

Pharmacologie du mycophénolate mofétil : données récentes et conséquences cliniques

E. Thervet^{1,2}, D. Anglicheau^{1,2} et C. Legendre²

¹Unité INSERM U490, toxicologie moléculaire, Centre universitaire des Saints-Pères, Paris;

²Service de néphrologie, Hôpital Saint-Louis, Paris

Résumé • Summary

De nouvelles données concernant les propriétés pharmacocinétiques et pharmacodynamiques du mycophénolate mofétil (MMF) ont récemment été rapportées.

La glyconoconjugaison de l'acide mycophénolique (MPA) aboutit à la formation de deux métabolites dont l'acyl-glucuronide de MPA récemment décrit, qui serait actif et responsable de certains des effets indésirables. La glyconoconjugaison est réalisée par au moins deux formes d'uridine diphosphate glycuronyltransferase (UGT), l'UGT1A8 et l'UGT1A10 dont les variations d'expression pourraient expliquer la variabilité inter- et intra-individuelle du métabolisme du MMF.

L'inosine monophosphate déshydrogénase (IMPDH) est l'enzyme cible du MPA. Les gènes des deux isoformes de l'IMPDH ont été clonés. Le double cycle du MPA s'insère sous le cycle hypoxanthine de l'IMPDH et bloque l'intermédiaire covalent de la réaction enzymatique.

En pratique clinique, une étude randomisée a montré que l'efficacité thérapeutique du MMF est corrélée à l'aire sous la courbe du MPA alors que les effets indésirables sont corrélés à la dose. En cas de traitement combiné avec la ciclosporine, il existe une diminution significative des taux de MPA.

La meilleure connaissance du métabolisme du MMF, des facteurs de variabilité ainsi que des concentrations cibles à obtenir en pratique clinique permettra son utilisation optimale.

Mots clés : Mycophénolate mofétil – Immunosupresseur – Pharmacocinétique – Pharmacodynamie – Pharmacogénétique – Transplantation rénale.

New insights have been recently obtained about pharmacokinetic and pharmacodynamic characteristics of mycophénolate mofetil (MMF).

One of the already described MPA metabolite, the acyl-glucuronide of MPA may be both active and responsible for some side-effects. Glucuronidation is mediated by at least two uridine diphosphate glucuronosyltransferase (UGT) forms, namely UGT1A8 and UGT1A10 whose variability could explain the inter- and intra-individual variability of MMF metabolism.

MPA pharmacokinetic data in dialyzed patients or in patients with chronic renal failure are now available. After renal transplantation, MPA levels vary between immediate post-transplant period, at three months and at two years.

The target enzyme is inosine monophosphate deshydrogenase (IMPDH). The genes of the two IMPDH isoforms have been cloned. The bicyclic ring system of MPA packs underneath the hypoxanthine ring of IMPDH, thereby trapping this covalent intermediate of the enzymatic reaction.

After renal transplantation, a randomized trial has shown that clinical efficacy is correlated with MPA AUC but side effects are correlated with MMF dosage. When associated with ciclosporine, there is a significant decrease of MPA level.

Better knowledge of MMF metabolism, of variability factors and target levels to reach in clinical practice should allow a better use of MMF.

Key words : Mycophenolate mofetil – Immunosuppression – Pharmacology – Kidney transplantation.

● Abréviations

MMF : mycophénolate mofétil
MPA : acide mycophénolique
IMPDH : inosine monophosphate déshydrogénase
NAD : nicotinamide adénine dinucléotide
ASC : aire sous la courbe
C_{max} : concentration maximale
T_{max} : temps d'obtention de la concentration maximale
DFG : débit de filtration glomérulaire
K_i : constante d'inhibition
K_m : constante de Michaelis
RCCT : Randomized Concentration-Controlled Clinical Trial
RA : rejet aigu
BR : biopsie rénale

IR : insuffisance rénale
IMP : inosine monophosphate
XMP : xanthine monophosphate
pb : paire de bases
H : atome hydrogène
E-XMP : intermédiaire enzymatique après liaison covalente
CLHP : chromatographie liquide de haute performance
UV : ultraviolet
MPAG : 7-O-glucuronide de l'acide mycophénolique
AcMPAG : acyl glucuronide de l'acide mycophénolique
EMIT : Enzyme-Multiplied Immunoassay Technique
UGT : Uridine diphosphate glycuronyltransferase
ADNc : ADN complémentaire
IL-6 : interleukine 6
TNF α : Tumor necrosis factor α

■ Introduction

Le mycophénolate mofétil (MMF), 2,4-morpholino-éthyl ester de l'acide mycophénolique (MPA), agit sur la prolifération lymphocytaire T et B par une inhibition sélective et réversible de l'inosine monophosphate déshydrogénase (IMPDH), enzyme-clé de la synthèse de novo des bases puriques (fig. 1).¹

Son efficacité a été démontrée dans la prévention des rejets aigus après transplantation d'organes.^{2,3} Son utilisation dans certaines pathologies auto-immunes a été proposée.⁴ Malgré sa tolérance clinique et un index thérapeutique large, les nouvelles indications et/ou associations thérapeutiques rendent nécessaire une meilleure connaissance de son métabolisme et de son suivi biologique.

