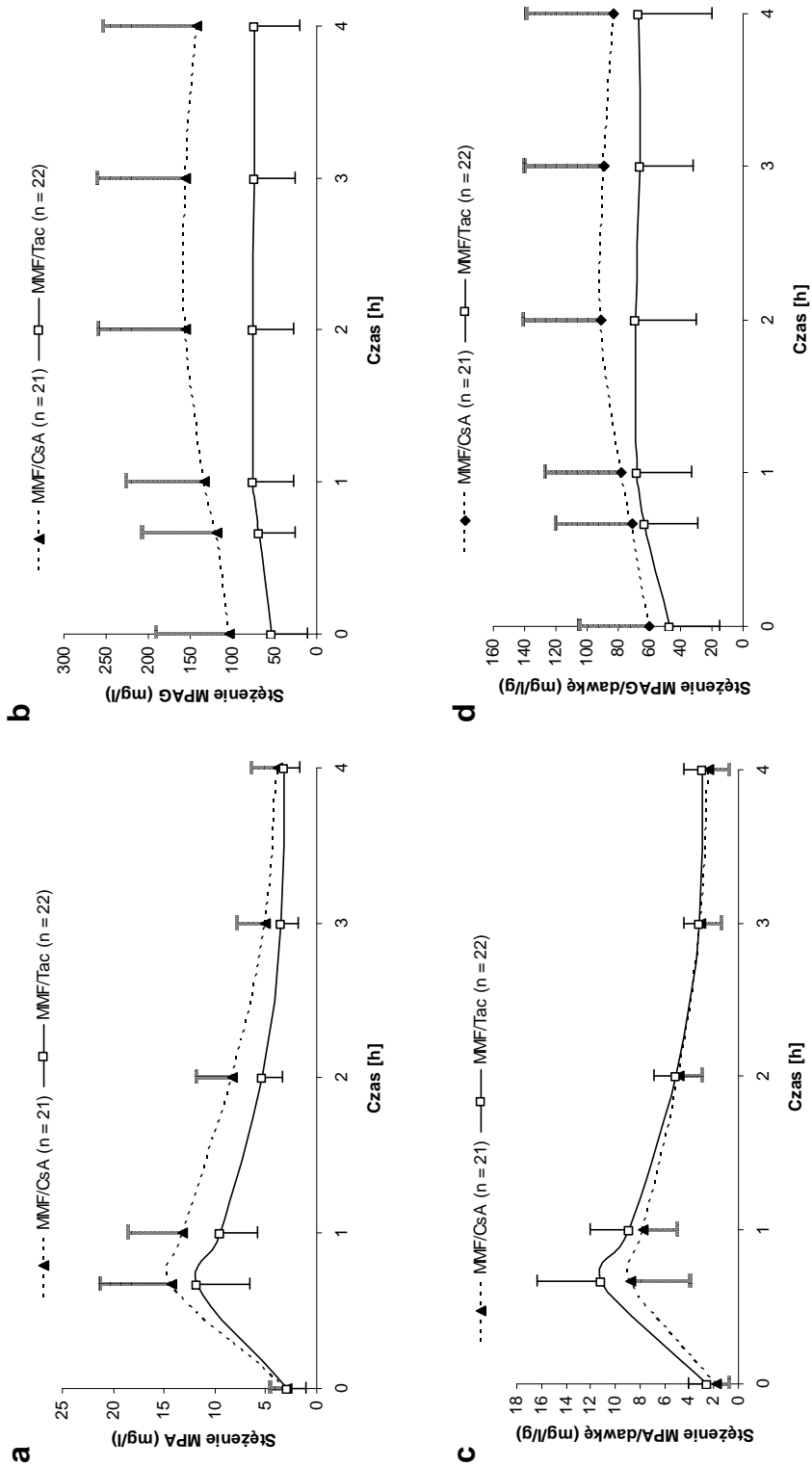
| | Leki hepatoprotekcyjne | | p |
|--------------------------------|------------------------|-----------------|-------------------|
| | Tak | Nie | |
| MPA/dawkę | n = 34 | n = 76 | |
| AUC _{0-4h} (mg·h/l/g) | 16,34 ± 7,13 | 18,91 ± 6,95 | 0,107 |
| C ₀ (mg/l/g) | 1,43 ± 1,03 | 2,32 ± 1,26 | < 0,001 |
| C _{max} (mg/l/g) | 9,85 ± 5,27 | 10,01 ± 4,97 | 0,709 |
| MPAG/dawkę | n = 12 | n = 39 | |
| AUC _{0-4h} (mg·h/l/g) | 265,73 ± 197,19 | 295,94 ± 150,36 | 0,239 |
| C ₀ (mg/l/g) | 52,29 ± 46,01 | 53,47 ± 34,40 | 0,689 |
| C _{max} (mg/l/g) | 78,32 ± 55,11 | 91,48 ± 48,93 | 0,267 |

5.2. INTERAKCJE MYKOFENOLANU MOFETYLU Z INHIBITORAMI KALCYNEURYNY

W grupie badanej 39 chorych było leczonych MMF z CsA, a 43 chorych otrzymywało MMF z Tac. Nieskorygowane o dawkę wartości C_0 MPA u chorych leczonych MMF w skojarzeniu z CsA w porównaniu do Tac nie różniły się istotnie statystycznie pomimo różnych dawek MMF i wynosiły odpowiednio $2,57 \pm 1,68$ mg/l vs $2,48 \pm 1,64$ mg/l ($p = 0,838$; Ryc. 11a, Tab. 18). AUC_{0-4h} i C_{max} były istotnie większe u chorych leczonych CsA względem Tac i wynosiły w schemacie z CsA odpowiednio $29,11 \pm 12,74$ mg·h/l i $16,09 \pm 9,12$ mg/l, a w schemacie z Tac $20,46 \pm 8,24$ mg·h/l i $11,02 \pm 4,69$ mg/l (odpowiednio $p = 0,001$ i $0,004$). Parametry farmakokinetyczne MPAG (zarówno AUC_{0-4h} , C_0 , jak i C_{max}) były statystycznie istotnie większe u chorych leczonych MMF w schemacie z CsA w porównaniu do Tac (Ryc. 11b, Tab. 18).

Po uwzględnieniu różnicy dawkowania MMF wartości C_0 MPA były większe w schemacie z Tac w porównaniu do CsA, odpowiednio $2,29 \pm 1,24$ mg/l/g vs $1,57 \pm 1,07$ mg/l/g; $p = 0,002$ (Ryc. 11c, Tab. 19). Analiza regresji wieloczynnikowej potwierdziła istotność różnic C_0 MPA w zależności od stosowanego CNI (Tab. 14). Średnie wartości parametrów farmakokinetycznych MPAG skorygowane o dawkę MMF w analizie jednoczynnikowej były większe u chorych leczonych MMF w schemacie z CsA w porównaniu do Tac, jednakże różnice nie były istotne statystycznie (Ryc. 11d, Tab. 19). Analiza regresji wieloczynnikowej (Tab. 15) wykazała natomiast, że skorygowane o dawkę MMF parametry C_0 i AUC_{0-4h} MPAG różniły się istotnie statystycznie pomiędzy chorymi leczonymi CsA i Tac.

Parametry farmakokinetyczne stosunku MPAG/MPA po uwzględnieniu różnicy dawkowania MMF były statystycznie istotnie większe u chorych leczonych MMF w schemacie z CsA w porównaniu do Tac, zarówno dla AUC_{0-4h} , C_0 , jak i C_{max} i wynosiły odpowiednio $37,57 \pm 38,81$ vs $14,36 \pm 9,53$ ($p = 0,001$); $91,50 \pm 102,97$ vs $22,58 \pm 13,47$ ($p < 0,001$) i $23,91 \pm 28,19$ vs $10,04 \pm 8,27$ ($p = 0,006$) (Tab. 19).



Ryc. 11. Usrednione profile farmakokinetyczne MPA i MPAG \pm SD u chorych leczonych MMF w schemacie z CsA lub Tac nieskorygowane (a i b) i skorygowane o dawkę MMF (c i d).

Tabela 18. Parametry farmakokinetyczne MPA i MPAG nieskorygowane o dawkę MMF u chorych leczonych MMF w schemacie z CsA lub Tac

| | MMF/CsA | CV (%) | MMF/Tac | CV (%) | p |
|------------------------------|-----------------|--------|-----------------|--------|-------|
| MPA | n= 39 | | n= 43 | | |
| AUC _{0-4h} (mg·h/l) | 29,11 ± 12,74 | 43,8 | 20,46 ± 8,24 | 40,3 | 0,001 |
| C ₀ (mg/l) | 2,57 ± 1,68 | 65,5 | 2,48 ± 1,64 | 65,9 | 0,838 |
| C _{max} (mg/l) | 16,09 ± 9,12 | 56,7 | 11,02 ± 4,69 | 42,6 | 0,004 |
| MPAG | n= 22 | | n= 21 | | |
| AUC _{0-4h} (mg·h/l) | 556,60 ± 382,15 | 68,7 | 289,62 ± 175,92 | 60,7 | 0,001 |
| C ₀ (mg/l) | 102,57 ± 84,42 | 82,3 | 53,18 ± 42,89 | 80,7 | 0,005 |
| C _{max} (mg/l) | 164,12 ± 109,96 | 67,0 | 93,26 ± 58,45 | 62,7 | 0,002 |

Tabela 19. Parametry farmakokinetyczne MPA, MPAG i stosunku MPAG/MPA skorygowane o dawkę MMF u chorych leczonych MMF w schemacie z CsA lub Tac

| | MMF/CsA | CV (%) | MMF/Tac | CV (%) | p |
|--------------------------------|----------------|--------|---------------|--------|---------|
| MPA/dawkę | n = 39 | | n = 43 | | |
| AUC _{0-4h} (mg·h/l/g) | 17,47 ± 8,16 | 46,7 | 19,34 ± 6,13 | 31,7 | 0,112 |
| C ₀ (mg/l/g) | 1,57 ± 1,07 | 68,5 | 2,29 ± 1,24 | 54,0 | 0,002 |
| C _{max} (mg/l/g) | 9,81 ± 6,18 | 63,0 | 10,60 ± 4,26 | 40,2 | 0,155 |
| MPAG/dawkę | n = 22 | | n = 22 | | |
| AUC _{0-4h} (mg·h/l/g) | 328,9 ± 196,5 | 59,7 | 260,7 ± 130,8 | 50,2 | 0,296 |
| C ₀ (mg/l/g) | 60,3 ± 44,8 | 74,3 | 46,8 ± 32,0 | 68,4 | 0,253 |
| C _{max} (mg/l/g) | 96,6 ± 55,5 | 57,5 | 85,1 ± 50,7 | 59,6 | 0,409 |
| MPAG/MPA/dawkę | n = 22 | | n = 22 | | |
| AUC _{0-4h} | 37,57 ± 38,81 | 103,3 | 14,36 ± 9,53 | 66,4 | 0,001 |
| C ₀ | 91,50 ± 102,97 | 112,5 | 22,58 ± 13,47 | 59,7 | < 0,001 |
| C _{max} | 23,91 ± 28,19 | 117,9 | 10,04 ± 8,27 | 82,4 | 0,006 |

Obserwowano duże zróżnicowanie zarówno w nieskorygowanych jak i skorygowanych o dawkę MMF wartościach wszystkich badanych parametrów farmakokinetycznych, a w szczególności stosunków MPAG/MPA u chorych leczonych MMF zarówno w schemacie z CsA, jak i z Tac (Tab. 18 i 19).

Porównano parametry farmakokinetyczne MPA i MPAG chorych leczonych CsA lub Tac w stosunku do chorych leczonych MMF bez CNI i wykazano, że zarówno skorygowane, jak i nieskorygowane o dawkę MMF wartości C₀ MPA były wyższe u chorych leczonych MMF bez

CNI w porównaniu do schematu z CsA (Tab. 20). Wszystkie nieskorygowane o dawkę MMF parametry farmakokinetyczne MPA i MPAG były istotnie większe u chorych leczonych MMF bez CNI w porównaniu do chorych leczonych MMF w schemacie z Tac za wyjątkiem C_{max} MPAG, dla którego różnice były na granicy istotności statystycznej. U chorych leczonych MMF bez CNI parametry farmakokinetyczne MPA i MPAG skorygowane o dawkę MMF nie różniły się, natomiast wartości stosunku MPAG/MPA dla AUC_{0-4h} i C_0 były większe w porównaniu do chorych leczonych MMF i Tac (Tab. 20).

Tabela 20. Porównanie parametrów farmakokinetycznych MPA, MPAG i stosunku MPAG/MPA u chorych leczonych MMF z CNI względem chorych leczonych MMF bez CNI

| | MMF bez CNI | MMF/CsA | p ^a | MMF/Tac | p ^a |
|-------------------------|-----------------|-----------------|----------------|-----------------|----------------|
| MPA | n = 28 | n = 39 | | n = 43 | |
| AUC_{0-4h} (mg·h/l) | 31,37 ± 13,91 | 29,11 ± 12,74 | 0,519 | 20,46 ± 8,24 | 0,002 |
| C_0 (mg/l) | 4,31 ± 2,45 | 2,57 ± 1,68 | 0,001 | 2,48 ± 1,64 | < 0,001 |
| C_{max} (mg/l) | 16,34 ± 8,39 | 16,09 ± 9,12 | 0,840 | 11,02 ± 4,69 | 0,011 |
| MPAG | n = 7 | n = 22 | | n = 21 | |
| AUC_{0-4h} (mg·h/l) | 490,05 ± 288,50 | 556,60 ± 382,15 | 0,683 | 289,62 ± 175,92 | 0,028 |
| C_0 (mg/l) | 95,48 ± 58,18 | 102,57 ± 84,42 | 0,878 | 53,18 ± 42,89 | 0,019 |
| C_{max} (mg/l) | 141,32 ± 75,69 | 164,12 ± 109,96 | 0,610 | 93,26 ± 58,45 | 0,053 |
| MPA/dawkę | n = 28 | n = 39 | | n = 43 | |
| AUC_{0-4h} (mg·h/l/g) | 17,02 ± 6,72 | 17,47 ± 8,16 | 0,943 | 19,34 ± 6,13 | 0,307 |
| C_0 (mg/l/g) | 2,36 ± 1,37 | 1,57 ± 1,07 | 0,006 | 2,29 ± 1,24 | 0,731 |
| C_{max} (mg/l/g) | 8,96 ± 4,31 | 9,81 ± 6,18 | 0,964 | 10,60 ± 4,26 | 0,079 |
| MPAG/dawkę | n = 7 | n = 22 | | n = 21 | |
| AUC_{0-4h} (mg·h/l/g) | 271,27 ± 129,74 | 328,9 ± 196,5 | 0,683 | 260,7 ± 130,8 | 0,760 |
| C_0 (mg/l/g) | 53,69 ± 27,53 | 60,3 ± 44,8 | 0,959 | 46,8 ± 32,0 | 0,476 |
| C_{max} (mg/l/g) | 78,74 ± 33,88 | 96,6 ± 55,5 | 0,646 | 85,1 ± 50,7 | 0,919 |
| MPAG/MPA/dawkę | n = 7 | n = 22 | | n = 21 | |
| AUC_{0-4h} | 22,99 ± 11,19 | 37,57 ± 38,81 | 0,575 | 14,36 ± 9,53 | 0,019 |
| C_0 | 37,75 ± 20,40 | 91,50 ± 102,97 | 0,241 | 22,58 ± 13,47 | 0,028 |
| C_{max} | 12,36 ± 5,44 | 23,91 ± 28,19 | 0,415 | 10,04 ± 8,27 | 0,185 |

^a wartości p względem grupy chorych leczonych MMF bez CNI

5.3. WPŁYW MYKOFENOLANU MOFETYLU NA WYSTĘPOWANIE DZIAŁAŃ NIEPOŻĄDANYCH

W grupie badanej analizowano częstość występowania zdarzeń niepożądanych ze strony przewodu pokarmowego, infekcji bakteryjnych, anemii i leukopenii w porównaniu do grupy kontrolnej (Tab. 21).

Tabela 21. Występowanie zdarzeń niepożądanych w grupie badanej i kontrolnej

| Zdarzenie niepożądane | Grupa badana (n = 110) n (%) | Grupa kontrolna (n = 45) n (%) | p ^a |
|-----------------------|---------------------------------|-----------------------------------|----------------|
| Na przewód pokarmowy | 82 (73,9%) | 22 (48,9%) | 0,003 |
| Infekcje bakteryjne | 25 (22,5%) | 12 (26,7%) | 0,581 |
| Anemia | 55 (50,0%) | 11 (24,4%) | 0,011 |
| Leukopenia | 7 (6,4%) | 7 (15,6%) | 0,194 |

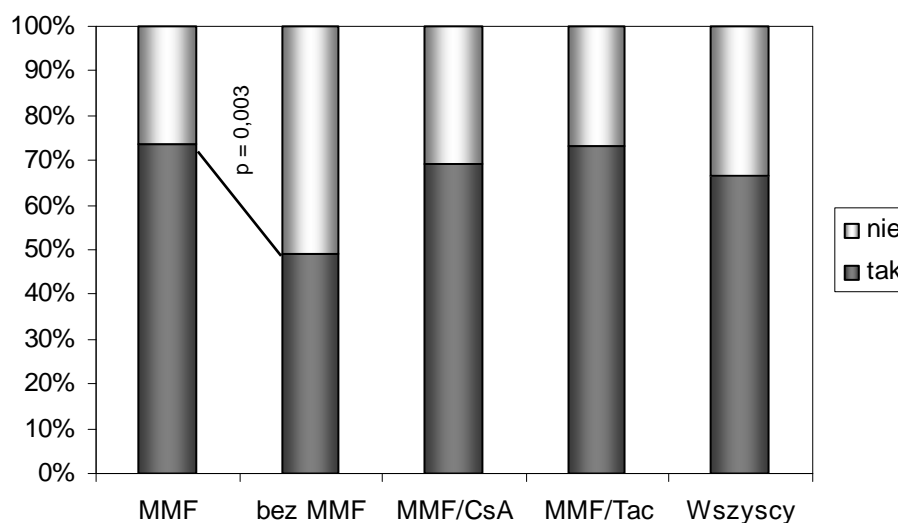
^a wartości p dla testu χ^2

Analiza wyników na podstawie testu χ^2 nie wykazała częstszego występowania infekcji bakteryjnych ($p = 0,581$) u chorych leczonych MMF w porównaniu do grupy kontrolnej. Ten wynik potwierdza analiza regresji logistycznej, w której OR dla infekcji bakteryjnych wynosił 0,800 ($p = 0,583$). Występowanie zdarzeń niepożądanych ze strony przewodu pokarmowego i układu krwiotwórczego analizowano w kolejnych rozdziałach.

5.3.1. Działania niepożądane na przewód pokarmowy

Wpływ MMF na występowanie zaburzeń żołądkowo-jelitowych badano w dwóch etapach. W pierwszym etapie porównano grupę badaną i kontrolną pod względem występowania zaburzeń ze strony przewodu pokarmowego, a następnie analizowano wpływ stężenia metabolitów MMF na występowanie tych zaburzeń.

Zaburzenia ze strony przewodu pokarmowego występowały istotnie częściej u chorych leczonych MMF w porównaniu z grupą kontrolną: 73,9% vs 48,9%, $p = 0,003$ (Tab. 21, Ryc. 12). W grupie badanej zaburzenia te występowały nieznacznie częściej u chorych leczonych MMF w skojarzeniu z Tac (u 33 chorych) w porównaniu do MMF z CsA (u 27 chorych), ale różnice były nieistotne statystycznie.



Ryc. 12. Wpływ MMF na częstość występowania zaburzeń żołądkowo-jelitowych.

Pomimo częstszego występowania działań niepożądanych na przewód pokarmowy w grupie badanej w porównaniu z grupą kontrolną, obie grupy nie różniły się wartościami BMI, które wynosiły odpowiednio $25,9 \pm 4,7 \text{ kg/m}^2$ i $24,9 \pm 4,1 \text{ kg/m}^2$; $p = 0,277$ (Tab. 8).

Analiza regresji logistycznej dotycząca częstości występowania zdarzeń niepożądanych ze strony przewodu pokarmowego w grupie badanej w porównaniu do grupy kontrolnej potwierdziła wyniki uzyskane za pomocą testu χ^2 (Tab. 21). Dla analizowanych zdarzeń niepożądanych OR wynosiło 2,96 ($p = 0,004$), co oznacza, że chorzy w grupie badanej byli ok. 3-krotnie bardziej narażeni na ryzyko zdarzeń niepożądanych ze strony przewodu pokarmowego w porównaniu z grupą kontrolną.

W grupie badanej chorzy leczeni antagonistami receptora H_2 z powodu zaburzeń żołądkowo-jelitowych, wykazywali istotnie wyższe wartości C_{\max} w porównaniu do chorych, którzy nie otrzymywali tej grupy leków (Tab. 22). Pozostałe parametry farmakokinetyczne MPA i MPAG w grupie chorych leczonych antagonistami receptora H_2 również były wyższe w porównaniu do tych parametrów u chorych nieleczonych tą grupą leków, ale różnice nie były istotne statystycznie.

Tabela 22. Porównanie parametrów farmakokinetycznych MPA i MPAG chorych leczonych antagonistami receptora H₂ lub IPP z powodu zaburzeń żołądkowo-jelitowych

| | Antagonista receptora H ₂ | | IPP | | p |
|------------------------------|--------------------------------------|-----------------|-----------------|-----------------|--------------|
| | Tak n = 46 | Nie n = 64 | Tak n = 49 | Nie n = 61 | |
| MPA | | | | | |
| AUC _{0-4h} (mg·h/l) | 28,62 ± 12,88 | 24,65 ± 11,84 | 24,23 ± 10,88 | 27,97 ± 13,33 | 0,203 |
| C ₀ (mg/l) | 3,23 ± 1,95 | 2,78 ± 2,07 | 2,88 ± 2,06 | 3,04 ± 2,00 | 0,493 |
| C _{max} (mg/l) | 16,36 ± 9,20 | 12,54 ± 6,24 | 11,45 ± 5,13 | 16,36 ± 8,93 | 0,001 |
| MPAG | | | | | |
| AUC _{0-4h} (mg·h/l) | 577,31 ± 451,61 | 366,01 ± 208,47 | 410,05 ± 264,63 | 457,33 ± 371,72 | 0,865 |
| C ₀ (mg/l) | 115,38 ± 99,87 | 64,26 ± 41,66 | 73,69 ± 52,61 | 87,73 ± 84,15 | 0,895 |
| C _{max} (mg/l) | 165,58 ± 124,89 | 114,35 ± 67,18 | 123,67 ± 79,17 | 138,03 ± 104,40 | 0,925 |

Odwrotne zależności obserwowano u chorych leczonych IPP. Wartości parametrów farmakokinetycznych MPA były istotnie niższe u chorych leczonych IPP w porównaniu z chorymi nieleczonymi tą grupą leków, ale tylko różnice dla C_{max} były istotne statystycznie (Tab. 22).

Podobne wyniki uzyskano za pomocą regresji logistycznej. Dla parametru C_{max} MPA uzyskano OR = 1,08, p = 0,005 (w grupach chorych leczonych i nieleczonych antagonistami receptora H_2), co oznacza, że ryzyko zdarzeń niepożądanych ze strony przewodu pokarmowego wzrastało o 8% przy wzroście wartości C_{max} o jedną jednostkę. Parametr C_0 MPA w analizie regresji logistycznej chorych leczonych antagonistami receptora H_2 lub IPP w porównaniu do chorych nieleczonych tymi lekami znajdował się na granicy istotności statystycznej (OR = 1,34, p = 0,046), natomiast AUC_{0-4h} MPA był nieistotny statystycznie, co jest zgodne z jednoczynnikową analizą wariancji. Zestawienie wyników regresji logistycznej dla występowania zaburzeń żołądkowo-jelitowych przedstawiono w Tabeli 23.

Tabela. 23. Zestawienie wyników regresji logistycznej występowania zaburzeń ze strony przewodu pokarmowego

| Zaburzenia żołądkowo-jelitowe (tak/nie) | Zależność | OR | p |
|---|-----------|------|-------|
| Leczenie MMF (tak/nie) | Dodatnia | 2,96 | 0,004 |
| AUC_{0-4h} MPA (mg·h/l) | - | 1,02 | 0,158 |
| C_0 MPA (mg/l) | Dodatnia | 1,34 | 0,046 |
| C_{max} MPA (mg/l) | Dodatnia | 1,08 | 0,005 |

5.3.1.1. Wpływ mykofenolanu mofetylu na stężenie witamin antyoksydacyjnych

Charakterystykę chorych, u których oznaczano badane witaminy (retinol, α -tokoferol i β -karoten) i niektóre składniki mineralne (żelazo, magnez, cynk i miedź) przedstawiono w Tabeli 24.

Stężenia retinolu w osoczu chorych po przeszczepieniu nerki znajdowały się w zakresie od 0,58 - 3,83 mg/l i były istotnie niższe u chorych leczonych MMF w porównaniu do grupy kontrolnej (odpowiednio $1,22 \pm 0,45$ mg/l vs $2,03 \pm 0,86$ mg/l; p < 0,001) (Tab. 25). Nie obserwowano jednak korelacji pomiędzy stężeniem retinolu a AUC_{0-4h} lub C_0 MPA (Tab. 26).

