

Streszczenie

Kłębuszkowe zapalenia nerek (KZN) należą do chorób autoimmunologicznych, które w znacznym stopniu dotyczą dzisiejsze społeczeństwo. W ich przebiegu w wielu przypadkach dochodzi do upośledzenia funkcji filtracyjnej nerek. Odpowiednio dobrany lek, podany we właściwej dawce może zahamować postęp procesu chorobowego, a niekiedy doprowadzić do cofnięcia patologicznych zmian miąższu nerki.

Mykofenolan mofetylu (MMF) należy do grupy leków antyproliferacyjnych. Jest używany w transplantologii oraz w leczeniu niektórych postaci KZN. W wielu pracach wykazano znaczną międzyosobniczą oraz wewnątrzosobniczą zmienność stężeń kwasu mykofenolowego (MPA), co wskazuje na potrzebę indywidualizacji dawki. Problem monitorowania terapii MMF jest szeroko dyskutowany w piśmiennictwie, w znacznej mierze dotyczy populacji pacjentów po transplantacji.

Celem niniejszej pracy była odpowiedź na pytanie, czy istnieje zależność pomiędzy parametrami farmakokinetycznymi kwasu mykofenolowego a wykładnikami aktywności kłębuszkowego zapalenia nerek oraz funkcją nerek. Założeniem pracy było również określenie, czy istnieją zależności pomiędzy stężeniami całkowitego MPA mierzonymi metodą immunoenzymatyczną a stężeniami wolnej frakcji MPA oznaczonej za pomocą metody chromatografii cieczowej sprzężonej z tandemową spektrometrią mas.

Grupa badana obejmowała 52 pacjentów w tym 21 kobiet (40,38%) i 31 mężczyzn (59,62%) w wieku od 18 do 64 lat, średnio $41,1 \pm 14,2$ (med. 39,5) lat z kłębuszkowym zapaleniem nerek o różnym typie histopatologicznym, u których w terapii stosowany był mykofenolan mofetylu.

Stężenie kwasu mykofenolowego mierzono w stanie stacjonarnym, 30 minut i 120 minut po podaniu leku w chwili włączenia do badania. Pomiary stężeń leku wykonano metodą immunoenzymatyczną (EMIT), a pomiar wolnej frakcji kwasu mykofenolowego w podgrupie 21 pacjentów metodą chromatografii cieczowej sprzężonej z tandemową spektrometrią mas (LC-MS/MS). Na podstawie uzyskanych wyników obliczono pole powierzchni pod krzywą stężenie/czas (AUC_{0-2h}) metodą zliczania pól trapezów, wyznaczano C_{max} osobno dla stężeń całkowitych MPA i stężeń wolnej frakcji MPA. Dane farmakokinetyczne normalizowano względem dawki dobowej i masy ciała, które wraz z aktualnymi danymi laboratoryjnymi i klinicznymi poddano analizie statystycznej celem określenia związków pomiędzy zmiennymi

klinicznymi i farmakokinetycznymi. Okres obserwacji aktywności choroby obejmował 3 i 12 miesięcy. Aktywność choroby była oceniana na podstawie wielkości aktualnego białkomoczu, obecności aktywnego osadu moczu rozumianego jako 6 i więcej erytrocytów w osadzie moczu oraz stężenia albumin w surowicy krwi.

Wyniki badania wykazały związek pomiędzy wykładnikami aktywności KZN a parametrami farmakokinetycznymi. Stwierdzono szereg wprost proporcjonalnych zależności pomiędzy C_{30} , C_{max} oraz AUC_{0-2h} a stężeniami białka całkowitego, albumin oraz zależności odwrotnie proporcjonalnych z ilością białka w moczu porannym oraz szacunkowym białkomoczem dobowym. Większość tych zależności potwierdzono w pomiarach frakcji wolnej MPA. Na podstawie przyjętego w metodologii kryterium podziału chorych pod względem aktywności choroby stwierdzono istotne statystycznie różnice pomiędzy obiema grupami w zakresie wartości C_{30} ($p=0,030$), C_{max} ($p=0,041$), podobnie po normalizacji względem dawki dobowej i masy ciała oraz AUC_{0-2h} po normalizacji względem dawki dobowej ($p=0,045$) oraz dawki i masy ciała ($p=0,011$). Istniejące zależności w chwili włączenia do badania stwierdzono także po 3 miesiącach w zakresie parametrów znormalizowanych do dawki dobowej i masy ciała oraz w mniejszym stopniu po 12 miesiącach. Potwierdzono także istotne statystycznie związki tych parametrów ze stężeniem albumin, białka całkowitego oraz białkomoczu po 3 i 12 miesiącach. Zaobserwowano zależność pomiędzy funkcją nerek a stężeniem C_0 i C_{120} , zarówno w chwili włączenia do badania, jak i po 3 i 12 miesiącach, także po normalizacji względem dawki i masy ciała.

Stwierdzono także ścisłą zależność pomiędzy stężeniami MPA całkowitego mierzonymi metodą EMIT oraz wolnej frakcji MPA, mierzoną metodą LC-MS/MS ($p<0,001$).

