

Aus dem Fachbereich Medizin  
der Johann Wolfgang Goethe-Universität  
Frankfurt am Main

betreut am  
Zentrum der Inneren Medizin  
Medizinische Klinik I  
Direktor: Prof. Dr. Stefan Zeuzem

**Konversion einer Sirolimus- zu einer Everolimus-basierten  
Immunsuppression im Langzeitverlauf nach  
Lebertransplantation**

Dissertation  
zur Erlangung des Doktorgrades der Medizin  
des Fachbereichs Medizin  
der Johann Wolfgang Goethe-Universität  
Frankfurt am Main

vorgelegt von  
Nigar Bilge

aus Frankfurt am Main

Frankfurt am Main, 2017

Dekan: Prof. Dr. Josef Pfeilschifter  
Referent: Priv.-Doz. Dr. Walter-Martin Welker  
Korreferent/in: Prof. Dr. Wolf Otto Bechstein  
Tag der mündlichen Prüfung: 09.04.2018

I	Inhaltsverzeichnis	
<b>I</b>	<b>Inhaltsverzeichnis</b> .....	<b>3</b>
<b>II</b>	<b>Abkürzungen</b> .....	<b>5</b>
<b>III</b>	<b>Abbildungsverzeichnis</b> .....	<b>6</b>
<b>IV</b>	<b>Tabellenverzeichnis</b> .....	<b>7</b>
<b>1.</b>	<b>Einleitung</b> .....	<b>8</b>
1.1	Lebertransplantation: vom Konzept zur etablierten Therapieoption.....	8
1.2.	Immunsuppression nach Lebertransplantation heute.....	9
1.2.1	Calcineurin-Inhibitoren.....	9
1.2.2	Mycophenolatmofetil.....	11
1.2.3.	<i>mechanistic target of rapamycin</i> -Inhibitoren.....	11
1.2.3.1	Sirolimus.....	13
1.2.3.2	Everolimus.....	14
1.2.3.3	Unterschiede in Pharmakokinetik und Pharmakodynamik zwischen Sirolimus und Everolimus.....	14
1.3	Ziel der Arbeit.....	15
<b>2.</b>	<b>Methoden</b> .....	<b>17</b>
2.1	Patientenselektion.....	17
2.2	Studiendesign.....	18
2.3	Untersuchte klinische und laborchemische Parameter.....	19
2.4	Statistik.....	19
<b>3.</b>	<b>Ergebnisse</b> .....	<b>21</b>
3.1	Demographie und klinische Daten.....	21
3.2	Konversion von Sirolimus auf Everolimus.....	23
3.3	Klinischer Verlauf nach Umstellung.....	26
<b>4.</b>	<b>Diskussion</b> .....	<b>32</b>
4.1.	Methodenkritik.....	32

4.1.1	Studiendesign.....	32
4.1.2	Auswahl der statistischen Methoden.....	33
4.2.	Klinische Bedeutung der Konversion einer Sirolimus-basierten auf eine Everolimus-basierte Immunsuppression.....	34
4.2.1	Klinischer Verlauf und Beurteilung des Rejektionsrisikos im Rahmen der Konversion von Sirolimus zu Everolimus.....	34
4.2.2.	Analyse mTOR-spezifischer Laborveränderungen und Erkrankungen im Rahmen der Konversion von Sirolimus zu Everolimus .....	36
4.2.2.1	Veränderungen metabolischer Komorbiditäten.....	36
4.2.2.2	Veränderungen im Blutbild .....	37
4.2.2.3	Verlauf von Nierenfunktion und Proteinurie.....	38
4.2.3	Praktische Aspekte der Konversion von Sirolimus zu Everolimus.....	38
4.2.4	Klinische Vorteile und Nachteile einer Umstellung einer Sirolimus-basierten auf eine Everolimus-basierte Immunsuppression.....	39
4.3	Schlussfolgerungen.....	41
<b>5.</b>	<b>Zusammenfassung.....</b>	<b>42</b>
<b>6.</b>	<b>Abstract.....</b>	<b>43</b>
<b>7.</b>	<b>Literaturverzeichnis.....</b>	<b>44</b>
<b>8.</b>	<b>Tabellarischer Lebenslauf.....</b>	<b>59</b>
<b>9.</b>	<b>Schriftliche Erklärung.....</b>	<b>60</b>
<b>10.</b>	<b>Danksagung.....</b>	<b>61</b>

## II Abkürzungen

ALT	Alanin-Aminotransferase
AST	Aspartat-Aminotransferase
CDK	Cyclin-abhängige Kinasen
CNI	Calcineurin-Inhibitor
CMV	Cytomegalievirus
EDTA	Ethylendiamintetraacetat
EMA	Europäische Arzneimittel-Agentur
FDA	Food and Drug Administration
FKBP12	FK506 bindendes Protein-12
GGT	Gamma-Glutamyltransferase
HDL	High-Density-Lipoprotein
INR	International Normalized Ratio
J. W.	John Wilder
LDL	Low-Density-Lipoprotein
MDRD	Modification of Diet in Renal Disease
MELD	Model of End Stage Liver Disease
mTOR	Mechanistic target of rapamycin

### III Abbildungsverzeichnis

Abb. 1	Studiendesign.....	18
Abb. 2	Altersverteilung bei Umstellung der Immunsuppression und Geschlechtsverteilung.....	21
Abb. 3	Indikationen zur Lebertransplantation.....	22
Abb. 4	Boxplotdarstellung der Dynamik der Bilirubin- Serumkonzentration in mg/dl im Rahmen der Konversion von Sirolimus zu Everolimus.....	29
Abb. 5	Boxplotdarstellung der Dynamik der ALT-Serumkonzentration in U/L im Rahmen der Konversion von Sirolimus zu Everolimus.....	30
Abb. 6	Boxplotdarstellung der Dynamik der AST- Serumkonzentration in U/L im Rahmen der Konversion von Sirolimus zu Everolimus .....	30
Abb. 7	Boxplotdarstellung der Dynamik der Triglycerid- Serumkonzentration in mg/dl im Rahmen der Konversion von Sirolimus zu Everolimus.....	31
Abb. 8	Boxplotdarstellung der Dynamik der Leukozyten-Anzahl pro nl im Rahmen der Konversion von Sirolimus zu Everolimus ...	31

## IV Tabellenverzeichnis

Tab. 1	Untersuchte klinische und laborchemische Parameter mit Messeinheit.....	20
Tab. 2	Umstellung von Sirolimus zu Everolimus - Dosierung.....	24
Tab. 3	Umstellung von Sirolimus zu Everolimus - Dosisratio und Dosisanpassung.....	25
Tab. 4.	Talspiegel von Sirolimus und Everolimus im Rahmen der Konversion.....	26
Tab. 5	Friedman-Analyse der laborchemischen und klinischen Parameter.....	28

## 1. Einleitung

Die Lebertransplantation stellt eine potentiell lebensrettende Therapie bei schwerwiegenden Lebererkrankungen dar und erfordert zugleich eine suffiziente und geeignete Immunsuppression.

### 1.1 Lebertransplantation: vom Konzept zur etablierten Therapieoption

Grundlegend für jede solide Organtransplantation war die Entwicklung der Gefäßnaht durch den Chirurgen Alexis Carrel um 1900<sup>1</sup>. Anfang der 1940-er Jahre entdeckte Peter Brian Medawar, dass es sich bei Abstoßungen um ein immunologisches Ereignis handelt<sup>2</sup>. Eine Pionierleistung war die heterotope Lebertransplantation bei einem Hund durch den Amerikaner Goodrich im Jahr 1956<sup>3</sup>. Aufbauend auf diesem und weiteren tierexperimentellen Erkenntnissen, führte der Chirurg Thomas E. Starzl im Jahr 1963 erstmalig eine orthotope Lebertransplantation bei einem Menschen durch. Bei dem Patienten handelte es sich um einen dreijährigen Jungen. Die Lebertransplantation wurde technisch erfolgreich durchgeführt, jedoch verstarb das Kind bereits kurz nach der Transplantation aufgrund einer Gerinnungsstörung mit unkontrollierbarer Blutung. Erst 1967 glückte Starzl in Denver die erste klinisch erfolgreiche Lebertransplantation bei einem anderthalb jährigen Mädchen mit einem Überleben von mehr als 13 Monaten. Das Kind verstarb jedoch an Folgen eines hepatozellulären Karzinoms mit rezidivierenden Metastasen<sup>4</sup>. Der Erfolg dieser und weiterer Lebertransplantationen in den Jahren 1967 und 1968 war auch das Ergebnis einer weiterentwickelten Immunsuppression. Diese wurde mit Azathioprin, Glukokortikoiden und zusätzlich Antithymozytenglobulin durchgeführt<sup>5</sup>.

In Deutschland erfolgte die erste orthotope Lebertransplantation 1969 durch Alfred Gütgemann in der Chirurgischen Universitätsklinik Bonn, bei der die Leber einer 31-jährigen, hirntoten Spenderin einem 30-jährigen Patienten bei hepatozellulären Karzinom erfolgreich transplantiert wurde. Der Empfänger überlebte 205 Tage, verstarb aber an den Folgen einer chronisch progredienten Rejektion, die mit den damaligen immunsuppressiven Medikamenten nicht beherrschbar war, sowie infektiologischen Komplikationen<sup>6,7</sup>.



Obwohl die Lebertransplantation zunehmend eingesetzt wurde, betrug 1970 die 1- bzw. 2-Jahres-Überlebensraten 8,2 % bzw. 2,2 % bei 109 weltweit durchgeführten Lebertransplantationen<sup>4</sup>. Grund dafür war neben dem damaligen Stand der Chirurgie und Intensivmedizin vor allem das Fehlen einer wirksameren Immunsuppression.

Nachfolgend war das Ziel Immunsuppressiva zu entwickeln, die eine suffiziente Immunsuppression gewährleisten und zugleich gut verträglich sind. Die Entdeckung wirksamer Immunsuppressiva war Voraussetzung für den Erfolg der Transplantationsmedizin.

## 1.2. Immunsuppression nach Lebertransplantation heute

Alle zugelassenen Regime zur Rejektionsprophylaxe nach Lebertransplantation enthalten eine Kombination aus mindestens zwei verschiedenen Immunsuppressiva einschließlich eines Calcineurin-Inhibitors (CNI). Zugelassene CNI sind Ciclosporin A und Tacrolimus. Als Kombinationspartner werden Mycophenolatmofetil, Glukokortikoide sowie Everolimus eingesetzt<sup>8,9</sup>. Moderne Konzepte verfolgen das Ziel, in der Frühphase nach Lebertransplantation die CNI-Exposition zu verringern. Dies kann durch verzögerten Beginn einer CNI-Therapie, niedrigere CNI-Talspiegel schon in den ersten Monaten nach Lebertransplantation oder eine Kombination beider Strategien erreicht werden<sup>10-12</sup>. Hierzu stehen die Durchführung einer perioperativen Induktionstherapie und die Kombination des CNI mit anderen stark wirksamen Immunsuppressiva in der Dauertherapie zur Verfügung<sup>8,13,14</sup>. Zur Induktionstherapie werden Antikörper gegen den Interleukin-2-Rezeptor (CD25), wie Basiliximab oder Daclizumab, eingesetzt<sup>15</sup>.

### 1.2.1 Calcineurin-Inhibitoren

Zu den CNI zählen Ciclosporin A und Tacrolimus. Ciclosporin A ist ein zyklisches Polypeptid und Metabolit des Pilzes *Tolypocladium inflatum* gams und Tacrolimus ist ein aus *Streptomyces tsukubaensis* isoliertes Makrolid<sup>16,17</sup>. Erstmals wurde Ciclosporin A als Immunsuppressivum 1979 durch Calne bei zwei Patienten nach Lebertransplantation erfolgreich angewandt<sup>18</sup>. Im Vergleich zu den vorherigen Erfahrungen ohne den Einsatz von Ciclosporin A,

fürte der zusätzliche Einsatz von Ciclosporin A in Kombination mit Azathioprin und Glukokortikoiden zu einer Verdopplung der Transplantat- und Patientenüberlebensraten<sup>4</sup>. Durch die Einführung von Ciclosporin A als Basis der Immunsuppression gelang es nachfolgend, das Überleben nach Lebertransplantation nachhaltig zu verbessern. Starzl setzte erstmals Tacrolimus 1989 bei Patienten nach Lebertransplantation als Alternative zur Ciclosporin A ein<sup>19</sup>. Tacrolimus wurde 1994 durch die *Food and Drug Administration* (FDA), der Behörde für Lebens- und Arzneimittel, und im Jahr 1998 durch die Europäische Arzneimittel-Agentur (*European Medicines Agency*, EMA) zur Immunsuppression nach Lebertransplantation zugelassen<sup>20,21</sup>.

Aufgrund der Wirkweise auf zelluläre Ebene werden Ciclosporin A und Tacrolimus als CNI bezeichnet. Obwohl sich beide Substanzen hinsichtlich des Nebenwirkungsprofils etwas unterscheiden, werden viele unerwünschte Wirkungen wie Nephrotoxizität heute als Klasseneffekt interpretiert<sup>22</sup>. Diese umfassen unter anderem kardiovaskuläre Erkrankungen, Nierenerkrankungen und ein erhöhtes Malignitätsrisiko<sup>23,24</sup>. Deswegen bestanden und bestehen Bemühungen, neue Immunsuppressiva zu entwickeln, um Nebenwirkungen der immunsuppressiven Therapie zu minimierten ohne das Rejektionsrisiko zu erhöhen.

Durch Interaktion von CNI mit dem zytoplasmatischen Immunophilinen Cyclophilin A und FK-bindende Protein 12 (FKBP12) wird Calcineurin inaktiviert, wodurch die Calcineurin-abhängige Dephosphorylierung des Transkriptionsfaktors *nuclear factor of activated T cells* verhindert und somit die Interleukin-2 Produktion und die Produktion von weiteren Zytokinen inhibiert wird<sup>25-29</sup>. Somit werden die nachfolgenden Interleukin-2 vermittelten T-Zell-Proliferationen verhindert und die zelluläre Immunantwort reduziert.

Zu den klinisch bedeutsamsten Nebenwirkungen der CNI zählen Nephrotoxizität, arterielle Hypertonie, Hyperglykämien und Neurotoxizität. Zudem ist die Einnahme von CNI mit der Entstehung maligner Erkrankungen assoziiert<sup>8</sup>. Die erwünschte immunsuppressive Wirkung ist zudem immanent mit einer reduzierten Immunabwehr und dementsprechend erhöhtem Risiko für eventuell auch schwer verlaufende Infektionen assoziiert.

Die Nebenwirkungsprofile von Ciclosporin A und Tacrolimus unterscheiden sich darin, dass bei Tacrolimus eine höhere Inzidenz von Diabetes mellitus und

Alopezie besteht<sup>30</sup>. Bei Einsatz von Ciclosporin A sind die Inzidenzen für Gingivahyperplasien und Hirsutismus erhöht<sup>31</sup>. Die CNI-induzierte Nephrotoxizität wird derzeit dagegen als Klasseneffekt interpretiert<sup>23,32</sup>.

Ciclosporin A und Tacrolimus werden in der Leber über das Cytochrom P450 3A4-Isoenzym metabolisiert. Folge ist eine Vielzahl von Interaktionen mit anderen Medikamenten, die dem Abbauprozess des Cytochroms P450 3A4-Isoenzym unterliegen<sup>16</sup>.

### 1.2.2 Mycophenolatmofetil

Mycophenolatmofetil ist ein Morpholinoäthylester der Mycophenolsäure und somit ein Vorstufenmedikament der Mycophenolsäure, welches die eigentliche Wirksubstanz ist<sup>33</sup>. Die immunsuppressive Wirkung resultiert aus Hemmung der Inosinmonophosphat-Dehydrogenase, einem Schlüsselenzym im Rahmen der Purinstoffwechsel laufenden Guanosinsynthese<sup>34</sup>. Dadurch erfolgt ein selektiver zytotoxischer Effekt auf Lymphozyten, da diese zur Proliferation auf die *de novo* Purinsynthese angewiesen sind<sup>35,36</sup>.