Tabela 24. Charakterystyka chorych, u których oznaczano witaminy antyoksydacyjne i niektóre składniki mineralne

| | Grupa badana (n = 61) | Grupa kontrolna (n = 45) | Wszyscy chorzy (n = 106) |
|--|--------------------------|-----------------------------|-----------------------------|
| Wartości średnie ± SD | | | |
| Wiek (lata) | 43 ± 12 ^a | 49 ± 13 ^a | 46 ± 13 |
| Okres po przeszczepieniu nerki (lata) | 4,7 ± 2,9 ^a | 6,6 ± 3,1 ^a | 5,5 ± 3,1 |
| Masa ciała (kg) | 74,9 ± 16,7 | 70,0 ± 13,6 | 72,9 ± 15,6 |
| BMI (kg/m ²) | 25,9 ± 4,7 | 24,8 ± 4,1 | 25,5 ± 4,5 |
| C _{cr} (mg/dl) | 1,80 ± 0,69 | 1,76 ± 0,74 | 1,78 ± 0,70 |
| Cl _{cr} (ml/min) | 58,4 ± 24,4 | 51,5 ± 19,7 | 55,5 ± 22,7 |
| Hemoglobina (g/dl) | 13,2 ± 1,5 | 13,5 ± 1,4 | 13,3 ± 1,5 |
| Hematokryt (%) | 39,6 ± 4,8 | 39,6 ± 6,1 | 39,6 ± 5,3 |
| Liczba chorych | | | |
| Płeć (M/K) | 34/27 ^a | 19/26 ^a | 53/53 |
| CsA/Tac | 28/24 | 21/15 | 49/39 |
| Leczenie GS | 54 (88,5%) | 42 (93,3%) | 96 (90,6%) |
| Leczenie ACEI lub sartanami | 10 (16,4%) | 12 (26,7%) | 22 (20,8%) |
| Leczenie diuretykami pętlowymi, tiazydowymi lub analogami tiazydów | 21 (34,4%) | 14 (31,1%) | 35 (33,0%) |
| Suplementacja żelazem | 17 (27,9%) | 8 (17,8%) | 25 (23,6%) |
| Suplementacja wapniem | 12 (19,7%) | 7 (15,6%) | 19 (17,9%) |
| Suplementacja potasem | 4 (6,6%) | 5 (11,1%) | 9 (8,5%) |

^a różnice istotne statystycznie

Stężenia retinolu były także niższe u chorych, u których wystąpiły zaburzenia ze strony przewodu pokarmowego, ale różnice znajdowały się na granicy istotności statystycznej ($1,25 \pm 0,48$ mg/l vs $1,55 \pm 0,70$ mg/l; $p = 0,049$). U chorych z Cl_{cr} poniżej 60 ml/min stężenia retinolu były istotnie wyższe niż u chorych z prawidłową funkcją nerki. Stężenie retinolu badano również w zależności od aktywności AspAT i AlAT grupach poniżej i powyżej 36 U/l. Niższe stężenia retinolu obserwowano u chorych z aktywnością AlAT powyżej 36 U/l (Tab. 25). Stężenia retinolu korelowały także ujemnie z AspAT i z Cl_{cr}, a dodatnio z C_{cr}, z AUC_{0-4h} i C₀ MPAG (Tab. 26).

Tabela 25. Stężenie β -karotenu, retinolu i α -tokoferolu (wartości średnie \pm SD) w zależności od płci, zastosowanej terapii immunosupresyjnej i czynników klinicznych u chorych po przeszczepieniu nerki

| | n | Stężenie β -karotenu (mg/l) | p | Stężenie retinolu (mg/l) | p | Stężenie α -tokoferolu (mg/l) | p |
|-------------------------------|------------|-----------------------------------|-------|--------------------------|--------|--------------------------------------|-------|
| Wszyscy chorzy | 106 | 0,34 \pm 0,37 | | 1,56 \pm 0,76 | | 9,47 \pm 5,42 | |
| Płeć | Mężczyźni | 0,28 \pm 0,23 | 0,041 | 1,53 \pm 0,77 | 0,750 | 9,42 \pm 5,30 | 0,813 |
| | Kobiety | 0,39 \pm 0,46 | | 1,59 \pm 0,76 | | 9,53 \pm 5,59 | |
| MMF | Tak | 0,32 \pm 0,43 | 0,200 | 1,22 \pm 0,45 | <0,001 | 9,39 \pm 4,85 | 0,812 |
| | Nie | 0,35 \pm 0,26 | | 2,03 \pm 0,86 | | 9,59 \pm 6,19 | |
| MMF w schemacie z: | CsA | 0,45 \pm 0,62 | 0,046 | 1,12 \pm 0,39 | 0,220 | 9,77 \pm 4,99 | 0,484 |
| | Tac | 0,25 \pm 0,19 | | 1,28 \pm 0,51 | | 9,16 \pm 5,17 | |
| CNI | Tak | 0,36 \pm 0,39 | 0,153 | 1,58 \pm 0,81 | 0,807 | 8,90 \pm 5,23 | 0,026 |
| | Nie | 0,24 \pm 0,16 | | 1,47 \pm 0,46 | | 12,25 \pm 5,62 | |
| C _{cr} (mg/dl) | \leq 1,5 | 0,30 \pm 0,25 | 0,296 | 1,40 \pm 0,66 | 0,027 | 9,96 \pm 4,71 | 0,327 |
| | > 1,5 | 0,37 \pm 0,45 | | 1,70 \pm 0,82 | | 9,04 \pm 6,00 | |
| Cl _{cr} (ml/min) | \geq 60 | 0,29 \pm 0,20 | 0,853 | 1,32 \pm 0,54 | 0,021 | 10,58 \pm 5,04 | 0,108 |
| | < 60 | 0,36 \pm 0,43 | | 1,68 \pm 0,83 | | 8,93 \pm 5,56 | |
| AIAT (U/l) | \leq 36 | 0,32 \pm 0,24 | 0,311 | 1,64 \pm 0,76 | 0,019 | 9,10 \pm 5,67 | 0,322 |
| | > 36 | 0,28 \pm 0,22 | | 1,35 \pm 0,74 | | 10,03 \pm 4,40 | |
| AspAT (U/l) | \leq 36 | 0,32 \pm 0,24 | 0,170 | 1,59 \pm 0,79 | 0,491 | 9,16 \pm 5,58 | 0,190 |
| | > 36 | 0,23 \pm 0,16 | | 1,36 \pm 0,51 | | 11,05 \pm 3,28 | |
| Cukrzyca | Tak | 0,25 \pm 0,23 | 0,001 | 1,64 \pm 0,83 | 0,418 | 9,17 \pm 5,59 | 0,929 |
| | Nie | 0,34 \pm 0,24 | | 1,54 \pm 0,75 | | 9,25 \pm 5,34 | |
| Zaburzenia żołądkowo-jelitowe | Tak | 0,26 \pm 0,18 | 0,031 | 1,25 \pm 0,48 | 0,049 | 9,35 \pm 5,32 | 0,533 |
| | Nie | 0,46 \pm 0,56 | | 1,55 \pm 0,70 | | 10,34 \pm 5,56 | |

Tabela 26. Regresja jednoczynnikowa stężeń β -karotenu, retinolu i α -tokoferolu z parametrami klinicznymi chorych po przeszczepieniu nerki

| | n | Stężenie β -karotenu (mg/l) | | Stężenie retinolu (mg/l) | | Stężenie α -tokoferolu (mg/l) | |
|---------------------------------------|-----|-----------------------------------|-------|--------------------------|--------------|--------------------------------------|--------------|
| | | r | p | r | p | r | p |
| Wiek (lata) | 106 | -0,015 | 0,877 | 0,052 | 0,597 | 0,123 | 0,211 |
| Okres po przeszczepieniu nerki (lata) | 106 | 0,119 | 0,223 | 0,112 | 0,254 | 0,115 | 0,241 |
| BMI (kg/m^2) | 106 | 0,045 | 0,645 | -0,115 | 0,242 | 0,088 | 0,369 |
| C_{cr} (mg/dl) | 106 | 0,031 | 0,751 | 0,221 | 0,023 | -0,057 | 0,563 |
| Cl_{cr} (ml/min) | 106 | -0,022 | 0,825 | -0,260 | 0,007 | 0,072 | 0,462 |
| AIAT (U/l) | 106 | -0,155 | 0,114 | -0,145 | 0,140 | 0,051 | 0,603 |
| AspAT (U/l) | 106 | -0,137 | 0,165 | -0,248 | 0,011 | 0,265 | 0,006 |
| Stężenie glukozy na czczo (mg/dl) | 106 | -0,170 | 0,083 | 0,191 | 0,051 | -0,065 | 0,511 |
| AUC_{0-4h} MPA (mg·h/l) | 61 | 0,151 | 0,249 | 0,082 | 0,534 | -0,152 | 0,247 |
| C_0 MPA (mg/l) | 61 | 0,021 | 0,875 | 0,211 | 0,105 | -0,286 | 0,027 |
| AUC_{0-4h} MPAG (mg·h/l) | 51 | 0,158 | 0,267 | 0,312 | 0,026 | 0,025 | 0,861 |
| C_0 MPAG (mg/l) | 51 | 0,071 | 0,618 | 0,295 | 0,035 | 0,071 | 0,621 |

Stężenia β -karotenu mieściły się w zakresie wartości poniżej LLOQ do 3,22 mg/l i były wyższe u kobiet niż u mężczyzn ($0,39 \pm 0,46$ mg/l vs $0,28 \pm 0,23$ mg/l; $p = 0,041$) oraz wyższe u chorych leczonych MMF w skojarzeniu z CsA w porównaniu do Tac ($0,45 \pm 0,62$ mg/l vs $0,25 \pm 0,19$ mg/l; $p = 0,046$), ale różnice znajdowały się na granicy istotności statystycznej. Nie obserwowano natomiast różnic w stężeniach β -karotenu u chorych leczonych MMF w porównaniu z grupą kontrolną, ani korelacji pomiędzy parametrami farmakokinetycznymi MPA lub MPAG a stężeniem β -karotenu (Tab. 25 i 26). Stężenie β -karotenu było istotnie niższe u chorych z cukrzycą ($p = 0,001$) oraz u chorych, u których wystąpiły zaburzenia żołądkowo-jelitowe ($p = 0,031$) (Tab. 25).

Stężenia α -tokoferolu u chorych uczestniczących w badaniach znajdowały się w zakresie wartości poniżej LLOQ do 25,63 mg/l i korelowały ujemnie z C_0 MPA ($r = -0,286$; $p = 0,027$) (Tab. 26). Nie obserwowano różnic w stężeniach α -tokoferolu u chorych leczonych MMF w porównaniu z grupą kontrolną, ani korelacji pomiędzy AUC_{0-4h} lub C_0 MPAG a stężeniem α -tokoferolu. Stężenia α -tokoferolu były także istotnie niższe u chorych leczonych CNI w porównaniu z chorymi nieleczonymi tą grupą leków. Obserwowano ponadto dodatnią korelację stężenia α -tokoferolu z AspAT ($r = 0,265$; $p = 0,006$) (Tab. 25 i 26).

W regresji wieloczynnikowej analizowano te czynniki, które istotnie wpływały na stężenia badanych witamin w analizie jednoczynnikowej (Tab. 27). Wykazano, że wpływ niektórych czynników, np. cukrzycy, zaburzeń żołądkowo-jelitowych na stężenie β -karotenu, Cl_{cr} na stężenie retinolu oraz rodzaju zastosowanego CNI na stężenie α -tokoferolu w regresji wieloczynnikowej był nieistotny statystycznie. Podobnie jak w analizie jednoczynnikowej stężenie β -karotenu zależało istotnie od płci. Model regresji wieloczynnikowej dla β -karotenu był istotny po uwzględnieniu rodzaju zastosowanego CNI, dla którego cząstkowa wartość p była nieistotna statystycznie.

Tabela 27. Wieloczynnikowa analiza regresji badanych witamin

| | Zależność | Cząstkowe wartości p | Uogólnione wartości p | Współczynniki korelacji r |
|---------------------------------------|-----------|----------------------|-----------------------|---------------------------|
| β-Karoten (mg/l) | | | | |
| Leczenie MMF z CsA/Tac | - | 0,139 | | |
| Płeć (kobiety/mężczyźni) ^a | Dodatnia | 0,030 | 0,037 | 0,355 |
| Retinol (mg/l) | | | | |
| Leczenie MMF (tak/nie) | Ujemna | < 0,001 | | |
| AspAT (U/l) | Ujemna | 0,034 | < 0,001 | 0,556 |
| α-Tokoferol (mg/l) | | | | |
| C ₀ MPA (mg/l) | - | 0,081 | | |
| AspAT (U/l) | - | 0,168 | 0,021 | 0,389 |

^a oznacza korelację dla kobiet

W modelu regresji wieloczynnikowej, podobnie jak w analizie jednoczynnikowej, wykazano istotny wpływ AspAT oraz stosowania MMF na stężenie retinolu (Tab. 28). Dodanie do modelu kolejnego czynnika, np. zaburzeń żołądkowo-jelitowych, powodowało obniżenie współczynnika korelacji oraz brak istotności modelu. α-Tokoferol zarówno w regresji jedno-, jak i wieloczynnikowej ($p = 0,021$) zależał od C₀ MPA i od AspAT, jednakże cząstkowe wartości p w modelu regresji wieloczynnikowej były nieistotne statystycznie (Tab. 27). Zestawienie czynników, które istotnie wpływały na stężenia badanych witamin w analizie jedno- i wieloczynnikowej przedstawiono w Tabeli 28.

Tabela 28. Zestawienie jedno- i wieloczynnikowej analizy regresji badanych witamin

| | Analiza jednoczynnikowa | Analiza wieloczynnikowa |
|--------------------|---|-------------------------------|
| β-Karoten (mg/l) | Leczenie MMF z CsA/Tac, płeć, cukrzyca, zaburzenia żołądkowo-jelitowe | Płeć |
| Retinol (mg/l) | Leczenie MMF (tak/nie), Cl _{cr} , C _{cr} , AlAT, AspAT, zaburzenia żołądkowo-jelitowe, AUC _{0-12h} MPAG, C ₀ MPAG | Leczenie MMF (tak/nie), AspAT |
| α-Tokoferol (mg/l) | Leczenie MMF z CsA/Tac, C ₀ MPA, AspAT | - |

Analizowano także aktualne spożycie badanych witamin w całodziennych racjach pokarmowych chorych uczestniczących w badaniach (Tab. 29). Zaobserwowano niższą od zalecanej normy podaż analizowanych witamin, przy jednocześnie zbliżonym spożyciu

analizowanych witamin u chorych leczonych MMF w porównaniu do grupy kontrolnej oraz w obrębie grupy badanej w schemacie z CsA lub Tac ($p > 0,05$) (Tab. 29).

Tabela 29. Dobowe spożycie badanych witamin antyoksydacyjnych u chorych po przeszczepieniu nerki leczonych różnymi lekami immunosupresyjnymi

| | | MMF ^a | | MMF w schemacie z: ^a | | Cała grupa (n = 106) |
|-------------|------|------------------|--------------|---------------------------------|--------------|-------------------------|
| | | Tak (n = 61) | Nie (n = 45) | CsA (n = 28) | Tac (n = 24) | |
| β-Karoten | (mg) | 0,20 ± 0,46 | 0,13 ± 0,17 | 0,22 ± 0,60 | 0,13 ± 0,18 | 0,17 ± 0,37 |
| | %RDA | 40,6 ± 92,8 | 26,0 ± 34,5 | 44,3 ± 120,7 | 26,5 ± 36,5 | 34,5 ± 74,2 |
| Retinol | (mg) | 0,79 ± 0,62 | 0,80 ± 0,60 | 0,88 ± 0,79 | 0,68 ± 0,30 | 0,79 ± 0,61 |
| | %RDA | 87,2 ± 66,4 | 88,3 ± 60,5 | 95,9 ± 81,1 | 76,2 ± 35,5 | 87,7 ± 63,7 |
| α-Tokoferol | (mg) | 7,10 ± 4,41 | 7,63 ± 5,28 | 7,47 ± 5,53 | 6,59 ± 3,48 | 7,32 ± 4,77 |
| | %RDA | 73,7 ± 44,2 | 80,3 ± 54,1 | 77,0 ± 55,6 | 69,3 ± 35,2 | 76,4 ± 48,5 |

^a różnice nieistotne statystycznie

5.3.1.2. Wpływ mykofenolanu mofetylu na stężenie składników mineralnych

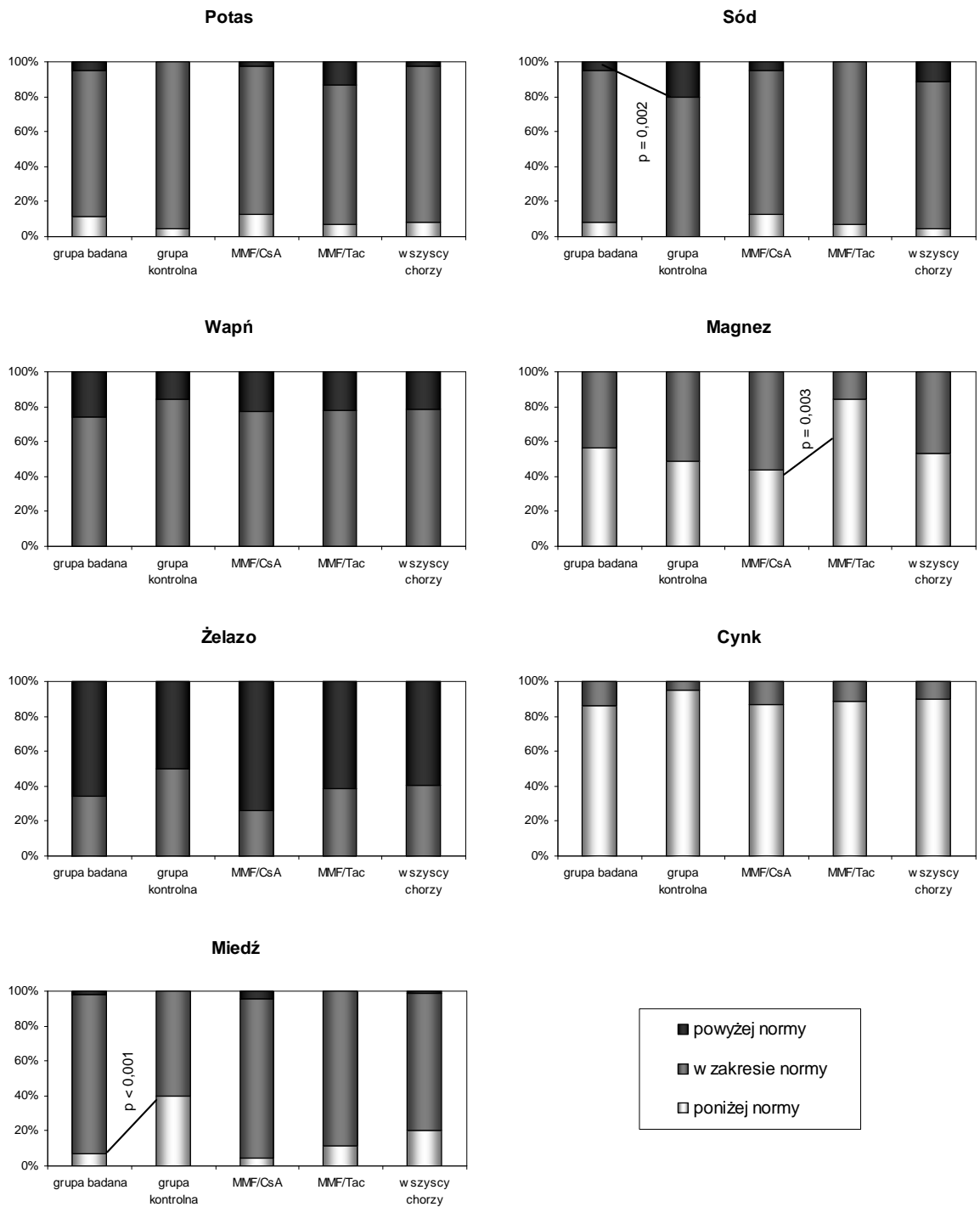
U chorych leczonych MMF wykazano istotnie większe stężenie żelaza, cynku i miedzi oraz istotnie mniejsze stężenie sodu w porównaniu z grupą kontrolną (Tab. 30).

Tabela 30. Wpływ leków immunosupresyjnych na stężenie składników mineralnych w osoczu chorych po przeszczepieniu nerki

| | MMF | | p | MMF w skojarzeniu z: | | p |
|-----------------|---------------------------|--------------|---------|----------------------|---------------|-------|
| | Tak (n = 61) ^a | Nie (n = 45) | | CsA (n = 28) | Tac (n = 24) | |
| Potas (mmol/l) | 4,23 ± 0,54 | 4,23 ± 0,44 | 0,718 | 4,21 ± 0,48 | 4,40 ± 0,59 | 0,179 |
| Sód (mmol/l) | 141,6 ± 3,0 | 143,8 ± 2,4 | < 0,001 | 141,79 ± 3,15 | 141,19 ± 2,75 | 0,180 |
| Wapń (mmol/l) | 2,47 ± 0,14 | 2,43 ± 0,16 | 0,467 | 2,46 ± 0,13 | 2,44 ± 0,15 | 0,609 |
| Magnez (mmol/l) | 0,68 ± 0,11 | 0,70 ± 0,09 | 0,509 | 0,70 ± 0,09 | 0,62 ± 0,08 | 0,004 |
| Żelazo (μmol/l) | 32,9 ± 9,4 | 28,7 ± 9,4 | 0,032 | 33,68 ± 10,29 | 33,53 ± 9,70 | 0,857 |
| Cynk (μmol/l) | 8,26 ± 2,14 | 7,50 ± 1,53 | 0,030 | 8,09 ± 1,82 | 8,31 ± 1,71 | 0,435 |
| Miedź (μmol/l) | 16,6 ± 4,1 | 12,1 ± 3,9 | < 0,001 | 17,96 ± 4,35 | 15,89 ± 4,25 | 0,037 |

^a dla potasu, sodu i wapnia n = 110

U chorych w grupie badanej rzadziej obserwowano hipernatremię (4,6% vs 20,0%; $p = 0,002$) oraz stężenia miedzi poniżej normy (6,9% vs 40,0%; $p < 0,001$) w porównaniu z grupą kontrolną (Ryc. 13).



Ryc. 13. Odsetek chorych w określonych zakresach stężeń składników mineralnych w osoczu w zależności od zastosowanego leku immunosupresyjnego.

U chorych leczonych MMF z CsA istotnie rzadziej obserwowano hipomagnezemię w porównaniu do chorych leczonych MMF z Tac (odpowiednio 44,0% vs 87,0%; $p = 0,003$) (Ryc. 13). W tej grupie chorych również wykazano istotnie wyższe stężenia magnezu oraz wyższe stężenia miedzi w porównaniu z chorymi leczonymi MMF z Tac (odpowiednio $p = 0,004$ i $0,037$; Tab. 30).

Stwierdzono ponadto istotne ujemne korelacje pomiędzy badanymi parametrami farmakokinetycznymi MPA a stężeniem sodu i potasu oraz dodatnią korelację pomiędzy AUC_{0-4h} i C_0 MPA a stężeniem magnezu w osoczu chorych leczonych MMF (Tab. 31). Chorzy ze stężeniem magnezu w zakresie normy charakteryzowali się większymi wartościami wszystkich badanych parametrów farmakokinetycznych MPA w porównaniu do chorych z hipomagnezemią (Tab. 32).

