

Thao Hang Nguyen  
„Dr.sc.hum.“

## **Untersuchung von Caspofungin-Plasmaspiegel und deren Einflussfaktoren bei chirurgischen Intensivpatienten**

Geboren am 13.05.1976 in Rach Gia/Vietnam

(Staats-)Examen der Fachrichtung Pharmazie am 05.06 2003 an der Ruprecht-Karls-Universität Heidelberg

Promotionsfach: Hygiene

Doktorvater: Prof. Dr. med. H.-K. Geiss

Vorausgehende in vitro und in vivo Untersuchungen weisen auf eine konzentrationsabhängige antimykotische Wirkung von Echinocandinen hin. Ziel der vorliegenden Dissertationsschrift war die Untersuchung der Caspofungin-Talspiegel und deren Einflussfaktoren bei chirurgischen Intensivpatienten.

Zu Beginn der Arbeit musste eine analytische Methode für die Bestimmung von Caspofungin in Plasma etabliert werden. Die Methode musste reproduzierbar und für den Einsatz in der Routinebestimmung geeignet sein. Dafür wurde die Methode nach Schwartz et al. verwendet, welche eine Festphasenextraktion (SPE), Hochdruck-Flüssigkeits-Chromatographie (HPLC) und Fluoreszenz-Detektion vorsieht. Die hohe Adsorptionsaffinität von Caspofungin an Glas- und Kunststoffoberflächen erschwerte die Umsetzung der Methode. Es mussten daher eine Vielzahl von Anpassungsschritten eingeführt werden. Alle Modifikationen, die eine Adsorption an Glas reduzierten oder verhindern konnten, führten schließlich zu einer Verbesserung der Wiederfindungsrate von 40 – 50% auf 67%.

Ein weiteres Problem bei der Analytik war, dass zu Beginn keine Reinsubstanz und kein interner Standard verfügbar waren. Micafungin und drei Fluorchinolone wurden untersucht, um als interner Standard zu fungieren. In der Simultanbestimmung von Caspofungin und Micafungin war eine Detektion von Micafungin jedoch nicht möglich. Die Retentionszeiten der Fluorchinolone waren dagegen zu kurz und annähernd identisch mit Retentionszeiten von Verunreinigungen im Plasma. Die untersuchten Substanzen konnten schließlich nicht die Funktion eines internen Standards übernehmen. Daraufhin wurde mit der Standardaddition gearbeitet, die jedoch wegen des hohen Zeitaufwandes und geringer Probenausbeute für die

Routineuntersuchung als nicht geeignet erschien. Der Einsatz eines internen Standards ist damit eine wichtige Voraussetzung für die Reproduzierbarkeit der Caspofungin-Analytik. Schließlich wurde uns für dieses Projekt Caspofungin-Reinsubstanz und interner Standard durch den Hersteller zur Verfügung gestellt.

Die Ergebnisse der Validierung der analytischen Methode lieferten reproduzierbare Daten bezüglich Spezifität und Präzision. Des Weiteren zeigten die Ergebnisse der Stabilitätsuntersuchung eine ausreichende Stabilität von Caspofungin in Plasma (bei  $-80^{\circ}\text{C}$  über 1 Jahr) und Vollblut (bei  $2 - 8^{\circ}\text{C}$  über 72 Std). Eine Konzentrationsbeeinflussung von Caspofungin durch Hämolyse oder Verteilung in Blutzellen während der Lagerung wurde ebenso nicht beobachtet. Damit ist ein Transport von Caspofungin-Proben unter vereinfachten Bedingungen bei  $2 - 8^{\circ}\text{C}$  möglich. Mit der erfolgreichen Validierung der analytischen Methode positionierte sich die Apotheke des Universitätsklinikums Heidelberg als erstes Zentrum in Deutschland, das die Caspofungin-Spiegelbestimmung sowohl für interne als auch externe Kliniken für die Routineuntersuchung durchführt.

Der erste Einsatz der erfolgreich etablierten analytischen Methode erfolgte im Rahmen der vorliegenden Dissertationsschrift in einer kontrollierten klinischen Studie (§§ 40 – 42 Arzneimittelgesetz) zur Untersuchung bei chirurgischen Intensivpatienten. Die Studie war in 2 Untersuchungen unterteilt. Im ersten Teil der Studie wurden die täglich, therapiebegleitend bestimmten Caspofungin-Talspiegel ( $C_{24h}$ ) retrospektiv ausgewertet. Ziel der Untersuchung war zu evaluieren, ob bei chirurgischen Intensivpatienten bei der Standarddosierung ähnliche Caspofungin-Talspiegel erzielt werden wie bei gesunden Probanden (vergleichbares Alter und Körpergewicht) in vorausgegangenen Studien. Als Zielkonzentration wurde analog der Studie mit gesunden Probanden  $1 \mu\text{g/ml}$  festgelegt. Diese Zielkonzentration beruht auf in vitro Empfindlichkeitsuntersuchungen und deckt die minimale Hemmkonzentration der meisten *Candida* Erreger ab. Des Weiteren sollten die Ergebnisse dieser Studie zeigen, ob bei chirurgischen Intensivpatienten stark variierende Caspofungin-Talspiegel vorhanden sind. Schließlich galt es zu klären, ob die Notwendigkeit einer individualisierten Caspofungin-Therapie bei Intensivpatienten vorliegt. Um Einflussfaktoren auf die Caspofungin-Talspiegel abzubilden, wurde ein komplexes statistisches Modell entwickelt. Die Auswertung erfolgte für 38 chirurgische Intensivpatienten.