Sformułowano następujące wnioski:

1. Dawkowanie MMF i jego farmakokinetyka mają wpływ na odległe wyniki leczenia glomerulopatii.
2. W badanej populacji stężenie MPA korelowało z aktywnością choroby po 3 miesiącach, a także (z pewnymi ograniczeniami), po 12 miesiącach.
3. C_{30} i C_{max} jak również AUC_{0-2h} (także znormalizowane względem dawki dobowej i masy ciała) okazały się być w badanej grupie obiecującymi czynnikami prognostycznymi.
4. Pacjenci z upośledzeniem funkcji nerek ($eGFR<60$ ml/min/1,73m²) osiągnęli wyższe stężenia MPA w określonych punktach czasowych, także w przeliczeniu na dawkę oraz z uwzględnieniem masy ciała.

5. Wartości stężeń MPA oznaczanych metodą EMIT oraz wolnej frakcji MPA metodą LC-MS/MS są ze sobą silnie skorelowane, co wskazuje, że wykonywanie pomiaru wolnej frakcji MPA metodą LC-MS/MS nie jest konieczne w rutynowej ambulatoryjnej praktyce w populacji chorych z kłębuszkowymi zapaleniami nerek.

Summary

Glomerulonephritis is an autoimmunological disease that affects modern society to a large extent. In many cases, renal filtration impairment occurs in the course of the disease. A drug that is properly selected and administered at the right dose can stop disease progression and, at times, even lead to the withdrawal of pathological changes in kidney parenchyma.

Mycophenolate mofetil belongs to a group of antiproliferative drugs. It is used in transplantology and in treatment of certain types of glomerulonephritis. Many reports have demonstrated a significant inter- and intraindividual variability in concentrations of mycophenolic acid, which indicates the need of dose individualisation for an optimal treatment. Issue of therapeutic drug monitoring of MMF is widely discussed in the literature and it mostly concerns patients after transplantation.

The aim of the study was to find out whether there is a relationship between pharmacokinetic parameters of mycophenolic acid and activity markers of glomerulonephritis and renal filtration. The objective of the study was also to determine if there is a relationship between the concentrations of total MPA, measured by immunoenzymatic method, and free fraction MPA, determined by liquid chromatography-tandem mass spectrometry.

The study group comprised 52 patients, including 21 women (40,38%) and 31 men (59,62%) at the age of 18 to 64, $41,1 \pm 14,2$ years on average (med. 39,5) with glomerulonephritis of various histological types. In all of the patients, mycophenolate mofetil was used in therapy.

At inclusion into the study, the concentration of mycophenolic acid was measured in steady state, 30 minutes and 120 minutes after drug administration. Measurements of the drug concentrations were carried out using immunoenzymatic method (EMIT). In the subgroup of 21 patients, the measurements of free fraction MPA were made with liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS). Based on the obtained results, the area under the concentration/time curve (AUC_{0-2h}) was calculated using linear trapezoidal rule. C_{max} was established separately for total MPA and free fraction MPA concentrations. Pharmacokinetic data were normalised to daily dose and body weight, which together with actual laboratory and clinical data were subjected to statistical analysis in order to determine correlations between clinical and pharmacokinetic variables. Observation period of disease activity was 3 and 12 months. Disease activity was evaluated on basis of the amount of actual proteinuria, presence of active urine sediment, defined as 6 and more erythrocytes in urine sediment and serum albumin concentration.

The results of the study showed the relationship between activity markers of glomerulonephritis and pharmacokinetic parameters. Numerous proportional relationships between C_{30} , C_{max} and AUC_{0-2h} and total serum protein and albumin serum concentration and inversely proportional relationships with the amount of proteinuria in morning urine and estimated daily proteinuria were found. Most of these relationships were confirmed when free fraction MPA were measured.

On the basis of the criterion for the division of patients regarding disease activity which was adopted in the methodology, statistically significant differences between both groups were found in terms of C_{30} ($p=0,030$), C_{max} ($p=0,041$), similarly after normalisation to daily dose and body weight, and AUC_{0-2h} values after normalisation to daily dose ($p=0,045$) as well as to the dose and body weight ($p=0,011$).

Relationships present at the time of inclusion into the study were also found in terms of parameters normalised to daily dose and body weight after 3 months and, to a lesser extent, after 12 months. Statistically significant relationships of these parameters with serum albumin and total protein and proteinuria after 3 and 12 months were also confirmed. Relationships between renal function and C_0 and C_{120} concentrations were observed at the time of inclusion, after 3 and 12 months, as well as after normalisation to dose and body weight.

Close relationship between total MPA concentrations, measured using EMIT method, and free fraction MPA, measured using LC-MS/MS, was found ($p<0,001$).

The following conclusions were made:

1. MMF dosage and its pharmacokinetics have influence on the long-term results of the glomerulonephritis treatment.
2. Patients with renal function impairment ($eGFR<60$ ml/min/1,73m²) reached higher MPA concentrations in specified time points, also normalised to dose and body weight.
3. In the studied population, MPA concentration correlated with disease activity after 3 months and, with some restrictions, after 12 months.
4. C_{30} and C_{max} as well as AUC_{0-2h} (also normalised to daily dose and body weight) turned out to be promising prognostic factors in the study group.
5. MPA concentration values determined by EMIT and free fraction MPA measured using LC-MS/MS method are strongly correlated. This indicates, that performing free MPA fraction measurement with usage of LC-MS/MS is not necessary in routine ambulatory practice in population of patients with glomerulonephritis.