Tabela 31. Regresja jednoczynnikowa składników mineralnych z parametrami farmakokinetycznymi MPA

| | AUC _{0-4h} MPA | | C ₀ MPA | | C _{max} MPA | |
|-----------------|-------------------------|---------|--------------------|-------|----------------------|-------|
| | r | p | r | p | r | p |
| Potas (mmol/l) | -0,357 | < 0,001 | -0,222 | 0,021 | -0,240 | 0,012 |
| Sód (mmol/l) | -0,196 | 0,043 | -0,268 | 0,005 | -0,198 | 0,040 |
| Wapń (mmol/l) | 0,063 | 0,522 | -0,136 | 0,161 | 0,183 | 0,057 |
| Magnez (mmol/l) | 0,323 | 0,016 | 0,403 | 0,002 | 0,225 | 0,098 |
| Żelazo (μmol/l) | -0,131 | 0,336 | 0,032 | 0,813 | -0,192 | 0,157 |
| Cynk (μmol/l) | 0,131 | 0,336 | 0,033 | 0,806 | 0,172 | 0,204 |
| Miedź (μmol/l) | 0,123 | 0,365 | 0,044 | 0,747 | 0,049 | 0,720 |

Tabela 32. Parametry farmakokinetyczne MPA chorych z grupy badanej w zależności od zakresu stężeń składników mineralnych

| | n | AUC _{0-4h} MPA | p | C ₀ MPA | p | C _{max} MPA | p |
|-----------------|---------------|-------------------------|-------|--------------------|-------|----------------------|-------|
| Potas (mmol/l) | norma | 27,06 ± 12,62 | 0,642 | 3,02 ± 2,01 | 0,881 | 14,62 ± 8,22 | 0,991 |
| | hipokalcemia | 27,97 ± 11,71 | | 3,37 ± 2,67 | | 13,71 ± 5,60 | |
| | hiperkaliemia | 17,48 ± 6,38 | - | 2,04 ± 1,04 | - | 10,17 ± 4,60 | - |
| Sód (mmol/l) | norma | 26,86 ± 12,84 | 0,173 | 3,03 ± 2,10 | 0,907 | 14,63 ± 8,11 | 0,151 |
| | hiponatremia | 20,49 ± 6,93 | | 2,66 ± 1,60 | | 10,60 ± 3,71 | |
| | hipernatremia | 29,13 ± 8,67 | - | 2,56 ± 1,29 | - | 12,72 ± 7,34 | - |
| Wapń (mmol/l) | norma | 26,99 ± 12,74 | 0,374 | 3,19 ± 2,15 | 0,029 | 14,23 ± 8,08 | 0,736 |
| | hiperkalcemia | 24,14 ± 10,99 | | 2,09 ± 1,11 | | 14,31 ± 7,13 | |
| | hipokalcemia | 24,52 | - | 3,4 | - | 9,8 | - |
| Magnez (mmol/l) | norma | 32,77 ± 12,37 | 0,002 | 3,89 ± 2,49 | 0,005 | 16,49 ± 6,18 | 0,004 |
| | poniżej normy | 22,70 ± 7,91 | | 2,35 ± 1,58 | | 11,53 ± 4,92 | |
| Żelazo (µmol/l) | norma | 28,06 ± 12,40 | 0,833 | 3,11 ± 2,76 | 0,528 | 14,25 ± 5,95 | 0,575 |
| | powyżej normy | 26,64 ± 10,56 | | 3,03 ± 1,83 | | 13,45 ± 5,99 | |
| Cynk (µmol/l) | norma | 31,27 ± 9,49 | 0,211 | 3,05 ± 1,31 | 0,465 | 18,04 ± 6,01 | 0,046 |
| | poniżej normy | 26,50 ± 11,26 | | 3,06 ± 2,25 | | 13,09 ± 5,72 | |
| Miedź (µmol/l) | norma | 27,29 ± 11,29 | 0,335 | 3,13 ± 2,21 | 0,317 | 13,80 ± 6,08 | 0,795 |
| | poniżej normy | 20,93 ± 6,12 | | 1,87 ± 0,28 | | 12,73 ± 4,86 | |

W regresji wieloczynnikowej analizowano wpływ stosowania MMF i parametrów farmakokinetycznych jego metabolitów w połączeniu z różnymi czynnikami klinicznymi na stężenia składników mineralnych (Tab. 33). Wykazano istotny wpływ AUC_{0-4h} MPA oraz leczenia diuretykami pętlowymi, tiazydowymi lub analogami tiazydów na stężenie potasu ($p < 0,001$), jednakże pomimo uzyskania dużej istotności statystycznej modelu, cząstkowa wartość p dla AUC_{0-4h} MPA była w tym modelu nieistotna statystycznie. Obserwowano ponadto istotny wpływ stosowania MMF i diuretyków na stężenie sodu. W badanych modelach regresji nie wykazano natomiast wpływu stosowania ACEI na stężenie potasu, ani wpływu diuretyków na stężenie wapnia i magnezu. Stężenie magnezu istotnie zależało od C_0 MPA i rodzaju stosowanego CNI ($p = 0,011$), jednakże cząstkowa wartość p dla C_0 MPA w tym modelu była nieistotna statystycznie ($p = 0,120$). Stężenie cynku zależało od stosowania MMF, płci i wieku ($p = 0,003$), jednakże cząstkowa wartość p dla stosowania MMF w tym modelu była nieistotna statystycznie. Stężenie miedzi, podobnie jak stężenie cynku, zależało od stosowania MMF, płci i wieku ($p < 0,001$), jednakże w tym modelu cząstkowa wartość p dla wieku była nieistotna statystycznie. Dla żelaza i wapnia nie wykazano istotnych statystycznie modeli w analizie regresji wieloczynnikowej.

W tabeli 34 przedstawiono czynniki wpływające istotnie na stężenia badanych składników mineralnych w analizie jednoczynnikowej (wpływ stosowania MMF i parametrów farmakokinetycznych jego metabolitów) i wieloczynnikowej (wpływ dodatkowych czynników).

U większości chorych uczestniczących w badaniach (59%), niezależnie od stosowanych leków immunosupresyjnych, stężenia żelaza przekraczały normy diagnostyczne dla tego pierwiastka. Stężenia magnezu i cynku znajdowały się poniżej normy odpowiednio u 53% i 90% badanych chorych (Ryc. 14).

Tabela 33. Wieloczynnikowa analiza regresji badanych składników mineralnych

| Parametry kliniczne | Zależność | Cząstkowe wartości p | Uogólnione wartości p | Współczynniki korelacji r |
|---|-----------|----------------------|-----------------------|---------------------------|
| Potas (mmol/l) | | | | |
| AUC _{0-4h} MPA (mg·h/l) | - | 0,102 | | |
| Leczenie diuretykami ^a (tak/nie) | Ujemna | < 0,001 | < 0,001 | 0,554 |
| Sód (mmol/l) | | | | |
| Leczenie MMF (tak/nie) | Ujemna | < 0,001 | | |
| Leczenie diuretykami ^a (tak/nie) | Dodatnia | 0,045 | < 0,001 | 0,385 |
| Magnez (mmol/l) | | | | |
| C ₀ MPA (mg/l) | - | 0,120 | | |
| Leczenie MMF z CsA/Tac ^b | Dodatnia | 0,009 | 0,011 | 0,437 |
| Cynk (μmol/l) | | | | |
| Leczenie MMF (tak/nie) | - | 0,206 | | |
| Płeć (kobiety/mężczyźni) ^c | Ujemna | 0,044 | 0,003 | 0,413 |
| Wiek (lata) | Ujemna | 0,022 | | |
| Miedź (μmol/l) | | | | |
| Leczenie MMF (tak/nie) | Dodatnia | < 0,001 | | |
| Płeć (kobiety/mężczyźni) ^c | Dodatnia | 0,020 | < 0,001 | 0,544 |
| Wiek (lata) | - | 0,160 | | |

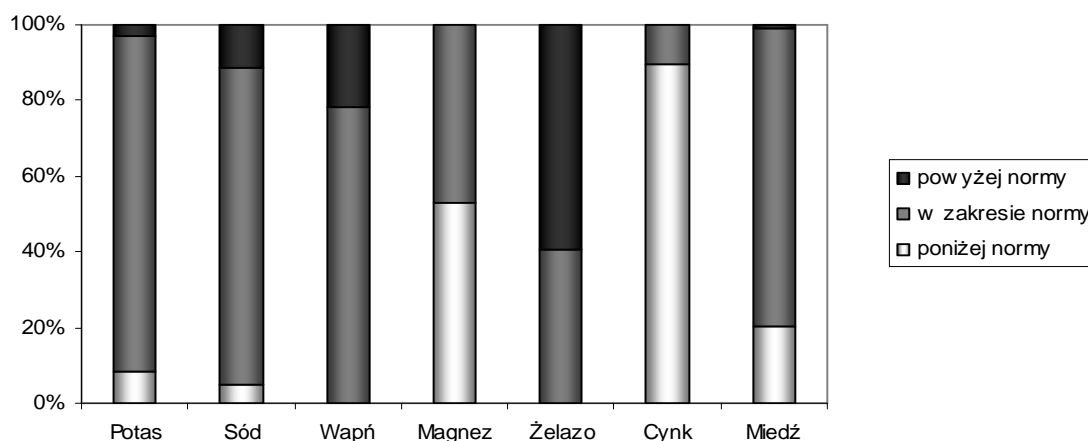
^a pętlowymi, tiazydowymi lub analogami tiazydów

^b oznacza korelację dla CsA

^c oznacza korelację dla kobiet

Tabela 34. Zestawienie jedno- i wieloczynnikowej analizy regresji badanych składników mineralnych

| | Analiza jednoczynnikowa | Analiza wieloczynnikowa |
|-----------------|--|---|
| Potas (mmol/l) | AUC _{0-4h} MPA, C ₀ MPA, C _{max} MPA, | Leczenie diuretykami (tak/nie) |
| Sód (mmol/l) | Leczenie MMF (tak/nie), AUC _{0-4h} MPA, C ₀ MPA, C _{max} MPA | Leczenie MMF (tak/nie), leczenie diuretykami (tak/nie) |
| Wapń (mmol/l) | C ₀ MPA | - |
| Magnez (mmol/l) | Leczenie MMF z CsA/Tac, AUC _{0-4h} MPA, C ₀ MPA, C _{max} MPA | Leczenie MMF z CsA/Tac |
| Żelazo (μmol/l) | Leczenie MMF (tak/nie) | - |
| Cynk (μmol/l) | Leczenie MMF (tak/nie), C _{max} MPA | Płeć, wiek |
| Miedź (μmol/l) | Leczenie MMF (tak/nie), leczenie MMF z CsA/Tac | Leczenie MMF (tak/nie), płeć |



Ryc. 14. Odsetek chorych w określonych zakresach stężeń składników mineralnych w osoczu chorych uczestniczących w badaniach.

Oceniono także aktualne spożycie analizowanych składników mineralnych występujących w całodziennych racjach pokarmowych chorych leczonych różnymi schematami immunosupresji (Tab. 35). Zaobserwowano niższą od zalecanej normy podaż wapnia, magnezu, żelaza, cynku i miedzi z diety, przy jednocześnie zbliżonym spożyciu analizowanych składników mineralnych u chorych leczonych MMF i w grupie kontrolnej oraz u chorych leczonych MMF w schemacie z CsA lub Tac ($p > 0,05$).

Ze względu na obserwowane różnice w wieku, okresie po przeszczepieniu nerki i płci pomiędzy chorymi leczonymi MMF a grupą kontrolną (Tab. 8 i 24), sprawdzono wpływ tych czynników na stężenia składników mineralnych. Wykazano wyższe stężenia cynku u mężczyzn ($p = 0,042$), u młodszych chorych ($p < 0,001$) oraz u chorych we wcześniejszym okresie po przeszczepieniu nerki (< 5 lat) w porównaniu do chorych w późniejszym okresie po przeszczepieniu nerki (> 5 lat; $p = 0,015$) (Tab. 36). Pomimo różnic wieku, okresu po przeszczepieniu nerki i płci pomiędzy grupą badaną a kontrolną (Tab. 24), w wieloczynnikowej analizie wariancji ANOVA dla cynku nie wykazano jednak interakcji pomiędzy stosowaniem MMF a wymienionymi czynnikami. U chorych w wieku poniżej 50 lat obserwowano także statystycznie istotnie niższe stężenie sodu ($p = 0,007$) (Tab. 36). Zarówno dla sodu, jak i dla cynku test ANOVA nie wykazał interakcji pomiędzy stosowaniem MMF a wiekiem chorych, u których analizowano wymienione składniki mineralne.

Chorzy w grupie badanej częściej stosowali suplementację farmakologiczną preparatami zawierającymi wapń w porównaniu do grupy kontrolnej ($p < 0,05$) (Tab. 8). Nie obserwowano jednak interakcji pomiędzy stosowaniem MMF a suplementacją wapniem w wieloczynnikowej analizie wariancji.

Tabela 35. Dobowe spożycie składników mineralnych u chorych leczonych różnymi lekami immunosupresyjnymi

| Składniki mineralne | MMF ^a | | MMF w schemacie z: ^a | | Cała grupa (n = 106) ^c |
|-------------------------------------|---------------------------|---------------|---------------------------------|---------------|--------------------------------------|
| | Tak (n = 61) ^b | Nie (n = 45) | CsA (n = 28) | Tac (n = 24) | |
| Potas | | | | | |
| (mg) | 3282 ± 1763 | 3544 ± 1297 | 3087 ± 1237 | 3247 ± 2175 | 3391 ± 1582 |
| % minimalnego dziennego spożycia | 93,8 ± 50,4 | 101,2 ± 37,0 | 88,2 ± 35,3 | 92,8 ± 62,2 | 96,9 ± 45,2 |
| Sód | | | | | |
| (mg) | 2282 ± 1741 | 2438 ± 1428 | 2524 ± 2076 | 1722 ± 784 | 2347 ± 1611 |
| % minimalnego dziennego spożycia | 396,8 ± 302,7 | 424,0 ± 248,4 | 439,0 ± 361,1 | 299,6 ± 136,3 | 408,2 ± 280,2 |
| Wapń | | | | | |
| (mg) | 534,9 ± 295,3 | 731,9 ± 747,0 | 453,2 ± 178,1 | 558,3 ± 303,1 | 617,3 ± 538,5 |
| %RDA | 59,4 ± 32,8 | 81,3 ± 83,0 | 50,4 ± 19,8 | 62,0 ± 33,7 | 68,6 ± 59,8 |
| Magnez | | | | | |
| (mg) | 269,9 ± 150,7 | 277,9 ± 98,2 | 258,6 ± 117,2 | 261,2 ± 183,7 | 273,3 ± 130,8 |
| %RDA | 78,9 ± 40,4 | 84,9 ± 31,0 | 75,2 ± 30,1 | 78,0 ± 50,9 | 81,4 ± 36,7 |
| Żelazo | | | | | |
| (mg) | 12,35 ± 6,25 | 12,30 ± 4,50 | 12,20 ± 4,86 | 11,39 ± 7,19 | 12,33 ± 5,56 |
| %RDA | 77,6 ± 43,3 | 74,8 ± 30,7 | 76,5 ± 33,8 | 70,4 ± 49,0 | 76,4 ± 38,4 |
| Cynk | | | | | |
| (mg) | 9,66 ± 4,14 | 9,65 ± 4,06 | 9,57 ± 3,97 | 8,63 ± 3,60 | 9,66 ± 4,08 |
| %RDA | 65,3 ± 24,8 | 67,0 ± 25,2 | 64,6 ± 23,4 | 59,8 ± 23,5 | 66,0 ± 24,9 |
| Miedź | | | | | |
| (mg) | 1,14 ± 0,78 | 1,20 ± 0,54 | 1,06 ± 0,46 | 1,13 ± 1,08 | 1,16 ± 0,69 |
| %RDA | 51,0 ± 34,6 | 53,9 ± 24,4 | 47,6 ± 20,3 | 50,8 ± 47,8 | 52,2 ± 30,7 |

^a różnice nieistotne statystycznie

^b dla potasu, sodu i wapnia n = 110

^c dla potasu, sodu i wapnia n = 155

Tabela 36. Stężenia składników mineralnych w zależności od płci, wieku i okresu po przeszczepieniu nerki

| Składniki mineralne | Płeć | | Wiek | | Okres po przeszczepieniu nerki | | |
|---------------------|-------------|-------------|-------------|-------------|--------------------------------|-------------|-------|
| | Mężczyźni | Kobiety | < 50 lat | > 50 lat | < 5 lat | > 5 lat | |
| | (n = 80) | (n = 75) | (n = 94) | (n = 61) | (n = 90) | (n = 65) | |
| Potas (mmol/l) | 4,29 ± 0,56 | 4,17 ± 0,41 | 4,24 ± 0,46 | 4,21 ± 0,55 | 4,23 ± 0,49 | 4,23 ± 0,51 | 0,670 |
| Sód (mmol/l) | 142,4 ± 2,9 | 142,7 ± 3,1 | 141,8 ± 3,0 | 143,6 ± 2,6 | 142,3 ± 3,2 | 143,0 ± 2,6 | 0,365 |
| Wapń (mmol/l) | 2,47 ± 0,12 | 2,44 ± 0,17 | 2,48 ± 0,14 | 2,43 ± 0,15 | 2,46 ± 0,15 | 2,45 ± 0,15 | 0,961 |
| | | (n = 53) | (n = 53) | (n = 45) | (n = 64) | (n = 42) | |
| Magnez (mmol/l) | 0,68 ± 0,10 | 0,70 ± 0,10 | 0,68 ± 0,10 | 0,70 ± 0,11 | 0,69 ± 0,11 | 0,69 ± 0,09 | 0,703 |
| Żelazo (µmol/l) | 32,5 ± 9,9 | 29,7 ± 9,1 | 32,3 ± 9,1 | 29,5 ± 10,1 | 31,5 ± 9,6 | 30,6 ± 9,8 | 0,654 |
| Cynk (µmol/l) | 8,42 ± 2,14 | 7,50 ± 1,68 | 8,57 ± 1,99 | 7,19 ± 1,53 | 8,26 ± 1,99 | 7,34 ± 1,84 | 0,015 |
| Miedź (µmol/l) | 14,2 ± 4,4 | 15,7 ± 4,7 | 14,9 ± 5,0 | 14,6 ± 4,1 | 15,2 ± 4,4 | 14,3 ± 4,9 | 0,421 |

5.3.2. Działania niepożądane na układ krwiotwórczy

Wpływ MMF na układ krwiotwórczy badano w dwóch etapach. W pierwszym etapie porównano parametry morfologii krwi w grupie badanej i kontrolnej, natomiast w drugim etapie analizowano wpływ stężenia metabolitów MMF na te parametry.

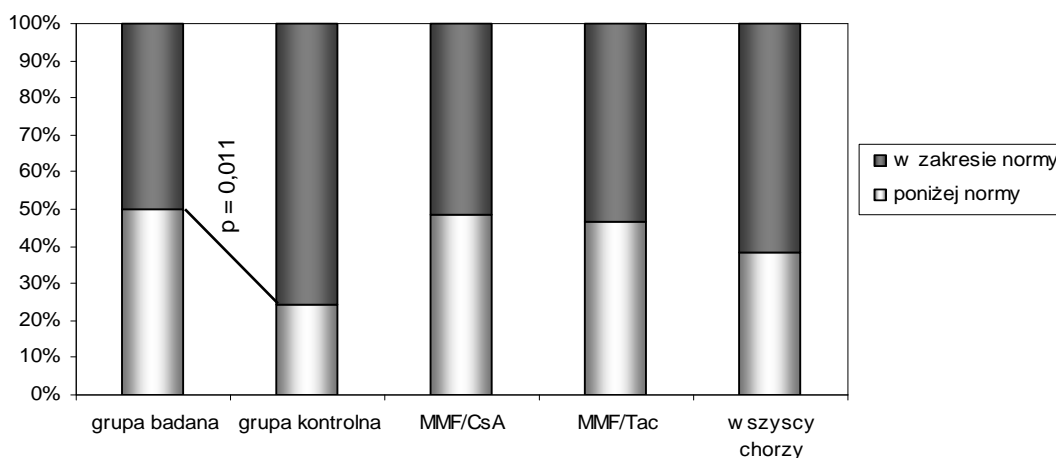
Średnie wartości wszystkich badanych parametrów morfologii krwi w grupie badanej nie różniły się w porównaniu z grupą kontrolną, natomiast obserwowano istotnie mniejsze stężenie hemoglobiny u kobiet w grupie badanej ($p = 0,035$) (Tab. 37). Anemia częściej występowała u chorych leczonych MMF w porównaniu z grupą kontrolną (50,0% vs 24,4%; $p = 0,011$; Ryc. 15, Tab. 21). Nie obserwowano różnic w częstości występowania anemii u chorych leczonych MMF w schemacie z CsA w porównaniu do MMF z Tac.

Tabela 37. Porównanie średnich wartości (\pm SD) parametrów morfologii krwi w grupie badanej i kontrolnej

| | | Grupa badana (n = 110) | Grupa kontrolna (n = 45) | P |
|---------------------------------------|----------------|---------------------------|-----------------------------|-------|
| Hemoglobina (g/dl) | Wszyscy chorzy | 13,1 \pm 1,5 | 13,4 \pm 1,4 | 0,177 |
| | Kobiety | 12,5 \pm 1,4 | 13,2 \pm 1,3 | 0,035 |
| | Mężczyźni | 13,5 \pm 1,5 | 13,8 \pm 1,5 | 0,348 |
| Hematokryt (%) | Wszyscy chorzy | 39,5 \pm 4,6 | 39,6 \pm 6,1 | 0,410 |
| | Kobiety | 37,6 \pm 4,0 | 38,4 \pm 6,7 | 0,108 |
| | Mężczyźni | 40,8 \pm 4,6 | 41,5 \pm 4,4 | 0,404 |
| Liczba erytrocytów ($10^{12}/l$) | Wszyscy chorzy | 4,54 \pm 0,51 | 4,46 \pm 0,54 | 0,508 |
| | Kobiety | 4,35 \pm 0,47 | 4,37 \pm 0,48 | 0,668 |
| | Mężczyźni | 4,67 \pm 0,51 | 4,61 \pm 0,62 | 0,717 |
| Liczba leukocytów ($10^9/l$) | | 7,50 \pm 2,15 | 6,87 \pm 2,17 | 0,073 |
| Płytki krwi ($10^9/l$) | | 227,0 \pm 63,6 | 208,0 \pm 62,5 | 0,136 |

Analiza χ^2 nie wykazała różnicy pod względem liczebności chorych w zakresie norm dla hematokrytu, liczby erytrocytów i leukocytów oraz płytek krwi pomiędzy grupą badaną a kontrolną oraz u chorych leczonych MMF w schemacie z CsA w porównaniu do Tac (Ryc. 16). Leukopenię w grupie badanej i kontrolnej obserwowano odpowiednio u 3 i 7 chorych, natomiast małopłytkowość odpowiednio u 3 i 5 chorych.

Hemoglobina



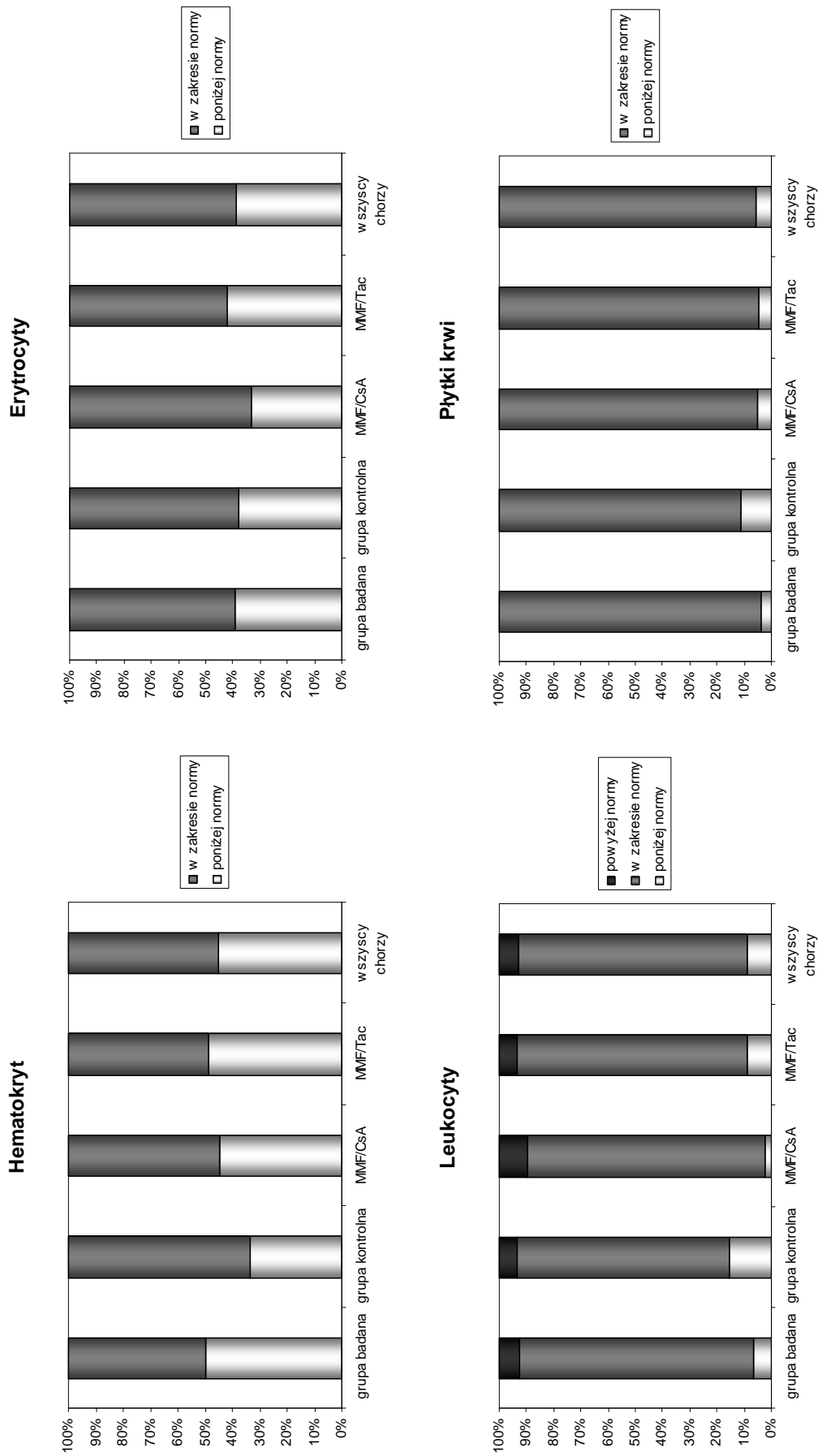
Ryc. 15. Odsetek chorych w określonych zakresach stężeń hemoglobiny w zależności od zastosowanego leku immunosupresyjnego.