Le suivi biologique d'un traitement doit permettre de convertir une variable pharmacocinétique (un dosage médicamenteux), ou pharmacodynamique (une activité biologique), en un test prédictif d'efficacité ou de tolérance. La difficulté est de déterminer les variables informatives et les zones thérapeutiques, infra-thérapeutiques et supra-thérapeutiques.

Dans cette revue, nous allons discuter les données récentes éclairant le métabolisme du MMF et de sa cible, l'IMPDH dans la population générale et dans des populations particulières afin de définir les variables informatives. Nous discuterons ensuite les résultats des corrélations clinico-biologiques.

■ Données pharmacocinétiques

● Méthodes analytiques

Les fractions plasmatique, mononucléée et érythrocytaire contiennent respectivement 99,99%, 0,01% et 0,0005% du MPA sanguin.⁵ Le plasma est donc le milieu le plus indiqué pour la mesure de la concentration de MPA.

Chromatographie liquide de haute performance (CLHP)

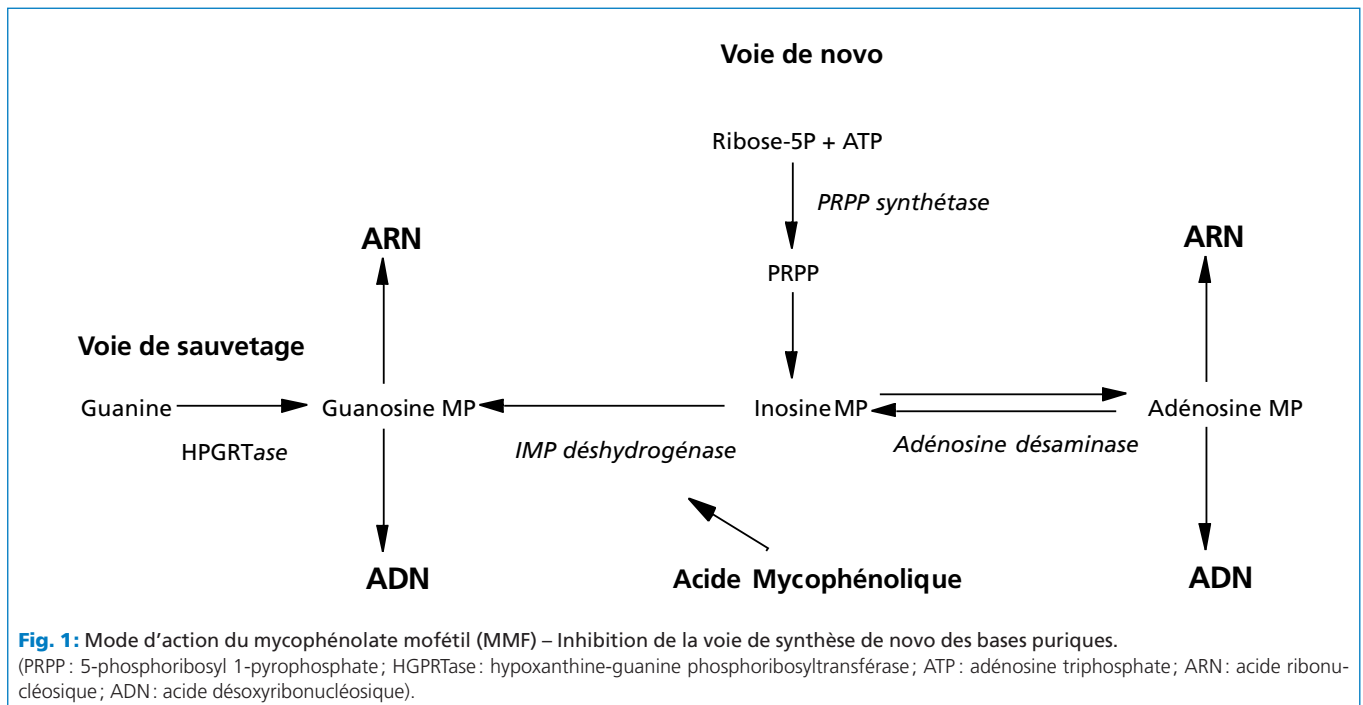
Plusieurs techniques CLHP, méthode de référence pour le dosage dans le plasma,^{6,7} les urines⁸ et la bile ont été décrites. Elles permettent le dosage du MPA, et de son métabolite principal le 7-O-glucuronide (MPAG)^{9,10} et ont récemment permis de mettre en évidence un nouveau métabolite actif l'acyl glucuronide (AcMPAG).^{11,12} Dans le plasma, la limite de quantification rapportée est de 0,100 mg/l pour le MPA et de 4,00 mg/l pour le MPAG.⁷