Im Jahr 1996 wurde Mycophenolatmofetil in Kombination mit Ciclosporin A und Glukokortikoiden durch die EMA zur Rejektionsprophylaxe nach Lebertransplantation zugelassen<sup>37</sup>. Im Gegensatz zu CNI ist die Einnahme von Mycophenolatmofetil nicht mit einer Nephrotoxizität assoziiert.

Mycophenolatmofetil ist aber unter anderem mit metabolischen Erkrankungen wie Hypercholesterinämie und Hyperurikämie assoziiert<sup>38-40</sup>. Zudem kann Mycophenolatmofetil hämatologische Nebenwirkungen wie Anämie, Leukozytopenie sowie Thrombozytopenie verursachen. Diese werden auf einen direkten myelosuppressiven Effekt des Mycophenolatmofetils zurückgeführt<sup>41,42</sup>. Außerdem führt Mycophenolatmofetil häufig zu gastrointestinalen Nebenwirkungen wie Übelkeit, Erbrechen und Diarrhoe, einschließlich seltener Fälle von gastrointestinalen Ulcera, Blutungen und Perforationen<sup>40,43,44</sup>.

### 1.2.3. *mechanistic target of rapamycin* -Inhibitoren

Das *mechanistic target of rapamycin* (*mTOR*), Ziel von Rapamycin im Säugetier, ist eine Serin-Threonin Kinase mit einem molekularen Gewicht von 289 Kilo-Dalton, welches ubiquitär im Zellplasma vorkommt<sup>45</sup>. Die Aktivierung

von mTOR wird durch extrazelluläre Liganden wie Wachstumsfaktoren reguliert<sup>46,47</sup>.

Der mTOR-Komplex regelt zentrale Zellsteuerungsmechanismen und führt zur Aktivierung von Translationsprozessen, die eine Zellproliferation regulieren. Die Untereinheiten des mTOR-Komplexes, die mTOR-Kinasen, gehören zur Gruppe der Phosphoinositid-3-Kinasen welche mit mehreren Proteinen interagieren und dabei in unterschiedlichen Signalwegen in der Zelle beteiligt sind<sup>48,49</sup>.

Zum einen ist die Aktivierung der p70S6 Kinase durch Beteiligung der Phosphoinositid-abhängigen Kinase-1 zu nennen. Die aktivierte p70S6 Kinase phosphoryliert das 40S ribosomale Protein. Die 40S ribosomalen Untereinheiten werden dadurch in aktive Polysome überführt und wodurch ein Anstieg der ribosomalen Proteinsynthese erfolgt<sup>50</sup>.

Eine weitere Signalkette, an der mTOR beteiligt ist und dadurch Translationsvorgänge einleiten kann, ist durch die Aktivierung des Translations-Initiationsfaktor 4E-bindendes Protein 1 bedingt<sup>49,51</sup>. Die eingeleiteten Translationsvorgänge führen zur vermehrten Bildung ribosomaler Proteine. Vorwiegend sind hierbei Messenger-RNA-Moleküle beteiligt die für Proteine codieren welche im Zellzyklus den Übergang von der G1- zur S-Phase justieren<sup>52</sup>.

Außerdem wird über mTOR-Signalweg der Übergang von der G1- in die S-Phase durch Hochregulation vom Cyclin-abhängige Kinase (CDK)4/Cyclin D-Komplex und der CDK2/Cyclin E-Komplex moduliert. Anschließend wird dadurch unter anderem das Retinoblastomprotein aktiviert, das zur Synthese der Schlüsselmoleküle des Zellzyklus CDK2 und Cyclin A führt. Nachfolgend führen die Zellzyklusproteine CDK2 und Cyclin A zur Zellzyklusprogression<sup>53</sup>.

Mit der Entdeckung von Sirolimus, einem mTOR-Inhibitor, welcher aus Streptomyceten einer Bodenprobe von der Osterinsel isoliert wurde, und später Everolimus entstand eine neue Immunsuppressions-Stoffklasse<sup>54</sup>.

Wie Tacrolimus binden mTOR-Inhibitoren an den intrazellulären Rezeptor FKBP12<sup>55</sup>. Jedoch hemmt dieser Komplex nicht wie Tacrolimus das Calcineurin, sondern inhibiert die Aktivität des ubiquitär im Zellplasma vorkommenden mTOR-Komplexes<sup>50,56-58</sup>. Es wird eine Konformationsänderung des mTOR-Komplexes mit Blockade der spezifischen Serin-Threonin-

Proteinkinase angenommen, wodurch die Erreichbarkeit der Substrate im aktiven Zentrum erschwert wird<sup>50,56</sup>.

Die Folge der Inhibierung von mTOR ist eine Hemmung der Zytokin-Gen-Expression, wodurch die Aktivierung und Proliferation von T-Lymphozyten inhibiert wird. Zudem hemmt Sirolimus die T-Lymphozyten-Proliferation durch einen Arrest im Zellzyklus beim Übergang von der G1- in die S-Phase<sup>52,56</sup>.

Ebenfalls von Bedeutung ist, dass mTOR-Inhibitoren eine anti-angiogene Aktivität aufweisen, indem die Produktion des vaskulären endothelialen Wachstumsfaktors gehemmt wird<sup>59,60</sup>. Im Vergleich zu Ciclosporin A und Tacrolimus scheinen mTOR-Inhibitoren weniger nephrotoxisch zu sein<sup>61</sup>. Allerdings kann sich unter mTOR-Inhibition eine Proteinurie erstmanifestieren oder verschlechtern<sup>62</sup>. Zu den weiteren unerwünschten Wirkungen von mTOR-Inhibitoren zählt eine Knochenmarktoxizität mit möglicher Leukopenie, Thrombozytopenie und Anämie<sup>63,64</sup>. Es können Störungen im Lipidhaushalt mit Hypercholesterinämie und Hypertriglyceridämie auftreten<sup>65</sup>. Auch das Neuauftreten eines Diabetes mellitus und die Exazerbation eines bereits bestehenden Diabetes mellitus sind möglich<sup>66,67</sup>.

### 1.2.3.1 Sirolimus

Sirolimus ist ein 31-gliedriges Makrolidantibiotikum, welches in den 1970er-Jahren aus *Streptomyces hygroscopicus* aus einer Bodenprobe in Rapa Nui, allgemein bekannt als die Osterinsel, isoliert wurde<sup>54</sup>. Ursprünglich wurde Sirolimus als Antiinfektivum mit antimykotischer Wirkung identifiziert<sup>68</sup>. Mehrere Studien bestätigten zudem eine antiproliferative Wirkung bei einem breiten Spektrum von Tumorerkrankungen<sup>60,69-73</sup>. Ein immunsuppressiver Effekt konnte zunächst *in vitro* durch die antiproliferative Wirkung auf B- und T-Lymphozyten bewiesen werden<sup>52,74,75</sup>.

Sirolimus wurde 2001 durch die EMA als Immunsuppressivum zur Prophylaxe einer Organabstoßung nach Nierentransplantation zugelassen. Aufgrund von Arteria hepatica-Thrombosen im initialen Studienprogramm zur Rejektionsprophylaxe nach Lebertransplantation wurde Sirolimus für diese Indikation nicht zugelassen. Durch die FDA wurde für Sirolimus sogar ein Warnhinweis in die entsprechende Fachinformation aufgenommen, dass

Sirolimus nach Lebertransplantation nicht eingesetzt werden darf. Dennoch wurde Sirolimus in Ermangelung von Alternativen als Reserve-Immunsuppressivum nach Lebertransplantation eingesetzt, vor allem bei CNI-Nephrotoxizität, malignen Erkrankungen oder individueller CNI-Unverträglichkeit<sup>75-82</sup>. In einer aktuellen, prospektiven Studie wurde Sirolimus bei Patienten mit hepatozellulärem Karzinom vor Lebertransplantation eingesetzt. Ein Vorteil für das Rezurrenz-freie Überleben und das Gesamtüberleben fand sich nur für eine Untergruppe der Patienten. Jedoch war eine früh nach Lebertransplantation begonnene Immunsuppression mit Sirolimus sicher und es fand sich kein gehäuftes Auftreten von Arteria hepatica-Thrombosen<sup>77</sup>.

### 1.2.3.2 Everolimus

Everolimus ist ein 40-O-[2-Hydroxyethyl] Derivat von Sirolimus<sup>83</sup>, das heißt anstelle eines Wasserstoffatoms an der Position 40 besitzt Everolimus eine 2-Hydroxyethyl-Kette. Dadurch wurden unter anderem die Löslichkeit und die orale Bioverfügbarkeit modifiziert<sup>84</sup>.

Everolimus wurde im Jahr 2003 durch die FDA und EMA zur Rejektionsprophylaxe nach Nieren-, Lungen- und Herztransplantationen zugelassen<sup>85-88</sup>. In prospektive Studien wurden Sicherheit und Effektivität von Everolimus in Kombination mit CNI zur Rejektionsprophylaxe nach Lebertransplantation gezeigt<sup>89,90</sup>. Die Zulassung zur Rejektionsprophylaxe nach Lebertransplantation durch die EMA erfolgte 2012. Eine Mono-Immunsuppression mit Everolimus ist möglich, jedoch mit einem erhöhten Rejektionsrisiko assoziiert und gemäß Fachinformation nicht empfohlen<sup>89,91,92</sup>.

### 1.2.3.3 Unterschiede in Pharmakokinetik und Pharmakodynamik zwischen Sirolimus und Everolimus

Durch das Einfügen einer 2-Hydroxyethyl-Kette an Position 40 anstelle eines Wasserstoffatoms bei Everolimus, ist Everolimus im Vergleich zu Sirolimus hydrophiler und hat eine um etwa 10%-16% höhere Bioverfügbarkeit als Sirolimus<sup>83,93</sup>. Dadurch unterscheiden sich beide Moleküle in ihrer Pharmakokinetik, Bioverfügbarkeit und in der Halbwertszeit<sup>94</sup>. Sirolimus besitzt

eine orale Bioverfügbarkeit von etwa 17%<sup>95</sup>. Die Zeit bis zum Anfluten der maximalen Konzentration von Everolimus wird dabei mit 1,3-1,8 Stunden angegeben<sup>96</sup>. Die Halbwertszeit von Sirolimus beträgt 62±16 Stunden, wobei Everolimus Halbwertszeit von 24-35 Stunden besitzt<sup>97,98</sup>. Sirolimus erreicht innerhalb von sechs Tagen einen konstanten Plasmaspiegel, wobei Everolimus diesen bereits nach vier Tagen erreicht<sup>94</sup>. Die Affinität von Everolimus zu FKBP12 ist niedriger als die von Sirolimus. Eine Hemmung von FKBP12 um 50% wird erst bei einer dreifach höheren Dosis erreicht<sup>99</sup>.

Mit den Unterschieden in der Hydrophilie zwischen Everolimus und Sirolimus wird auch eine unterschiedliche Verteilung intrazellulär und im Gewebe, sowie unterschiedliche Affinitäten zu aktiven Arzneimitteltransportern erklärt<sup>100</sup>. Sirolimus ist bis zu 95% auf Erythrozyten verteilt und befindet sich lediglich zu 3% im Plasma, 1% auf Lymphozyten und 1% auf Granulozyten<sup>101</sup>. Das Blut-zu-Plasma-Verhältnis von Everolimus ist konzentrationsabhängig und weist bei einer Konzentrations-Spanne von 5-5000 ng/ml 17-73% auf. Everolimus ist zu mehr als 75% auf Erythrozyten verteilt. Bei Probanden ohne Einschränkung der Leberfunktion als auch bei Probanden mit moderater Einschränkung, ist ungefähr 75% der Plasmafraktion an Proteine gebunden<sup>33</sup>. In einer Studie welche die biochemischen Mechanismen im zentralen Nervensystem von Versuchstieren untersucht und hierbei die Effekte von Sirolimus und Everolimus vergleicht, erbrachte das Ergebnis, dass sich Everolimus, im Gegensatz zu Sirolimus, in den Mitochondrien des ZNS verteilen kann<sup>102</sup>. Eine weitere Studie zeigt unterschiedliche Affinitätsmuster zu aktiven Efflux-Transportern zwischen Sirolimus und Everolimus<sup>103</sup>.

### 1.3 Ziel der Arbeit

Am Universitätsklinikum Frankfurt wurde in individuell erforderlichen Fällen bis Ende 2012 Sirolimus als immunsuppressive Therapie nach Lebertransplantation eingesetzt. Nach der Zulassung von Everolimus 2012 erfolgte die Umstellung der Patienten, welche zuvor Sirolimus erhielten, auf eine Everolimus-basierte Immunsuppression. Obwohl weltweit vor der Entwicklung, respektive Zulassung von Everolimus viele Patienten nach Lebertransplantation mit Sirolimus behandelt wurden, wurde die Umstellung

einer Sirolimus-basierten auf eine Everolimus-basierte Immunsuppression nach Lebertransplantation bislang nicht systematisch untersucht<sup>104</sup>. Deswegen gibt es auch keine Empfehlungen zur Dosisfindung für Everolimus im Rahmen dieser Konversion.

Ziel dieser Arbeit war die systematische Analyse klinischer und pharmakologischer Daten im Rahmen einer Umstellung einer mTOR-Inhibitor-basierten Immunsuppression von Sirolimus auf Everolimus mit besonderer Berücksichtigung von Transplantatfunktion, Nierenfunktion und eventueller Nebenwirkungen.



## 2. Methoden

Es erfolgte eine monozentrische, retrospektive Analyse klinischer und laborchemischer Daten von Patienten nach Lebertransplantation, bei denen eine Sirolimus-basierte auf eine Everolimus-basierte Immunsuppression umgestellt worden war.

### 2.1 Patientenselektion

Die in dieser Arbeit untersuchten Patienten gehören zu einer Kohorte von Patienten, die in das ambulante Nachsorgeprogramm des Universitätsklinikums Frankfurt aufgenommen wurden. Die Patienten hatten nach einer Aufklärung schriftlich der Auswertung der bereits erhobenen Befunde zu wissenschaftlichen Zwecken im Rahmen des Aufbaus einer Biomaterialbank am Universitätsklinikum Frankfurt mit dem Namen: „Aufbau einer Biomaterialbank und eines Patientenkollektivs zur Evaluation von Infektionskrankheiten vor und nach solider Organtransplantation in Korrelation mit anderen Einflussfaktoren der chronischen Transplantatdysfunktion“ zugestimmt, wobei die Aufklärung im Rahmen der klinischen Routineversorgung erfolgte. Für die Einführung der Datenbank aller Patienten vor und nach Lebertransplantation sowie für die vorgelegte Dissertation wurde die Zustimmung der Ethikkommission der Universitätsklinik Frankfurt eingeholt (Beschluss-Nr. 268/13 / Projekt-Nr. 0002). Aus der Gesamtkohorte der Patienten vor und nach Lebertransplantation, wurden alle Patienten identifiziert, die Sirolimus zur Immunsuppression nach Lebertransplantation erhalten hatten und nach Zulassung von Everolimus 2012 von Sirolimus auf Everolimus umgestellt worden waren. Zudem umfasste das Ethikvotum auch die Auswertung von Daten eventuell verstorbener Patienten, um einen eventuellen Bias zu vermeiden.

## 2.2 Studiendesign

Der Beobachtungszeitraum betrug zwölf Monate. Zu vier Zeitpunkten wurden Anamnese, klinische Untersuchung und Laborkontrollen ausgewertet (Abbildung 1).