Analiza regresji logistycznej dotycząca częstości występowania zdarzeń niepożądanych ze strony układu krwiotwórczego w grupie badanej w porównaniu do grupy kontrolnej potwierdziła wyniki uzyskane za pomocą testu χ^2 . OR dla anemii wynosił 3,04 ($p = 0,005$), co oznacza, że chorzy z grupy badanej byli ok. 3-krotnie bardziej narażeni na występowanie anemii, natomiast dla pozostałych parametrów morfologii krwi OR był nieistotny statystycznie.

Nie wykazano istotnych statystycznie korelacji parametrów farmakokinetycznych MPA z hemoglobina, hematokrytem, leukocytami i płytkami krwi. Obserwowano natomiast dodatnią korelację liczby erytrocytów z C_{\max} MPA oraz ujemną korelację z C_{\max} MPAG. Wykazano także ujemne korelacje (istotne lub na granicy istotności statystycznej) dla wszystkich badanych parametrów farmakokinetycznych MPAG z hemoglobina i hematokrytem (Tab. 38).

Wartości badanych parametrów farmakokinetycznych MPAG były również istotnie większe u chorych ze stężeniem hemoglobiny poniżej normy, natomiast wartości parametrów farmakokinetycznych MPA nie różniły się u chorych z anemią w porównaniu do chorych ze stężeniem hemoglobiny w zakresie normy. AUC_{0-4h} i C_{\max} MPA były natomiast istotnie niższe u chorych ze stężeniem hematokrytu i liczbą erytrocytów poniżej normy (Tab. 39).

W regresji logistycznej, podobnie jak w analizie χ^2 , również nie wykazano zależności występowania anemii od parametrów farmakokinetycznych MPA (Tab. 40). Nie obserwowano także wpływu stężenia MPA na występowanie leukopenii i małopłytkowości (wyników nie przedstawiono w tabeli).



Ryc. 16. Odsetek chorych w określonych zakresach norm dla hematokrytu, liczby erytrocytów i leukocytów oraz płytek krwi, w zależności od zastosowanego leku immunosupresyjnego.

Tabela 38. Korelacje parametrów farmakokinetycznych MPA i MPAG z wybranymi parametrami morfologii krwi

| | Hemoglobina | | Hematokryt | | Erytrocyty | | Leukocyty | | Płytki krwi | |
|------------------------------|-------------|--------------|------------|--------------|------------|--------------|-----------|-------|-------------|-------|
| | r | p | r | p | r | p | r | p | r | p |
| MPA (n = 110) | | | | | | | | | | |
| AUC _{0-4h} (mg·h/l) | 0,021 | 0,826 | 0,046 | 0,639 | 0,128 | 0,189 | 0,011 | 0,910 | 0,098 | 0,313 |
| C ₀ (mg/l) | -0,118 | 0,221 | -0,109 | 0,262 | -0,015 | 0,880 | 0,053 | 0,584 | 0,103 | 0,289 |
| C _{max} (mg/l) | 0,112 | 0,246 | 0,167 | 0,084 | 0,205 | 0,033 | -0,009 | 0,929 | 0,123 | 0,206 |
| MPAG (n = 51) | | | | | | | | | | |
| AUC _{0-4h} (mg·h/l) | -0,362 | 0,009 | -0,282 | 0,045 | -0,238 | 0,092 | -0,087 | 0,543 | -0,015 | 0,915 |
| C ₀ (mg/l) | -0,340 | 0,015 | -0,287 | 0,041 | -0,248 | 0,080 | -0,152 | 0,285 | -0,050 | 0,729 |
| C _{max} (mg/l) | -0,363 | 0,009 | -0,273 | 0,052 | -0,283 | 0,044 | -0,028 | 0,845 | -0,004 | 0,975 |

Tabela 39. Parametry farmakokinetyczne MPA i MPAG w osoczu chorych z grupy badanej w zależności od norm dla hemoglobiny, hematokrytu i liczby erytrocytów

| | Hemoglobina | | p | Hematokryt | | p | Erytrocyty | | p |
|------------------------------|-----------------|-----------------|--------------|-----------------|-----------------|--------------|-----------------|----------------|--------------|
| | Norma | < Normy | | Norma | < Normy | | Norma | < Normy | |
| MPA | n = 55 | n = 55 | | n = 55 | n = 55 | | n = 68 | n = 42 | |
| AUC _{0-4h} (mg·h/l) | 27,34 ± 12,31 | 25,56 ± 12,43 | 0,404 | 28,74 ± 12,05 | 24,31 ± 12,44 | 0,042 | 29,51 ± 12,89 | 21,79 ± 10,20 | 0,002 |
| C ₀ (mg/l) | 3,09 ± 2,24 | 2,88 ± 1,79 | 0,825 | 3,06 ± 2,00 | 2,97 ± 2,07 | 0,665 | 3,03 ± 1,94 | 2,84 ± 2,20 | 0,320 |
| C _{max} (mg/l) | 14,74 ± 7,24 | 13,63 ± 8,46 | 0,171 | 15,89 ± 7,31 | 12,48 ± 8,15 | 0,002 | 15,90 ± 8,35 | 11,70 ± 6,37 | 0,003 |
| MPAG | n = 25 | n = 26 | | n = 29 | n = 22 | | n = 35 | n = 16 | |
| AUC _{0-4h} (mg·h/l) | 371,59 ± 333,25 | 490,67 ± 295,38 | 0,024 | 389,04 ± 318,32 | 496,97 ± 319,15 | 0,105 | 423,74 ± 327,67 | 46,37 ± 310,24 | 0,452 |
| C ₀ (mg/l) | 66,92 ± 73,88 | 93,15 ± 62,47 | 0,024 | 71,30 ± 71,64 | 94,18 ± 65,69 | 0,082 | 77,81 ± 70,31 | 87,37 ± 69,65 | 0,546 |
| C _{max} (mg/l) | 113,45 ± 95,37 | 146,74 ± 85,75 | 0,038 | 119,21 ± 92,28 | 147,01 ± 91,60 | 0,128 | 125,96 ± 95,05 | 143,39 ± 86,36 | 0,232 |

Tabela. 40. Zestawienie wyników regresji logistycznej występowania anemii

| Anemia (tak/nie) | Zależność | OR | p |
|----------------------------------|-----------|------|-------|
| Leczenie MMF (tak/nie) | Dodatnia | 3,04 | 0,005 |
| AUC _{0-4h} MPA (mg·h/l) | - | 0,99 | 0,536 |
| C ₀ MPA (mg/l) | - | 0,96 | 0,660 |
| C _{max} MPA (mg/l) | - | 0,98 | 0,493 |

W wieloczynnikowej regresji logistycznej, podobnie jak w regresji jednoczynnikowej wykazano, że anemia istotnie częściej występowała u chorych leczonych MMF (Tab. 41). OR w badanych modelach regresji wynosił 3,08 i 2,89, co oznacza, że chorzy leczeni MMF byli ok. 3-krotnie bardziej narażeni na występowanie anemii w porównaniu do grupy kontrolnej. Pomimo, że stężenie hemoglobiny było istotnie niższe u kobiet ($12,5 \pm 1,4$ g/dl) niż u mężczyzn ($13,5 \pm 1,5$ g/dl), to anemia częściej występowała u mężczyzn (odpowiednio 59,3% vs 24,0%). OR dla występowania anemii w zależności od płci wynosił od 0,13 – 0,25; co oznacza, że ryzyko występowania anemii było mniejsze u kobiet niż u mężczyzn. Prawie we wszystkich modelach regresji anemia zależała od funkcji nerki. Istotne statystycznie wartości OR wynosiły 2,43 i 2,72, co oznacza, że chorzy z osłabioną funkcją nerki ($Cl_{cr} < 60$ ml/min) byli ok. 2,5-krotnie bardziej narażeni na występowanie anemii. U chorych z osłabioną funkcją nerki 44,2% chorych miało anemię w porównaniu do 37,3% chorych z $Cl_{cr} > 60$ ml/min, a stężenie hemoglobiny w tej grupie chorych było istotnie niższe w porównaniu do chorych z prawidłową funkcją nerki (Tab. 10). Wpływ stężenia żelaza i AUC_{0-4h} MPA w badanych modelach regresji był nieistotny. Modele, w których oba te czynniki występowały oddzielnie, były istotne statystycznie, natomiast gdy oba czynniki były w jednym modelu regresji, wartość p dla tego modelu była na granicy istotności statystycznej ($p = 0,041$) (Tab. 41).

Tabela 41. Wieloczynnikowa analiza regresji logistycznej wpływu MMF oraz czynników klinicznych na występowanie anemii

| Anemia (tak/nie) | Zależność | Cząstkowe wartości p | OR | Uogólnione wartości p |
|--|-----------|----------------------|------|-----------------------|
| Leczenie MMF (tak/nie) | Dodatnia | 0,033 | 3,08 | < 0,001 |
| Płeć (kobiety/mężczyźni) ^a | Ujemna | < 0,001 | 0,13 | |
| Oslabiona funkcja nerki (tak/nie) ^b | - | 0,073 | 2,65 | |
| Żelazo (μmol/l) | - | 0,775 | 0,99 | |
| Leczenie MMF (tak/nie) | Dodatnia | 0,014 | 2,89 | < 0,001 |
| Płeć (kobiety/mężczyźni) ^a | Ujemna | < 0,001 | 0,20 | |
| Oslabiona funkcja nerki (tak/nie) ^b | Dodatnia | 0,029 | 2,43 | |
| AUC _{0-4h} MPA (mg·h/l) | - | 0,747 | 1,01 | 0,041 |
| Płeć (kobiety/mężczyźni) ^a | Ujemna | 0,008 | 0,17 | |
| Oslabiona funkcja nerki (tak/nie) ^b | - | 0,074 | 3,20 | |
| Żelazo (μmol/l) | - | 0,532 | 0,98 | |
| AUC _{0-4h} MPA (mg·h/l) | - | 0,989 | 1,00 | 0,004 |
| Płeć (kobiety/mężczyźni) ^a | Ujemna | 0,002 | 0,25 | |
| Oslabiona funkcja nerki (tak/nie) ^b | Dodatnia | 0,027 | 2,72 | |

^a oznacza korelację dla kobiet

^b odpowiednio u chorych z Cl_{cr} poniżej i powyżej 60 ml/min

Wieloczynnikowa analiza regresji wykazała, że leczenie MMF może mieć istotny wpływ na stężenie hemoglobiny, ale tylko w modelu regresji niezawierającym żelaza (Tab. 42). Zależność pomiędzy leczeniem MMF a stężeniem hemoglobiny była ujemna, co oznacza, że u chorych leczonych tym lekiem stężenia hemoglobiny były niższe w porównaniu z grupą kontrolną. Hemoglobina nie zależała istotnie od parametrów farmakokinetycznych MPA (np. AUC_{0-4h} MPA). We wszystkich badanych modelach regresji obserwowano dodatnią zależność stężenia hemoglobiny z Cl_{cr} oraz niższe wartości stężeń hemoglobiny u kobiet niż u mężczyzn. Podobnie jak w regresji logistycznej obserwowano niewielki lub brak wpływu stężenia żelaza w osoczu na stężenie hemoglobiny. Nie obserwowano natomiast wpływu wieku, okresu po przeszczepieniu nerki, BMI, stosowania ACEI lub sartanów na stężenie hemoglobiny w całej grupie chorych.

Suplementacja żelazem była częściej stosowana u chorych, u których występowała anemia (n = 21, 32,3%) w porównaniu do chorych ze stężeniem hemoglobiny w zakresie normy (n = 15, 16,7%) (p = 0,021).

Tabela 42. Wieloczynnikowa analiza regresji dla stężenia hemoglobiny

| Hemoglobina (g/dl) | Zależność | Cząstkowe wartości p | Uogólnione wartości p | Współczynniki korelacji r |
|---------------------------------------|-----------|----------------------|-----------------------|---------------------------|
| Leczenie MMF (tak/nie) | Ujemna | 0,018 | | |
| Płeć (kobiety/mężczyźni) ^a | Ujemna | 0,003 | < 0,001 | 0,210 |
| Cl _{cr} (ml/min) | Dodatnia | < 0,001 | | |
| Leczenie MMF (tak/nie) | - | 0,095 | | |
| Płeć (kobiety/mężczyźni) ^a | Ujemna | 0,002 | < 0,001 | 0,265 |
| Cl _{cr} (ml/min) | Dodatnia | < 0,001 | | |
| Żelazo (μmol/l) | Dodatnia | 0,046 | | |
| AUC _{0-4h} MPA (mg·h/l) | - | 0,353 | | |
| Płeć (kobiety/mężczyźni) ^a | Ujemna | < 0,001 | < 0,001 | 0,266 |
| Cl _{cr} (ml/min) | Dodatnia | < 0,001 | | |
| AUC _{0-4h} MPA (mg·h/l) | - | 0,123 | | |
| Płeć (kobiety/mężczyźni) ^a | Ujemna | 0,046 | < 0,001 | 0,345 |
| Cl _{cr} (ml/min) | Dodatnia | < 0,001 | | |
| Żelazo (μmol/l) | - | 0,086 | | |

^a oznacza korelację dla kobiet

6. OMÓWIENIE I DYSKUSJA WYNIKÓW

Podstawowym problemem występującym podczas stosowania MMF jest duże zróżnicowanie farmakokinetyki jego metabolitów oraz niepożądany wpływ na przewód pokarmowy wyrażający się dolegliwościami w postaci biegunek, nudności, wymiotów, bólów brzucha i niestrawności. Kolejnym problemem są zaburzenia ze strony układu krwiotwórczego (anemia, leukopenia, trombocytopenia) oraz infekcje (bakteryjne i wirusowe).

Celem pracy była ocena profili farmakokinetycznych MPA i MPAG u chorych w późniejszym okresie po przeszczepieniu nerki leczonych MMF w różnych schematach immunosupresji oraz analiza wpływu funkcji nerki i innych czynników klinicznych na parametry farmakokinetyczne (AUC_{0-4h} , C_0 i C_{max}) tych metabolitów. Ponadto podjęto próbę oceny wpływu stosowania MMF na występowanie działań niepożądanych oraz na stan odżywienia chorych wybranymi składnikami mineralnymi i witaminami antyoksydacyjnymi.

Badaniem objęto chorych leczonych MMF w skojarzeniu z innymi lekami immunosupresyjnymi, najczęściej CNI i GS (grupa badana, $n = 110$) oraz 45 chorych w grupie kontrolnej, którą stanowili chorzy po przeszczepieniu nerki leczeni schematami immunosupresji niezawierającymi MMF, ani MPS. Badania prowadzono we współpracy z Oddziałem Transplantologii Szpitala Wojewódzkiego w Poznaniu.

6.1. WPŁYW FUNKCJI NERKI I WĄTROBY NA STĘŻENIA METABOLITÓW MYKOFENOLANU MOFETYLU

Parametry farmakokinetyczne MPA i MPAG analizowano w zależności od Cl_{cr} powyżej i poniżej 60 ml/min oraz w zależności od stosowania leków hepatoprotekcyjnych.

Całkowitą ekspozycję na lek najlepiej obrazuje AUC_{0-12h} , które jest trudne do oznaczenia, szczególnie u chorych w późniejszym okresie po przeszczepieniu nerki, leczonych w poradni transplantacyjnej. W praktyce klinicznej najczęściej oznaczanym parametrem jest C_0 MPA. Na jego wartość w znacznym stopniu może wpływać recyrkulacja jelitowo-wątrobowa MPA, która powoduje wystąpienie C_{max2} MPA po ok. 6-12 godzinach od zażycia leku. W badaniach własnych w grupie badanej próbki krwi pobierano w ciągu 4 godzin od przyjęcia leku, co było spowodowane krótkim czasem przebywania chorego w szpitalu podczas rutynowej wizyty

w poradni transplantacyjnej. U chorych z osłabioną funkcją nerki ($Cl_{cr} < 60$ ml/min) w grupie badanej obserwowano większe wartości C_0 MPA oraz C_0 , C_{max} i AUC_{0-4h} MPAG w porównaniu do chorych z prawidłową funkcją nerki (Tab. 11), niezależnie od zastosowanego CNI (Tab. 12). Nie obserwowano natomiast różnic w pozostałych parametrach farmakokinetycznych MPA (C_{max} i AUC_{0-4h}). Podwyższone wartości C_0 MPA mogą świadczyć o zwiększonej recyrkulacji jelitowo-wątrobowej, spowodowanej wzrostem stężenia MPAG u chorych z osłabioną funkcją nerki. Te same parametry farmakokinetyczne (C_0 MPA oraz wszystkie parametry farmakokinetyczne MPAG) korelowały ujemnie z Cl_{cr} i dodatkowo z C_{cr} (Tab. 13-15 i Ryc. 10). Uzyskane wyniki mogą świadczyć o zależności stężenia MPAG i pośrednio C_0 MPA od funkcji nerki. Większe wartości parametrów farmakokinetycznych MPAG u chorych z osłabioną funkcją nerki są zgodne z danymi piśmiennictwa [42, 108, 116], natomiast wpływ funkcji nerki na parametry farmakokinetyczne MPA jest wciąż niejasny.

Gonzalez-Roncero i wsp. [42] wykazali istotny wpływ funkcji nerki na C_0 MPA i AUC MPAG oraz brak wpływu na AUC MPA. Zanker i wsp. [140], Morgera i wsp. [141] oraz Weber i wsp. [43] stwierdzili ponadto, że u chorych po przeszczepieniu nerki z obniżonym Cl_{cr} wartości AUC MPAG były większe niż u chorych o prawidłowym przesączaniu kłębuszkowym, natomiast wartości AUC MPA nie różniły się istotnie. Wyniki badań własnych są porównywalne z przedstawionymi danymi z piśmiennictwa. Inne wyniki dotyczące MPA uzyskali Mohammadpur i wsp. [142], którzy u chorych z osłabioną funkcją nerki wykazali istotnie większe AUC_{0-12h} MPA przy niezmienionych wartościach C_0 oraz istotnie wyższe wartości C_{max2} MPA. Wykazali oni także ujemną korelację Cl_{cr} z AUC MPA. W badaniach własnych oznaczano skrócone profile MPA, które nie obejmują C_{max2} MPA, co może być przyczyną obserwowanych różnic dla AUC MPA w porównaniu z wynikami Mohammadpur i wsp. [142]. Jeszcze inne wyniki uzyskali van Hest i wsp. [116] oraz Weber i wsp. [108] którzy wykazali, że u chorych z osłabioną funkcją nerki całkowite stężenie MPA obniża się z powodu kumulacji MPAG, który wypiera wolny MPA z połączeń białkowych, zwiększając jego klirens. Naesens i wsp. [51] stwierdzili wzrost stężenia zarówno MPA, jak i MPAG u chorych z umiarkowaną niewydolnością nerek (Cl_{cr} od 30 do 60 ml/min), natomiast u chorych ze schyłkową niewydolnością nerek ($Cl_{cr} < 30$ ml/min), obniżone całkowite stężenie MPA. Wyniki te mogą wyjaśniać uzyskany w badaniach własnych brak różnic w wartościach AUC_{0-4h} i C_{max} MPA pomiędzy grupą chorych z Cl_{cr} powyżej lub poniżej 60 ml/min, ponieważ w grupie z osłabioną funkcją nerki znajdowali się zarówno chorzy z umiarkowaną, jak i ze schyłkową niewydolnością nerek. Mała liczba chorych z $Cl_{cr} < 30$ ml/min ($n = 6$) uniemożliwiła analizę parametrów farmakokinetycznych w tej grupie chorych.

Analiza regresji wieloczynnikowej w badaniach własnych wykazała, że parametry farmakokinetyczne MPA i MPAG zależą nie tylko od Cl_{cr} , ale także od dodatkowych czynników, takich jak dawka MMF, rodzaj CNI, płeć, hemoglobina i masa ciała (Tab. 14 i 15).

Masa ciała korelowała ujemnie, ale tylko z C_{max} MPA, co może być związane z objętością dystrybucji, która zależy od masy ciała i ma największy wpływ na C_{max} . Badania Nazemian i wsp. [143] wykazały ujemną korelację AUC MPA z masą ciała. W przeciwieństwie do Morissette i wsp. [144] w badaniach własnych obserwowano wyższe wartości parametrów MPAG u kobiet niż u mężczyzn. Pescovitz i wsp. [145] nie wykazali natomiast różnic w farmakokinetyce MMF pomiędzy kobietami a mężczyznami. W badaniach własnych podobnie do Naesens i wsp. [51] obserwowano wpływ dawki MMF na badane parametry farmakokinetyczne. Potwierdza to celowość korygowania parametrów farmakokinetycznych MPA i MPAG o dawkę MMF dla analizy wpływu różnych czynników na te parametry. W badaniach własnych w przeciwieństwie do Naesens i wsp. [51] nie obserwowano wpływu białkomoczu, ani cukrzycy na badane parametry farmakokinetyczne. Wpływ CNI na badane parametry farmakokinetyczne omówiono w kolejnym rozdziale.

Uzyskane w badaniach własnych duże wartości CV parametrów farmakokinetycznych MMF świadczą o znacznym zróżnicowaniu międzyosobniczym, co jest zgodne z wynikami badań przedstawionymi przez innych autorów [58, 146-148]. W grupie chorych uczestniczących w badaniach stężenia obu metabolitów (MPA i MPAG) zmieniały się w szerokim zakresie, szczególnie u chorych z osłabioną funkcją nerki.

W badaniach własnych analizowano także wpływ funkcji wątroby na farmakokinetykę MPA i MPAG. W grupie badanej aktywności AlAT i AspAT wykazywały ujemną korelację z C_0 MPA (Tab. 16). Obserwowano ponadto istotnie niższe wartości C_0 MPA u chorych leczonych lekami hepatoprotekcyjnymi (Tab. 17). Przyczyną obserwowanych zależności może być zmniejszenie glukuronidacji MPA do MPAG w wątrobie na skutek osłabienia jej funkcji, co prowadzi do hamowania recyrkulacji jelitowo-wątrobowej, a tym samym do zmniejszenia C_{max2} i C_0 MPA. W niektórych badaniach przedstawionych w piśmiennictwie nie wykazano wpływu funkcji wątroby na farmakokinetykę MPA lub MPAG [30]. Sugerowano natomiast, że zmniejszenie glukuronidacji MPA w wątrobie może być równoważone zwiększeniem glukuronidacji w nerkach. Inni autorzy wykazali jednak wpływ funkcji wątroby na farmakokinetykę MPA. Parker i wsp. [149] obserwowali wyższe wartości stężeń MPA u chorych z marskością wątroby w ciągu 2-4 godzin po doustnym podaniu MMF [97], natomiast Brown i wsp. [150] wykazali ujemną korelację AspAT z parametrami farmakokinetycznymi MPA u dzieci po przeszczepieniu wątroby. U dzieci z podwyższoną aktywnością AspAT wykazano ponadto istotnie niższe C_0 i AUC MPA. Autorzy sugerowali zwiększony klirens MPA lub zmniejszoną recyrkulację jelitowo-wątrobową u chorych z osłabioną funkcją wątroby. Korelacja AspAT z C_0 MPA uzyskana w badaniach własnych jest zgodna z wynikami przedstawionymi przez Brown i wsp. Dotychczas nie wyjaśniono mechanizmu odpowiedzialnego za te zależności. Nie ma też jednoznacznych zaleceń dotyczących zmiany dawkowania MMF u chorych z niewydolnością wątroby.

Podsumowując, upośledzona funkcja nerki, niezależnie od stosowanego schematu immunosupresji wpływała na zwiększenie C_0 MPA i parametrów farmakokinetycznych MPAG. Uzyskane wyniki wskazują, że pomiar wyłącznie C_0 MPA u chorych leczonych MMF może być niewystarczający w praktyce klinicznej nie tylko z powodu możliwości wystąpienia w tym czasie $C_{\max 2}$ związanego z recyrkulacją jelitowo-wątrobową, ale także z powodu dużej zmienności międzyosobniczej tego parametru farmakokinetycznego. Może to prowadzić do mylnych decyzji dotyczących farmakoterapii, szczególnie u chorych z osłabioną funkcją nerki i wątroby.

6.2. INTERAKCJE MYKOFENOLANU MOFETYLU Z INHIBITORAMI KALCYNEURyny

W badaniach własnych, pomimo istotnie większej dawki MMF w schemacie z CsA w stosunku do grupy leczonej Tac, nie obserwowano różnicy w nieskorygowanych o dawkę MMF wartościach C_0 MPA (Tab. 18), co może świadczyć o wpływie tych leków na metabolizm lub eliminację MPA. Pozostałe parametry farmakokinetyczne (AUC_{0-4h} i C_{\max} MPA oraz C_0 , AUC_{0-4h} i C_{\max} MPAG) były statystycznie istotnie większe u chorych w schemacie z CsA w porównaniu do Tac, co mogło być spowodowane większymi dawkami MMF zastosowanymi w schemacie z CsA.