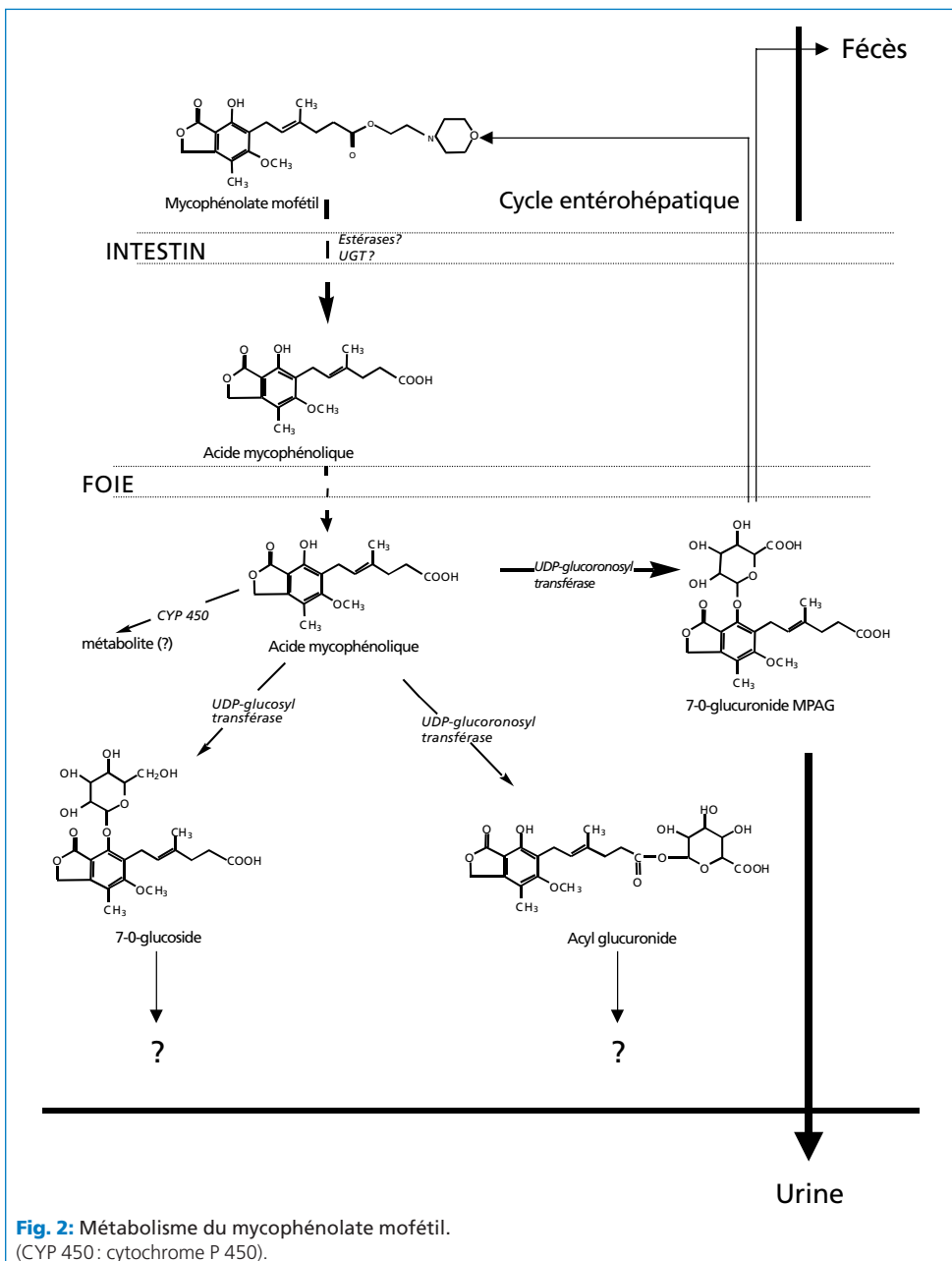
Enzyme-Multiplied Immunoassay Technique (EMIT)

Le principe du test repose sur une compétition entre le MPA sérique et le MPA associé à la glucose-6-phosphate déshydrogénase. La limite de quantification du test est de 0,5 mg/l.¹³ L'intérêt de ce test est son automatisation ainsi que le dosage englobant celui de l'AcMPAG.¹² Ceci explique les concentrations plus élevées retrouvées avec le test EMIT qu'avec la CLHP¹⁴ et pourrait être cliniquement intéressant puisque le AcMPAG semble intervenir dans l'efficacité et la toxicité du MPA.¹⁵

● Données pharmacocinétiques récentes (fig. 2)

Le MPA formé par désestérification plasmatique et intestinale du MMF est métabolisé par glycuronoconjugaison. A ce jour, deux métabolites principaux, le 7-O-MPAG inactif et le AcMPAG actif ont été décrits.^{11,16} Des données récentes qu'il convient de confirmer suggèrent que ce dernier pourrait être responsable d'une partie de l'efficacité mais aussi de la toxicité du traitement par le biais d'une induction de la libération de cytokines (IL-6 et TNF α).¹⁶ La glycuronoconjugaison est réalisée par au moins deux formes d'uridine diphosphate glycuronosyltransférase (UGT), l'UGT1A8 et l'UGT1A10.¹⁷ Il a été rapporté que ces deux enzymes, présentes dans le tube digestif, jouent un rôle dans le métabolisme digestif du MPA¹⁷ et dans l'acquisition d'une résistance au MPA par des





est donc peu altérée par l'insuffisance rénale contrairement à celle du MPAG qui diminue proportionnellement au débit de filtration glomérulaire (DFG).