Der erste Zeitpunkt T1, an dem die Patienten untersucht wurden, lag drei Monate vor der Umstellung und spiegelte demnach den Zeitraum der vorangegangenen drei Monate mit einer immunsuppressiven Therapie mit Sirolimus wieder. Der zweite Zeitpunkt T2 zum Zeitpunkt der Umstellung reflektierte wiederum den klinischen Verlauf der vergangenen 3 Monate unter Sirolimus wieder, so dass der Beobachtungszeitraum unter Sirolimus insgesamt sechs Monate betrug. Zugleich wurde zum Zeitpunkt T2 die Umstellung durchgeführt und die Patienten erhielten nachfolgend Everolimus. Der dritte Zeitpunkt T3 an dem die Patientendaten erhoben wurden, lag drei Monate nach der Umstellung und repräsentiert daher den Verlauf der ersten drei Monate unter Everolimus. Der vierte Zeitpunkt T4, sechs Monate nach Umstellung, dokumentiert den Verlauf der weiteren drei Monate unter der immunsuppressiven Therapie mit Everolimus.

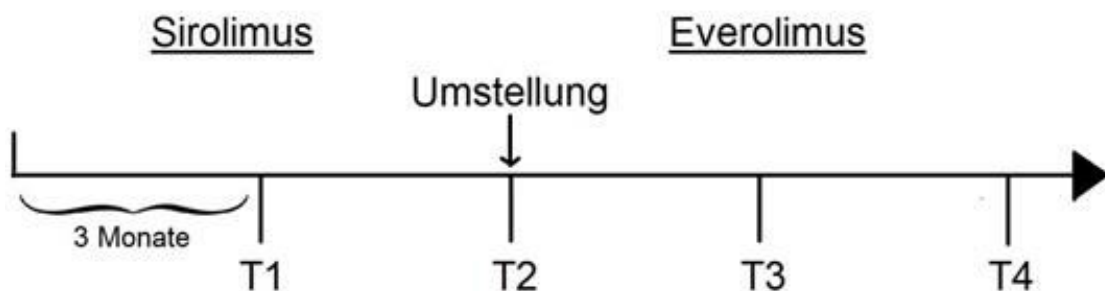


Abbildung 1: Studiendesign

Darstellung des Studiendesigns in Form eines Zeitstrahls. Der Zeitraum zwischen zwei aufeinanderfolgenden Untersuchungszeitpunkten beträgt drei Monate.

### 2.3 Untersuchte klinische und laborchemische Parameter

Retrospektiv wurden Anamnese, klinische Daten inklusive nicht-invasiver Blutdruckmessung und laborchemische Parameter zu den Zeitpunkten T1, T2, T3 und T4 erfasst und ausgewertet. Detailliert wurden zudem die Gesamttagesdosen von Sirolimus und Everolimus und eventuelle Dosisanpassungen ermittelt. Ein besonderes Augenmerk lag auf der Analyse eventueller Organabstoßungen während des Studienzeitraums, sowie eventueller Cytomegalievirus (CMV)-Virämien. Details sind in Tabelle 1 genannt.

### 2.4 Statistik

Die statistische Analyse erfolgte in Zusammenarbeit mit dem Institut für Biostatistik und Mathematische Modellierung der Universitätsklinik Frankfurt. Für entsprechende Berechnungen wurde die Software *Statistical Package for Social Sciences* (SPSS für Windows, Version 23) genutzt.

Die erfassten Parameter wurden mithilfe des Friedman-Tests verglichen und eine Post-hoc-Analyse zwischen den Zeitpunkten T1 bis T4 durchgeführt.

Als Signifikanzniveau wurde für alle Testverfahren eine Irrtumswahrscheinlichkeit von weniger als 5% ( $p < 0,05$ ) festgelegt.

Tabelle 1: Untersuchte klinische und laborchemische Parameter mit Messeinheit

<b>Laborparameter</b>	<b>Material</b>	<b>Einheit</b>
<b>Kalium</b>	Serum	mmol/l
<b>Cholesterin</b>	Serum	mg/dl
<b>High-Density-Lipoprotein</b>	Serum	mg/dl
<b>Low-Density-Lipoprotein</b>	Serum	mg/dl
<b>Triglyceride</b>	Serum	mg/dl
<b>Glucose</b>	Serum	mg/dl
<b>Harnsäure</b>	Serum	mmol/ml
<b>Aspartat-Aminotransferase</b>	Serum	U/L
<b>Alanin-Aminotransferase</b>	Serum	U/L
<b>Alkalische Phosphatase</b>	Serum	U/L
<b>Gamma-Glutamyl-Transferase</b>	Serum	U/l
<b>Bilirubin</b>	Serum	mg/dl
<b>Albumin</b>	Serum	g/dl
<b>International Normalized Ratio</b>	Heparin- Plasma	%
<b>HbA1c</b>	EDTA-Blut	% Hb
<b>Leukozyten Anzahl</b>	EDTA-Blut	/nl
<b>Erythrozyten Anzahl</b>	EDTA-Blut	/nl
<b>Hämoglobin</b>	EDTA-Blut	g/dl
<b>Thrombozyten Anzahl</b>	EDTA-Blut	/nl
<b>Sirolimus-Talspiegel</b>	EDTA-Blut	ng/ml
<b>Everolimus-Talspiegel</b>	EDTA-Blut	ng/ml
<b>Albumin</b>	Urin	mg/l
<b>Geschätzte glomeruläre Filtrationsrate nach MDRD-Formel</b>	berechnet	ml/min/1,73 m <sup>2</sup>
<b>Systolischer und diastolischer Blutdruck</b>	nicht zutreffend	mmHg

### 3. Ergebnisse

Im Folgenden sind die demographischen, klinischen und laborchemischen Analysen dargelegt.

#### 3.1 Demographie und klinische Daten

Es wurden 16 Patienten in die Studie eingeschlossen. Das Alter der eingeschlossenen Patienten zum Zeitpunkt der Umstellung betrug im Median (Minimum-Maximum) 66 (49-78) Jahre (Abbildung 2). Die Patienten wurden im Median (Minimum-Maximum) 10 (4-22) Jahre nach Lebertransplantation von einer Sirolimus-basierten auf eine Everolimus-basierte Immunsuppression umgestellt.

Die Geschlechtsverteilung war ausgeglichen mit 8 Frauen und 8 Männern (Abbildung 2). Das Alter bei Lebertransplantation betrug im Median (Minimum-Maximum) 57 (34-69) Jahre. Alle Lebertransplantationen waren mittels postmortalen Organspende erfolgt.

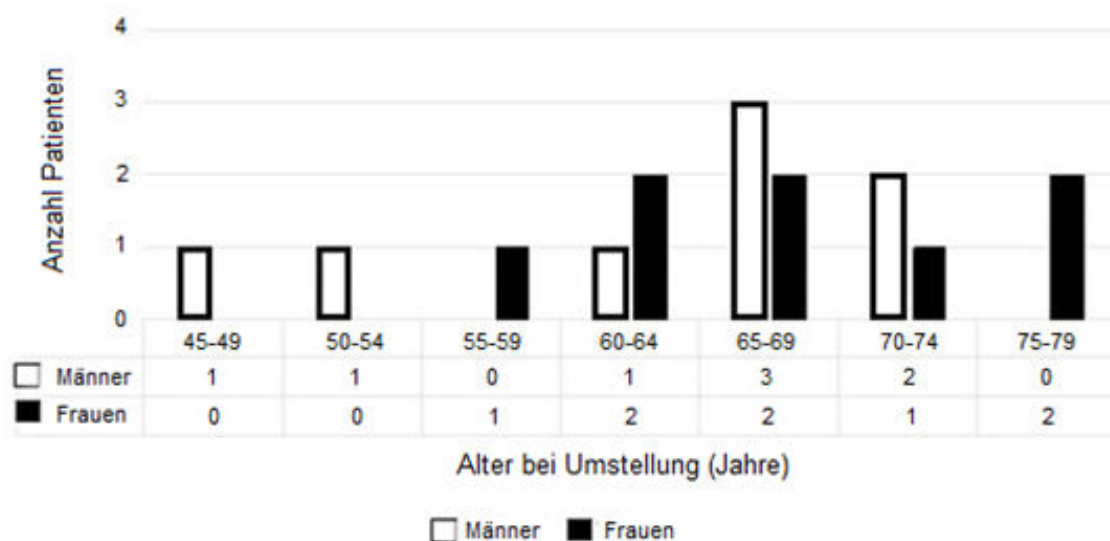


Abbildung 2: Altersverteilung bei Umstellung der Immunsuppression und Geschlechtsverteilung

In der Abbildung werden die Altersverteilung, zum Zeitpunkt der Konversion, und die Geschlechtsverteilung in Form eines Säulendiagrammes dargestellt. Männer werden anhand weiß gezeichneter Säulen und Frauen anhand schwarz gezeichneter Säulen präsentiert.

Bei zehn Patienten (62,5 %) bestand zum Zeitpunkt T2, bzw. vor der Konversion, ein Diabetes mellitus; sechs Patienten waren bereits vor der Lebertransplantation an Diabetes mellitus erkrankt. Ein Patient hatte dabei vor der Lebertransplantation einen Diabetes mellitus Typ 1 und fünf Patienten einen Diabetes mellitus Typ 2.

Die geschätzte glomeruläre Filtrationsrate errechnet nach der *Modification of Diet in Renal Disease* (MDRD) Formel in ml/min/1,73 m<sup>2</sup> betrug bei Lebertransplantation im Median (Minimum-Maximum) 80,3 (36-107) ml/min/1,73 m<sup>2</sup> <sup>105</sup>. Der *model of end stage liver disease* (MELD)-Wert betrug im Median (Minimum-Maximum) 16 (12-21).

Die Grunderkrankungen, welche zur Lebertransplantation führten, sind in Abbildung 3 dargestellt. Fünf Patienten hatten ein hepatozelluläres Karzinom in Kombination mit einer weiteren Erkrankung. Vier Patienten hatten eine Hepatitis-C-Virusinfektion und vier weitere Patienten eine Hepatitis-B-Virusinfektion, wobei bei einem Patient mit Hepatitis B eine ausgeheilte Hepatitis C bekannt war und ein Patient hatte eine Hepatitis B/D-Virus-Koinfektion. Ein weiterer Patient hatte eine Hepatitis-B-, D- und C-Virus-Koinfektion. Bei zwei Patienten lag eine alkoholtoxische Leberzirrhose vor und zwei Patienten litten an einer primären biliären Cholangitis. Je ein Patient litt an einer Schistosomiasis beziehungsweise einer an kryptogenen Leberzirrhose.

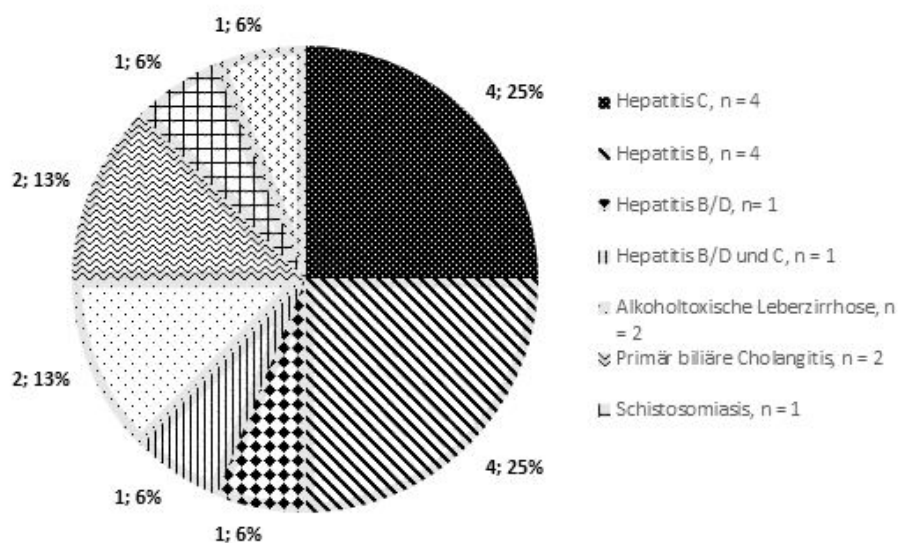


Abbildung 3: Indikationen zur Lebertransplantation

Verteilung der Grunderkrankungen, die zur Lebertransplantation führten, in Form eines Kreisdiagrammes.

Ein Patient hatte an einer Studie teilgenommen, welche die Anwendung von Sirolimus bei Lebertransplantatempfängern mit hepatozellulärem Karzinom untersuchte<sup>77</sup>. Dieser Patient war der einzige, bei dem die Umstellung auf Everolimus im Jahr 2014 erfolgte, was durch die Studienteilnahme begründet war. Die restlichen 15 Patienten waren im Jahr 2013 auf Everolimus umgestellt worden.

### 3.2 Konversion von Sirolimus auf Everolimus

Vor der Umstellung der Immunsuppression von Sirolimus auf Everolimus, wurden 12 von 16 Patienten mit einer Sirolimus-Monotherapie behandelt, während 4 von 16 Patienten zuvor Sirolimus in Kombination mit Mycophenolatmofetil erhalten hatten. Im Falle einer Everolimus-Monoimmunsuppression wurde ein Zieltalspiegel für Everolimus von 5-8 ng/ml angestrebt.

Alle Patienten, die zuvor eine Sirolimus-Monotherapie erhalten hatten, wurden direkt auf eine Everolimus-Monotherapie umgestellt. Drei der weiteren vier Patienten, welche zuvor Sirolimus und Mycophenolatmofetil in Kombination erhalten hatten, wurden ebenfalls direkt auf eine Everolimus-Monotherapie umgestellt. Ein Patient erhielt nach der Umstellung auf Everolimus für weitere zwei Monate überlappend Mycophenolatmofetil. Ein weiterer Patient, welcher von Sirolimus und Mycophenolatmofetil auf eine Everolimus-Monotherapie umgestellt wurde, erhielt drei Monate nach Umstellung zusätzlich Tacrolimus, um eine Reduktion von Everolimus bei zunehmender Proteinurie zu ermöglichen.

Die Dosierung von Everolimus im Rahmen der Konversion, Dosisverhältnisse und Dosisanpassungen, sind in Tabellen 2 und 3 dargestellt. Die Umstellung erfolgte bei 11 von 16 Patienten (68, 75 %) im Verhältnis von Everolimus zu Sirolimus von 2:1. Bei drei von 16 Patienten betrug der Konversionsfaktor Everolimus zu Sirolimus 1,5:1 und bei zwei weiteren Patienten 1,33:1. In Tabelle 4 sind die jeweiligen Talspiegel von Sirolimus und Everolimus im Rahmen der Konversion aufgeführt.