Z danych piśmiennictwa wynika, że parametry farmakokinetyczne MPA, jak również MPAG zależą od stosowanego CNI. Hesselink i wsp. [88], Naito i wsp. [151] oraz Kobayashi i wsp. [89] sugerują możliwość hamowania procesu recyrkulacji jelitowo-wątrobowej MPAG przez CsA na skutek jej wpływu na białko transportowe MRP-2. Rola tego białka polega na aktywnym wydzielaniu MPAG z żółcią do jelita, skąd metabolit może być ponownie wchłaniany w postaci MPA. CsA, wpływając hamująco na proces recyrkulacji jelitowo-wątrobowej, powoduje w konsekwencji zmniejszenie AUC MPA. Naito i wsp. [151] stwierdzili, że AUC_{0-12h} MPA było mniejsze, natomiast AUC_{0-12h} MPAG było większe u chorych leczonych MMF z CsA w porównaniu do wartości tych parametrów u chorych leczonych MMF z Tac.

W badaniach własnych wartości parametrów farmakokinetycznych MPA skorygowanych o dawkę MMF w schemacie z Tac były większe w porównaniu ze schematem z CsA, ale tylko różnice dla C_0 MPA były istotne statystycznie (Tab. 14 i 19). Powodem braku istotności statystycznej w wartościach AUC MPA mogą być skrócone profile farmakokinetyczne, które nie obejmują $C_{\max 2}$ MPA. Wszystkie parametry farmakokinetyczne MPAG skorygowane o dawkę MMF były większe w schemacie z CsA, ale różnice te w analizie jednoczynnikowej nie były istotne statystycznie (Tab. 19), natomiast w analizie wieloczynnikowej były istotne lub na granicy istotności statystycznej (Tab. 15).

W badaniach własnych sprawdzono także, czy parametry farmakokinetyczne obliczone dla skorygowanego o dawkę MMF stosunku MPAG/MPA różnią się w zależności od zastosowanego CNI. Pomimo dużego zróżnicowania międzysobniczego w wartościach tych parametrów wykazano, że były one statystycznie istotnie większe w schemacie z CsA względem Tac (Tab. 19), co jest zgodne z danymi piśmiennictwa [147, 151, 152].

W celu stwierdzenia który spośród stosowanych CNI wpływa na farmakokinetykę MMF, porównano parametry farmakokinetyczne MPA i MPAG u chorych leczonych MMF w skojarzeniu z CsA lub Tac względem chorych leczonych MMF bez CNI. Uzyskane istotnie niższe wartości C_0 MPA u chorych leczonych MMF z CsA w porównaniu do chorych leczonych MMF bez CNI (Tab. 20) mogą potwierdzać hipotezę o zmniejszeniu recyrkulacji jelitowo-wątrobowej MPA przez CsA, podobnie do danych z piśmiennictwa [147, 151, 153]. U chorych leczonych MMF z Tac wykazano niższe wartości nieskorygowanych o dawkę MMF parametrów farmakokinetycznych w porównaniu do chorych leczonych MMF bez CNI, co może być wynikiem zastosowania u nich istotnie mniejszej dawki MMF (Tab. 9). Po uwzględnieniu różnicy dawkowania nie obserwowano różnic w badanych parametrach farmakokinetycznych zarówno MPA, jak i MPAG pomiędzy chorymi leczonymi Tac w porównaniu do leczonych bez CNI. Zaobserwowano natomiast niższe wartości skorygowanych o dawkę MMF stosunków MPAG/MPA u chorych leczonych Tac względem chorych leczonych MMF bez CNI, co może potwierdzać hipotezę wielu autorów [84-87, 154] o zmniejszeniu glukuronidacji MPA przez Tac, której wynikiem jest wzrost stężenia MPA i zmniejszenie stężenia MPAG.

Podsumowując, nieskorygowane wartości C_0 MPA nie różniły się pomiędzy chorymi leczonymi schematem zawierającym CsA w porównaniu do Tac, natomiast występowały różnice w wartościach pozostałych parametrów MPA i MPAG. Pomimo, że MPAG jest nieaktywny farmakologicznie, to jednak może wypierać MPA z połączeń białkowych zwiększając stężenie jego wolnej frakcji, a tym samym aktywność farmakologiczną leku. Z tego względu, jak również z powodu dużego zróżnicowania międzysobniczego parametrów farmakokinetycznych metabolitów MMF, terapeutyczne monitorowanie AUC MPA, a w niektórych przypadkach także stężenia MPAG może być korzystne dla optymalizacji terapii tym lekiem.

6.3. WPŁYW MYKOFENOLANU MOFETYLU NA WYSTĘPOWANIE DZIAŁAŃ NIEPOŻĄDANYCH

W badaniach własnych nie obserwowano częstszego występowania infekcji bakteryjnych u chorych w grupie badanej w porównaniu z grupą kontrolną (Tab. 21). Infekcje bakteryjne są 9często bardziej związane z intensywnością terapii immunosupresyjnej niż z podawaniem MMF. Stosowanie leków immunosupresyjnych powoduje obniżenie odporności, a w konsekwencji może prowadzić do częstszych infekcji, nie tylko bakteryjnych, ale także wirusowych [15, 91, 155]. W badaniach własnych nie analizowano wpływu MMF na występowanie infekcji wirusowych z powodu zbyt małej liczby chorych w grupie badanej, u których stwierdzono tego rodzaju infekcje (n = 6).

6.3.1. Działania niepożądane na przewód pokarmowy

Zdarzenia niepożądane ze strony przewodu pokarmowego występowały częściej u chorych leczonych MMF w porównaniu do grupy kontrolnej (Ryc. 12), podobnie jak przedstawiono w piśmiennictwie [55, 56, 156]. W badaniach własnych sprawdzono też czy obserwowane zdarzenia niepożądane zależą od stężenia MPA lub MPAG. Ryzyko występowania działań niepożądanych na przewód pokarmowy wzrastało o ok. 8% przy wzroście wartości C_{max} MPA o 1 jednostkę (OR = 1,08, p = 0,006) (Tab. 23). Być może działania te zależą również od C_0 MPA, ale wartość OR była na granicy istotności statystycznej. W badaniach własnych wykazano ponadto, że chorzy leczeni antagonistami receptora H_2 z powodu zaburzeń żołądkowo-jelitowych, wykazywali istotnie wyższe C_{max} MPA, natomiast pozostałe parametry farmakokinetyczne nie różniły się statystycznie istotnie (Tab. 22). Chorzy leczeni IPP mieli natomiast niższe wartości C_{max} MPA, co może być związane z interakcją MMF z IPP, która polega na ograniczeniu wchłaniania MMF przez IPP [7]. W badaniach własnych podobnie jak w badaniach przedstawionych w piśmiennictwie, nie wykazano zależności pomiędzy AUC MPA a zdarzeniami niepożądanymi ze strony przewodu pokarmowego [54, 119, 157]. Niektórzy autorzy sugerowali, że brak wymienionej wyżej zależności może być spowodowany zmniejszonym wchłanianiem MMF, którego podwyższone stężenie w przewodzie pokarmowym wywiera miejscowe działanie drażniące [56, 115]. W innych badaniach wykazano ponadto, że działania niepożądane na przewód pokarmowy mogą być związane z wysokimi wartościami C_{max} i C_0 MPA [50, 107] lub stężeniem wolnego MPA i/lub jego metabolitów [58, 91, 108, 158]. Wpływ C_{max} i C_0 MPA na występowanie zaburzeń żołądkowo-jelitowych potwierdzają również badania własne.

Pomimo częstszego występowania zdarzeń niepożądanych ze strony przewodu pokarmowego u chorych leczonych MMF, w badaniach własnych nie obserwowano wpływu tego leku na stan odżywienia chorych mierzony jako BMI. W piśmiennictwie nie znaleziono badań dotyczących wpływu MMF na BMI.

6.3.2. Wpływ mykofenolanu mofetylu na stężenie witamin antyoksydacyjnych

Jedną z metod sprawdzenia wpływu MMF na stan odżywienia chorych było zbadanie zależności pomiędzy stosowaniem tego leku a stężeniami wybranych nieenzymatycznych składników układu antyoksydacyjnego (retinolu, α -tokoferolu i β -karotenu) w osoczu chorych po przeszczepieniu nerki.

W badaniach własnych wykazano niższe stężenia β -karotenu i retinolu u chorych, u których wystąpiły zaburzenia żołądkowo-jelitowe. Stężenia retinolu były ponadto niższe u chorych leczonych MMF w porównaniu z grupą kontrolną (Tab. 25), co może być związane z częstszym występowaniem zaburzeń ze strony przewodu pokarmowego u chorych leczonych MMF (Tab. 21), które może prowadzić do zmniejszonego wchłaniania retinolu u tych chorych. W badaniach własnych nie obserwowano natomiast różnic w stężeniach α -tokoferolu i β -karotenu pomiędzy grupą badaną a grupą kontrolną. Obserwowano natomiast ujemną korelację stężenia α -tokoferolu z C_0 MPA. Korelacja ta może być spowodowana zależnością zarówno α -tokoferolu, jak i C_0 MPA od AspAT (Tab. 26 i 16). W piśmiennictwie nie znaleziono podobnych badań dotyczących wpływu MMF na stężenie retinolu, α -tokoferolu i β -karotenu. Oznaczone w badaniach własnych stężenia witamin w osoczu są porównywalne do uzyskanych przez innych badaczy, ale badania dotyczyły innych grup chorych lub populacji [135, 136, 159, 160].

W badaniach własnych wykazano ponadto, że stężenie β -karotenu było istotnie niższe u chorych leczonych MMF z Tac w porównaniu do leczonych MMF z CsA. W piśmiennictwie nie znaleziono podobnych badań u dorosłych chorych, natomiast u dzieci [161] nie wykazano różnicy w stężeniu β -karotenu w zależności od stosowanego CNI, prawdopodobnie z powodu małej liczby chorych w poszczególnych grupach (14 i 9, odpowiednio dla CsA i Tac).

Wyniki badań własnych sugerują, że stężenie retinolu w osoczu chorych może być związane z funkcją nerki i wątroby. Wysokie stężenia retinolu były związane z podwyższonym C_{cr} w osoczu i obniżonym Cl_{cr} . Obserwowano także dodatnią korelację stężenia retinolu i parametrów farmakokinetycznych MPAG. Korelacja ta może być wynikiem zależności zarówno stężenia MPAG jak i retinolu od funkcji nerki (Tab. 13 i 25-26). Uzyskane w badaniach własnych niektóre korelacje (Tab. 26) są zgodne z wynikami otrzymanymi przez

innych autorów [159, 162, 163]. Botella-Carretero i wsp. u 80 otyłych chorych ($BMI \geq 40 \text{ kg/m}^2$) z niealkoholowym stłuszczeniem wątroby uzyskali dodatnią korelację pomiędzy stężeniem retinolu a C_{cr} ($r = 0,464$; $p < 0,001$). W badaniu Gavrilov i wsp. [163] u chorych ze szpiczakiem mnogim oraz w badaniu Abahusain i wsp. [162] u chorych z cukrzycą wykazano, że stężenie retinolu w surowicy jest wyższe u chorych z ostrą niewydolnością nerek, co może świadczyć o zmniejszonej eliminacji retinolu u tych chorych. W badaniach własnych niskie stężenie retinolu było związane z podwyższoną aktywnością AlAT (Tab. 25) i AspAT (Tab. 26). Botella-Carretero i wsp. [159] także wykazali ujemną korelację retinolu z AspAT ($r = -0,236$; $p = 0,036$) i z AlAT ($r = -0,241$; $p = 0,032$). Autorzy sugerowali, że retinol może działać ochronnie na wątrobę.

W badaniach własnych wykazano ponadto dodatnią korelację pomiędzy α -tokoferolem a AspAT, nie obserwowano natomiast korelacji z AlAT. W badaniach przedstawionych w piśmiennictwie wykazano występowanie zależności pomiędzy AlAT i α -tokoferolem [164-166], natomiast niewiele jest danych na temat podobnej zależności z AspAT [166]. W większości badań wykazano korzystny wpływ stosowania suplementacji witaminą E na obniżenie AlAT [165, 166], a w niektórych pracach na obniżenie AspAT [166]. Stwierdzono ponadto, że niskie stężenie α -tokoferolu może być dobrym markerem uszkodzenia hepatocytów, niezależnym od wzrostu aktywności aminotransferaz [164].

W wielu badaniach wykazano ochronną rolę β -karotenu w profilaktyce cukrzycy [171-175]. W badaniach własnych chorzy z cukrzycą mieli istotnie niższe stężenia β -karotenu, zgodnie z danymi piśmiennictwa. Stężenie β -karotenu może ponadto zależeć od płci i rodzaju zastosowanego CNI. Potwierdzają to wyniki badań własnych oraz liczne badania przedstawione w piśmiennictwie [167-170]. Nieliczne prace wskazują na związek α -tokoferolu [170] i retinolu [169] z płcią, jednakże w badaniach własnych nie wykazano takiej zależności.

Podsumowując, stosowanie MMF wpływało istotnie na stężenie retinolu. U chorych leczonych MMF oraz u chorych, u których występowały zaburzenia żołądkowo-jelitowe obserwowano niższe stężenia retinolu, co może być spowodowane zmniejszonym wchłanianiem retinolu u tych chorych. Pomimo, że stężenie β -karotenu było niższe u chorych, u których wystąpiły zaburzenia żołądkowo-jelitowe, to jednak nie obserwowano różnic w jego stężeniach pomiędzy chorymi leczonymi MMF a grupą kontrolną. Pomimo braku różnic w stężeniach α -tokoferolu pomiędzy chorymi leczonymi MMF a grupą kontrolną, obserwowano ujemną korelację stężenia α -tokoferolu z C_0 MPA, co może mieć związek z aktywnością AspAT, która koreluje ujemnie z C_0 MPA i dodatnio ze stężeniem α -tokoferolu.

6.3.2.1. Wpływ mykofenolanu mofetylu na stężenie składników mineralnych

W celu zbadania wpływu MMF na stan odżywienia porównano stężenia wybranych składników mineralnych w grupie badanej i kontrolnej oraz analizowano wpływ parametrów farmakokinetycznych metabolitów MMF na stężenia składników mineralnych.

W przedstawionej pracy obserwowano istotnie niższe stężenie sodu u chorych leczonych MMF w porównaniu do grupy kontrolnej oraz istotną statystycznie ujemną korelację pomiędzy stężeniem tego pierwiastka a wszystkimi badanymi parametrami farmakokinetycznymi MPA (Tab. 30-31). Chorzy z grupy badanej również rzadziej wykazywali hipernatremię (Ryc.13). Wpływ MMF na stężenie sodu może być korzystny, ponieważ spożycie sodu u chorych uczestniczących w badaniach przekraczało ok. 4-krotnie przyjęte normy (Tab. 35). Stężenia cynku i miedzi były natomiast wyższe u chorych w grupie badanej w porównaniu do grupy kontrolnej (Tab. 30). Jednocześnie biorąc pod uwagę zbliżoną we wszystkich grupach chorych wielkość spożycia analizowanych pierwiastków w diecie (Tab. 35) wykluczono jej wpływ na zaobserwowane różnice. Chorzy uczestniczący w badaniach nie stosowali też farmakologicznej suplementacji tymi składnikami. Na wyższe stężenia cynku i niższe stężenia sodu u chorych leczonych MMF mógł mieć wpływ młodszy wiek chorych, a w przypadku cynku dodatkowo krótszy okres po przeszczepieniu nerki w porównaniu do grupy kontrolnej. Wieloczynnikowa analizy wariancji ANOVA wykluczyła jednak wpływ tych czynników na uzyskane wyniki. Otrzymane wyniki wskazują zatem, że MMF może wpływać na gospodarkę miedzi, sodu i cynku. Zaobserwowany wpływ MMF na obniżenie stężenia sodu w organizmie może częściowo potwierdzać wyniki otrzymane przez Mattson i wsp. [176]. Wspomniani autorzy stwierdzili hamowanie wzrostu ciśnienia tętniczego u szczurów sodowrażliwych żywionych dietą z nadmiarem chlorku sodu, którym podawano MMF [176]. W piśmiennictwie nie znaleziono badań dotyczących wpływu MMF na stężenie miedzi i cynku i dlatego wyjaśnienie mechanizmu działania MMF na stężenie tych pierwiastków wymaga dalszych badań.

Pomimo, że chorzy leczeni MMF wykazywali podobne stężenia potasu w porównaniu z grupą kontrolną (Tab. 30), to jednak obserwowano niewielką, ale istotną statystycznie, ujemną korelację pomiędzy stężeniem tego pierwiastka a wszystkimi badanymi parametrami farmakokinetycznymi MPA (Tab. 31). Obserwowana korelacja, podobnie jak korelacja ze stężeniem sodu może być związana ze zmniejszonym wchłanianiem tych elektrolitów u chorych leczonych MMF, prawdopodobnie z powodu zaburzeń żołądkowo-jelitowych. W piśmiennictwie nie znaleziono podobnych badań.

W badaniach własnych stężenie wapnia u chorych leczonych MMF nie różniło się istotnie w porównaniu z grupą kontrolną (Tab. 30). Jednocześnie chorzy z grupy badanej częściej przyjmowali preparaty wapnia w porównaniu do chorych z grupy kontrolnej (Tab. 8). Suplementacja wapniem mogła wpłynąć na uzyskane stężenia tego pierwiastka u chorych

uczestniczących w badaniach. Wieloczynnikowa analiza wariancji stężenia wapnia w osoczu nie wykazała jednak interakcji pomiędzy stosowaniem suplementacji wapniem a leczeniem MMF na uzyskane wyniki. W piśmiennictwie znaleziono tylko jedną pracę, w której analizowano stężenie wapnia u chorych leczonych MMF. Khosroshahi i wsp. [177] stwierdzili zmniejszone wydalanie wapnia z moczem u chorych leczonych MMF w skojarzeniu z CsA i prednizonem. Ponieważ wiadomo, że CsA obniża stężenie wapnia w surowicy chorych na skutek zwiększenia wydalania tego pierwiastka z moczem [178], wyniki Khosroshahi i wsp. sugerują, że MMF może zmniejszać wydalanie wapnia.

Stężenie żelaza w grupie chorych leczonych MMF było wyższe w porównaniu z grupą kontrolną ($p = 0,032$) (Tab. 30). W badaniach własnych u większości chorych, niezależnie od stosowanego leku immunosupresyjnego, stężenia żelaza znajdowały się powyżej normy (Ryc. 13-14). Może to wynikać z częstego stosowania suplementacji żelazem (ok. 24% wszystkich chorych) (Tab. 24) w celu uniknięcia anemii, która jest jednym z najczęściej występujących działań niepożądanych podczas terapii immunosupresyjnej [179]. Obserwowane w badaniach własnych wysokie stężenie żelaza w osoczu wszystkich chorych uczestniczących w badaniach nie było związane z ich aktualnym sposobem żywienia, o czym świadczy niska, nieodpowiadająca ich zapotrzebowaniu (76,4% normy spożycia) podaż żelaza w racjach pokarmowych (Tab. 35).

W badaniach własnych wykazano dodatnią korelację pomiędzy stężeniem magnezu a parametrami farmakokinetycznymi MPA (AUC_{0-4h} , C_0 i C_{max}) u chorych leczonych MMF (Tab. 31). Ponadto chorzy, którzy mieli prawidłowe stężenia magnezu, wykazywali większe wartości parametrów farmakokinetycznych MPA w porównaniu do tych z hipomagnezemią (Tab. 32). Pomimo tej zależności nie obserwowano różnicy w stężeniu magnezu pomiędzy chorymi z grupy badanej w porównaniu do grupy kontrolnej. Ze względu na uzyskane wyniki oraz brak danych z piśmiennictwa, wskazane jest prowadzenie dalszych badań, które mogłyby wyjaśnić przyczynę uzyskanych zależności. W grupie badanej stężenie magnezu było większe u chorych leczonych MMF w skojarzeniu z CsA w porównaniu do chorych leczonych MMF z Tac (Tab. 30). Uzyskane w badaniach własnych wyniki są zgodne z danymi piśmiennictwa. W kilku badaniach stwierdzono, że Tac zmniejsza stężenie magnezu [180-183]. Być może u chorych leczonych Tac włączenie do schematu immunosupresji MMF, który wykazuje dodatnią korelację ze stężeniem magnezu, jest korzystne dla zmniejszenia ryzyka hipomagnezemia.

U chorych uczestniczących w badaniach obserwowano odchylenia od zakresów prawidłowych dla składników mineralnych (Ryc. 14). Najczęściej występowały niedobory cynku i magnezu oraz zbyt wysokie stężenia żelaza, które jest często w nadmierny sposób podawane chorym po przeszczepieniu nerki. Niedobory cynku mogły być spowodowane stosowaniem GS (u ok. 92% chorych), które zwiększają wydalanie nie tylko cynku, ale także

potasu i wapnia. Niższe od zalecanych stężenia magnezu mogły być natomiast wynikiem częstego stosowania u tych chorych (ok. 34%) diuretyków pętlowych i tiazydowych, które zwiększają wydalanie magnezu, potasu i sodu [125]. Zarówno cynk, jak i magnez nie były rutynowo oznaczane u chorych uczestniczących w badaniach i dlatego częściej obserwowano niższe od zalecanych wartości stężeń obu tych pierwiastków (Ryc. 14).

Podsumowując, stosowanie MMF wpływało korzystnie na zwiększenie stężenia miedzi i cynku oraz obniżenie stężenia sodu w osoczu chorych uczestniczących w badaniach. Być może niektóre obserwowane różnice w stężeniach składników mineralnych, choć istotne statystycznie, mogą być nieistotne z klinicznego punktu widzenia. Niemniej uzyskane wyniki wskazują, że MMF nie ogranicza wchłaniania badanych składników mineralnych oprócz sodu, którego podaż z dietą była u większości chorych zbyt wysoka. Stwierdzony wpływ lub brak wpływu MMF na stężenie większości badanych składników mineralnych nie daje podstaw do wysuwania hipotezy o zmniejszeniu wchłaniania i niedoborze tych pierwiastków w organizmie chorych przyjmujących MMF, który jest lekiem często powodującym zaburzenia ze strony przewodu pokarmowego. Stężenie magnezu korelowało dodatnio, a stężenie potasu ujemnie ze wszystkimi badanymi parametrami farmakokinetycznymi MPA, jednakże nie obserwowano różnicy w stężeniach tych pierwiastków u chorych z grupy badanej w porównaniu do grupy kontrolnej. U chorych po przeszczepieniu nerki uzasadnione jest monitorowanie stężenia nie tylko sodu, potasu i wapnia, które są badane rutynowo, ale także innych składników mineralnych, np. magnezu, cynku i żelaza, których stężenia u chorych uczestniczących w badaniach często odbiegały od zakresów prawidłowych.

6.3.3. Działania niepożądane na układ krwiotwórczy

U chorych w grupie badanej obserwowano częstsze występowanie anemii w porównaniu z grupą kontrolną (Ryc. 15, Tab. 21), podobnie jak w badaniach Shah i wsp. [68], Vanrenterghem i wsp. [148] i Yorgin i wsp. [67], którzy wykazali ponadto, że anemia u chorych po przeszczepieniu nerki zależy przede wszystkim od funkcji nerki. Przeprowadzona w badaniach własnych analiza regresji wieloczynnikowej dla większości badanych modeli wykazała, że anemia zależy od Cl_{cr} , a wieloczynnikowa analiza logistyczna potwierdziła, że chorzy z osłabioną funkcją nerki byli ok. 2,5-krotnie bardziej narażeni na ryzyko wystąpienia anemii niż chorzy z $Cl_{cr} > 60$ ml/min. Wykazano także mało znaczący wpływ stężenia żelaza na stężenie hemoglobiny lub występowanie anemii (Tab. 41 i 42). Potwierdzają to także wyższe stężenia żelaza u chorych w grupie badanej w porównaniu z grupą kontrolną (Tab. 30) przy jednocześnie częstszym występowaniu anemii u chorych z grupy badanej (Tab. 21). Al-Khoury i wsp. [184] również stwierdzili brak istotnego wpływu stężenia żelaza na powstawanie anemii

u chorych po przeszczepieniu nerki. Najczęstszą przyczyną anemii u tych chorych jest osłabienie funkcji nerki, co powoduje zmniejszenie produkcji erytropoetyny [148]. W badaniach własnych erytropoetynę podawano tylko jednemu choremu z anemią. Nadmierna suplementacja żelazem, szczególnie u chorych z osłabioną funkcją nerki, może być nieskuteczna i dlatego wskazane jest wykonanie u tych chorych innych badań laboratoryjnych (np. oznaczenie stężenia ferrytyny, czy erytropoetyny), które pozwolą znaleźć przyczynę niedokrwistości. W badaniach własnych anemia występowała jednak istotnie częściej u chorych leczonych MMF w porównaniu z grupą kontrolną (Tab. 21) pomimo, że Cl_{cr} nie różnił się pomiędzy badanymi grupami (Tab. 8). Z tego względu można przypuszczać, że MMF może być niezależnym czynnikiem ryzyka występowania anemii.