Chez les patients en hémodialyse ou en dialyse péritonéale, l'ASC du MPA est significativement augmentée mais non la C_{max} .²¹ Les concentrations plasmatiques de MPA ne baissent pas significativement après une séance d'hémodialyse ou en dialyse péritonéale. Le MPAG est détectable dans le bain d'hémodialyse ou le liquide de dialyse péritonéale mais non le MPA.

Il ne faut donc pas adapter les doses de MMF chez le patient insuffisant rénal dialysé ou non. L'apparition d'effets indésirables qui est corrélée à la dose et non aux paramètres pharmacocinétiques (cf. infra) guidera l'adaptation posologique.

Transplantés rénaux

Les paramètres pharmacocinétiques se modifient au cours du temps après transplantation rénale. La revue des données disponibles indique que la concentration sanguine du MPA augmente de 30 à 50% pour la même posologie entre la période de post-transplantation immédiate et celle de trois mois après la greffe pour se stabiliser à neuf mois post-transplantation.²² Cette augmentation liée à des modifications de l'absorption, de l'albumine sérique et de la fonction rénale apparaît progressivement.²³ En particulier les variations de l'albuminémie pourraient

contrebalancer les modifications des paramètres d'absorption et permettre en réalité que la concentration de MPA libre reste stable durant la période initiale après transplantation. Chez des patients recevant du MMF depuis plus de deux ans suivant la transplantation, une étude pilote a montré une diminution inexpliquée de la concentration de MPA.²⁴

Pédiatrie

La dose habituellement retenue chez l'enfant est de $1,2g/m^2/j$, dose extrapolée à partir des données de l'adulte.²⁵ Comme chez l'adulte, l'ASC du MPA augmente durant les trois premiers mois suivant la transplantation rénale.²⁶ Ces données sont cependant à moduler avec les résultats de Jacqz-Aigrin et

cellules d'une lignée de cancers colorectaux.¹⁸ Le rôle en physiologie humaine reste à préciser mais l'importance de ce métabolisme semble non négligeable par rapport au métabolisme hépatique. La variabilité de l'expression de ces enzymes est actuellement à l'étude. Une autre isoforme, l'UGT1A9 pourrait jouer un rôle dans le métabolisme hépatique et rénal du MPA.¹⁷ Le rôle du cycle enterohépatique reste quant à lui à élucider¹⁹ ainsi que les conséquences pharmacodynamiques des modifications de liaison à l'albumine.

● Populations particulières

Insuffisance rénale

Le MPA a un métabolisme essentiellement hépatique et l'élimination du MPAG est surtout urinaire.^{15,20} La clairance du MPA

coll. qui ont récemment rapporté des concentrations plasmatiques et des aires sous la courbe plus élevées que celles attendues.²⁷

Forme intraveineuse (tableau I).

Les paramètres pharmacocinétiques après perfusion continue sur deux heures obtenus chez trente et un transplantés rénaux ont été comparés à ceux obtenus après une même dose per os.²⁸ Par rapport à la prise orale, l'injection conduit à une augmentation modeste de l'ASC du MPA sans modification de la Cmax. La pharmacocinétique du MPAG est elle inchangée. Ces constatations ont conduit à proposer pour la voie i.v. deux perfusions de deux heures par jour de MMF à la même posologie que per os.

Propriétés pharmacodynamiques

Une alternative au suivi thérapeutique classique est la mesure d'un effet biologique en réponse au traitement étudié.²⁹ Il peut s'agir de marqueur d'activation et de prolifération comme cela a été récemment rapporté dans un modèle expérimental par Dambriin et coll. (Société francophone de transplantation, Genève, décembre 2000). Une autre approche qui peut être utilisée pour le MMF est celle de la mesure de l'inhibition de l'activité de l'enzyme cible, l'IMPDH.

Caractérisation de l'IMPDH

L'IMPDH catalyse la conversion de l'IMP en xanthine monophosphate (XMP) combinée à la réduction simultanée de NAD en NADH.³⁰ Les gènes des deux isoformes de l'IMPDH ont été clonés.^{31,32} Les deux gènes comportent quatorze exons conservés qui varient entre 49 et 207 paires de bases mais des introns de structures complètement différentes. La taille des gènes est de 18 kb pour le type 1 et de 5,8 kb pour le type 2. Les régions de régulation en 5' sont aussi très différentes. L'expression du gène de type I est contrôlée par trois promoteurs distincts avec une spécificité tissulaire alors que le gène de type II est régulé par un seul promoteur et est associé à son extrémité 5' à un gène dont la fonction n'est pas connue.³³ L'activation des lymphocytes T périphériques conduit à une augmentation d'un facteur 10 de l'activité IMPDH. Cette augmentation de l'activité rapportée dans un premier temps de façon prépondérante à l'isoforme 1 pourrait toucher les deux isoformes.^{32,33}