Tabelle 2: Umstellung von Sirolimus zu Everolimus-Dosierung  
(adaptiert nach<sup>106</sup>)

<b>Patient</b>	<b>Sirolimus Dosierung zu T1 (mg)</b>	<b>Sirolimus Dosierung zu T2 (mg)</b>	<b>Everolimus Dosierung zu T3 (mg)</b>	<b>Everolimus Dosierung zu T4 (mg)</b>
<b>1</b>	0,5	0,5	1	1
<b>2</b>	0,5	0,5	1,5	1,5
<b>3</b>	1	1	2	2
<b>4</b>	1	1	2	2
<b>5</b>	1	1	2	2
<b>6</b>	1	1	2	2
<b>7</b>	1	1	2	2
<b>8</b>	1	1	2	2
<b>9</b>	1	1	2	2
<b>10</b>	1	1	2	2
<b>11</b>	1	1	2	2
<b>12</b>	1,5	1,5	2	2
<b>13</b>	1,5	1,5	2	2
<b>14</b>	2	2	3	3,5
<b>15</b>	2	2	3	1,5
<b>16</b>	2	2	3	3



Tabelle 3: Umstellung von Sirolimus zu Everolimus - Dosisratio und Dosisanpassung (adaptiert nach<sup>106</sup>)

<b>Patient</b>	<b>Everolimus/Sirolimus Dosisratio</b>	<b>Dosisanpassung nach Umstellung während des Kontrollintervalls</b>
<b>1</b>	2	Nein
<b>2</b>	2	Nein
<b>3</b>	2	Nein
<b>4</b>	2	Nein
<b>5</b>	2	Nein
<b>6</b>	2	Nein
<b>7</b>	2	Nein
<b>8</b>	2	Nein
<b>9</b>	2	Nein
<b>10</b>	2	Nein
<b>11</b>	2	Nein
<b>12</b>	1,33	Nein
<b>13</b>	1,33	Nein
<b>14</b>	1,5	Ja
<b>15</b>	1,5	Ja
<b>16</b>	1,5	Nein

Tabelle 4: Talspiegel von Sirolimus und Everolimus im Rahmen der Konversion  
(adaptiert nach<sup>106</sup>)

<b>Patient</b>	<b>Sirolimustal- spiegel zu T1 (ng/ml)</b>	<b>Sirolimustal- spiegel zu T2 (ng/ml)</b>	<b>Everolimustal- spiegel zu T3 (ng/ml)</b>	<b>Everolimustal- spiegel zu T4 (ng/ml)</b>
<b>1</b>	4,4	8,8	5,2	*
<b>2</b>	6	7,7	7,6	6,8
<b>3</b>	3,3	6,2	4	11,6
<b>4</b>	2,1	5,8	2,3	1,6
<b>5</b>	4,3	9,3	5,1	8,9
<b>6</b>	5	9,7	6,5	6,5
<b>7</b>	5,5	3,9	3,3	4
<b>8</b>	5,9	5,2	5,3	5,7
<b>9</b>	8,1	6,9	7,7	4,9
<b>10</b>	8,1	6,6	5,5	4,9
<b>11</b>	7,6	5	4,5	7,9
<b>12</b>	5,3	7,4	5	2,7
<b>13</b>	2,6	7,7	*	5,1
<b>14</b>	5,4	4,9	5,3	4,4
<b>15</b>	4,4	8,8	5,2	*
<b>16</b>	6	7,7	7,6	6,8

\* Nicht erfasst.

### 3.3 Klinischer Verlauf nach Umstellung

Es wurden keine klinisch vermuteten oder bioptisch gesicherten Abstoßungen während des Beobachtungszeitraums erfasst. Ebenso wenig wurde eine CMV-Reaktivierung beobachtet. Statistische Vergleiche wurden mithilfe eines Friedman-Tests und anschließender post-hoc-Analyse zwischen den Zeitpunkten T1 bis T4 durchgeführt und sind in Tabelle 5 aufgeführt.

Für die Serumkonzentrationen von Aspartat-Aminotransferase (AST), Alanin-Aminotransferase (ALT), Bilirubin und Triglyceride im Serum wurden bei der

Umstellung einer Sirolimus-basierten Immunsuppression auf eine Everolimus-basierten Immunsuppression signifikante Unterschiede zwischen den Untersuchungszeitpunkten festgestellt. Nach der Umstellung war das Bilirubin im Serum niedriger, während die Werte für AST, ALT und Triglyceride zwischen den Untersuchungszeitpunkten undulierten (Abbildung 4 bis 7). Um dies genauer zu charakterisieren, erfolgte eine Post-hoc-Analyse. In dieser waren die Unterschiede für AST, ALT, Bilirubin und Triglyceride zwischen Zeitpunkt T1 und T4, jedoch nicht zwischen den Zeitpunkt T1 und T2, T1 und T3, T2 und T3, T2 und T4 oder T3 und T4 signifikant.

Keine signifikanten Unterschiede zwischen den Untersuchungszeitpunkten ergaben sich im Blutserum für Serumkreatinin, Kalium, Cholesterin, High-Density-Lipoprotein, Low-Density-Lipoprotein, Glucose, Harnsäure, Alkalische Phosphatase, Gamma-Glutamyl-Transferase, Albumin. Der im Citrat-Blut gemessener INR-Wert zeigte keinen signifikanten Unterschied zwischen den vier Untersuchungszeitpunkten. Es zeigten sich ebenfalls keine signifikanten Unterschiede zwischen den Untersuchungszeitpunkten im Ethylendiamintetraacetat (EDTA)-Blut gemessener Werte zu HbA1c, Erythrozyten Anzahl, Hämoglobin und Thrombozyten Anzahl. Im Urin gemessenes Albumin zeigte keinen signifikanten Unterschied zwischen den vier Untersuchungszeitpunkten. Zudem zeigten sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den Untersuchungszeitpunkten bei der geschätzten glomerulären Filtrationsrate nach MDRD-Formel und beim systolischen und diastolischen arteriellen Blutdruck (Tabelle 5).

Es zeigte sich ein signifikanter Unterschied der Leukozyten in der Friedman-Analyse, welches in der anschließenden Post-hoc-Analyse den Zeitpunkten T3 und T4 zugeordnet werden konnte (Abbildung 8).

Im Gegensatz dazu gab es keine statistisch signifikanten Unterschiede in der Anzahl der Erythrozyten, der Hämoglobinkonzentration und der Anzahl der Thrombozyten zwischen den Untersuchungszeitpunkten.

Tabelle 5: Friedman-Analyse der laborchemischen und klinischen Parameter  
(n= 16), adaptiert nach <sup>106</sup>

<b>Untersuchter Parameter</b>	<b>Material</b>	<b>T1</b>	<b>T2</b>	<b>T3</b>	<b>T4</b>	<b>P Wert</b>
<b>Kreatinin (mg/dl)</b>	Serum	1,37	1,33	1,30	2,30	.536
<b>Kalium (mmol/ml)</b>	Serum	4,87	5,01	4,90	5,01	.774
<b>Cholesterin (mg/dl)</b>	Serum	190	186	196	203	.423
<b>High-Density-Lipoprotein (mg/dl)</b>	Serum	47	47	43	48	.369
<b>Low-Density-Lipoprotein (mg/dl)</b>	Serum	109	16	107	118	.952
<b>Triglyceride (mg/dl)</b>	Serum	175	174	247	258	.027
<b>Glucose (mg/dl)</b>	Serum	128	153	143	148	.392
<b>Harnsäure (mg/dl)</b>	Serum	6,25	5,56	5,55	5,55	.821
<b>Aspartat-Aminotransferase (U/L)</b>	Serum	41	45	39	49	.005
<b>Alanin-Aminotransferase (U/L)</b>	Serum	43	51	47	63	.024
<b>Alkalische Phosphatase (U/L)</b>	Serum	118	115	110	135	.136
<b>Gamma-Glutamyl-Transferase (U/L)</b>	Serum	60	58	57	84	.126
<b>Bilirubin (mg/dl)</b>	Serum	0,51	0,51	0,42	0,43	.001
<b>Albumin (g/dl)</b>	Serum	4,3	4,3	4,2	4,2	.606
<b>International Normalized Ratio (%)</b>	Heparin-Plasma	1,08	1,03	1,21	1,05	.674
<b>HbA1c (% Hämoglobin)</b>	EDTA-Blut	6,60	6,87	7,08	6,86	.465
<b>Leukozyten Anzahl (/nl)</b>	EDTA-Blut	5,8	6,0	5,6	6,2	.025
<b>Erythrozyten Anzahl (/pl)</b>	EDTA-Blut	4,8	4,9	4,8	4,7	.096
<b>Hämoglobin (g/dl)</b>	EDTA-Blut	13,2	13,3	13,1	12,6	.130
<b>Thrombozyten Anzahl (/nl)</b>	EDTA-Blut	198	206	188	201	.491

<b>Sirolimus/ Everolimus Spiegel (ng/ml)</b>	EDTA-Blut	5,74	6,65	4,97	5,51	.261
<b>Albumin (mg/L)</b>	Urin	297	238	263	509	.621
<b>Geschätzte glomeruläre Filtrationsrate nach MDRD (min/1.73 m<sup>2</sup>)</b>	berechnet	55,87	57,80	60,31	57,83	.536
<b>Systolischer Blutdruck (mmHg)</b>	nicht zutreffend	137	134	133	131	.786
<b>Diastolischer Blutdruck (mmHg)</b>	nicht zutreffend	75	80	79	80	.218

Nachfolgend sind die Verteilungen der signifikanten Messwerte als Boxplot nach John Wilder (J. W.) Tukey mit Median, erster und dritter Quartil, oberem und unterem Whisker (1,5 x Inter Quartil Range) und Ausreißern mit jeweiliger Patientenummer dargestellt<sup>107</sup>.

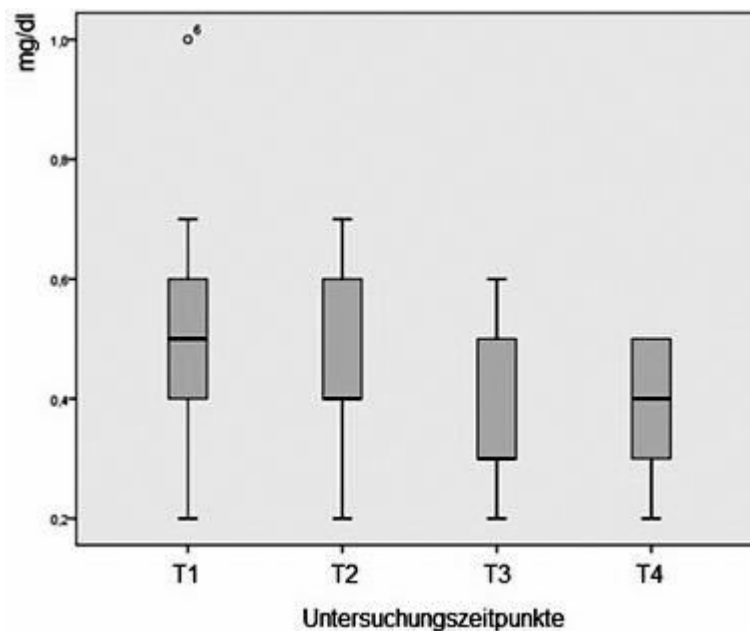


Abbildung 4: Boxplotdarstellung der Dynamik der Bilirubin-Serumkonzentration in mg/dl im Rahmen der Konversion von Sirolimus zur Everolimus nach J. W. Tukey. Der Unterschied war signifikant ( $p = 0,001$ ).

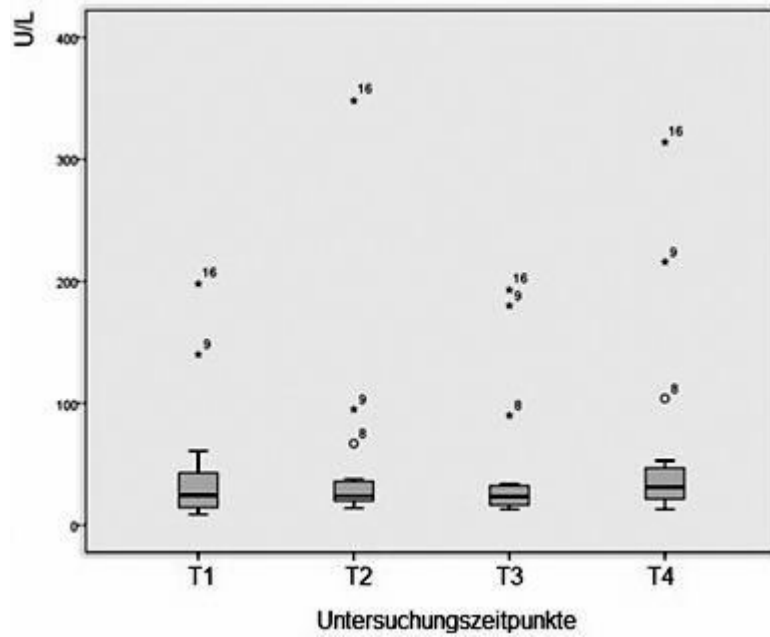


Abbildung 5: Boxplotdarstellung der Dynamik der ALT-Serumkonzentration in U/L im Rahmen der Konversion von Sirolimus zur Everolimus nach J. W. Tukey. Der Unterschied war signifikant ( $p = 0,024$ ).

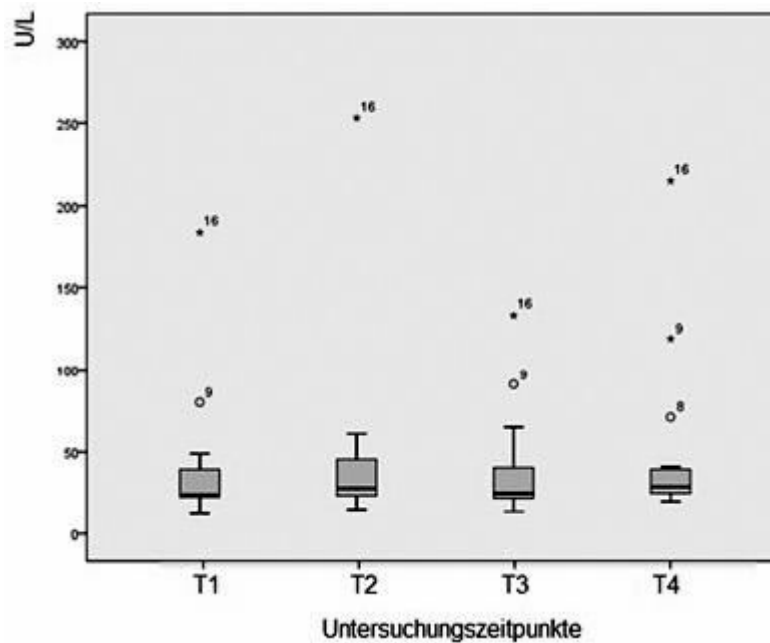


Abbildung 6: Boxplotdarstellung der Dynamik der AST-Serumkonzentration in U/L im Rahmen der Konversion von Sirolimus zur Everolimus nach J. W. Tukey. Der Unterschied war signifikant ( $p = 0,005$ ).

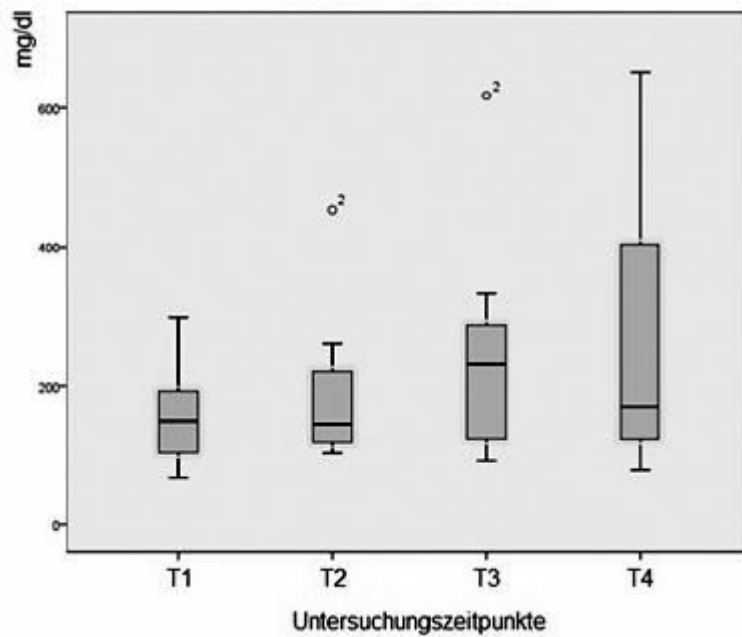


Abbildung 7: Boxplotdarstellung der Dynamik der Triglycerid-Serumkonzentration in mg/dl im Rahmen der Konversion von Sirolimus zur Everolimus nach J. W. Tukey. Der Unterschied war signifikant ( $p = 0,027$ ).