W modelach regresji wieloczynnikowej w badaniach własnych stężenia hemoglobiny u kobiet były niższe, natomiast anemia występowała częściej u mężczyzn. Vanrenterghem i wsp. [148] również wykazali niższe stężenia hemoglobiny u kobiet, natomiast częstość występowania anemii nie różniła się pomiędzy mężczyznami a kobietami. Przyczyną częstszego obserwowania anemii u mężczyzn w badaniach własnych były prawdopodobnie bardziej rygorystyczne normy dla hemoglobiny u mężczyzn (14 g/dl) przyjęte przez laboratorium szpitalne w porównaniu z Vanrenterghem i wsp. [148] (13 g/dl).

W niektórych badaniach opisanych w piśmiennictwie wykazano zależność występowania anemii od parametrów farmakokinetycznych MPA. Kuypers i wsp. [113] obserwowali ujemną korelację pomiędzy hemoglobina a AUC MPA, natomiast Borrows i wsp. [15] pomiędzy hemoglobina a C_0 MPA. Zależność ta w badaniu Borrows i wsp. wystąpiła tylko u chorych w pierwszych dwóch tygodniach po przeszczepieniu nerki. Van Hest i wsp. [105] wykazali natomiast odwrotną zależność. Obserwowali oni zmniejszenie eliminacji MPA, a tym samym wzrost jego stężenia u chorych wraz ze wzrostem stężenia hemoglobiny. Autorzy sugerowali, że przyczyną tego zjawiska może być wiązanie MPA z hemoglobina lub erytrocytami, co zmniejsza stężenie leku wolnego. W badaniach własnych nie obserwowano zależności pomiędzy stężeniem MPA a hemoglobina. Obserwowano natomiast dodatnią korelację liczby erytrocytów z C_{max} MPA oraz niższe wartości AUC_{0-4h} i C_{max} MPA u chorych, u których hematokryt i liczba erytrocytów były poniżej normy. Wyniki badań van Hest i wsp. [105] mogą zatem wyjaśniać przyczynę zaobserwowanych w badaniach własnych zależności. W badaniach własnych obserwowano ponadto istotnie wyższe wartości parametrów farmakokinetycznych MPAG u chorych z anemią oraz ujemne korelacje tych parametrów z hemoglobina i hematokrytem. Niższe stężenie MPAG u chorych z wyższymi stężeniami hemoglobiny może być spowodowane zmniejszonym stężeniem wolnej frakcji MPA, która podlega metabolizmowi do MPAG, co również potwierdza hipotezę głoszoną przez van Hest i wsp. [105]. Odwrotna sytuacja może być u chorych z anemią, u których obserwowano wyższe stężenie MPAG, który powoduje wypieranie MPA z połączeń białkowych i wzrost jego wolnej, aktywnej

farmakologicznie frakcji. Być może wolny lek jest odpowiedzialny za powstawanie anemii. Inną przyczyną obserwowanych ujemnych korelacji pomiędzy parametrami farmakokinetycznymi MPAG a hemoglobina może być ścisła zależność obu tych czynników od Cl_{cr} (Tab. 15 i 41). W piśmiennictwie nie znaleziono badań dotyczących powiązania anemii ze stężeniem MPAG i dlatego problem ten wymaga dalszych badań.

Kuypers i wsp. [113], Hao i wsp. [185], i Borrows i wsp. [15] przedstawili wpływ leczenia MMF na powstawanie leukopenii, a Sollinger i wsp. [156] małopłytkowości. W badaniach własnych nie obserwowano korelacji liczby leukocytów, ani płytek krwi z żadnym z parametrów farmakokinetycznych MPA lub MPAG. Nie obserwowano także częstszego występowania leukopenii i małopłytkowości u chorych leczonych MMF w porównaniu z grupą kontrolną. Leukopenia w grupie badanej występowała rzadziej (6,7% chorych) niż w badaniach przedstawionych w piśmiennictwie (11–35% chorych) [50].

Podsumowując, przyczyną anemii u chorych po przeszczepieniu nerki, szczególnie u tych z osłabioną funkcją przeszczepu, może być niedostateczna produkcja erytropoetyny przez nerki i dlatego można przypuszczać, że nadmierna suplementacja żelazem jest u tych chorych nieskuteczna. U tych chorych wskazane jest wykonanie innych badań laboratoryjnych, które pozwolą znaleźć przyczynę niedokrwistości. Anemia istotnie częściej występowała u chorych leczonych MMF w porównaniu z grupą kontrolną pomimo, że Cl_{cr} nie różnił się pomiędzy badanymi grupami. Z tego względu można przypuszczać, że MMF jest niezależnym czynnikiem ryzyka występowania anemii oprócz osłabionej funkcji nerki.

7. WNIOSKI

1. Upośledzona funkcja nerki, niezależnie od stosowanego schematu immunosupresji, wpływała na zwiększenie wartości C_0 MPA i parametrów farmakokinetycznych MPAG. Skumulowany MPAG może wypierać MPA z połączeń z białkami i dlatego należy ostrożnie interpretować parametry farmakokinetyczne MPA przy ustalaniu dawki MMF u chorych z osłabioną funkcją tego narządu.
2. Nieskorygowane o dawkę MMF wartości C_0 MPA nie różniły się pomiędzy chorymi leczonymi schematem immunosupresji zawierającym CsA w porównaniu do Tac, natomiast występowały różnice w wartościach pozostałych parametrów MPA i MPAG. Z tego względu terapeutyczne monitorowanie nie tylko C_0 MPA, ale także pozostałych parametrów farmakokinetycznych metabolitów MMF może być korzystne dla optymalizacji terapii tym lekiem.
3. Zdarzenia niepożądane ze strony przewodu pokarmowego występowały częściej u chorych leczonych MMF, a wartości C_{max} MPA u tych chorych były istotnie wyższe. Potwierdza to celowość oznaczania parametrów farmakokinetycznych MPA u chorych, u których występują zaburzenia żołądkowo-jelitowe.
4. MMF stosowany w terapii immunosupresyjnej u chorych po przeszczepieniu nerki wpływał istotnie na stężenie retinolu, co mogło być spowodowane zmniejszonym jego wchłanianiem u chorych leczonych MMF, którzy częściej wykazywali zaburzenia żołądkowo-jelitowe. U tych chorych należy rozważyć skorygowanie diety i/lub suplementację witaminą A.
5. Stwierdzony korzystny wpływ lub brak wpływu MMF na stężenie większości badanych składników mineralnych nie daje podstaw do wysuwania hipotezy o zmniejszeniu wchłaniania tych pierwiastków w organizmie chorych leczonych MMF.
6. Częste występowanie niedoborów magnezu i cynku oraz za wysokie stężenia żelaza u wszystkich chorych, niezależnie od schematu immunosupresji sugerują, że monitorowanie tych pierwiastków, które nie jest prowadzone rutynowo, może być korzystne i przyczynić się do szybkiego skorygowania diety chorego i zastosowania lub zaprzestania suplementacji farmakologicznej tymi składnikami mineralnymi.

7. Anemia częściej występowała u chorych leczonych MMF w porównaniu z grupą kontrolną, pomimo że Cl_{cr} nie różnił się pomiędzy badanymi grupami. Z tego względu można przypuszczać, że MMF jest niezależnym czynnikiem ryzyka występowania anemii oprócz osłabionej funkcji nerki.
8. Leczenie anemii za pomocą suplementacji żelazem u chorych po przeszczepieniu nerki może być nieskuteczne, ponieważ anemia częściej występowała u chorych leczonych MMF, pomimo wyższego stężenia żelaza w tej grupie chorych.

8. STRESZCZENIE

Mykofenolan mofetylu (MMF) jest obecnie najszerzej stosowanym antyproliferacyjnym lekiem immunosupresyjnym u chorych po przeszczepieniu narządów unaczynionych. Obecnie w większości ośrodków transplantologicznych na świecie, jak również w Polsce, MMF jest lekiem z wyboru, stosowanym głównie w skojarzeniu z glikokortykosteroidami oraz inhibitorami kalcyneuryny: cyklosporyną (CsA) lub takrolimusem (Tac).

Celem pracy doktorskiej była analiza wpływu różnych czynników klinicznych, m.in. funkcji nerki, stosowania innych leków na parametry farmakokinetyczne metabolitów MMF u chorych po przeszczepieniu nerki, a także zbadanie zależności pomiędzy leczeniem MMF a zdarzeniami niepożądanymi i stanem odżywienia chorych witaminami i składnikami mineralnymi.

Badaniem objęto 110 chorych po przeszczepieniu nerki leczonych MMF w skojarzeniu z innymi lekami immunosupresyjnymi (grupa badana) oraz 45 chorych w grupie kontrolnej, którą stanowili chorzy po przeszczepieniu nerki leczeni schematami immunosupresji niezawierającymi MMF, ani mykofenolanu sodu. U chorych w grupie badanej oznaczano 4-godzinne profile farmakokinetyczne metabolitów MMF: kwasu mykofenolowego (MPA) i glukuronidu MPA (MPAG). W grupie badanej i kontrolnej oznaczano stężenia wybranych witamin antyoksydacyjnych i składników mineralnych, oraz przeprowadzono wywiad żywieniowy pozwalający ocenić wielkość spożycia w ciągu 24 godzin poprzedzających pobranie próbek krwi.

Chorzy z klirensiem kreatyniny poniżej 60 ml/min wykazywali wyższe wartości parametrów farmakokinetycznych MPAG oraz C_0 MPA, niezależnie od stosowanego schematu immunosupresji. Obserwowano ponadto istotne różnice w skorygowanych o dawkę MMF wartościach parametrów C_0 MPA i wszystkich badanych wartościach stosunków MPAG/MPA pomiędzy chorymi leczonymi schematem zawierającym CsA w porównaniu do Tac.

U chorych leczonych MMF istotnie częściej obserwowano zaburzenia żołądkowo-jelitowe oraz anemię w porównaniu z grupą kontrolną. Stosowanie MMF wpływało istotnie na stężenie retinolu. U chorych leczonych MMF oraz u chorych, u których występowały zaburzenia żołądkowo-jelitowe obserwowano niższe stężenia retinolu. Pomimo, że stężenie β -karotenu było niższe u chorych, u których wystąpiły zaburzenia żołądkowo-jelitowe, nie obserwowano różnic w jego stężeniach pomiędzy grupą badaną i kontrolną. Stężenia

α -tokoferolu również nie różniły się pomiędzy grupą badaną a kontrolną, jednak obserwowano ujemną korelację stężenia α -tokoferolu z C_0 MPA. Stosowanie MMF wpływało korzystnie na zwiększenie stężenia miedzi i cynku oraz obniżenie stężenia sodu w osoczu chorych uczestniczących w badaniach. Niektóre obserwowane różnice w stężeniach składników mineralnych, choć istotne statystycznie, mogą być jednak nieistotne klinicznie. Stężenie magnezu korelowało dodatnio, a stężenie potasu ujemnie ze wszystkimi badanymi parametrami farmakokinetycznymi MPA, jednakże nie obserwowano różnicy w stężeniach tych pierwiastków u chorych z grupy badanej w porównaniu do grupy kontrolnej.

Wyniki uzyskane w badaniach własnych wskazują, że pomiar wyłącznie C_0 MPA u chorych leczonych MMF może być niewystarczający w praktyce klinicznej, nie tylko z powodu możliwości wystąpienia w tym czasie $C_{\max 2}$ związanego z recykulacją jelitowo-wątrobową, ale także z powodu dużej zmienności międzypersonicznej tego parametru farmakokinetycznego. Może to prowadzić do mylnych decyzji dotyczących farmakoterapii, szczególnie u chorych z osłabioną funkcją nerki lub wątroby. MPAG jest nieaktywny farmakologicznie, ale może wypierać MPA z połączeń białkowych zwiększając stężenie wolnej frakcji leku, a tym samym aktywność farmakologiczną MMF. Wydaje się, że monitorowanie AUC MPA, a w niektórych przypadkach także MPAG pozwoli na optymalizację dawkowania MMF oraz na wczesne zapobieganie występowania działań niepożądanych u tych chorych.

Niższe stężenia retinolu u chorych leczonych MMF, u których częściej obserwowano zaburzenia żołądkowo-jelitowe, mogą być spowodowane zmniejszonym wchłanianiem retinolu u tych chorych. Stwierdzony wpływ lub brak wpływu MMF na stężenie większości badanych składników mineralnych nie daje podstaw do wysuwania hipotezy o zmniejszeniu wchłaniania tych pierwiastków w organizmie chorych przyjmujących MMF. U chorych po przeszczepieniu nerki uzasadnione jest monitorowanie stężenia nie tylko sodu, potasu i wapnia, które są oznaczane rutynowo, ale także innych składników mineralnych, np. magnezu, cynku i żelaza, których stężenia u chorych uczestniczących w badaniach często odbiegały od zakresów prawidłowych. Przyczyną anemii u chorych po przeszczepieniu nerki, szczególnie u tych z osłabioną funkcją przeszczepu może być niedostateczna produkcja erytropoetyny przez nerki. Nadmierna suplementacja żelazem może być u tych chorych nieskuteczna. Stanowi to wskazanie do wykonania innych badań laboratoryjnych w celu ustalenia przyczyny niedokrwistości. Anemia częściej występowała u chorych leczonych MMF w porównaniu z grupą kontrolną, pomimo że klirensu kreatyniny nie różnił się pomiędzy badanymi grupami. Z tego względu można przypuszczać, że MMF jest niezależnym czynnikiem ryzyka występowania anemii oprócz osłabionej funkcji nerki.

Clinical value of mycophenolate mofetil pharmacokinetic studies and its impact on nutritional status in renal transplant recipients

Summary

Mycophenolate mofetil (MMF) is the most widely used antiproliferative immunosuppressive drug in patients after solid organ transplantation, often co-administered with calcineurin inhibitors: cyclosporine (CsA) or tacrolimus (Tac) and corticosteroids.

The aim of the study was to analyze the influence of different factors, such as renal function, drugs co-administered on pharmacokinetic profiles of MMF metabolites: mycophenolic acid (MPA) and MPA glucuronide (MPAG) in renal transplant recipients as well as to evaluate the relations between MMF treatment and the incidence of side effects and nutritional status of plasma antioxidant vitamins and bioelements.

The study included 110 adult patients (study group) treated with MMF co-administered with various immunosuppressive agents and 45 patients in the control group, treated with different immunosuppressive protocols without MMF or mycophenolate sodium salt. In the study group 4-hour pharmacokinetic profiles of MPA and MPAG were determined. Plasma vitamins and bioelements were determined in the study group and in the control group. Each of the patients was subjected to a 24-hour diet history questionnaire to estimate food intake on the day preceding the collection of the blood samples.

Renal failure, irrespective of immunosuppressive regimen, influenced the MPAG pharmacokinetic parameters and MPA C_0 by increasing the values in patients with impaired renal function. All analyzed dose-corrected pharmacokinetic parameters of MPAG/MPA ratio were higher and MPA C_0 was lower in patients treated with MMF and CsA if compared to MMF and Tac.

In patients treated with MMF gastrointestinal disorders and anemia were significantly more frequent if compared to control group. MMF therapy influenced plasma retinol significantly. In patients treated with MMF as well as in patients suffering with gastrointestinal disorders lower retinol concentrations were observed. Despite lower β -carotene concentrations in patients with gastrointestinal disorders, no differences in β -carotene concentrations between study and control groups were observed. α -Tocopherol correlated significantly with MPA C_0 , however no differences between patients treated with MMF and the control group were observed. MMF treatment resulted in higher zinc and copper plasma concentrations as well as lower plasma concentration of sodium. Some differences of plasma bioelements concentrations although statistically significant may be clinically insignificant. All MPA pharmacokinetic parameters examined showed significant positive correlations with plasma magnesium and negative correlations with plasma potassium, however no significant differences in plasma level of these bioelements between patients treated with MMF and the control group were observed.

The results of the study indicate that solely MPA C_0 determination in patients receiving MMF may be insufficient in clinical practice because of great interpatient variability of this pharmacokinetic parameter caused mainly by enterohepatic recirculation. It may provide wrong decisions concerning the pharmacotherapy, particularly in patients with impaired renal or liver function. Although MPAG is an inactive metabolite, its accumulation may cause MPA displacement from protein compounds increasing free MPA what might be the reason of higher pharmacological activity of the drug. It seems that the monitoring of MPA and MPAG AUC may let to optimize MMF dosage regimens and as a result improve an early prevention of adverse effects in these patients.

In patients treated with MMF, lower plasma retinol concentrations may be caused by decreased retinol absorption. MMF therapy did not lower the level of examined bioelements except for sodium, for which the dietary intake was in most patients too high. Not only sodium, potassium and calcium concentrations monitoring is reasonable in renal transplant recipients. It is advisable to determine also other plasma mineral elements such as magnesium, zinc and iron, for which frequent deviations from the reference norms were observed in patients included in the study. The cause of anemia in renal transplant recipients, particularly in patients with impaired transplant function may be the insufficient erythropoietin renal production. The excessive iron supplementation may be ineffective in these patients. It is the indication for conducting other laboratory examinations in order to determine the cause of anemia. Anemia was more frequently observed in patients treated with MMF if compared to the control group although creatinine clearance did not differ between the groups studied. For this reason it may be supposed that MMF is the independent factor of anemia incidence except for impaired renal function.

9. PIŚMIENICTWO

1. Rutkowski B., Lichodziejewska-Niemierko M., Grenda R. et al.: *Raport o stanie leczenia nerkozastępczego w Polsce – 2005*. Drukonsul, Gdańsk 2007.
2. Morris R.G.: *Immunosuppressant drug monitoring: is the laboratory meeting clinical expectations?* Ann. Pharmacother., 2005, 39, 119-127.
3. Satoh S., Tada H., Murakami M. et al.: *The influence of mycophenolate mofetil versus azathioprine and mycophenolic acid pharmacokinetics on the incidence of acute rejection and infectious complications after renal transplantation.* Transplant. Proc., 2005, 37, 1751-1753.
4. David K.M., Morris J.A., Steffen B.J. et al.: *Mycophenolate mofetil vs. azathioprine is associated with decreased acute rejection, late acute rejection, and risk for cardiovascular death in renal transplant recipients with pretransplant diabetes.* Clin. Transplant., 2005, 19, 279-285.
5. Kaufman D.B., Shapiro R., Lucey M.R. et al.: *Immunosuppression: practice and trends.* Am. J. Transplant., 2004, 4, 38-53.
6. Durlik M. (red.): *Biuletyn Informacyjny Instytutu Transplantologii Akademii Medycznej w Warszawie*, 2006.
7. Rowiński W., Durlik M. (red.): *Zalecenia dotyczące leczenia immunosupresyjnego po przeszczepieniu narządów unaczynionych opracowane przez Zespół ds. Leczenia Immunosupresyjnego Krajowej Rady Transplantacyjnej, Polskie Towarzystwo Transplantacyjne i Konsultanta Krajowego w dziedzinie Transplantologii Klinicznej.* Fundacja Zjednoczeni dla Transplantacji, Warszawa, 2008.
8. Pareja-Ciuro F., Diez-Canedo J.S., Gomez-Bravo M.A. et al.: *Efficacy and safety of mycophenolate mofetil as part of induction therapy in liver transplantation.* Transplant. Proc., 2005, 37, 3926-3929.
9. Jimenez-Perez M., Lozano-Rey J.M., Marin-Garcia D. et al.: *Efficacy and safety of monotherapy with mycophenolate mofetil in liver transplantation.* Transplant. Proc., 2006, 38, 2480-2481.
10. Mudge D.W., Atcheson B., Taylor P.J. et al.: *The effect of oral iron administration on mycophenolate mofetil absorption in renal transplant recipients: a randomized, controlled trial.* Transplantation. 2004, 77, 206-209.
11. Grygiel-Górniak B., Przysławski J.: *Stres oksydacyjny, a poziom spożycia wybranych składników mineralnych w grupie kobiet otyłych, stosujących hormonalną terapię zastępczą.* Żyw. Człow., 2007, 34, 199-203.
12. Flechner S.M.: *Minimizing calcineurin inhibitor drugs in renal transplantation.* Transplant. Proc., 2003, 35 (3 Suppl), 118S-121S.
13. Nankivell B.J., Borrows R.J., Fung C.L. et al.: *Calcineurin inhibitor nephrotoxicity: longitudinal assessment by protocol histology.* Transplantation. 2004, 78, 557-565.
14. Bestard O., Cruzado J.M., Grinyó J.M.: *Calcineurin-inhibitor-sparing immunosuppressive protocols.* Transplant. Proc., 2005, 37, 3729-3732.

15. Borrows R., Chusney G., Loucaidou M., et al.: *Mycophenolic acid 12-h trough level monitoring in renal transplantation: association with acute rejection and toxicity.*
Am. J. Transplant. 2006, 6, 121-128.
16. Włodarczyk Z., Walaszewski J., Perner F. et al.: *Steroid withdrawal at 3 months after kidney transplantation: a comparison of two tacrolimus-based regimens.*
Transpl. Int., 2005, 18, 157-162.
17. Rostaing L., Cantarovich D., Mourad G. et al.: *Corticosteroid-free immunosuppression with tacrolimus, mycophenolate mofetil, and daclizumab induction in renal transplantation.*
Transplantation. 2005, 79, 807-814.
18. Durlík M., Rowiński W. (red.): *Zalecenia dotyczące leczenia immunosupresyjnego po przeszczepieniu narządów unaczynionych opracowane przez: Polskie Towarzystwo Transplantacyjne; Zespół ds. Leczenia Immunosupresyjnego Krajowej Rady Transplantacyjnej i Konsultanta Krajowego w dziedzinie Transplantologii Klinicznej.*
Fundacja Zjednoczeni dla Transplantacji, Warszawa, 2010.
19. Rowiński W., Wałaszewski J., Pączek L. (red.): *Transplantologia kliniczna.*
PZWL, Warszawa, 2004.
20. Allison A.C.: *Mechanisms of action of mycophenolate mofetil in preventing chronic rejection.*
Transplant. Proc., 2002, 34, 2863-2866.
21. Meier-Kriesche H.U., Schold J.D., Srinivas T.R. et al.: *Sirolimus in combination with tacrolimus is associated with worse renal allograft survival compared to mycophenolate mofetil combined with tacrolimus.*
Am. J. Transplant., 2005, 5, 2273-2280.
22. Srinivas T.R., Schold J.D., Guerra G. et al.: *Mycophenolate mofetil/sirolimus compared to other common immunosuppressive regimens in kidney transplantation.*
Am. J. Transplant., 2007, 7, 586-594.
23. Lorber M.I., Mulgaonkar S., Butt K.M. et al.: *Everolimus versus mycophenolate mofetil in the prevention of rejection in de novo renal transplant recipients: a 3-year randomized, multicenter, phase III study.*
Transplantation. 2005, 80, 244-252.
24. Lisik W., Kahan B.D.: *Individualization of immunosuppressive therapy. II. Sirolimus as a less nephrotoxic alternative to calcineurin inhibitors.*
Transplant. Proc., 2006, 38, 69-73.
25. Behrend M.: *Mycophenolate mofetil (CellCept®).*
Exp. Opin. Invest. Drugs. 1998, 7, 1509-1519.
26. Sollinger H.W.: *Mycophenolates in transplantation.*
Clin. Transplant., 2004, 18, 485-492.
27. Moder K.G.: *Mycophenolate mofetil: new applications for this immunosuppressant.*
Ann. Allergy Asthma Immunol., 2003, 90, 15-20.
28. Jain A., Venkataramanan R., Kwong T. et al.: *Pharmacokinetics of mycophenolic acid in liver transplant patients after intravenous and oral administration of mycophenolate mofetil.*
Liver Transpl., 2007, 13, 791-796.
29. Armstrong V.W., Tenderich G., Shipkova M. et al.: *Pharmacokinetics and bioavailability of mycophenolic acid after intravenous administration and oral administration of mycophenolate mofetil to heart transplant recipients.*
Ther. Drug Monit., 2005, 27, 315-321.
30. Staatz C.E., Tett S.E.: *Clinical pharmacokinetics and pharmacodynamics of mycophenolate in solid organ transplant recipients.*
Clin. Pharmacokinet., 2007, 46, 13-58.
31. Braun K.P., Glander P., Hambach P. et al.: *Pharmacokinetics and pharmacodynamics of mycophenolate mofetil under oral and intravenous therapy.*
Transplant. Proc., 2002, 34, 1745-1747.