L'IMPDH est un homotétramère dont les sous-unités ont un poids moléculaire d'environ 55 kDa.^{32,34} Le site actif possède deux sites de liaison pour les substrats IMP et NAD. Le mécanisme de l'IMPDH implique la formation et l'hydrolyse d'un inter-

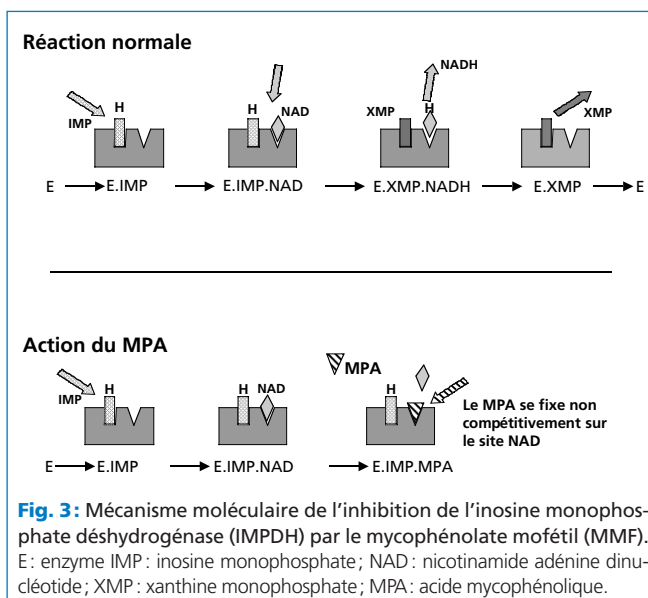


Fig. 3: Mécanisme moléculaire de l'inhibition de l'inosine monophosphate déshydrogénase (IMPDH) par le mycophénolate mofétil (MMF). E: enzyme IMP: inosine monophosphate; NAD: nicotinamide adénine dinucléotide; XMP: xanthine monophosphate; MPA: acide mycophénolique.

médiaire enzymatique covalent (E-XMP).³⁵ Le MPA bloque l'intermédiaire covalent de la réaction enzymatique en s'insérant sous le cycle hypoxanthine de l'IMPDH (fig. 3).³⁶ Le MPA inhibe mieux l'isoforme 2 que l'isoforme 1 avec une Ki environ 4,8 fois plus faible que cette dernière.³²

Mesure de l'activité IMPDH

La technique la plus utilisée est fondée sur la conversion de l'inosine marquée (³H]inosine) en xanthine, qui est mesurée par le relargage de tritium.³⁷ Une technique CLHP récemment décrite a montré que l'activité IMPDH sanguine totale est majoritairement localisée dans les érythrocytes.³⁸ La contribution des cellules mononucléées est d'environ 10%.

Résultats

Des études réalisées chez le lapin³⁹ et le chien,⁴⁰ montrent une corrélation entre les taux sanguins de MPA et l'inhibition de l'activité IMPDH qui est maximale entre deux et quatre heures après la prise. Ces valeurs sont corrélées à la survie des greffons. Chez des transplantés rénaux, il existe une relation inversement proportionnelle entre la concentration de MPA et l'activité IMPDH.⁴¹ Le pic de concentration de MPA, une heure après la prise, inhibe environ 40% de l'activité IMPDH. Cette inhibition, présente pendant environ huit heures, diminue progressivement. Entre les individus, on note une variabilité aussi bien des concen-

Tableau I: Caractéristiques pharmacocinétiques des formes orale et intraveineuse du mycophénolate mofétil (MMF).

I.v.: intra-veineux; p.o.: per os; IC: intervalle de confiance; MPA: acide mycophénolique; ASC: aire sous la courbe; Cmax: concentration maximale; Tmax: temps de la concentration maximale (d'après Pecovitz et coll.²⁸).

	MMF i.v.	MMF p.o.	p	Ratio i.v./p.o.	90% IC
MPA					
ASC0-12 (µg.h/ml)	40,8 ± 11,4	32,9 ± 15,0	< 0,001	123,9	112,6; 135,2
Cmax (µg/ml)	12,0 ± 3,8	10,7 ± 4,8	0,252	112,5	90,7; 134,3
Tmax (h)	1,58 ± 0,46	1,33 ± 1,05	0,231	118,8	87,4; 150,2
MPAG					
ASC0-12 (µg.h/ml)	720 ± 316	746 ± 302	0,324	96,5	90,5; 102,4
Cmax (µg/ml)	74,6 ± 27,3	80,2 ± 27,5	0,086	93,0	86,4; 99,7
Tmax (h)	3,42 ± 2,03	3,61 ± 2,73	0,713	94,8	70,9; 118,7

trations en MPA que de l'inhibition de l'activité IMPDH. Il est important de noter que les variabilités de ces deux paramètres ne sont pas corrélées entre elles.

A long terme, Sanquer et coll. ont rapporté dans une étude pilote, que deux ans après une transplantation rénale, les patients traités par MMF présentaient une inhibition moindre de l'activité IMPDH par rapport à des patients récemment greffés à concentration égale.⁴² Le mécanisme de cette observation n'est pas connu. Une étude longitudinale de l'activité IMPDH au long cours est actuellement menée.