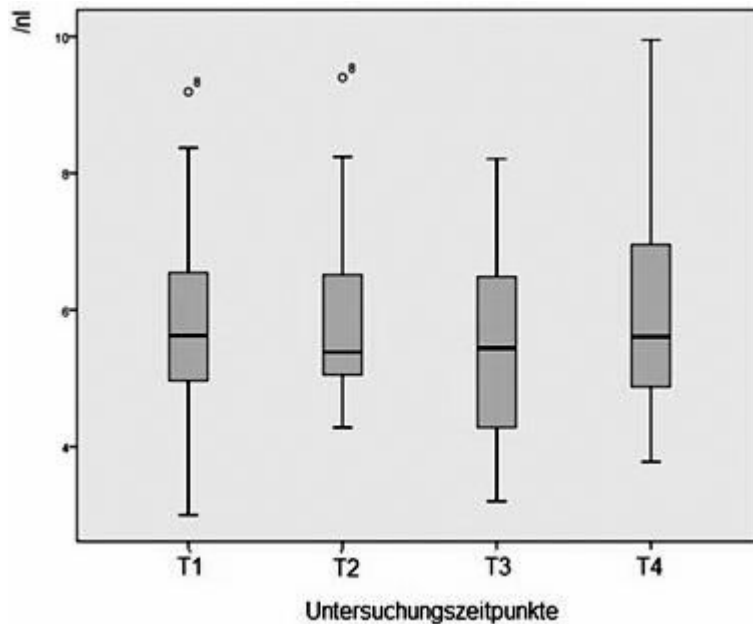


Abbildung 8: Boxplotdarstellung der Dynamik der Leukozyten-Anzahl pro nl im Rahmen der Konversion von Sirolimus zur Everolimus nach J. W. Tukey. Der Unterschied war signifikant ( $p = 0,025$ ).

## 4. Diskussion

Die Standardimmunsuppression nach Lebertransplantation ist CNI-basiert. Neben ungünstigen Effekten wie der Entstehung eines metabolischen Syndroms, arterieller Hypertonie und Hyperlipidämie, sind vor allem die Nephrotoxizität und maligne Erkrankungen, bisher ungelöste Herausforderungen einer CNI-basierten Immunsuppression<sup>8,23</sup>.

Als mögliche Alternative wurden die mTOR-Inhibitoren Sirolimus und Everolimus, die gegenüber CNI den theoretischen Vorteil einer geringeren Nephrotoxizität aufweisen und zusätzlich aufgrund des antiproliferativen Effekts bei malignen Erkrankungen Vorteile haben könnten, als Immunsuppressiva eingeführt<sup>61,76,81</sup>.

In Ermangelung eines zugelassenen mTOR-Inhibitors erhielten ausgewählte Patienten am Universitätsklinikum Frankfurt bis 2012 eine immunsuppressive Reservetherapie mit Sirolimus. Diese wurden nach Zulassung von Everolimus 2012 durch die EMA, systematisch auf Everolimus umgestellt. Ziel dieser Arbeit war eine strukturierte Analyse dieser Umstellung.

### 4.1. Methodenkritik

Nachfolgend wird auf die Eignung der gewählten Methoden eingegangen, welche unter Berücksichtigung des eingangs geschilderten Ziels der Arbeit (Kapitel 1.3) gewählt wurden.

#### 4.1.1 Studiendesign

Es handelt sich bei dieser Arbeit um eine retrospektive Studie, bei der bereits vorhandene klinische und laborchemische Parameter ausgewertet wurden. Dieses Studiendesign birgt dadurch erkenntnistheoretische Einschränkungen<sup>108</sup>. Aufgrund von Konfundierungseffekt und Bias ist es nicht möglich, einen Kausalzusammenhang der erhobenen Ergebnisse endgültig zu klären. Dies schränkt die Interpretation der Daten prinzipiell ein.

Zudem war das untersuchte Patientenkollektiv stark selektioniert, da die Patienten aus individuellen Gründen im Rahmen einer Reservetherapie eine auf Sirolimus basierende Immunsuppression über längere Zeit erhalten hatten, so dass mutmaßlich eine Positivselektion für eine erfolgreiche mTOR-Inhibition



vorlag. Zudem waren die Indikationen zur Lebertransplantation in der untersuchten Patientengruppe sehr heterogen und es handelte sich um ein kleines Patientenkollektiv. Auch diese Einschränkungen limitieren die Interpretation der Beobachtungen. Die Übertragung dieser Ergebnisse in die klinische Praxis muss deswegen mit Vorsicht erfolgen. Insbesondere kann aus dieser Untersuchung nicht auf eine ausreichende Sicherheit einer Everolimus-Monotherapie nach Lebertransplantation im Allgemeinen geschlossen werden. Jedoch handelt es sich bei dieser Arbeit um die erste Studie, die eine Umstellung der Immunsuppression nach Lebertransplantation von Sirolimus zu Everolimus überhaupt untersuchte. Bisher sind in der textbasierenden Meta-Datenbank PubMed ausschließlich Einzelfälle beschrieben, die von einer Umstellung der Immunsuppression nach Lebertransplantation von Sirolimus zu Everolimus berichten.

#### 4.1.2 Auswahl der statistischen Methoden

Die Datenerhebung erfolgte retrospektiv anhand der Dokumentation anamnestischer Angaben sowie klinischer und laborchemischer Untersuchungen. Innerhalb eines Beobachtungszeitraums von sechs Monaten vor und sechs Monaten nach Umstellung der Immunsuppression, wurde bei jedem Patienten der Verlauf sowohl vor als auch nach der Umstellung an insgesamt vier Visiten eruiert. Das Studiendesign sah also vier Werte für jeden zu untersuchenden Parameter vor. Die statistische Auswertung erfolgte mit dem Friedman-Test, einer nichtparametrischen Varianzanalyse von drei oder mehr miteinander verbundenen Stichproben. Der Vorteil nichtparametrischer Testverfahren ist deren Flexibilität und die Toleranz gegenüber statistischen Ausreißern. Nichtparametrische Tests werden auch als verteilungsfreie Tests bezeichnet, da sie keine spezielle Verteilung der Daten in der Population voraussetzen. Demnach müssen die auszuwertenden Ergebnisse nicht im Sinne einer Normalverteilung auftreten<sup>109</sup>. Daher sind nichtparametrische Tests, wie der Friedman-Test, auch für kleine Stichproben geeignet, bei denen die Verteilung aufgrund der kleinen Stichprobe nicht eindeutig ist.

Jedoch besitzen nichtparametrischer Testverfahren im Vergleich zu parametrischer Testverfahren eine geringere Teststärke<sup>109</sup>. Daher ist bei

nichtparametrischen Tests eine geringe Fallzahl dennoch ungünstig und die Fallzahl sollte sofern möglich erhöht werden.

Alternativ hätte auch der sogenannte T-Test zur statistischen Auswertung herangezogen werden können. Der T-Test ist ein parametrisches Verfahren zur Signifikanzprüfung der Mittelwerte zweier unabhängiger Stichproben, hinsichtlich ihrer Unterschiedlichkeit. Konkret hätte man die Mittelwerte von T1 und T2 mit den Mittelwerten von T3 und T4 vergleichen können. Voraussetzung für eine solche Analyse wäre eine Normalverteilung der Stichprobenvariablen und die Homogenität der Varianzen<sup>110</sup>. In dieser Studie war jedoch nicht sicher davon auszugehen, dass eine Normalverteilung der Stichproben und eine Varianzhomogenität vorliegen würde, sodass es sinnvoll war die statistische Analyse mit einem nichtparametrischen Verfahren durchzuführen. Aus diesen Gründen erfolgte in dieser Arbeit die statistische Auswertung mittels Friedman-Test.

#### 4.2. Klinische Bedeutung der Konversion einer Sirolimus-basierten auf eine Everolimus-basierte Immunsuppression.

Die Umstellung einer Sirolimus-basierten auf eine Everolimus-basierte Immunsuppression scheint aufgrund der Daten der vorliegenden Arbeit sicher und klinisch verträglich zu sein. Anhand der Visitendokumentationen wurden weder im Zusammenhang mit der Konversion assoziierte Beschwerden noch Änderungen von Komorbiditäten beobachtet. Einschränkend muss allerdings der limitierte Beobachtungszeitraum genannt werden. Es ist nicht sicher auszuschließen, dass sich bei einem Vergleich über mehrere Jahre, Unterschiede ergeben hätten.

##### 4.2.1 Klinischer Verlauf und Beurteilung des Rejektionsrisikos im Rahmen der Konversion von Sirolimus zu Everolimus

Ein besonderes Augenmerk wurde auf eine mit der Konversionsphase assoziierte Organabstoßung gelegt, da jede Umstellung einer Immunsuppression das Risiko einer Rejektion birgt<sup>111</sup>. Beachtenswert ist, dass keine Abstoßungsreaktionen innerhalb der Studienzeit im Rahmen der Umstellung auf Everolimus beobachtet wurden. Zudem war kein Patient im

Untersuchungszeitraum verstorben.

Anmerken muss man hier jedoch, dass im Rahmen der Umstellung auf Everolimus keine Protokollbiopsien der Transplantatleber erfolgten. Eine Leberbiopsie stellt ein invasives und potentiell komplikationsträchtiges Verfahren dar<sup>112</sup>. Bei der vorliegenden Arbeit handelt es sich um eine retrospektive Analyse und im Rahmen der Umstellung war aus obigen Gründen auf Kontrollbiopsien verzichtet worden. Um Abstoßungsreaktionen dennoch detektieren zu können, wurden laborchemische Parameter zur Beurteilung herangezogen. Laborchemische Parameter haben Einschränkungen hinsichtlich der Beurteilung der Transplantatabstoßung, aufgrund zu geringer Sensitivität und Spezifität und der geringen Korrelation mit der Schwere histopathologischer Befunde<sup>113</sup>. Folglich können in dieser Studie milde transiente Abstoßungsreaktionen nicht vollständig ausgeschlossen werden.

In dieser Studie wurden signifikante Unterschiede der AST- und ALT-Konzentration im Serum während des Untersuchungszeitraums beobachtet. Diese Veränderungen wurden bei keinem Patienten während dem Beobachtungszeitraum als klinisch relevant erachtet. Zugleich waren die Erhöhungen der AST- und ALT-Konzentrationen weder mit einer Transplantat-Dysfunktion unter Sirolimus noch unter Everolimus verbunden. Darüber hinaus konnte unter Everolimus eine niedrigere Bilirubinkonzentration im Serum als zu Beginn der Studie unter der Immunsuppression mit Sirolimus beobachtet werden, wobei gleichzeitig die Konzentration von alkalischer Phosphatase und Gamma-Glutamyl-Transferase (GGT) unverändert blieb. Hervorzuheben ist, dass die Konstellation aus moderater Erhöhung der AST- und ALT-Konzentration in Kombination mit einer abnehmenden Bilirubin-, unveränderter alkalischer Phosphatase- und GGT-Konzentration keinen Hinweis auf eine akute oder chronische Abstoßung darstellt<sup>113,114</sup>. Nichtsdestotrotz muss bei jeglichen Änderungen der Immunsuppression eine enge Überwachung der laborchemischen Leberwerte erfolgen.

Es muss zudem betont werden, dass die eingeschlossenen Patienten in dieser Studie vor der Umstellung auf Everolimus erfolgreich über einen langen Zeitraum Sirolimus im Rahmen einer Mono-Immunsuppression erhielten. In den meisten Studien, welche eine Sirolimus beinhaltenden Immunsuppression nach einer Lebertransplantation untersuchen, erhielten jedoch etwa zwei Drittel der

Patienten Sirolimus in Kombination mit CNI und lediglich die restlichen ein Drittel eine Mono-Immunsuppression mit Sirolimus<sup>115</sup>. Häufig wurde Sirolimus auch mit Mycophenolatmofetil kombiniert<sup>116,117</sup>. In den Zulassungsstudien von Everolimus war zudem eine Mono-Immunsuppression mit Everolimus mit einem erhöhten Rejektionsrisiko assoziiert und Everolimus ist zur Vermeidung einer Rejektion nach Lebertransplantation nur in Kombination mit einem CNI zugelassen.

In der vorliegenden Studie wurden 15 von 16 Patienten auf eine Everolimus-Monotherapie umgestellt, während ein Patient nach Umstellung vorübergehend eine kombinierte Immunsuppression aus Mycophenolatmofetil und Everolimus erhielt. Ungeachtet davon, dass in dieser Studie keine Transplantatabstoßungen beobachtet wurden, darf aus dieser Studie nicht der Rückschluss gezogen werden, dass eine immunsuppressive Monotherapie mit Everolimus nach Lebertransplantation sicher ist. Gründe hierfür sind die Patientenselektion in dieser Analyse, die limitierte Anzahl analysierter Patientendaten, das retrospektive Studiendesign und die begrenzte Beobachtungsperiode. Dennoch ist zu betonen, dass eine Immunsuppression bei ausgewählten Patienten durch eine CNI-freie Immunsuppression, bestehend aus Glukokortikoiden und Everolimus möglich scheint<sup>118,119</sup>.

#### 4.2.2. Analyse mTOR-spezifischer Laborveränderungen und Erkrankungen im Rahmen der Konversion von Sirolimus zu Everolimus

Die Inhibition des mTOR-Komplexes ist assoziiert mit metabolischen Komplikationen wie Dyslipidämien und Diabetes mellitus<sup>120</sup>. Deswegen erfolgte eine gesonderte Analyse möglicher mTOR-spezifischer Laborveränderungen und assoziierter metabolischer Erkrankungen.

##### 4.2.2.1 Veränderungen metabolischer Komorbiditäten

Die Triglycerid-Serumkonzentration war nach der Umstellung signifikant höher als vor der Umstellung. Dahingegen zeigten sich keine signifikanten Änderungen des Cholesterins, Low-Density-Lipoprotein High-Density-Lipoprotein. Hypertriglyceridämien im Rahmen einer auf mTOR-Inhibitoren

basierten Immunsuppression wurden bei Patienten nach Lebertransplantation, sowohl für Sirolimus als auch Everolimus beschrieben<sup>121,122</sup>. Demnach haben Patienten unter mTOR-Inhibitoren ein erhöhtes Risiko Dyslipidämien zu entwickeln, als Patienten unter Immunsuppression mit CNl. Der Anstieg der Triglycerid-Serumkonzentration nach Konversion könnte ein Hinweis auf ein erhöhtes Risiko hierfür unter Everolimus im Vergleich zu Sirolimus sein. Allerdings ist die Fallzahl der vorliegenden Studie klein und der Beobachtungszeitraum limitiert. Diese Beobachtung müsste deswegen in prospektiven Analysen mit höherer Fallzahl überprüft werden. Bei einer Therapie mit Everolimus sollten Parameter des Lipidstoffwechsels regelmäßig bestimmt werden.

Zusätzlich weisen Patienten unter mTOR-Inhibitoren häufiger eine gestörte Glukosetoleranz auf, welche häufiger mit der Erstdiagnose eines Diabetes mellitus assoziiert ist<sup>123</sup>. Serumglukosekonzentration und HbA1c-Wert waren im Rahmen der Umstellung von Sirolimus auf Everolimus nicht signifikant unterschiedlich.

Die möglichen klinischen Auswirkungen einer Umstellung der Immunsuppression von Sirolimus zu Everolimus bei Patienten nach Lebertransplantation sollte dennoch im Hinblick auf das erhöhte metabolische Risiko weiter beobachtet werden.

#### 4.2.2.2 Veränderungen im Blutbild

Eine Myelosuppression ist eine bekannte Nebenwirkung einer mTOR-Inhibition, was als Substanzklasseneffekt gewertet wird<sup>120</sup>. In dieser Analyse zeigten sich keine signifikanten Veränderungen in der Anzahl der Erythrozyten und Thrombozyten vor und nach Umstellung der Immunsuppression, jedoch eine Zunahme der Leukozyten nach der Umstellung unter der Immunsuppression auf Everolimus. Die Beobachtung des Anstiegs der Leukozyten während der Therapie mit Everolimus war jedoch mit keinen klinischen Ereignissen im Beobachtungszeitraum assoziiert. Aufgrund der limitierten Fallzahl kann diese Beobachtung nicht abschließend beurteilt werden.