32. Bullingham R., Shah J., Goldblum R., Schiff M.: *Effects of food and antacid on the pharmacokinetics of single doses of mycophenolate mofetil in rheumatoid arthritis patients.* Br. J. Clin. Pharmacol., 1996, 41, 513-516.
33. Naesens M., Verbeke K., Vanrenterghem Y., Kuypers D.: *Effects of gastric emptying on oral mycophenolic acid pharmacokinetics in stable renal allograft recipients.* Br. J. Clin. Pharmacol., 2007, 63, 541-547.
34. de Winter B.C., van Gelder T., Sombogaard F. et al.: *Pharmacokinetic role of protein binding of mycophenolic acid and its glucuronide metabolite in renal transplant recipients.* J. Pharmacokinet. Pharmacodyn., 2009, 36, 541-564.
35. Ting L.S., Partovi N., Levy R.D. et al.: *Pharmacokinetics of mycophenolic acid and its glucuronidated metabolites in stable lung transplant recipients.* Ann. Pharmacother., 2006, 40, 1509-1516.
36. Feichtiger H., Wieland E., Armstrong V.W., Shipkova M.: *The acyl glucuronide metabolite of mycophenolic acid induces tubulin polymerization in vitro.* Clin. Biochem., 2010, 43, 208-213.
37. Betonico G.N., Abudd-Filho M., Goloni-Bertollo E.M. et al.: *Pharmacogenetics of mycophenolate mofetil: a promising different approach to tailoring immunosuppression?* J. Nephrol., 2008, 21, 503-509.
38. Shipkova M., Armstrong V.W., Wieland E. et al.: *Identification of glucoside and carboxyl-linked glukuronide conjugates of mycophenolic acid in plasma of transplant recipients treated with mycophenolate mofetil.* Br. J. Pharmacol., 1999, 126, 1075-1082.
39. Wong S.H.Y.: *Therapeutic drug monitoring for immunosuppressants.* Clin. Chim. Acta., 2001, 313, 241-253.
40. Schütz E., Shipkova M., Armstrong V.W.: *Identification of a pharmacologically active metabolite of mycophenolic acid in plasma of transplant recipients treated with mycophenolate mofetil.* Clin. Chem., 1999, 45, 419-422.
41. Shipkova M., Wieland E., Schütz E. et al.: *The acyl glucuronide metabolite of mycophenolic acid inhibits the proliferation of human mononuclear leukocytes.* Transplant. Proc., 2001, 33, 1080-1081.
42. González-Roncero F.M., Gentil M.A., Brunet M. et al.: *Pharmacokinetics of mycophenolate mofetil in kidney transplant patients with renal insufficiency.* Transplant. Proc., 2005, 37, 3749-3751.
43. Weber L.T., Lamersdorf T., Shipkova M. et al.: *Area under the plasma concentration-time curve for total, but not for free, mycophenolic acid increases in the stable phase after renal transplantation: a longitudinal study in pediatric patients. German Study Group on Mycophenolate Mofetil Therapy in Pediatric Renal Transplant Recipients.* Ther. Drug Monit., 1999, 21, 498-506.
44. Cox V.C., Ensom M.H.H.: *Mycophenolate mofetil for solid organ transplantation: does the evidence support the need for clinical pharmacokinetic monitoring?* Ther. Drug Monit., 2003, 25, 137-157.
45. Allison A.C., Eugui E.M.: *Mycophenolate mofetil and its mechanisms of action.* Immunopharmacology. 2000, 47, 85-118.
46. Picard N., Ratanasavanah D., Premaud A. et al.: *Identification of the UDP-glucuronosyltransferase isoforms involved in mycophenolic acid II metabolism.* Drug Monit. Disposit., 2005, 33, 139-146.
47. Bandelier C., Guerne P.A., Genevay S. et al.: *Clinical experience with mycophenolate mofetil in systemic autoimmune conditions refractory to common immunosuppressive therapies.* Swiss Med. Wkly., 2009, 139, 41-46.
48. Iyer A., Brown L.: *Is mycophenolate more than just an immunosuppressant?-An overview.* Indian J. Biochem. Biophys., 2009, 46, 25-30.

49. Daikeler T.: *Mycophenolate mofetil for the treatment of autoimmune diseases: hype or hope?* Swiss Med. Wkly., 2009, 139, 34.
50. Barraclough K.A., Staatz C.E., Isbel N.M., Johnson D.W.: *Therapeutic monitoring of mycophenolate in transplantation: is it justified?* Curr. Drug Metab., 2009, 10, 179-187.
51. Naesens M., de Looor H., Vanrenterghem Y., Kuypers D.R.: *The impact of renal allograft function on exposure and elimination of mycophenolic acid (MPA) and its metabolite MPA 7-O-glucuronide.* Transplantation. 2007, 84, 362-373.
52. Orvis A.K., Wesson S.K., Breza T.S. et al.: *Mycophenolate mofetil in dermatology.* J. Am. Acad. Dermatol., 2009, 60, 183-199,
53. Prokopenko E., Scherbakova E., Vatazin A. et al.: *Does mycophenolate mofetil increase the incidence of infections in renal transplant recipients?* Drugs Exp. Clin. Res., 2005, 31, 199-205.
54. van Gelder T., Silva H.T., de Fijter J.W. et al.: *Comparing mycophenolate mofetil regimens for de novo renal transplant recipients: the fixed-dose concentration-controlled trial.* Transplantation. 2008, 86, 1043-1051.
55. Arns W.: *Noninfectious gastrointestinal (GI) complications of mycophenolic acid therapy: a consequence of local GI toxicity?* Transplant. Proc., 2007, 39, 88-93.
56. Behrend M.: *Adverse gastrointestinal effects of mycophenolate mofetil: aetiology, incidence and management.* Drug Safety. 2001, 24, 645-663.
57. Okamoto M., Wakabayashi Y., Higuchi A. et al.: *Therapeutic drug monitoring of mycophenolic acid in renal transplant recipients.* Transplant. Proc., 2005, 37, 859-860.
58. Kuypers D.R., Vanrenterghem Y., Squifflet J.P. et al.: *Twelve-month evaluation of the clinical pharmacokinetics of total and free mycophenolic acid and its glucuronide metabolites in renal allograft recipients on low dose tacrolimus in combination with mycophenolate mofetil.* Ther. Drug. Monit., 2003, 25, 609-622.
59. Heller T., van-Gelder T., Budde K. et al.: *Plasma concentrations of mycophenolic acid acyl glucuronide are not associated with diarrhea in renal transplant recipients.* Am. J. Transplant., 2007, 7, 1822-1831.
60. Helderma J.H.: *Prophylaxis and treatment of gastrointestinal complications following transplantation.* Clin. Transplant., 2001, 15 (Suppl 4), 29-35.
61. Davies N.M., Grinyó J., Heading R. et al.: *Gastrointestinal side effects of mycophenolic acid in renal transplant patients: a reappraisal.* Nephrol. Dial. Transplant., 2007, 22, 2440-2448.
62. Maes B., Hadaya K., de Moor B. et al.: *Severe diarrhea in renal transplant patients: results of the DIDACT study.* Am. J. Transplant., 2006, 6, 1466-1472.
63. Pescovitz M.D., Navarro M.T.: *Immunosuppressive therapy and post-transplantation diarrhea.* Clin. Transplant., 2001, 15 (Suppl 4), 23-28.
64. Flechner S.M., Feng J., Mastroianni B. et al.: *The effect of 2-gram versus 1-gram concentration controlled mycophenolate mofetil on renal transplant outcomes using sirolimus-based calcineurin inhibitor drug-free immunosuppression.* Transplantation. 2005, 27, 79, 926-934.
65. Knoll A.: *Mycophenolate mofetil dose reduction and risk of acute rejection after renal transplantation.* J. Am. Soc. Nephrol., 2003, 14, 2381-2386.

66. Yorgin P.D., Scandling J.D., Belson A. et al.: *Late post-transplant anemia in adult renal transplant recipients. An under-recognized problem?*
Am. J. Transplant., 2002, 2, 429-435.
67. Yorgin P.D., Belson A., Sanchez J. et al.: *Unexpectedly high prevalence of posttransplant anemia in pediatric and young adult renal transplant recipients.*
Am. J. Kidney Dis., 2002, 40, 1306-1318.
68. Shah N., Al-Khoury S., Afzali B. et al.: *Posttransplantation anemia in adult renal allograft recipients: prevalence and predictors.*
Transplantation. 2006, 81, 1112-1118.
69. Danesi R., Del Tacca M.: *Hematologic toxicity of immunosuppressive treatment.*
Transplant. Proc., 2004, 36, 703-704.
70. Khosroshahi H.T., Asghari A., Estakhr R. et al.: *Effects of azathioprine and mycophenolate mofetil-immunosuppressive regimens on the erythropoietic system of renal transplant recipients.*
Transplant. Proc., 2006, 38, 2077-2079.
71. Wang K., Zhang H., Li Y. et al.: *Safety of mycophenolate mofetil versus azathioprine in renal transplantation: a systematic review.*
Transplant. Proc., 2004, 36, 2068-2070.
72. Palmer S.M., Baz M.A., Sanders L. et al.: *Results of a randomized, prospective, multicenter trial of mycophenolate mofetil versus azathioprine in the prevention of acute lung allograft rejection.*
Transplantation. 2001, 71, 1772-1776.
73. Fuchs U., Tenderich G., Zittermann A. et al.: *Clinical outcome of heart transplant recipients receiving tacrolimus with or without mycophenolate mofetil.*
Clin. Transplant., 2006, 20, 450-456.
74. Hambach L., Stadler M., Dammann E. et al.: *Increased risk of complicated CMV infection with the use of mycophenolate mofetil in allogeneic stem cell transplantation.*
Bone Marrow Transplant., 2002, 29, 903-906.
75. Szyper-Kravitz M., Sheinberg P., Sidi Y. et al.: *Hypersensitivity to mycophenolate mofetil in systemic lupus erythematosus: diagnostic measures and successful desensitization.*
Int. Arch. Allergy Immunol., 2005, 138, 334-336.
76. Semhoun-Ducloux S., Ducloux D., Miguet J.P. et al.: *Mycophenolate mofetil-induced dyshidrotic eczema.*
Ann. Intern. Med., 2000, 132, 417.
77. Balal M., Demir E., Paydas S. et al.: *Uncommon side effect of MMF in renal transplant recipients.*
Ren. Fail., 2005, 27, 591-594.
78. Chueh S.C., Huang C.Y., Lai M.K. et al.: *Mycophenolate mofetil-induced hyperbilirubinemia in renal transplant recipients.*
Transplant. Proc., 2000, 32, 1901-1902.
79. Merlob P., Stahl B., Klinger G.: *Tetrada of the possible mycophenolate mofetil embryopathy: a review.*
Reprod. Toxicol., 2009, 28, 105-108.
80. Kuypers D.R.: *Immunotherapy in elderly transplant recipients: a guide to clinically significant drug interactions.*
Drugs Aging. 2009, 26, 715-737.
81. Büchler M., Lebranchu Y., Bénétón M. et al.: *Higher exposure to mycophenolic acid with sirolimus than with cyclosporine cotreatment.*
Clin. Pharmacol. Ther., 2005, 78, 34-42.
82. Filler G., Zimmering M., Mai I.: *Pharmacokinetics of mycophenolate mofetil are influenced by concomitant immunosuppression.*
Pediatr. Nephrol., 2000, 14, 100-104.

83. Hohage H., Zeh M., Heck M. et al.: *Differential effects of cyclosporine and tacrolimus on mycophenolate pharmacokinetics in patients with impaired kidney function.* Transplant. Proc., 2005, 37, 1748-1750.
84. Kaplan B., Meier-Kriesche H.U., Minnick P. et al.: *Randomized calcineurin inhibitor cross over study to measure the pharmacokinetics of co-administered enteric-coated mycophenolate sodium.* Clin. Transplant., 2005, 19, 551-558.
85. Picard N., Prémaud A., Rousseau A. et al.: *A comparison of the effect of ciclosporin and sirolimus on the pharmacokinetics of mycophenolate in renal transplant patients.* Br. J. Clin. Pharmacol., 2006, 62, 477-484.
86. El Haggan W., Ficheux M., Debruyne D. et al.: *Pharmacokinetics of mycophenolic acid in kidney transplant patients receiving sirolimus versus cyclosporine.* Transplant. Proc., 2005, 37, 864-866.
87. Gerbase M.W., Fathi M., Spiliopoulos A. et al.: *Pharmacokinetics of mycophenolic acid associated with calcineurin inhibitors: long-term monitoring in stable lung recipients with and without cystic fibrosis.* J. Heart Lung Transplant., 2003, 22, 587-590.
88. Hesselink D.A., van Hest R.M., Mathot R.A. et al.: *Cyclosporine interacts with mycophenolic acid by inhibiting the multidrug resistance-associated protein 2.* Am. J. Transplant., 2005, 5, 987-994.
89. Kobayashi M., Saitoh H., Kobayashi M. et al.: *Cyclosporin A, but not tacrolimus, inhibits the biliary excretion of mycophenolic acid glucuronide possibly mediated by multidrug resistance-associated protein 2 in rats.* J. Pharmacol. Exp. Ther., 2004, 309, 1029-1035.
90. Meiser B.M., Groetzner J., Kaczmarek I. et al.: *Tacrolimus or cyclosporine: which is the better partner for mycophenolate mofetil in heart transplant recipients?* Transplantation. 2004, 78, 591-598.
91. Atcheson B.A., Taylor P.J., Mudge D.W. et al.: *Mycophenolic acid pharmacokinetics and related outcomes early after renal transplant.* Br. J. Clin. Pharmacol., 2005, 59, 271-280.
92. Cattaneo D., Perico N., Gaspari F. et al.: *Glucocorticoids interfere with mycophenolate mofetil bioavailability in kidney transplantation.* Kidney Int., 2002, 62, 1060-1067.
93. Morii M., Ueno K., Ogawa A. et al.: *Impairment of mycophenolate mofetil absorption by iron ion.* Clin. Pharmacol. Ther., 2000, 68, 613-616.
94. Kato R., Ooi K., Ikura-Mori M. et al.: *Impairment of mycophenolate mofetil absorption by calcium polycarbophil.* J. Clin. Pharmacol., 2002, 42, 1275-1280.
95. Gelone D.K., Park J.M., Lake K.D.: *Lack of an effect of oral iron administration on mycophenolic acid pharmacokinetics in stable renal transplant recipients.* Pharmacotherapy. 2007, 27, 1272-1278.
96. Mudge D.W., Atcheson B.A., Taylor P.J. et al.: *Severe toxicity associated with a markedly elevated mycophenolic acid free fraction in a renal transplant recipient.* Ther. Drug. Monit., 2004, 26, 453-455.
97. Bullingham R.E., Nicholls A.J., Kamm B.R.: *Clinical pharmacokinetics of mycophenolate mofetil.* Clin. Pharmacokinet., 1998, 34, 429-455.
98. Pieper A.K., Buhle F., Bauer S. et al.: *The effect of sevelamer on the pharmacokinetics of cyclosporin A and mycophenolate mofetil after renal transplantation.* Nephrol. Dial. Transplant., 2004, 19, 2630-2633.

99. Zwerner J., Fiorentino D. *Mycophenolate mofetil*. *Dermatol. Ther.*, 2007, 20, 229-238.
100. Cattaneo D., Bitto A., Baldelli S. et al.: *Pharmacokinetic/pharmacodynamic drug interaction between rosiglitazone and mycophenolate mofetil in kidney transplantation: a case report*. *Transplantation*. 2008, 85, 921-922.
101. Vietri M., Pietrabissa A., Mosca F. et al.: *Mycophenolic acid glucuronidation and its inhibition by non-steroidal anti-inflammatory drugs in human liver and kidney*. *Eur. J. Clin. Pharmacol.*, 2000, 56, 659-664.
102. Kuypers D.R., Verleden G., Naesens M., Vanrenterghem Y.: *Drug interaction between mycophenolate mofetil and rifampin: possible induction of uridine diphosphate-glucuronosyltransferase*. *Clin. Pharmacol. Ther.*, 2005, 78, 81-88.
103. Gimenez F., Foeillet E., Bourdon O. et al.: *Evaluation of pharmacokinetic interactions after oral administration of mycophenolate mofetil and valaciclovir or aciclovir to healthy subjects*. *Clin. Pharmacokinet.*, 2004, 43, 685-692.
104. Pawinski T., Durlik M., Szlaska I. et al.: *Comparison of mycophenolic acid pharmacokinetic parameters in kidney transplant patients within the first 3 months post-transplant*. *J. Clin. Pharm. Ther.*, 2006, 31, 27-34.
105. van Hest R.M., Mathot R.A., Pescovitz M.D. et al.: *Explaining variability in mycophenolic acid exposure to optimize mycophenolate mofetil dosing: a population pharmacokinetic meta-analysis of mycophenolic acid in renal transplant recipients*. *J. Am. Soc. Nephrol.*, 2006, 17, 871-880.
106. Kiberd B.A., Lawen J., Fraser A.D. et al.: *Early adequate mycophenolic acid exposure is associated with less rejection in kidney transplantation*. *Am. J. Transplant.*, 2004, 4, 1079-1083.
107. Kuypers D.R.J., Claes K., Evenpoel P. et al.: *Clinical efficacy and toxicity profile of tacrolimus and mycophenolic acid in relation to combined long-term pharmacokinetics in de novo renal allograft recipients*. *Clin. Pharmacol. Ther.*, 2004, 75, 434-447.
108. Weber L.T., Shipkova M., Armstrong V.W. et al.: *The pharmacokinetic-pharmacodynamic relationship for total and free mycophenolic Acid in pediatric renal transplant recipients: a report of the german study group on mycophenolate mofetil therapy*. *J. Am. Soc. Nephrol.*, 2002, 13, 759-768.
109. Knight S.R., Morris P.J.: *Does the evidence support the use of mycophenolate mofetil therapeutic drug monitoring in clinical practice? A systematic review*. *Transplantation*. 2008, 85, 1675-1785.
110. van Gelder T., Shaw L.M.: *The rationale for and limitations of therapeutic drug monitoring for mycophenolate mofetil in transplantation*. *Transplantation*. 2005, 80 (2 Suppl), S244-453.
111. van Gelder T., Le Meur Y., Shaw L.M. et al.: *Therapeutic drug monitoring of mycophenolate mofetil in transplantation*. *Ther. Drug Monit.*, 2006, 28, 145-154.
112. Pawinski T., Kunicki P.K., Sobieszczanska-Malek M. et al.: *A limited sampling strategy for estimating mycophenolic acid area under the curve in adult heart transplant patients treated with concomitant cyclosporine*. *J. Clin. Pharm. Ther.*, 2009, 34, 89-101.
113. Kuypers D.R., de Jonge H., Naesens M. et al.: *Current target ranges of mycophenolic acid exposure and drug-related adverse events: a 5-year, open-label, prospective, clinical follow-up study in renal allograft recipients*. *Clin. Ther.*, 2008, 30, 673-683.
114. Shaw L.M., Holt D.W., Oellerich M. et al.: *Current issues in therapeutic drug monitoring of mycophenolic acid: report of a roundtable discussion*. *Ther. Drug Monit.*, 2001, 23, 305-315.

115. Pillans P.I., Rigby R.J., Kubler P. et al.: *A retrospective analysis of mycophenolic acid and cyclosporine concentrations with acute rejection in renal transplant recipients.* Clin. Biochem., 2001, 34, 77-81.
116. van Hest R.M., van Gelder T., Vulto A.G. et al.: *Pharmacokinetic modelling of the plasma protein binding of mycophenolic acid in renal transplant recipients.* Clin. Pharmacokinet., 2009, 48, 463-476.
117. Kuypers D.R., Claes K., Evenepoel P. et al.: *Long-term changes in mycophenolic acid exposure in combination with tacrolimus and corticosteroids are dose dependent and not reflected by trough plasma concentration: a prospective study in 100 de novo renal allograft recipients.* J. Clin. Pharmacol., 2003, 43, 866-880.
118. van Gelder T.: *Mycophenolate blood level monitoring: recent progress.* Am. J. Transplant., 2009, 9, 1495-1499.
119. Le Meur Y., Büchler M., Thierry A. et al.: *Individualized mycophenolate mofetil dosing based on drug exposure significantly improves patient outcomes after renal transplantation.* Am. J. Transplant., 2007, 7, 2496-2503.
120. de Winter BC, Mathot RA, van Hest RM, van Gelder T: *Therapeutic drug monitoring of mycophenolic acid: does it improve patient outcome?* Expert Opin. Drug Metab. Toxicol. 2007, 3: 251-261.
121. Gawęcki J, Hryniewiecki L.: *Żywność człowieka. Podstawy nauki o żywieniu.* PWN, Warszawa, 2005.
122. Ziemiański Ś., Bułhak-Jachymczyk B., Budzyńska-Topolowska J. et al.: *Normy żywienia dla ludności w Polsce.* Nowa Med. 1998, 4, 1-27.
123. Kasiske B.L., Vazquez M.A., Harmon W.E. et al.: *Recommendations for the outpatient surveillance of renal transplant recipients. American Society of Transplantation.* J. Am. Soc. Nephrol., 2000, 11 (Suppl 15), S1-S86.
124. Martins C., Pecoits-Filho R., Riella M.C.: *Nutrition for the post-renal transplant recipients.* Transplant. Proc., 2004, 36, 1650-1654.
125. Duda G., Saran A.: *Polskie rekomendacje dotyczące spożycia witamin i składników mineralnych przez osoby w starszym wieku.* Farm. Współcz., 2008, 1, 16-23.
126. Toigo G., Aparicio M., Attman P.O. et al.: *Expert working group report on nutrition in adult patients with renal insufficiency (Part 2 of 2).* Clin. Nutr., 2000, 19, 281-291.
127. Hjelmæsaeth J., Hartmann A., Midtvedt K. et al.: *Metabolic cardiovascular syndrome after renal transplantation.* Nephrol. Dial. Transplant., 2001, 16, 1047-1052.
128. Kozłowska L.: *Uwarunkowania postępowania dietetycznego u osób po transplantacji nerki.* Problemy Lekarskie. 2006, 45, 270-272.
129. Gertig H., Przysławski J.: *Bromatologia. Zarys nauki o żywności i żywieniu.* PZWL, Warszawa, 2006.
130. Wakai K., Suzuki K., Ito Y. et al.: *Serum carotenoids, retinol, and tocopherols, and colorectal cancer risk in a Japanese cohort: effect modification by sex for carotenoids.* Nutr. Cancer., 2005, 51, 13-24.
131. Chau N., Tebi A., Creton C. et al.: *Relationship between plasma retinol and infectious diseases in the elderly. A case-control study.* Ann. Nutr. Metab., 2000, 44, 256-262.
132. Ozasa K., Ito Y., Suzuki K. et al.: *Serum carotenoids and other antioxidative substances associated with urothelial cancer risk in a nested case-control study in Japanese men.* J. Urol., 2005, 173, 1502-1506.

133. Seebacher G., Weigel G., Wolner E. et al.: *A simple HPLC method for monitoring mycophenolic acid and its metabolite in transplant recipients.*
Clin. Chem. Lab. Med., 1999, 37, 409-415.
134. Graj J., Chrzanowska M.: *Walidacja metody HPLC analizy ilościowej kwasu mykofenolowego z przeznaczeniem do terapeutycznego monitorowania u pacjentów po przeszczepieniu nerki.*
Probl. Ter. Monit., 2006, 1, 3-10.
135. Siluk D., Oliveira R.V., Esther-Rodriguez-Rosas M. et al.: *A validated liquid chromatography method for the simultaneous determination of vitamins A and E in human plasma.*
J. Pharm. Biomed. Anal., 2007, 44, 1001-1007.
136. Rajendran V., Pu Y.S., Chen B.H.: *An improved HPLC method for determination of carotenoids in human serum.*
J. Chromatogr. B Analyt. Technol. Biomed. Life Sci., 2005, 824, 99-106.
137. Dembińska-Kieć A., Naskalski J.W. (red.): *Diagnostyka laboratoryjna z elementami biochemii klinicznej.*
Elsevier Urban & Partner, Wrocław, 2002, 933-959.
138. Dembińska-Kieć A., Naskalski J.W. (red.): *Diagnostyka laboratoryjna z elementami biochemii klinicznej.*
Elsevier Urban & Partner, Wrocław, 2010, 1036-1041.
139. Kunachowicz H., Nadolna I., Przygoda B., Iwanow K.: *Tabele składu i wartości odżywczej żywności.*
PZWL, Warszawa, 2005.
140. Zanker B., Schleibner S., Schneeberger H. et al.: *Mycophenolate mofetil in patients with acute renal failure: evidence of metabolite (MPAG) accumulation and removal by dialysis.*
Transpl. Int., 1996, 9 Suppl 1, S308-S310.
141. Morgera S., Budde K., Lampe D. et al.: *Mycophenolate mofetil pharmacokinetics in renal transplant recipients on peritoneal dialysis.*
Transpl. Int., 1998, 11, 53-57.
142. Mohammadpur A.H., Nazemian F., Abtahi B., Naghibi M.: *Influence of renal graft function on mycophenolic acid pharmacokinetics during the early period after kidney transplant.*
Exp. Clin. Transplant., 2008, 6, 276-281.
143. Nazemian F., Mohammadpur A.H., Abtahi B., Naghibi M.: *Pharmacokinetics of mycophenolic acid during the early period after renal transplant.*
Exp. Clin. Transplant., 2007, 5, 658-663.
144. Morissette P., Albert C., Busque S. et al.: *In vivo higher glucuronidation of mycophenolic acid in male than in female recipients of a cadaveric kidney allograft and under immunosuppressive therapy with mycophenolate mofetil.*
Ther. Drug Monit., 2001, 23, 520-525.
145. Pescovitz M.D., Guasch A., Gaston R. et al.: *Equivalent pharmacokinetics of mycophenolate mofetil in African-American and Caucasian male and female stable renal allograft recipients.*
Am. J. Transplant., 2003, 3, 1581-1586.
146. Liang M.Z., Lu Y.P., Nan F., Li Y.P.: *Pharmacokinetics of mycophenolic acid and its glucuronide after a single and multiple oral dose of mycophenolate mofetil in Chinese renal transplantation recipients.*
Transplant. Proc., 2006, 38, 2044-2047.
147. Ting L.S., Partovi N., Levy R.D. et al.: *Pharmacokinetics of mycophenolic acid and its phenolic-glucuronide and ACYL glucuronide metabolites in stable thoracic transplant recipients.*
Ther. Drug Monit., 2008, 30, 282-291.
148. Vanrenterghem Y., Ponticelli C., Morales J.M. et al.: *Prevalence and management of anemia in renal transplant recipients: a European survey.*
Am. J. Transplant., 2003, 3, 835-845.