Die Ergebnisse aus der retrospektiven Untersuchung zeigten bei den meisten Studienteilnehmern Caspofungin-Talspiegel von  $>1 \mu\text{g/ml}$  bei Standarddosierung. Im Gegensatz zu der Studie mit gesunden Probanden, erreichten einige Intensivpatienten mit der

gleichen Dosierung nicht die Zielkonzentration von 1 µg/ml. Bei den Intensivpatienten war eine höhere Variabilität der Caspofungin-Talspiegel im Vergleich zu gesunden Probanden zu beobachten (0,21 bis 5,10 µg/ml vs. 1,12 bis 2,17 µg/ml).

Bei der statistischen Analyse blieben von den Variablen Alter, Geschlecht, Körpergewicht, APACHE-II-Score, SOFA-Score, Albumin-Konzentration, Katecholamingabe, Hämodialyse, Begleitmedikation mit Tacrolimus und Methylprednisolon im Endmodell noch die 4 Kovariablen Körpergewicht, Albumin-Konzentration, Hämodialyse und Methylprednisolonegabe übrig. Diese wurden in zusätzlichen einfachen Modellen auf ihre Einzeleffekte hin untersucht. Das Ergebnis der einfachen Modelle ergab, dass eine begleitende Therapie mit Methylprednisolon ( $p = 0,006$ ), niedriges Körpergewicht ( $\leq 75$  kg;  $p = 0,009$ ) und höhere Albumin-Konzentrationen ( $>23,6$  g/L;  $p = 0,028$ ) einen signifikanten Einfluss auf die Erhöhung der Caspofungin  $C_{24h}$  ausüben. Der Einfluss der Hämodialyse war dagegen statistisch nicht signifikant ( $p = 0,272$ ).

Im linear gemischten Modell fielen die Ergebnisse zum Teil unterschiedlich aus. Patienten ohne Dialyse, niedrigem Albumin, geringem Körpergewicht und ohne Gabe von Methylprednisolon hatten im Mittel einen geschätzten Caspofungin  $C_{24h}$  von 2,04 µg/ml. Der Einfluss von Körpergewicht und Albumin-Konzentration auf die Caspofungin  $C_{24h}$  war statistisch signifikant ( $p = 0,019$ ;  $p = 0,030$ ), während die Gabe von Methylprednisolon und die Hämodialyse die Talspiegel nicht signifikant beeinflussten ( $p = 0,057$ ;  $p = 0,085$ ). Basierend auf den Ergebnissen aus einfachen Modellen und gemischtem Modell stellen somit Körpergewicht und Albumin-Konzentration potentielle prognostische Einflussfaktoren dar.

Im zweiten Teil der Studie wurde die Pharmakokinetik unter Einbeziehung der Ergebnisse aus dem linear gemischten Modell bei einem Intensivpatienten untersucht. Die Daten zeigten einen erhöhten Caspofungin  $C_{24h}$ , der mit einer leichten Zunahme der Fläche unter der Konzentrations-Zeit-Kurve ( $AUC_{0-24}$ ), einer um 50% reduzierte Clearance (CL) und einer verlängerten Halbwertszeit ( $t_{1/2}$ ) assoziiert war. Verglichen mit Daten von gesunden Probanden war am ersten Behandlungstag die  $AUC_{0-24}$  bei dem untersuchten Patienten leicht erhöht und  $t_{1/2}$  um nahezu das Doppelte verlängert.

Die Daten der vorliegenden Dissertationsschrift zeigen, dass unter der Standarddosierung und unter Berücksichtigung der Dosisanpassung bei erhöhtem Körpergewicht die Caspofungin  $C_{24h}$  bei den meisten chirurgischen Intensivpatienten oberhalb der Zielkonzentration von 1 µg/ml liegen. Es gab jedoch in der vorliegenden Studie Patienten mit geringem Körpergewicht, die Caspofungin  $C_{24h}$  von  $<1$  µg/ml hatten. Neben dem Körpergewicht war

die Albumin-Konzentration ein weiterer potentieller Einflussfaktor. Dabei hatten Patienten mit niedriger Albumin-Konzentration statistisch signifikant geringere Caspofungin  $C_{24h}$ . Die Ergebnisse der pharmakokinetischen Untersuchung zeigen außerdem, dass eine Veränderung der Caspofungin-Plasmaspiegel mit einer Beeinflussung der CL sowie der  $t_{1/2}$  assoziiert sein kann. Für Patienten, die unter einer Caspofungin-Therapie keine Besserung zeigen, kann daher eine therapiebegleitende Spiegeluntersuchung klinisch bedeutsam sein. Welche weiteren Faktoren im Zusammenhang mit der erniedrigten Caspofungin  $C_{24h}$  bei Intensivpatienten stehen und welche Konsequenzen die niedrigen Spiegel auf die Effektivität der Caspofungin-Therapie haben, muss in größeren multizentrischen, prospektiv randomisierten Studien untersucht werden.