#### 4.2.2.3 Verlauf von Nierenfunktion und Proteinurie

Eine *de novo*-Immunsuppression mit Everolimus in Kombination mit einem CNI mit niedrigem Talspiegel nach Lebertransplantation ist mit einer besseren Nierenfunktion assoziiert als eine CNI-basierte Immunsuppression mit höherem CNI-Talspiegel<sup>86,89</sup>. Zudem kann der Wechsel auf eine mTOR-Inhibition bei Vorliegen einer CNI-Nephrotoxizität mit einer Verbesserung oder Stabilisierung der Nierenfunktion assoziiert sein<sup>89,124,125</sup>. Dennoch muss das Risiko einer mTOR-spezifischen Nierentoxizität mit Proteinurie beachtet werden<sup>126-129</sup>.

Demnach sind das Auftreten einer Proteinurie und der Verlauf einer Proteinurie in der vorliegenden Arbeit von besonderem Interesse. Hierbei wurden in der untersuchten Patientenkohorte keine signifikanten Unterschiede der Proteinurie unter Sirolimus und Everolimus beobachtet.

#### 4.2.3 Praktische Aspekte der Konversion von Sirolimus zu Everolimus

Sirolimus ist nicht für die Rejektionsprophylaxe nach Lebertransplantation zugelassen und es gibt keine Herstellerangaben zur Dosierung im Rahmen einer Konversion von Sirolimus zu Everolimus. Die verschiedenen Halbwertszeiten beider Arzneimittel, waren die Grundlage für den hauptsächlich eingesetzten Umrechnungsfaktor, wodurch die Tagesdosis von Everolimus ermittelt wurde. Um einen Talspiegel von Everolimus im angestrebten Bereich zu erzielen, wurde die doppelte Tagesdosis von Sirolimus verteilt auf zwei Einzeldosen gewählt. Unter diesem Umstellungsprotokoll konnte in dieser Studie ein stabiler Medikamentenspiegel von Everolimus erreicht werden, ohne dass eine Dosisanpassung bei der Mehrzahl der Patienten notwendig war. In individuellen Fällen wurde bei einer Tagesdosis an Sirolimus von 2 mg mit einer geringeren Tagesdosis, als der sonst in dieser Studie eingesetzten doppelten Dosis Everolimus, begonnen (Tabelle 2 und 3). Auf der Grundlage der vorliegenden Studie kann keine allgemeine Empfehlung zur Dosierung von Everolimus ausgesprochen werden, da lediglich eine eingeschränkte Anzahl an Patienten umgestellt worden sind. Auch ist zu bedenken, dass Everolimus zur Rejektionsprophylaxe nach Lebertransplantation nur in Kombination mit einem CNI zugelassen ist. In dieser Konstellation wird ein Everolimustalspiegel von 3-

8 ng/ml empfohlen<sup>64</sup>. Für Patienten, bei denen eine Monoimmunsuppression mit Everolimus erfolgte, wurde ein Zieltalspiegel von 5-8 ng/ml gewählt. Aufgrund der limitierten Fallzahl, des retrospektiven Studiendesigns und der begrenzten Beobachtungsdauer kann dieser Ansatz aufgrund der vorliegenden Arbeit nicht allgemein empfohlen werden. Allerdings ist zu betonen, dass die Datenlage für eine Konversion von Sirolimus zu Everolimus nach Lebertransplantation sehr begrenzt ist<sup>126,130</sup>.

#### 4.2.4 Klinische Vorteile und Nachteile einer Umstellung einer Sirolimus-basierten auf eine Everolimus-basierte Immunsuppression.

Derzeit gibt es hinreichende Informationen über die Sicherheit und Wirksamkeit einer auf Everolimus basierenden *de novo* Immunsuppression nach Lebertransplantation. Bei Entscheidung für eine *de novo* mTOR-Inhibitor-basierte Immunsuppression nach Lebertransplantation ist in Deutschland außerhalb klinischer Studien eindeutig Everolimus zu präferieren. Einen vorteilhaften Effekt des Everolimus gegenüber Azathioprin und Mycophenolatmofetil zeigen prospektiv, kontrollierte Studien, in denen eine auf Everolimus basierende Immunsuppression mit einem geringeren Risiko für CMV-Reaktivierungen und Infektionen in der Frühphase nach Lebertransplantation assoziiert ist<sup>124,131-135</sup>. Es konnte nachgewiesen werden, dass unter mTOR-Inhibitoren signifikant weniger CMV-Virämien auftraten, wodurch ein klinischer Vorteil begründet sein könnte<sup>136-138</sup>.

Im Rahmen der Konversion von einer Sirolimus-basierten auf eine Everolimus-basierte Immunsuppression zeigen sich aufgrund der in der vorliegenden Arbeit erhobenen Daten keine Nachteile. Es traten während des Beobachtungszeitraums keine Organabstoßungen oder CMV-Virämien auf. Demnach scheint die hier untersuchte Konversion sicher und klinisch verträglich zu sein.

Die Konversion von Sirolimus zu Everolimus nach Nierentransplantation wurde bereits untersucht<sup>139</sup>. Die Studienkohorte umfasste elf Patienten und es kam zu keinem Transplantatverlust und zu keiner bioptisch bewiesenen, akuten Abstoßung nach der Umstellung. Es zeigten sich keine Veränderungen der

Nierenfunktion, hämatologischer Parameter und der Lipide und es traten auch keine CMV-Infektionen auf. Diese Ergebnisse bei Patienten nach Nierentransplantation stimmen demnach weitestgehend, bis auf den Lipid-Stoffwechsel, mit den erhobenen Daten der vorliegenden Studie überein. Somit implizieren die Daten der vorliegenden Arbeit ebenfalls, dass eine Umstellung von Sirolimus auf Everolimus im Langzeitverlauf nach Lebertransplantation sicher zu sein scheint und keine Nachteile birgt.

Obwohl bei der vorliegenden Studie im Rahmen der Umstellung keine klinischen und Transplantat-assoziierten Komplikationen beobachtet wurden, und demnach keine Nachteile der Konversion bestehen, sind auf dem Boden der vorliegenden Arbeit ebenfalls keine klinischen Vorteile ersichtlich. Trotz kontroverser und umstrittener Daten bezüglich der Wirksamkeit und der Sicherheit von Sirolimus wurde nachgewiesen, dass die immunsuppressive Behandlung mit Sirolimus bei ausgewählten Patienten nach Lebertransplantation sicher und zugleich geeignet ist<sup>77,115</sup>. Daher muss generell die Frage gestellt werden, ob Patienten, welche bereits langfristig mit Sirolimus bei guter Verträglichkeit immunsuppressiv behandelt werden, von einer Umstellung auf Everolimus profitieren und die Umstellung somit sinnvoll ist. Derzeit ist die Datenlage über die Konversion einer bereits - gegebenenfalls über Monate und Jahre bestehenden - Sirolimus-basierten Immunsuppression zu einer Everolimus-basierten Immunsuppression nach Lebertransplantation äußerst limitiert<sup>126,130,140</sup>.

Aus diesen Gründen wären prospektiv kontrollierte Studien zur Konversion von Sirolimus zu Everolimus im Langzeitverlauf nach Lebertransplantation sinnvoll und wünschenswert. Wie erwähnt ist die Verwendung von Sirolimus bei Patienten nach Lebertransplantation aber seitens der FDA mit einem Warnhinweis versehen, da die Verwendung von Sirolimus in Kombination mit Tacrolimus, neben höheren Raten aufgetretener Arteria hepatica- und Pfortaderthrombosen, insgesamt mit einer erhöhten Mortalität und einem Transplantatverlust assoziiert war<sup>141</sup>. Daher ist es seit Herausgabe dieses Warnhinweises unwahrscheinlich, dass diese wünschenswerten Studien in der nahen Zukunft durchgeführt werden<sup>141,142</sup>.



### 4.3 Schlussfolgerungen

Die Inhibition des mTOR-Signalweges ist eine zusätzliche Möglichkeit für die Immunsuppression nach Lebertransplantation.

Diese Arbeit zeigt, dass Patienten nach Lebertransplantation im Langzeitverlauf, welche eine immunsuppressive Therapie basierend auf Sirolimus erhalten, unter sorgfältiger Überwachung auf eine Immunsuppression mit Everolimus umgestellt werden können ohne dass damit signifikante klinische oder transplantatassoziierte Komplikationen einhergehen. Eine Untersuchung der Umstellung von Sirolimus auf Everolimus in größeren, prospektiven Studien mit zugleich längeren Beobachtungszeiträumen wäre wünschenswert, um zusätzliche Informationen bezüglich der Sicherheit zu gewinnen.

## 5. Zusammenfassung

Einleitung: Sirolimus, ein mechanistic target of rapamycin (mTOR)-Inhibitor, wurde trotz fehlender Zulassung zur Rejektionsprophylaxe nach Lebertransplantation als Reserveimmunsuppressivum in individuellen Indikationen eingesetzt. Als weiterer mTOR-Inhibitor wurde Everolimus 2012 für diese Indikation zugelassen. Ziel dieser Arbeit war eine systematische Analyse klinischer und pharmakologischer Daten im Rahmen einer Konversion einer Sirolimus- zu einer Everolimus-basierten Immunsuppression im Langzeitverlauf nach Lebertransplantation

Methoden und Patienten: Es erfolgte eine retrospektive, systematische Analyse biochemischer und klinischer Daten vor und nach der Umstellung bei 16 Patienten (Männer/Frauen, 8/8) nach Lebertransplantation, bei denen eine Umstellung der Immunsuppression von Sirolimus auf Everolimus erfolgt war mit besonderem Augenmerk auf Transplantatfunktion, Nierenfunktion und metabolische Komorbiditäten. Die statistische Analyse erfolgte mittels des Friedman-Tests zum Vergleich mehrerer abhängiger Stichproben, worauf bei signifikantem Ergebnis eine Post-hoc-Analyse folgte.

Ergebnisse: Die Patienten waren im Median (Minimum-Maximum) 10,1 (4-22,3) Jahre nach Lebertransplantation von Sirolimus auf Everolimus umgestellt worden. Bei der Mehrheit der Patienten war keine Dosisanpassung nach der Umstellung notwendig. Im Beobachtungszeitraum wurden keine Transplantatabstoßung oder klinisch relevante Komplikationen beobachtet. Zudem wurden vor und nach Umstellung keine signifikanten Unterschiede hinsichtlich Nierenfunktion, Diabetes mellitus oder arteriellem Blutdruck festgestellt. Die Bilirubin-Serumkonzentration war nach der Umstellung auf Everolimus niedriger, während AST-, ALT- und Triglycerid-Serumkonzentrationen signifikant höher waren.

Zusammenfassung: Diese Arbeit stellt die erste systematische Analyse der Konversion einer Sirolimus- auf eine Everolimus-basierten Immunsuppression im Langzeitverlauf nach Lebertransplantation dar. Relevante Komplikationen einschließlich Abstoßungen wurden nicht beobachtet.

## 6. Abstract

**Introduction:** Sirolimus, a mechanistic target of rapamycin (mTOR) inhibitor, has been used in individual cases as a reserve immunosuppression outside the approval to prevent rejection after liver transplantation. As a further mTOR inhibitor, everolimus was approved 2012 for this indication. The aim of this study was a systematic analysis of clinical and pharmacological data in the context of a conversion from a sirolimus to an everolimus-based immunosuppression in long-term liver graft recipients.

**Methods and Patients:** A retrospective, systematic analysis of biochemical and clinical data before and after the conversion in 16 patients (men / women, 8/8) after liver transplantation, with a conversion of the immunosuppression from sirolimus to everolimus with special scientific interest on transplant function, renal function and metabolic comorbidities were performed. The statistical analysis was conducted by Friedman test and post-hoc analysis.

**Results:** Patients were converted from sirolimus to everolimus in the median (minimum-maximum) 10.1 (4-22.3) years thereafter liver transplantation. After the conversion, the majority of patients did not need an adjustment of their dose. No transplant rejection or clinically relevant complications were observed during the observation period. In addition, no significant differences in renal function, diabetes mellitus or arterial blood pressure were seen before and after conversion. The serum bilirubin concentration was lower after commutation to everolimus, whereas AST, ALT and triglyceride serum concentrations were significantly higher.

**Conclusions:** This study represents the first systematic analysis of the conversion from a sirolimus to an everolimus-based immunosuppression in long-term liver graft recipients. Relevant complications including rejections were not observed.

## 7. Literaturverzeichnis

1. Levin SM. Alexis Carrel's historic leap of faith. *Journal of vascular surgery*. Mar 2015;61(3):832-833.
2. Gibson T, Medawar PB. The fate of skin homografts in man. *Journal of anatomy*. Jul 1943;77(Pt 4):299-310.294.
3. Goodrich EO, Jr., Welch HF, Nelson JA, Beecher TS, Welch CS. Homotransplantation of the canine liver. *Surgery*. Feb 1956;39(2):244-251.
4. Starzl TE, Iwatsuki S, Van Thiel DH, et al. Evolution of Liver Transplantation. *Hepatology*. 1982;2(5):614S-636S.
5. Starzl TE, Groth CG, Brettschneider L, et al. Orthotopic homotransplantation of the human liver. *Annals of surgery*. Sep 1968;168(3):392-415.
6. Gutgemann A, Schriefers KH, Esser G, Lie TS, Paquet KJ, Kaufer C. A case of homologous liver transplantation. *German medical monthly*. Nov 1969;14(11):525-528.
7. Gutgemann A, Lie TS, Kaufer C, et al. [Current problems of liver transplantation. Recent experiences in six liver transplantations]. *Deutsche medizinische Wochenschrift (1946)*. Oct 3 1975;100(40):2047-2052.
8. Herzer K, Strassburg CP, Braun F, et al. Selection and use of immunosuppressive therapies after liver transplantation: current German practice. *Clinical transplantation*. May 2016;30(5):487-501.
9. Benzing C, Krezdorn N, Forster J, et al. Impact of different immunosuppressive regimens on the health-related quality of life following orthotopic liver transplantation. *Clinical transplantation*. Dec 2015;29(12):1081-1089.
10. Neuberger JM, Mamelok RD, Neuhaus P, et al. Delayed introduction of reduced-dose tacrolimus, and renal function in liver transplantation: the 'ReSpECT' study. *American journal of transplantation : official journal of the American Society of Transplantation and the American Society of Transplant Surgeons*. Feb 2009;9(2):327-336.
11. Soliman T, Hetz H, Burghuber C, et al. Short-term induction therapy with

- anti-thymocyte globulin and delayed use of calcineurin inhibitors in orthotopic liver transplantation. *Liver transplantation : official publication of the American Association for the Study of Liver Diseases and the International Liver Transplantation Society*. Jul 2007;13(7):1039-1044.
12. Bajjoka I, Hsaiky L, Brown K, Abouljoud M. Preserving renal function in liver transplant recipients with rabbit anti-thymocyte globulin and delayed initiation of calcineurin inhibitors. *Liver transplantation : official publication of the American Association for the Study of Liver Diseases and the International Liver Transplantation Society*. Jan 2008;14(1):66-72.
  13. Nashan B. The IL2 pathway in clinical immunosuppression. *Transplantation proceedings*. Nov-Dec 2001;33(7-8):3072-3074.
  14. Rostaing L, Saliba F, Calmus Y, Dharancy S, Boillot O. Review article: use of induction therapy in liver transplantation. *Transplantation reviews (Orlando, Fla.)*. Oct 2012;26(4):246-260.
  15. Wang XF, Li JD, Peng Y, Dai Y, Shi G, Xu W. Interleukin-2 receptor antagonists in liver transplantation: a meta-analysis of randomized trials. *Transplantation proceedings*. Dec 2010;42(10):4567-4572.
  16. Karow T, Lang- Roth R. *Allgemeine und Spezielle Pharmakologie und Toxikologie*. 2013.
  17. Thell K, Hellinger R, Schabbauer G, Gruber CW. Immunosuppressive peptides and their therapeutic applications. *Drug discovery today*. May 2014;19(5):645-653.
  18. Calne RY, Rolles K, White DJ, et al. Cyclosporin A initially as the only immunosuppressant in 34 recipients of cadaveric organs: 32 kidneys, 2 pancreases, and 2 livers. *Lancet (London, England)*. Nov 17 1979;2(8151):1033-1036.
  19. Starzl TE, Todo S, Fung J, Demetris AJ, Venkataramman R, Jain A. FK 506 for liver, kidney, and pancreas transplantation. *Lancet (London, England)*. Oct 28 1989;2(8670):1000-1004.
  20. AUSSCHUSS FÜR HUMANARZNEIMITTEL (CHMP)  
ZUSAMMENFASSENGE INFORMATIONEN ÜBER EIN GUTACHTEN  
IM ZUGE EINES VERFAHRENS GEMÄSS ARTIKEL 30 DER  
RICHTLINIE 2001/83/EG DES RATES BEZÜGLICH Prograf und damit  
verbundene Bezeichnungen. 2006;