149. Parker G., Bullingham R., Kamm B., Hale M.: *Pharmacokinetics of oral mycophenolate mofetil in volunteer subjects with varying degrees of hepatic oxidative impairment.*
J. Clin. Pharmacol., 1996, 36, 332-344.
150. Brown N.W., Aw M.M., Mieli-Vergani G. et al.: *Mycophenolic acid and mycophenolic acid glucuronide pharmacokinetics in pediatric liver transplant recipients: effect of cyclosporine and tacrolimus comedication.*
Ther. Drug Monit., 2002; 24, 598-606.
151. Naito T., Shinno K., Maeda T. et al.: *Effects of calcineurin inhibitors on pharmacokinetics of mycophenolic acid and its glucuronide metabolite during the maintenance period following renal transplantation.*
Biol. Pharm. Bull., 2006, 29, 275-280.
152. Mino Y., Naito T., Otsuka A. et al.: *Cyclosporine concentration-dependent increase in concentration ratio of mycophenolic acid acyl and phenol glucuronides to mycophenolic acid in stable kidney transplant recipients.*
Clin. Biochem., 2009, 42, 595-601.
153. Perkins J.D.: *It matters to monitor drug levels.*
Liver Transplant., 2006, 12, 1169-1170.
154. Cremers S., Schoemaker R., Scholten E. et al.: *Characterizing the role of enterohepatic recycling in the interactions between mycophenolate mofetil and calcineurin inhibitors in renal transplant patients by pharmacokinetic modelling.*
Br. J. Clin. Pharmacol., 2005, 60, 249-256.
155. Borrows R., Chan K., Loucaidou M. et al.: *Five years of steroid sparing in renal transplantation with tacrolimus and mycophenolate mofetil.*
Transplantation. 2006, 81, 125-128.
156. Sollinger H.W.: *Mycophenolate mofetil for the prevention of acute rejection in primary cadaveric renal allograft recipients. U.S. Renal Transplant Mycophenolate Mofetil Study Group.*
Transplantation. 1995, 60, 225-232.
157. Pellegrini C., Ruggieri G., Rinaldi M. et al.: *Mycophenolate mofetil therapeutic drug monitoring in heart transplantation: a pharmacokinetic study.*
Transplantation. 2006, 82 (Suppl 3), 555.
158. Cattaneo D., Gaspari F., Ferrari S. et al.: *Pharmacokinetics help optimizing mycophenolate mofetil dosing in kidney transplant patients.*
Clin. Transplant., 2001, 15, 402-409.
159. Botella-Carretero J.I., Balsa J.A., Vázquez C. et al.: *Retinol and alpha-tocopherol in morbid obesity and nonalcoholic fatty liver disease.*
Obes. Surg., 2010, 20, 69-76.
160. Palli D., Decarli A., Russo A. et al.: *Plasma levels of antioxidant vitamins and cholesterol in a large population sample in central-northern Italy.*
Eur. J. Nutr., 1999, 38, 90-98.
161. Granot E., Elinav H., Kohen R.: *Markers of oxidative stress in cyclosporine-treated and tacrolimus-treated children after liver transplantation.*
Liver Transpl., 2002, 8, 469-475.
162. Abahusain M.A., Al-Nahedh N.N.: *The biochemical status of vitamin A and alpha-tocopherol during different stages of renal disease and its relationship to diabetes.*
Saudi J. Kidney Dis. Transpl., 2002, 13, 18-23.
163. Gavrilov V., Yermiahu T., Gorodischer R.: *Renal pathology and retinol status in multiple myeloma patients.*
Kidney Int., 2006, 69, 173-177.
164. Fan X.P., Wang K., Liu Y., Wang J.F.: *Plasma alpha-tocopherol is negatively correlated with hepatocyte apoptosis in chronic hepatitis B patients.*
Intern. Med., 2009, 48, 1585-1593.

165. Okita M., Hayashi M., Sasagawa T. et al.: *Effect of a moderately energy-restricted diet on obese patients with fatty liver.*
Nutrition. 2001, 17, 542-547.
166. Zaidi S.M., Al-Qirim T.M., Banu N.: *Effects of antioxidant vitamins on glutathione depletion and lipid peroxidation induced by restraint stress in the rat liver.*
Drugs R. D., 2005, 6, 157-165.
167. Arnlöv J., Zethelius B., Risérus U. et al.: *Serum and dietary beta-carotene and alpha-tocopherol and incidence of type 2 diabetes mellitus in a community-based study of Swedish men: report from the Uppsala Longitudinal Study of Adult Men (ULSAM) study.*
Diabetologia. 2009, 52, 97-105.
168. Curran-Celentano J., Hammond B.R., Ciulla T.A. et al.: *Relation between dietary intake, serum concentrations, and retinal concentrations of lutein and zeaxanthin in adults in a Midwest population.*
Am. J. Clin. Nutr., 2001, 74, 796-802.
169. Faure H., Preziosi P., Roussel A.M. et al.: *Factors influencing blood concentration of retinol, alpha-tocopherol, vitamin C, and beta-carotene in the French participants of the SU.VI.MAX trial.*
Eur. J. Clin. Nutr., 2006, 60, 706-717.
170. Xiang J., Nagaya T., Huang X.E. et al.: *Sex and seasonal variations of plasma retinol, alpha-tocopherol, and carotenoid concentrations in Japanese dietitians.*
Asian Pac. J. Cancer Prev., 2008, 9, 413-416.
171. Abahusain M.A., Wright J., Dickerson J.W., de Vol E.B.: *Retinol, alpha-tocopherol and carotenoids in diabetes.*
Eur. J. Clin. Nutr., 1999, 53, 630-635.
172. Coyne T., Ibiebele T.I., Baade P.D. et al.: *Diabetes mellitus and serum carotenoids: findings of a population-based study in Queensland, Australia.*
Am. J. Clin. Nutr., 2005, 82, 685-693.
173. Giammarioli S., Filesi C., Vitale B. et al.: *Effect of high intakes of fruit and vegetables on redox status in type 2 onset diabetes: a pilot study.*
Int. J. Vitam. Nutr. Res., 2004, 74, 313-320.
174. Sugiura M., Nakamura M., Ogawa K. et al.: *Associations of serum carotenoid concentrations with the metabolic syndrome: interaction with smoking.*
Br. J. Nutr., 2008, 100, 1297-1306.
175. Ylönen K., Alfthan G., Groop L. et al.: *Dietary intakes and plasma concentrations of carotenoids and tocopherols in relation to glucose metabolism in subjects at high risk of type 2 diabetes: the Botnia Dietary Study.*
Am. J. Clin. Nutr., 2003, 77, 1434-1441.
176. Mattson D.L., James L., Berdan E.A., Meister C.J.: *Immune suppression attenuates hypertension and renal disease in the Dahl salt-sensitive rat.*
Hypertension. 2006, 48, 149-156.
177. Khosroshahi H.T., Shoja M.M., Azar S.A. et al.: *Calcium and phosphorus metabolism in stable renal transplant recipients.* Exp. Clin. Transplant., 2007, 5, 670-672.
178. Zahmatkesh M., Kadkhodae M., Ghaznavi R., Mahdavi-Mazdeh M.: *Acid-base status determines cyclosporine-induced hypercalciuria.*
Transplant. Proc., 2007, 39, 1231-1232.
179. Lorenz M., Kletzmayer J., Huber A. et al.: *Iron overload in kidney transplants: prospective analysis of biochemical and genetic markers.*
Kidney Int., 2005, 67, 691-697.
180. Atsmon J., Dolev E.: *Drug-induced hypomagnesaemia: scope and management.*
Drug Saf., 2005, 28, 763-88.

181. Navaneethan S.D., Sankarasubaiyan S., Gross M.D. et al.: *Tacrolimus-associated hypomagnesemia in renal transplant recipients*. Transplant. Proc., 2006, 38, 1320-1322.
182. Nijenhuis T., Hoenderop J.G., Bindels R.J.: *Downregulation of Ca(2+) and Mg(2+) transport proteins in the kidney explains tacrolimus (FK506)-induced hypercalciuria and hypomagnesemia*. J. Am. Soc. Nephrol., 2004, 15, 549-557.
183. Lote C.J., Thewles A., Wood J.A., Zafar T.: *The hypomagnesaemic action of FK506: urinary excretion of magnesium and calcium and the role of parathyroid hormone*. Clin. Sci., 2000, 99, 285-292.
184. Al-Khoury S., Shah N., Afzali B. et al.: *Post-transplantation anaemia in adult and paediatric renal allograft recipients—Guy's Hospital experience*. Nephrol. Dial. Transplant., 2006, 21, 1974–1980.
185. Hao C., Anwei M., Bing C. et al.: *Monitoring mycophenolic acid pharmacokinetic parameters in liver transplant recipients: prediction of occurrence of leukopenia*. Liver Transpl., 2008, 14, 1165-1173.

10. ZAŁĄCZNIKI



UNIwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu

Komisja Bioetyczna przy Uniwersytecie Medycznym
im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu

Collegium Maius
ul. Fredry 10
61-701 Poznań

tel. (+48 61) 854 62 51, 854 60 60
fax. (+48 61) 854 61 07
www.bioetyka.ump.edu.pl

Uchwała nr 211/09

Na podstawie przepisów Ustawy z dnia 5 grudnia 1996 r. o zawodach lekarza i lekarza dentyisty (Dz. U. 1997, Nr 28, poz. 152); Rozporządzenia Ministra Zdrowia i Opieki Społecznej z dnia 11 maja 1999r. w sprawie szczegółowych zasad powoływania i finansowania oraz trybu działania komisji bioetycznych (Dz. U. Nr 47, poz. 480); Rozporządzenia Ministra Zdrowia z dnia 11 marca 2005 r. w sprawie szczegółowych wymagań Dobrej Praktyki Klinicznej (Dz. U. 2005, Nr 53, poz. 500); Ustawy z dnia 6 września 2001r. Prawo farmaceutyczne (Dz. U. z 2004r. Nr 53, poz. 533 ze zm.); Rozporządzenia Ministra Finansów z dnia 30 kwietnia 2004r. w sprawie obowiązkowego ubezpieczenia odpowiedzialności cywilnej badacza i sponsora (Dz. U. 2004 nr 101, poz. 1034 z późn. zm.); Rozporządzenia Ministra Finansów z dnia 18 maja 2005r. zmieniające rozporządzenie w sprawie obowiązkowego ubezpieczenia odpowiedzialności cywilnej badacza i sponsora (Dz. U. Nr 101, poz. 845); Rozporządzenia Ministra Zdrowia z dnia 30 kwietnia 2004r. w sprawie sposobu prowadzenia badań klinicznych z udziałem małoletnich (Dz. U. 2004 Nr 104, poz. 1108); Rozporządzenia Ministra Zdrowia z dnia 30 kwietnia 2004r. w sprawie zgłaszania niespodziewanego ciężkiego niepożądanego działania produktu leczniczego (Dz. U. Nr 104, poz. 1107); Rozporządzenia Ministra Zdrowia z dnia 4 listopada 2008r. w sprawie wzorów dokumentów przedkładanych w związku z badaniem klinicznym produktu leczniczego oraz w sprawie wysokości i sposobu uiszczania opłat za rozpoczęcie badania klinicznego (Dz. U. Nr 201, poz. 1247), kierując się Zasadami Prawidłowego Prowadzenia Badań Klinicznych – GCP – opracowanymi w oparciu o Deklarację Helsińską.

Komisja, na posiedzeniu w dniu: 05 marca 2009 r.

rozpatrzyła wniosek, który przedstawiła Pani:

prof. UM dr hab. farm. Maria Chrzanowska

w sprawie prowadzenia badań w

Katedrze i Zakładzie Farmacji Fizycznej i Farmakokinetyki

UM w Poznaniu

Główny badacz: mgr farm. Jolanta Kamińska

**Członkowie zespołu
badawczego:**

**dr n. med. Maciej Głyda
prof. UM dr hab. Grażyna Duda**

Temat

**badania: "Kliniczne znaczenie badań farmakokinetycznych
mykofenolanu mofetylu i jego wpływ na stan odżywienia u
chorych po przeszczepieniu nerki".**

Komisja wyraża zgodę na prowadzenie badań

Przewodniczący Komisji

Prof. zw. dr hab. med. Zygmunt Przybylski

OŚWIADCZENIE

Niniejszym oświadczam, iż jestem autorem pracy **doktorskiej** p.t.:

"Kliniczne znaczenie badań farmakokinetycznych mykofenolanu mofetylu i jego wpływ na stan odżywienia u chorych po przeszczepieniu nerki".

Praca ta została przeze mnie napisana samodzielnie (bez jakiegokolwiek udziału osób trzecich), przy wykorzystaniu wykazanej w pracy literatury przedmiotu i materiałów źródłowych, stanowi ona pracę oryginalną, nie narusza praw autorskich oraz dóbr osobistych osób trzecich i jest wolna od jakichkolwiek zapożyczeń.

Oświadczam również, że wymieniona praca nie zawiera danych i informacji, które zostały uzyskane w sposób niedozwolony prawem oraz nie była dotychczas przedmiotem żadnej urzędowej procedury związanej z uzyskaniem stopnia **naukowego: doktor nauk farmaceutycznych**, a złożona przeze mnie dyskietka/płyta CD zawiera elektroniczny zapis przedstawionej przeze mnie pracy.

Jednocześnie oświadczam, że nieodpłatnie udzielam Uniwersytetowi Medycznemu im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu licencji do korzystania z wyżej wymienionej pracy bez ograniczeń czasowych i terytorialnych w zakresie obrotu nośnikami, na których pracę utrwalono przez: wprowadzanie do obrotu, użyczenie lub najem egzemplarzy w postaci elektronicznej a nadto upoważniam Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu do przechowywania i archiwizowania pracy w zakresie wprowadzania jej do pamięci komputera oraz do jej zwielokrotniania i udostępniania w formie elektronicznej oraz drukowanej.

Jolanta Kamińska



12.01.2011, Poznań

OŚWIADCZENIE

Wyrażam zgodę na udostępnienie mojej rozprawy doktorskiej w Czytelni Naukowej Biblioteki Głównej Uniwersytetu Medycznego im. K.Marcinkowskiego w Poznaniu oraz w formie elektronicznej w Wielkopolskiej Bibliotece Cyfrowej (www.wbc.poznan.pl).

Poznań, dnia...12.01.2011r.....

M. Kamińska

.....
(podpis)

ANKIETA

| Nr ankiety | Okres badań | Płeć | Wiek |
|------------|----------------------------|--|------|
| | wiosna-lato jesień-zima | kobieta <input type="checkbox"/> mężczyzna <input type="checkbox"/> | |

A. ZWYCZAJE ŻYWIENIOWE

| | |
|--|---|
| Liczba posiłków w ciągu dnia | 2 <input type="checkbox"/> 3 <input type="checkbox"/> 3 - 4 <input type="checkbox"/> 4 <input type="checkbox"/> 4 - 5 <input type="checkbox"/> 5 <input type="checkbox"/> |
| Regularność spożywania posiłków | tak <input type="checkbox"/> nie <input type="checkbox"/> |
| Spożywanie | I śniadanie <input type="checkbox"/> II śniadanie <input type="checkbox"/> obiad <input type="checkbox"/> podwieczorek <input type="checkbox"/> kolacja <input type="checkbox"/> |
| Długość przerw między posiłkami (godziny) | 2 <input type="checkbox"/> 3 <input type="checkbox"/> 4 <input type="checkbox"/> 5 <input type="checkbox"/> 6 <input type="checkbox"/> więcej <input type="checkbox"/> |
| Dojadanie między posiłkami (ile razy) | 0 <input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3 <input type="checkbox"/> >3 <input type="checkbox"/> |
| Spożywanie gorącego dania na obiad | tak <input type="checkbox"/> nie <input type="checkbox"/> |
| Czas spożycia ostatniego posiłku przed snem (godziny) | 1/2 <input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> >3 <input type="checkbox"/> |
| Apetyt w 3 ostatnich miesiącach | bez zmian <input type="checkbox"/> łagodna utrata <input type="checkbox"/> ciężka utrata <input type="checkbox"/> wzrost <input type="checkbox"/> |
| Ilość wypijanych płynów (szklanek) | 2 <input type="checkbox"/> 3 <input type="checkbox"/> 4 <input type="checkbox"/> 5 <input type="checkbox"/> 6 <input type="checkbox"/> 7 <input type="checkbox"/> |
| Ile razy w tygodniu w posiłku obiadowym występuje mięso | 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3 <input type="checkbox"/> 4 <input type="checkbox"/> 5 <input type="checkbox"/> 6 <input type="checkbox"/> 7 <input type="checkbox"/> nie spożywam <input type="checkbox"/> |
| Jakie produkty węglowodanowe występują <u>najczęściej</u> w posiłku obiadowym | ziemniaki, <input type="checkbox"/> makarony <input type="checkbox"/> ryż <input type="checkbox"/> kasze, <input type="checkbox"/> groch, fasola <input type="checkbox"/> |
| Jak często spożywa Pan (Pani) mleko, jogurty, sery | codziennie <input type="checkbox"/> sporadycznie <input type="checkbox"/> 3-4 razy w tygodniu <input type="checkbox"/> 1 raz w tygodniu, <input type="checkbox"/> nie spożywam <input type="checkbox"/> kilka razy w miesiącu <input type="checkbox"/> |
| Jak często spożywa Pan (Pani) warzywa | codziennie <input type="checkbox"/> sporadycznie <input type="checkbox"/> 3-4 razy w tygodniu <input type="checkbox"/> 1 raz w tygodniu, <input type="checkbox"/> nie spożywam <input type="checkbox"/> kilka razy w miesiącu <input type="checkbox"/> |

| | |
|---|--|
| Jak często spożywa Pan (Pani) owoce | codziennie <input type="checkbox"/> sporadycznie <input type="checkbox"/> 3-4 razy w tygodniu <input type="checkbox"/> 1 raz w tygodniu, <input type="checkbox"/> nie spożywam <input type="checkbox"/> kilka razy w miesiącu <input type="checkbox"/> |
| Jak często spożywa Pan (Pani) pieczywo ciemne | codziennie <input type="checkbox"/> sporadycznie <input type="checkbox"/> 3-4 razy w tygodniu <input type="checkbox"/> 1 raz w tygodniu, <input type="checkbox"/> nie spożywam <input type="checkbox"/> kilka razy w miesiącu <input type="checkbox"/> |
| Jak często spożywa Pan (Pani) nasiona roślin strączkowych (groch, fasola, soja, soczewica) | codziennie <input type="checkbox"/> sporadycznie <input type="checkbox"/> 3-4 razy w tygodniu <input type="checkbox"/> 1 raz w tygodniu, <input type="checkbox"/> nie spożywam <input type="checkbox"/> kilka razy w miesiącu <input type="checkbox"/> |
| Jaki rodzaj tłuszczu używa Pan (Pani) do smarowania pieczywa | masło <input type="checkbox"/> margaryna <input type="checkbox"/> mieszanki masła i margaryny (np. Finea, Masmix) <input type="checkbox"/> smalec <input type="checkbox"/> nie używam <input type="checkbox"/> |
| Czy stosuje Pan (Pani) jakąś dietę | nie <input type="checkbox"/> tak <input type="checkbox"/> (jaką)..... |
| Częstość picia kawy naturalnej szkl./dzień | nie <input type="checkbox"/> tak <input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3 <input type="checkbox"/> 4 <input type="checkbox"/> 5 <input type="checkbox"/> >5 <input type="checkbox"/> |
| Częstość picia herbaty czarnej szkl./dzień | nie <input type="checkbox"/> tak <input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3 <input type="checkbox"/> 4 <input type="checkbox"/> 5 <input type="checkbox"/> >5 <input type="checkbox"/> |
| Częstotliwość spożycia napojów alkoholowych (ile razy) | niskoprocentowych, wysokoprocentowych <input type="checkbox"/> / tydzień <input type="checkbox"/> / tydzień <input type="checkbox"/> / miesiąc <input type="checkbox"/> / miesiąc <input type="checkbox"/> / rok <input type="checkbox"/> / rok <input type="checkbox"/> wcale <input type="checkbox"/> wcale |
| Czy Pan (Pani) pali lub palił/a papierosy | nie <input type="checkbox"/> tak <input type="checkbox"/> - od jakiego wieku..... - przez ile lat..... - aktualnie..... - ile sztuk/dzień..... |

SPOŻYCIE PRODUKTÓW (w dniu poprzedzającym wywiad)

| produkt lub potrawa | Ilość (g) | produkt lub potrawa | Ilość (g) |
|---------------------|-----------|---------------------|-----------|
| | | | |
| | | | |
| | | | |
| | | | |
| | | | |
| | | | |
| | | | |
| | | | |
| | | | |
| | | | |
| | | | |
| | | | |
| | | | |
| | | | |
| | | | |
| | | | |
| | | | |
| | | | |
| | | | |
| | | | |

B. OCENA STANU ZDROWIA

| | |
|--|--|
| Subiektywna ocena stanu zdrowia | bardzo dobry <input type="checkbox"/> dobry <input type="checkbox"/> przeciętny <input type="checkbox"/> zły <input type="checkbox"/> |
| Czy występują zaparcia | tak <input type="checkbox"/> nie <input type="checkbox"/> |
| Czy występują biegunki | tak <input type="checkbox"/> nie <input type="checkbox"/> |
| Rodzaj aktywności fizycznej – minimum przez 30 minut (jak często?) | spacer <input type="checkbox"/> jazda na rowerze <input type="checkbox"/> pływanie <input type="checkbox"/> praca na działce <input type="checkbox"/> gimnastyka <input type="checkbox"/> <i>oznaczenia: codziennie - 1 raz w tygodniu - 2 raz w miesiącu - 3 kilka razy/mies. - 4 raz w roku - 5</i> |
| Cięnienie krwi (mmHg) | <input type="text"/> |
| Od ilu lat choruje Pan (Pani) na nerki | <input type="text"/> |
| Okres dializowania (w latach) | <input type="text"/> |

C. SUPLEMENTACJA

| | |
|--|--|
| Czy w ostatnim roku przyjmował (a) Pan (Pani) preparaty witaminowe i (lub) mineralne | nie <input type="checkbox"/> |
| | tak <input type="checkbox"/> |
| | okresowo <input type="checkbox"/> przez: 1 2 3 4 tygodnie/rok <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> |
| Nie stosuje Pan (Pani) preparatów witaminowych i (lub) mineralnych, ponieważ: | <ul style="list-style-type: none"> - dieta zawiera odpowiednią ilość witamin i składników mineralnych <input type="checkbox"/> - preparaty te mogą szkodzić zdrowiu <input type="checkbox"/> - preparaty te są zbyt drogie <input type="checkbox"/> - nie potrzebuję ich <input type="checkbox"/> |
| Przyjmuje Pan (Pani) preparaty witaminowe i (lub) mineralne, ponieważ: | <ul style="list-style-type: none"> - dieta nie dostarcza ich w odpowiedniej ilości <input type="checkbox"/> - preparaty te poprawiają stan zdrowia <input type="checkbox"/> - są niezbędne przy stosowanych lekach <input type="checkbox"/> - są reklamowane w TV, radio itp. <input type="checkbox"/> - wiem, że ich potrzebuję <input type="checkbox"/> |
| W jakiej porze roku najczęściej przyjmuje Pan (Pani) preparaty witaminowe i (lub) mineralne | Wiosna <input type="checkbox"/> Jesień <input type="checkbox"/> Lato <input type="checkbox"/> Zima <input type="checkbox"/> |
| Miejsce zakupu preparatów witaminowych i (lub) mineralnych | -apteka <input type="checkbox"/> - supermarket <input type="checkbox"/> sklep ze zdrową żywn. <input type="checkbox"/> - inne <input type="checkbox"/> -sklep spożywczy <input type="checkbox"/> |
| Na czyje zlecenie kupuje Pan (Pani) w/w preparaty | - lekarza <input type="checkbox"/> jest to moja decyzja <input type="checkbox"/> - stosujących je osób <input type="checkbox"/> -inne <input type="checkbox"/> |
| Na zakup preparatów przeznacza Pan (Pani) miesięcznie | <ul style="list-style-type: none"> - nieznaczną kwotę pieniędzy <input type="checkbox"/> - - znaczną kwotę pieniędzy <input type="checkbox"/> - - bardzo dużą kwotę pieniędzy <input type="checkbox"/> |
| | <ul style="list-style-type: none"> - ok. 1% dochodu <input type="checkbox"/> - 5-10% dochodu <input type="checkbox"/> - >10% dochodu <input type="checkbox"/> |