■ Corrélation pharmacocinétique: étude RCCT⁴³

Les études classiques qui utilisent une dose fixe d'un traitement ne prennent pas en compte la variabilité inter- et intra-individuelle pharmacocinétique ou pharmacodynamique. L'étude « Randomized Concentration-Controlled Clinical Trial (RCCT) » a pris en compte cette variabilité en adaptant régulièrement la posologie de MMF à des ASC cibles de MPA.

● Méthodologie

Dans cette étude multicentrique randomisée en double aveugle portant sur des groupes parallèles, les patients recevaient de la ciclosporine. Ils étaient inclus dans un groupe bas, intermédiaire ou haut définis respectivement par une ASC cible de 16,1, 32,2 et 60,6 $\mu\text{g}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{ml}^{-1}$. Les doses initiales étaient de 0,45 g, 0,95 g et 1,7 g deux fois par jour. Un laboratoire centralisé réalisait les dosages de MPA par CLHP et envoyait les instructions d'ajustement de doses à effectuer en aveugle.

● Résultats

Doses

Pour les groupes bas, intermédiaire et haut, les doses quotidiennes moyennes de MMF ont été respectivement de 0,90 g (extrême 0,50-1,90), 2,30 g (0,80-3,90) et 4,1 g (2,20-4,40). Comme cela a été déjà décrit, les ASC ont augmenté progressivement de J3 à la 20^e semaine après transplantation.

Efficacité (tableau II)

Il existe une relation sigmoïde entre la réduction de la probabilité de rejet et l'augmentation de l'ASC du MPA mais non avec la dose de MMF. Des ASC comprises entre 13,9 et 27,6 pour le groupe bas, 24,6 à 54,8 pour le groupe intermédiaire et 39,1 à 96,7 $\mu\text{g}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{ml}^{-1}$ pour le groupe haut entraînent respectivement une incidence de rejet à six mois de 27,5%, 14,9% et 11% respectivement.

Tolérance

Le risque de toxicité spécifique (diarrhée, nausée, leucopénie, et douleurs abdominales) était en revanche corrélé avec la dose de MMF mais non avec l'ASC.

Tableau II: Résultats cliniques après transplantation rénale selon l'ASC cible.

	Groupe ASC bas	Groupe ASC intermédiaire	Groupe ASC haut
Nombre de patients	51	47	52
RA prouvé*	14	7	6
RA présumé	3	2	3
RA traité-BR négative	0	2	1
El > 1	38	36	42
Arrêt par El	4	11	23

RA: rejet aigu; BR: biopsie rénale; El: événements indésirables; ASC: aire sous la courbe. (D'après van Gelder T. et coll.⁴³). (*p = 0,043 bas versus intermédiaire/haut).

● Conclusion

Au vue de ces données, il convient de baisser la posologie de MMF en cas de survenue d'un événement indésirable sans pratiquer de dosage sanguin.

En ce qui concerne l'efficacité, la fourchette intermédiaire de posologie peut être adoptée pour un patient sans risque immunologique particulier. En cas de risque immunologique élevé (par exemple en cas de 2^e transplantation, patient immunisé, etc.), l'utilisation d'une posologie initiale plus élevée associée à une mesure de la concentration sanguine avec pour but une fourchette « haute » peut être recommandée en particulier si le MMF est associé avec du tacrolimus ou du sirolimus.

■ Interactions avec les traitements immunosuppresseurs

Contrairement aux informations initialement disponibles, la pharmacocinétique du MMF est influencée par l'immunosuppression concomitante.⁴⁴

● Ciclosporine

Gregoor et coll. ont montré que les concentrations plasmatiques de MPA augmentaient significativement après l'arrêt de la ciclosporine par rapport aux patients continuant cette association thérapeutique (respectivement 3,16 mg/ml versus 1,87 mg/l).⁴⁵ Les explications proposées sont une action de la ciclosporine sur la flore intestinale modifiant le cycle entéro-hépatique ou une modification des produits du métabolisme du MPA (MPAG et AcMPAG). Des études longitudinales sont en cours.

● Tacrolimus

Plusieurs équipes ont rapporté que l'utilisation du tacrolimus augmentait de façon significative les taux résiduels de MPA.^{46,47} Zucker et coll. ont montré dans un modèle de microsomes hépatiques exprimant diverses isoformes d'UGT d'origine hépatique ou rénale que le tacrolimus était un inhibiteur compétitif de la glucuronocouplage du MPA dont la Ki est de $27,3 \pm 5,6$ ng/ml.⁴⁸

L'interaction médicamenteuse entre tacrolimus et MMF pourrait être le fait d'une inhibition de la glycuronoconjugaison du MPA de mécanisme complexe non encore élucidé. Cependant, il n'a pas été démontré que cette interaction avait une traduction clinique. Lors d'une étude clinique comparant un traitement associant du tacrolimus soit avec de l'azathioprine, soit avec du MMF à la dose de 1 g/j ou de 2 g/j, l'incidence du rejet aigu n'est diminuée que chez les patients recevant 2 g de MMF.⁴⁹

● Sirolimus

Aucune interaction pharmacocinétique n'a été rapportée à ce jour. Dans un article clinique récemment publié, les taux résiduels de MPA étaient significativement plus élevés chez les patients recevant du sirolimus par rapport à ceux recevant de la ciclosporine.⁵⁰ Ce résultat pourrait traduire l'interaction ciclosporine-MMF.