- [http://www.ema.europa.eu/docs/de\\_DE/document\\_library/Referrals\\_document/Prograf\\_30/WC500009695.pdf](http://www.ema.europa.eu/docs/de_DE/document_library/Referrals_document/Prograf_30/WC500009695.pdf). Accessed 10/04/2006, 2006.
21. Drug Approval Package. 2003; [https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda\\_docs/nda/pre96/050708\\_prograf\\_toc.cfm](https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/nda/pre96/050708_prograf_toc.cfm), 2003.
  22. Liu Z, Chen Y, Tao R, Xv J, Meng J, Yong X. Tacrolimus-based versus cyclosporine-based immunosuppression in hepatitis C virus-infected patients after liver transplantation: a meta-analysis and systematic review. *PloS one*. 2014;9(9):e107057.
  23. Gonwa TA, Mai ML, Melton LB, et al. End-stage renal disease (ESRD) after orthotopic liver transplantation (OLT) using calcineurin-based immunotherapy: risk of development and treatment. *Transplantation*. Dec 27 2001;72(12):1934-1939.
  24. Manzia TM, De Liguori Carino N, Orlando G, et al. Use of mycophenolate mofetil in liver transplantation: a literature review. *Transplantation proceedings*. Jul-Aug 2005;37(6):2616-2617.
  25. Zeiser R, Robson SC, Vaikunthanathan T, Dworak M, Burnstock G. Unlocking the Potential of Purinergic Signaling in Transplantation. *American journal of transplantation : official journal of the American Society of Transplantation and the American Society of Transplant Surgeons*. Mar 23 2016.
  26. Cardenas ME, Hemenway C, Muir RS, Ye R, Fiorentino D, Heitman J. Immunophilins interact with calcineurin in the absence of exogenous immunosuppressive ligands. *The EMBO Journal*. Dec 15 1994;13(24):5944-5957.
  27. Stamnes MA, Rutherford SL, Zuker CS. Cyclophilins: a new family of proteins involved in intracellular folding. *Trends in cell biology*. Sep 1992;2(9):272-276.
  28. Rusnak F, Mertz P. Calcineurin: form and function. *Physiological reviews*. Oct 2000;80(4):1483-1521.
  29. Harding MW, Galat A, Uehling DE, Schreiber SL. A receptor for the immunosuppressant FK506 is a cis-trans peptidyl-prolyl isomerase. *Nature*. Oct 26 1989;341(6244):758-760.
  30. Chakkera HA, Kudva Y, Kaplan B. Calcineurin Inhibitors: Pharmacologic

- Mechanisms Impacting Both Insulin Resistance and Insulin Secretion Leading to Glucose Dysregulation and Diabetes Mellitus. *Clinical pharmacology and therapeutics*. Jan 2017;101(1):114-120.
31. Hirose R, Vincenti F. Immunosuppression: today, tomorrow, and withdrawal. *Seminars in liver disease*. Aug 2006;26(3):201-210.
  32. Ojo AO, Held PJ, Port FK, et al. Chronic renal failure after transplantation of a nonrenal organ. *The New England journal of medicine*. Sep 4 2003;349(10):931-940.
  33. Land WG. *Immunosuppressive Therapie*. 1 ed: Thieme; 2006.
  34. Allison AC, Eugui EM. Mycophenolate mofetil and its mechanisms of action. *Immunopharmacology*. May 2000;47(2-3):85-118.
  35. Franklin TJ, Cook JM. The inhibition of nucleic acid synthesis by mycophenolic acid. *The Biochemical journal*. Jul 1969;113(3):515-524.
  36. Allison AC, Kowalski WJ, Muller CJ, Waters RV, Eugui EM. Mycophenolic acid and brequinar, inhibitors of purine and pyrimidine synthesis, block the glycosylation of adhesion molecules. *Transplantation proceedings*. Jun 1993;25(3 Suppl 2):67-70.
  37. CellCept : EPAR - Summary for the public. 2016; [http://www.ema.europa.eu/docs/de\\_DE/document\\_library/EPAR\\_-\\_Summary\\_for\\_the\\_public/human/000082/WC500021859.pdf](http://www.ema.europa.eu/docs/de_DE/document_library/EPAR_-_Summary_for_the_public/human/000082/WC500021859.pdf).
  38. Bamgbola O. Metabolic consequences of modern immunosuppressive agents in solid organ transplantation. *Therapeutic advances in endocrinology and metabolism*. Jun 2016;7(3):110-127.
  39. Prokai A, Fekete A, Pasti K, et al. The importance of different immunosuppressive regimens in the development of posttransplant diabetes mellitus. *Pediatric diabetes*. Feb 2012;13(1):81-91.
  40. Fachinformation CellCept® 500 mg Filmtabletten. Roche Pharma AG; 2015.
  41. van Besouw NM, van der Mast BJ, Smak Gregoor PJ, et al. Effect of mycophenolate mofetil on erythropoiesis in stable renal transplant patients is correlated with mycophenolic acid trough levels. *Nephrology, dialysis, transplantation : official publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association*. Nov 1999;14(11):2710-2713.

42. Doherty T, Austin SK, Newell B, Kiely PD. Mycophenolate mofetil-induced erythroid hypoplasia in a patient with systemic lupus erythematosus. *Lupus*. Feb 2013;22(2):213-215.
43. Cruz CM, Pereira S, Gandara J, et al. Efficacy and Safety of Monotherapy With Mycophenolate Mofetil in Liver Transplantation Patients With Nephrotoxicity. *Transplantation proceedings*. Sep 2016;48(7):2341-2343.
44. Knoll GA, MacDonald I, Khan A, Van Walraven C. Mycophenolate mofetil dose reduction and the risk of acute rejection after renal transplantation. *Journal of the American Society of Nephrology : JASN*. Sep 2003;14(9):2381-2386.
45. Bjornsti MA, Houghton PJ. The TOR pathway: a target for cancer therapy. *Nature reviews. Cancer*. May 2004;4(5):335-348.
46. Wullschleger S, Loewith R, Hall MN. TOR signaling in growth and metabolism. *Cell*. Feb 10 2006;124(3):471-484.
47. Kuo CJ, Chung J, Fiorentino DF, Flanagan WM, Blenis J, Crabtree GR. Rapamycin selectively inhibits interleukin-2 activation of p70 S6 kinase. *Nature*. Jul 02 1992;358(6381):70-73.
48. Gingras AC, Raught B, Sonenberg N. Regulation of translation initiation by FRAP/mTOR. *Genes & development*. Apr 01 2001;15(7):807-826.
49. Ma XM, Blenis J. Molecular mechanisms of mTOR-mediated translational control. *Nature reviews. Molecular cell biology*. May 2009;10(5):307-318.
50. Ballou LM, Lin RZ. Rapamycin and mTOR kinase inhibitors. *Journal of chemical biology*. Nov 2008;1(1-4):27-36.
51. Averous J, Fonseca BD, Proud CG. Regulation of cyclin D1 expression by mTORC1 signaling requires eukaryotic initiation factor 4E-binding protein 1. *Oncogene*. Feb 14 2008;27(8):1106-1113.
52. Sehgal SN. Sirolimus: its discovery, biological properties, and mechanism of action. *Transplantation proceedings*. May 2003;35(3 Suppl):7s-14s.
53. Sherr CJ. G1 phase progression: cycling on cue. *Cell*. Nov 18 1994;79(4):551-555.
54. Vezina C, Kudelski A, Sehgal SN. Rapamycin (AY-22,989), a new antifungal antibiotic. I. Taxonomy of the producing streptomycete and



- isolation of the active principle. *The Journal of antibiotics*. Oct 1975;28(10):721-726.
55. Marks AR. Cellular functions of immunophilins. *Physiological reviews*. 1996;76(3):631-649.
  56. Abraham RT, Wiederrecht GJ. Immunopharmacology of rapamycin. *Annual review of immunology*. 1996;14:483-510.
  57. Calimeri T, Ferreri AJ. m-TOR inhibitors and their potential role in haematological malignancies. *British journal of haematology*. Feb 01 2017.
  58. Cafferkey R, Young PR, McLaughlin MM, et al. Dominant missense mutations in a novel yeast protein related to mammalian phosphatidylinositol 3-kinase and VPS34 abrogate rapamycin cytotoxicity. *Molecular and cellular biology*. Oct 1993;13(10):6012-6023.
  59. Contreras A, Dormond O, Edelbauer M, et al. mTOR—Understanding the Clinical Effects. *Transplantation proceedings*. Dec 2008;40(10 Suppl):S9-s12.
  60. Guba M, von Breitenbuch P, Steinbauer M, et al. Rapamycin inhibits primary and metastatic tumor growth by antiangiogenesis: involvement of vascular endothelial growth factor. *Nature medicine*. Feb 2002;8(2):128-135.
  61. Mulgaonkar S, Kaufman DB. Conversion from calcineurin inhibitor-based immunosuppression to mammalian target of rapamycin inhibitors or belatacept in renal transplant recipients. *Clinical transplantation*. Nov 2014;28(11):1209-1224.
  62. de Paula MI, Medina Pestana JO, Nicolau Ferreira A, et al. Long-Term Follow-Up of De Novo Use of mTOR and Calcineurin Inhibitors After Kidney Transplantation. *Therapeutic drug monitoring*. Feb 2016;38(1):22-31.
  63. Gebrauchsinformation: Information für den Anwender RAPAMUNE®. In: Service P-, ed2014.
  64. Fachinformation (Zusammenfassung der Merkmale des Arzneimittels/SmPC) CERTICAN®. Novartis Pharma; 2015.
  65. Rothenburger M, Teerling E, Bruch C, et al. Calcineurin inhibitor-free immunosuppression using everolimus (Certican) in maintenance heart

- transplant recipients: 6 months' follow-up. *The Journal of heart and lung transplantation : the official publication of the International Society for Heart Transplantation*. Mar 2007;26(3):250-257.
66. Verges B. mTOR and Cardiovascular Diseases: Diabetes Mellitus. *Transplantation*. Mar 04 2017.
  67. Fraenkel M, Ketzinel-Gilad M, Ariav Y, et al. mTOR inhibition by rapamycin prevents beta-cell adaptation to hyperglycemia and exacerbates the metabolic state in type 2 diabetes. *Diabetes*. Apr 2008;57(4):945-957.
  68. Sehgal SN, Baker H, Vezina C. Rapamycin (AY-22,989), a new antifungal antibiotic. II. Fermentation, isolation and characterization. *The Journal of antibiotics*. Oct 1975;28(10):727-732.
  69. Eng CP, Sehgal SN, Vezina C. Activity of rapamycin (AY-22,989) against transplanted tumors. *The Journal of antibiotics*. Oct 1984;37(10):1231-1237.
  70. Sasongko TH, Ismail NF, Zabidi-Hussin Z. Rapamycin and rapalogs for tuberous sclerosis complex. *The Cochrane database of systematic reviews*. Jul 13 2016;7:Cd011272.
  71. Wang Z, Zhou J, Fan J, et al. Sirolimus inhibits the growth and metastatic progression of hepatocellular carcinoma. *Journal of cancer research and clinical oncology*. May 2009;135(5):715-722.
  72. Ogawa T, Tokuda M, Tomizawa K, et al. Osteoblastic differentiation is enhanced by rapamycin in rat osteoblast-like osteosarcoma (ROS 17/2.8) cells. *Biochemical and biophysical research communications*. Aug 10 1998;249(1):226-230.
  73. Hosoi H, Dilling MB, Shikata T, et al. Rapamycin causes poorly reversible inhibition of mTOR and induces p53-independent apoptosis in human rhabdomyosarcoma cells. *Cancer research*. Feb 15 1999;59(4):886-894.
  74. Kay JE, Kromwel L, Doe SE, Denyer M. Inhibition of T and B lymphocyte proliferation by rapamycin. *Immunology*. Apr 1991;72(4):544-549.
  75. Mehrabi A, Fonouni H, Kashfi A, et al. The role and value of sirolimus administration in kidney and liver transplantation. *Clinical transplantation*. 2006;20 Suppl 17:30-43.
  76. Cholongitas E, Mamou C, Rodriguez-Castro KI, Burra P. Mammalian

- target of rapamycin inhibitors are associated with lower rates of hepatocellular carcinoma recurrence after liver transplantation: a systematic review. *Transplant international : official journal of the European Society for Organ Transplantation*. Oct 2014;27(10):1039-1049.
77. Geissler EK, Schnitzbauer AA, Zulke C, et al. Sirolimus Use in Liver Transplant Recipients With Hepatocellular Carcinoma: A Randomized, Multicenter, Open-Label Phase 3 Trial. *Transplantation*. Jan 2016;100(1):116-125.
  78. Nair S, Eason J, Loss G. Sirolimus monotherapy in nephrotoxicity due to calcineurin inhibitors in liver transplant recipients. *Liver transplantation : official publication of the American Association for the Study of Liver Diseases and the International Liver Transplantation Society*. Feb 2003;9(2):126-129.
  79. Kniepeiss D, Iberer F, Grasser B, Schaffellner S, Tscheliessnigg KH. Sirolimus and mycophenolate mofetil after liver transplantation. *Transplant international : official journal of the European Society for Organ Transplantation*. Jul 2003;16(7):504-509.
  80. Fairbanks KD, Eustace JA, Fine D, Thuluvath PJ. Renal function improves in liver transplant recipients when switched from a calcineurin inhibitor to sirolimus. *Liver transplantation : official publication of the American Association for the Study of Liver Diseases and the International Liver Transplantation Society*. Oct 2003;9(10):1079-1085.
  81. Peddi VR, Wiseman A, Chavin K, Slakey D. Review of combination therapy with mTOR inhibitors and tacrolimus minimization after transplantation. *Transplantation reviews (Orlando, Fla.)*. Oct 2013;27(4):97-107.
  82. Zhou J, Fan J, Wang Z, et al. Conversion to sirolimus immunosuppression in liver transplantation recipients with hepatocellular carcinoma: Report of an initial experience. *World journal of gastroenterology*. May 21 2006;12(19):3114-3118.
  83. Ganschow R, Pollok JM, Jankofsky M, Junge G. The role of everolimus in liver transplantation. *Clinical and experimental gastroenterology*. 2014;7:329-343.

84. Sedrani R, Cottens S, Kallen J, Schuler W. Chemical modification of rapamycin: the discovery of SDZ RAD. *Transplantation proceedings*. Aug 1998;30(5):2192-2194.
85. Lorber MI, Mulgaonkar S, Butt KM, 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*. Jul 27 2005;80(2):244-252.
86. Nashan B, Curtis J, Ponticelli C, Mourad G, Jaffe J, Haas T. Everolimus and reduced-exposure cyclosporine in de novo renal-transplant recipients: a three-year phase II, randomized, multicenter, open-label study. *Transplantation*. Nov 15 2004;78(9):1332-1340.
87. Schuurman HJ, Ringers J, Schuler W, Slingerland W, Jonker M. Oral efficacy of the macrolide immunosuppressant SDZ RAD and of cyclosporine microemulsion in cynomolgus monkey kidney allotransplantation. *Transplantation*. Mar 15 2000;69(5):737-742.
88. de Pablo A, Santos F, Sole A, et al. Recommendations on the use of everolimus in lung transplantation. *Transplantation reviews (Orlando, Fla.)*. Jan 2013;27(1):9-16.
89. De Simone P, Nevens F, De Carlis L, et al. Everolimus with reduced tacrolimus improves renal function in de novo liver transplant recipients: a randomized controlled trial. *American journal of transplantation : official journal of the American Society of Transplantation and the American Society of Transplant Surgeons*. Nov 2012;12(11):3008-3020.
90. Saliba F, De Simone P, Nevens F, et al. Renal function at two years in liver transplant patients receiving everolimus: results of a randomized, multicenter study. *American journal of transplantation : official journal of the American Society of Transplantation and the American Society of Transplant Surgeons*. Jul 2013;13(7):1734-1745.
91. De Simone P, Carrai P, Precisi A, et al. Conversion to everolimus monotherapy in maintenance liver transplantation: feasibility, safety, and impact on renal function. *Transplant international : official journal of the European Society for Organ Transplantation*. Mar 2009;22(3):279-286.
92. Lin M, Mittal S, Sahebjam F, Rana A, Sood GK. Everolimus with early withdrawal or reduced-dose calcineurin inhibitors improves renal function

- in liver transplant recipients: A systematic review and meta-analysis. *Clinical transplantation*. Feb 2017;31(2).
93. Granata S, Dalla Gassa A, Carraro A, et al. Sirolimus and Everolimus Pathway: Reviewing Candidate Genes Influencing Their Intracellular Effects. *International journal of molecular sciences*. May 14 2016;17(5).
  94. Pascual J. Everolimus in clinical practice--renal transplantation. *Nephrology, dialysis, transplantation : official publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association*. Jul 2006;21 Suppl 3:iii18-23.
  95. Hu X, Lin C, Chen D, et al. Sirolimus solid self-microemulsifying pellets: formulation development, characterization and bioavailability evaluation. *International journal of pharmaceutics*. Nov 15 2012;438(1-2):123-133.
  96. Kirchner GI, Meier-Wiedenbach I, Manns MP. Clinical pharmacokinetics of everolimus. *Clinical pharmacokinetics*. 2004;43(2):83-95.
  97. Neumayer H, Paradis K, Korn A, et al. Entry-into-human study with the novel immunosuppressant SDZ RAD in stable renal transplant recipients. *British Journal of Clinical Pharmacology*. Nov 1999;48(5):694-703.
  98. Zimmerman JJ, Kahan BD. Pharmacokinetics of sirolimus in stable renal transplant patients after multiple oral dose administration. *Journal of clinical pharmacology*. May 1997;37(5):405-415.
  99. Morath C, Arns W, Schwenger V, et al. Sirolimus in renal transplantation. *Nephrology, dialysis, transplantation : official publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association*. Sep 2007;22 Suppl 8:viii61-viii65.
  100. Klawitter J, Nashan B, Christians U. Everolimus and sirolimus in transplantation-related but different. *Expert opinion on drug safety*. Jul 2015;14(7):1055-1070.
  101. Trepanier DJ, Gallant H, Legatt DF, Yatscoff RW. Rapamycin: distribution, pharmacokinetics and therapeutic range investigations: an update. *Clinical biochemistry*. Jul 1998;31(5):345-351.
  102. Serkova N, Jacobsen W, Niemann CU, et al. Sirolimus, but not the structurally related RAD (everolimus), enhances the negative effects of cyclosporine on mitochondrial metabolism in the rat brain. *British journal of pharmacology*. Jul 2001;133(6):875-885.

103. Crowe A, Lemaire M. In vitro and in situ absorption of SDZ-RAD using a human intestinal cell line (Caco-2) and a single pass perfusion model in rats: comparison with rapamycin. *Pharmaceutical research*. Nov 1998;15(11):1666-1672.
104. Rodriguez-Peralvarez M, Guerrero-Misas M, Thorburn D, Davidson BR, Tsochatzis E, Gurusamy KS. Maintenance immunosuppression for adults undergoing liver transplantation: a network meta-analysis. *The Cochrane database of systematic reviews*. Mar 31 2017;3:Cd011639.
105. Levey AS, Bosch JP, Lewis JB, Greene T, Rogers N, Roth D. A more accurate method to estimate glomerular filtration rate from serum creatinine: a new prediction equation. Modification of Diet in Renal Disease Study Group. *Annals of internal medicine*. Mar 16 1999;130(6):461-470.
106. Weiler N, Bilge N, Troetschler S, et al. Conversion From Sirolimus to Everolimus in Long-Term Liver Graft Recipients. *Journal of clinical pharmacology*. Jan 30 2017.
107. Frigge M, Hoaglin DC, Iglewicz B. Some Implementations of the Boxplot. *The American Statistician*. 1989;43(1):50-54.
108. Euser AM, Zoccali C, Jager KJ, Dekker FW. Cohort studies: prospective versus retrospective. *Nephron. Clinical practice*. 2009;113(3):c214-217.
109. Billeter EP. *Grundlagen der erforschenden Statistik Statistische Testtheorie*. 1972.
110. Bortz JSC. *Statistik für Human- und Sozialwissenschaftler*. Vol 7: Springer; 2010.
111. Watson CJ, Gimson AE, Alexander GJ, et al. A randomized controlled trial of late conversion from calcineurin inhibitor (CNI)-based to sirolimus-based immunosuppression in liver transplant recipients with impaired renal function. *Liver transplantation : official publication of the American Association for the Study of Liver Diseases and the International Liver Transplantation Society*. Dec 2007;13(12):1694-1702.
112. Kobylak N, Dynnyk O, Abenavoli L. The Role of Liver Biopsy to Assess Alcoholic Liver Disease. *Reviews on recent clinical trials*. 2016;11(3):175-179.
113. Germani G, Rodriguez-Castro K, Russo FP, et al. Markers of acute

- rejection and graft acceptance in liver transplantation. *World journal of gastroenterology*. Jan 28 2015;21(4):1061-1068.
114. Rodriguez-Peralvarez M, Germani G, Tsochatzis E, et al. Predicting severity and clinical course of acute rejection after liver transplantation using blood eosinophil count. *Transplant international : official journal of the European Society for Organ Transplantation*. May 2012;25(5):555-563.
  115. Watt KD, Dierkhising R, Heimbach JK, Charlton MR. Impact of sirolimus and tacrolimus on mortality and graft loss in liver transplant recipients with or without hepatitis C virus: an analysis of the Scientific Registry of Transplant Recipients Database. *Liver transplantation : official publication of the American Association for the Study of Liver Diseases and the International Liver Transplantation Society*. Sep 2012;18(9):1029-1036.
  116. Beckebaum S, Cicinnati VR, Radtke A, Kabar I. Calcineurin inhibitors in liver transplantation - still champions or threatened by serious competitors? *Liver international : official journal of the International Association for the Study of the Liver*. May 2013;33(5):656-665.
  117. Teperman L, Moonka D, Sebastian A, et al. Calcineurin inhibitor-free mycophenolate mofetil/sirolimus maintenance in liver transplantation: the randomized spare-the-nephron trial. *Liver transplantation : official publication of the American Association for the Study of Liver Diseases and the International Liver Transplantation Society*. Jul 2013;19(7):675-689.
  118. Alegre C, Jimenez C, Manrique A, et al. Everolimus monotherapy or combined therapy in liver transplantation: indications and results. *Transplantation proceedings*. Jun 2013;45(5):1971-1974.
  119. Bilbao I, Sapisochin G, Dopazo C, et al. Indications and management of everolimus after liver transplantation. *Transplantation proceedings*. Jul-Aug 2009;41(6):2172-2176.
  120. Cravedi P, Ruggenti P, Remuzzi G. Sirolimus for calcineurin inhibitors in organ transplantation: contra. *Kidney international*. Dec 2010;78(11):1068-1074.
  121. Alamo JM, Barrera L, Casado MD, et al. Efficacy, tolerance, and safety of

- mammalian target of rapamycin inhibitors as rescue immunosuppressants in liver transplantation. *Transplantation proceedings*. Jul-Aug 2009;41(6):2181-2183.
122. McKenna GJ, Trotter JF, Klintmalm E, et al. Sirolimus and cardiovascular disease risk in liver transplantation. *Transplantation*. Jan 15 2013;95(1):215-221.
  123. Zimmermann A, Zobeley C, Weber MM, Lang H, Galle PR, Zimmermann T. Changes in lipid and carbohydrate metabolism under mTOR- and calcineurin-based immunosuppressive regimen in adult patients after liver transplantation. *European journal of internal medicine*. Apr 2016;29:104-109.
  124. Fischer L, Saliba F, Kaiser GM, et al. Three-year Outcomes in De Novo Liver Transplant Patients Receiving Everolimus With Reduced Tacrolimus: Follow-Up Results From a Randomized, Multicenter Study. *Transplantation*. Jul 2015;99(7):1455-1462.
  125. Nashan B, Schemmer P, Braun F, Dworak M, Wimmer P, Schlitt H. Evaluating the efficacy, safety and evolution of renal function with early initiation of everolimus-facilitated tacrolimus reduction in de novo liver transplant recipients: Study protocol for a randomized controlled trial. *Trials*. Mar 26 2015;16:118.
  126. Neau-Cransac M, Moreau K, Deminiere C, Merville P, Saric J. Decrease in sirolimus-induced proteinuria after switch to everolimus in a liver transplant recipient with diabetic nephropathy. *Transpl Int*. May 2009;22(5):586-587.
  127. Li LC, Hsu CN, Lin CC, et al. Proteinuria and baseline renal function predict mortality and renal outcomes after sirolimus therapy in liver transplantation recipients. *BMC gastroenterology*. Apr 20 2017;17(1):58.
  128. Morard I, Dumortier J, Spahr L, et al. Conversion to sirolimus-based immunosuppression in maintenance liver transplantation patients. *Liver transplantation : official publication of the American Association for the Study of Liver Diseases and the International Liver Transplantation Society*. May 2007;13(5):658-664.
  129. Diekmann F, Gutierrez-Dalmau A, Lopez S, et al. Influence of sirolimus on proteinuria in de novo kidney transplantation with expanded criteria



- donors: comparison of two CNI-free protocols. *Nephrology, dialysis, transplantation : official publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association*. Aug 2007;22(8):2316-2321.
130. De Simone P, Petruccelli S, Precisi A, et al. Switch to everolimus for sirolimus-induced pneumonitis in a liver transplant recipient--not all proliferation signal inhibitors are the same: a case report. *Transplantation proceedings*. Dec 2007;39(10):3500-3501.
  131. Webster AC, Lee VW, Chapman JR, Craig JC. Target of rapamycin inhibitors (sirolimus and everolimus) for primary immunosuppression of kidney transplant recipients: a systematic review and meta-analysis of randomized trials. *Transplantation*. May 15 2006;81(9):1234-1248.
  132. Radtke J, Dietze N, Spetzler VN, et al. Fewer cytomegalovirus complications after kidney transplantation by de novo use of mTOR inhibitors in comparison to mycophenolic acid. *Transplant infectious disease : an official journal of the Transplantation Society*. Feb 2016;18(1):79-88.
  133. Vitko S, Margreiter R, Weimar W, et al. Everolimus (Certican) 12-month safety and efficacy versus mycophenolate mofetil in de novo renal transplant recipients. *Transplantation*. Nov 27 2004;78(10):1532-1540.
  134. Vigano M, Tuzcu M, Benza R, et al. Prevention of acute rejection and allograft vasculopathy by everolimus in cardiac transplants recipients: a 24-month analysis. *The Journal of heart and lung transplantation : the official publication of the International Society for Heart Transplantation*. Jun 2007;26(6):584-592.
  135. Mallat SG, Tanios BY, Itani HS, et al. CMV and BKPyV Infections in Renal Transplant Recipients Receiving an mTOR Inhibitor-Based Regimen Versus a CNI-Based Regimen: A Systematic Review and Meta-Analysis of Randomized, Controlled Trials. *Clinical journal of the American Society of Nephrology : CJASN*. Jun 02 2017.
  136. Clippinger AJ, Maguire TG, Alwine JC. The changing role of mTOR kinase in the maintenance of protein synthesis during human cytomegalovirus infection. *Journal of virology*. Apr 2011;85(8):3930-3939.
  137. Poglitsch M, Weichhart T, Hecking M, et al. CMV late phase-induced

- mTOR activation is essential for efficient virus replication in polarized human macrophages. *American journal of transplantation : official journal of the American Society of Transplantation and the American Society of Transplant Surgeons*. Jun 2012;12(6):1458-1468.
138. Kobashigawa J, Ross H, Bara C, et al. Everolimus is associated with a reduced incidence of cytomegalovirus infection following de novo cardiac transplantation. *Transplant infectious disease : an official journal of the Transplantation Society*. Apr 2013;15(2):150-162.
139. Kamar N, Jaafar A, Esposito L, et al. Conversion from sirolimus to everolimus in maintenance renal transplant recipients within a calcineurin inhibitor-free regimen: results of a 6-month pilot study. *Clinical nephrology*. Aug 2008;70(2):118-125.
140. McEntyre J, Lipman D. PubMed: bridging the information gap. *CMAJ : Canadian Medical Association journal = journal de l'Association medicale canadienne*. May 01 2001;164(9):1317-1319.
141. Administration FaD. Information for Healthcare Professionals: Sirolimus (marketed as Rapamune). 2009; <http://www.fda.gov/Drugs/DrugSafety/PostmarketDrugSafetyInformationforPatientsandProviders/DrugSafetyInformationforHealthcareProfessionals/ucm165015.htm>. Accessed 04.02., 2017.
142. Asrani SK, Wiesner RH, Trotter JF, et al. De novo sirolimus and reduced-dose tacrolimus versus standard-dose tacrolimus after liver transplantation: the 2000-2003 phase II prospective randomized trial. *American journal of transplantation : official journal of the American Society of Transplantation and the American Society of Transplant Surgeons*. Feb 2014;14(2):356-366.

## 9. Schriftliche Erklärung

Ich erkläre ehrenwörtlich, dass ich die dem Fachbereich Medizin der Johann Wolfgang Goethe-Universität Frankfurt am Main zur Promotionsprüfung eingereichte Dissertation mit dem Titel

Konversion einer Sirolimus- zu einer Everolimus-basierten Immunsuppression im Langzeitverlauf nach Lebertransplantation

in der medizinischen Klinik I des Zentrum für Inneren Medizin im Universitätsklinikum Frankfurt am Main unter Betreuung und Anleitung von Herrn Privatdozent Dr. Walter-Martin Welker und Unterstützung durch Frau Dr. Nina Weiler ohne sonstige Hilfe selbst durchgeführt und bei der Abfassung der Arbeit keine anderen als die in der Dissertation angeführten Hilfsmittel benutzt habe. Darüber hinaus versichere ich, nicht die Hilfe einer kommerziellen Promotionsvermittlung in Anspruch genommen zu haben.

Ich habe bisher an keiner in- oder ausländischen Universität ein Gesuch um Zulassung zur Promotion eingereicht. Die vorliegende Arbeit wurde bisher nicht als Dissertation eingereicht.

Vorliegende Ergebnisse der Arbeit wurden in folgendem Publikationsorgan veröffentlicht:

Nina Weiler, Nigar Bilge, Sven Troetschler, Johannes Vermehren, Andreas Anton Schnitzbauer, Eva Herrmann, Christoph Sarrazin, Stefan Zeuzem, Martin-Walter Welker. Conversion From Sirolimus to Everolimus in Long-Term Liver Graft Recipients, *The Journal of Clinical Pharmacology*, 57, 837–845, 2017.

---

(Ort, Datum)

---

(Unterschrift)