■ Conclusion

Le MMF est couramment utilisé dans la stratégie immunosuppressive après transplantation d'organe. Les données récentes apportent une meilleure connaissance de son métabolisme.

Cette connaissance devrait permettre une individualisation du traitement selon le contexte clinique et les caractéristiques génétiques et environnementales du patient traité. En particulier, la détermination des isoformes d'UGT impliquées dans le métabolisme du MMF et la connaissance de leurs polymorphismes génétiques ou de leur variabilité d'expression pourraient permettre une adaptation pharmacogénétique du traitement.

En ce qui concerne le suivi clinique, il n'existe pas de consensus actuel sur les indications indiscutables de suivi. A la lumière des données récentes et en prenant en compte les études indiscutables de la littérature, nous pensons que l'intérêt de doser le MPA systématiquement ne peut être retenu en dehors de protocoles de recherche clinique. Le rapport bénéfice/inconvénients du suivi régulier est discutable puisque ce suivi nécessite la réalisation d'une mesure de l'ASC contraignante pour le patient et de coût élevé. Selon les résultats de l'étude RCCT, le dosage sanguin n'est pas nécessaire non plus en cas de survenue d'un événement indésirable imputable au MMF. Il convient de réaliser un dosage sanguin ponctuel par CLHP ou par EMIT en cas d'inefficacité clinique (rejet aigu clinique et/ou histologique) malgré l'utilisation des doses habituelles. Lors de la diminution, et a fortiori de l'arrêt des autres traitements immunosuppresseurs, le dosage peut permettre de vérifier la bonne couverture thérapeutique du patient par le MMF et l'absence d'apparition de modification de la concentration sanguine en particulier en cas d'arrêt de la ciclosporine. La détermination de l'effet pharmacodynamique n'a pas sa place actuellement à l'exception de protocoles thérapeutiques.

Adresse de correspondance :

Dr Eric Thervet
Service de néphrologie
Hôpital Saint-Louis
1, avenue Claude Vellefaux
F-75475 Paris Cedex 10
E-mail : eric.thervet@sls.ap-hop-paris.fr



Références

- Allison AC, Eugui EM. Immunosuppressive and other effects of mycophenolic acid and an ester prodrug, mycophenolate (Review). *Immunol Rev* 1993; 136: 5-28.
- Halloran P, Mathew T, Tomlanovich S, Groth C, Hooftman L, Barker C. Mycophenolate mofetil in renal allograft recipients: A pooled efficacy analysis of three randomized, double-blind, clinical studies in prevention of rejection. The International Mycophenolate mofetil Renal Transplant Study Groups. *Transplantation* 1997; 63: 39-47.
- Kobashigawa J, Miller L, Renlund D, Mentzer R, Alderman E, Bourge R, Costanzo M, Eisen H, Dureau G, Ratkovec R, Hummel M, Ipe D, Johnson J, Keogh A, Mamelok R, Mancini D, Smart FD, Valantine H. A randomized active-controlled trial of mycophenolate mofetil in heart transplant recipients. Mycophenolate mofetil investigators. *Transplantation* 1998; 66: 507-15.
- Thervet E, Socié G. Perspectives des nouveaux immunosuppresseurs en greffe de moelle et pour le traitement des maladies autoimmunes. *Hématologie* 1999; 5: 494-501.
- Nowak I, Shaw LM. Mycophenolic acid binding to human serum albumin: Characterization and relationship to pharmacodynamics. *Clin Chem* 1995; 41: 1011-7.
- Tsina I, Kaloostian M, Lee R, Tarnowski T, Wong B. High-performance liquid chromatographic method for the determination of mycophenolate mofetil in human plasma. *J Chromatogr B Biomed Appl*. 1996; 681: 347-53.
- Tsina I, Chu F, Hana K, Kaloostian M, Tam YL, Tarnowski T, Wong B. Manual and automated (robotic) high-performance liquid chromatography methods for the determination of mycophenolic acid and its glucuronide conjugate in human plasma. *J Chromatogr B Biomed Appl* 1996; 675: 119-29.
- Bullingham R, Monroe S, Nicholls A, Hale M. Pharmacokinetics and bioavailability of mycophenolate mofetil in healthy subjects after single-dose oral and intravenous administration. *J Clin Pharmacol* 1998; 36: 315-24.
- Sugioka N, Odani H, Ohta T, Kishimoto H, Yasumura T, Takada K. Determination of a new immunosuppressant, mycophenolate mofetil, and its active metabolite, mycophenolic acid, in rat and human body fluids by high-performance liquid chromatography. *J Chromatogr B Biomed Appl* 1994; 654: 249-56.
- Na-Bandgchang K, Supasyndh O, Supaporn T, Banmairuroi V, Karbwang J. Simple and sensitive high-performance liquid chromatographic method for the determination of mycophenolic acid in plasma. *J Chromatogr B Biomed Sci Appl* 2000; 738: 169-73.
- Shipkova M, Armstrong VW, Wieland E, Niedmann PD, Schutz E, Brenner-Weiss G, Voihsel M, Braun F, Oellerich M. Identification of glucoside and carboxyl-linked glucuronide conjugates of mycophenolic acid in plasma of transplant recipients treated with mycophenolate mofetil. *Br J Pharmacol* 1999; 126: 1075-82.
- Shipkova M, Schutz E, Armstrong VW, Niedmann PD, Oellerich M, Wieland E. Determination of the acyl glucuronide metabolite of mycophenolic acid in human plasma by HPLC and EMIT. *Clin Chem* 2000; 46: 365-72.
- Behring Diagnostics Inc. CA. EMIT mycophenolic acid assay: Manufacturer's guidelines. *Clin Chem* 1996; 43: S209.
- Beal JL, Jones CE, Taylo PJ, Tett SE. Evaluation of an immunoassay (EMIT) for mycophenolic acid in plasma from renal transplant recipients compared with a high-performance liquid chromatography assay. *Ther Drug Monit* 1998; 20: 685-90.
- Wieland E, Shipkova M, Schelhaas U, Schutz E, Niedmann PD, Armstrong VW, Oellerich M. Induction of cytokine release by the acyl glucuronide of mycophenolic acid: A link to side effects? *Clin Biochem* 2000; 33: 107-13.

16. Bullingham RE, Nicholls AJ, Kamm BR. Clinical pharmacokinetics of mycophenolate mofetil. *Clin Pharmacokinet* 1998; 34: 429-55.
17. Mackenzie PI. Identification of uridine diphosphate glucuronosyltransferases involved in the metabolism and clearance of mycophenolic acid. *Ther Drug Monit* 2000; 22: 10-3.
18. Franklin TJ, Jacobs VN, Jones G, Ple P. Human colorectal carcinoma cells in vitro as a means to assess the metabolism of analogs of mycophenolic acid. *Drug Meta Dispos* 1997; 25: 367-70.
19. Funaki T. Enterohepatic circulation model for population pharmacokinetic analysis. *J Pharm Pharmacol* 1999; 51: 1143-8.
20. Meier-Kriesche HU, Shaw LM, Korecka M, Kaplan B. Pharmacokinetics of mycophenolic acid in renal insufficiency. *Ther Drug Monit* 2000; 22: 27-30.
21. MacPhee IA, Spreafico S, Bewick M, Davis C, Eastwood JB, Johnston A, Lee T, Holt DW. Pharmacokinetics of mycophenolate mofetil in patients with end-stage renal failure. *Kidney Int* 2000; 57: 1164-8.
22. Sollinger HW, Deierhoi MH, Belzer FO, Diethelm AG, Kauffman RS. RS-61443 – a phase I clinical trial and pilot rescue study. *Transplantation* 1992; 53: 428-32.
23. Kaplan B, Meier-Kriesche HU, Friedman G, Mulgaonkar S, Gruber S, Korecka M, Brayman KL, Shaw LM. The effect of renal insufficiency on mycophenolic acid protein binding. *J Clin Pharmacol* 1999; 39: 715-20.
24. Sanquer S, Breil M, Baron C, Dahmane D, Astier A, Lang P. Trough blood concentrations in long-term treatment with mycophenolate mofetil. *Lancet* 1998; 351: 1557.
25. Ettenger R, Cohen A, Nast C, Mouton L, Marik J, Gales B. Mycophenolate mofetil as maintenance immunosuppression in pediatric renal transplantation. *Transplant Proc* 1997; 29: 340-1.
26. Oellerich M, Shipkova M, Schutz E, Wieland E, Weber L, Toshoff B, Armstrong VW. Pharmacokinetic and metabolic investigations of mycophenolic acid in pediatric patients after renal transplantation: Implications for therapeutic drug monitoring. German study Group on Mycophenolate mofetil Therapy in Pediatric Renal Transplant Recipients. *Ther Drug Monit* 2000; 22: 20-6.
27. Jacqz-Aigrain E, Khan Shaghghi E, Baudouin V, Popon M, Zhang D, Maisin A, Loirat C. Pharmacokinetics and tolerance of mycophenolate mofetil in renal transplant children. *Pediatr Nephrol* 2000; 14: 95-9.
28. Perscovitz MD, Conti D, Dunn J, Gonwa T, Halloran P, Sollinger H, Tomlanovich S, Weinstein S, Inokuchi S, Kiberd B, Kittur D, Merion RM, Norman D, Shoker A, Wilburn R, Nicholls AJ, Arterburn S, Dumont E. Intravenous mycophenolate mofetil: Safety, tolerability and pharmacokinetics. *Clin Transplant* 2000; 14: 179-88.
29. Yatscoff RW, Aspeslet LJ. The monitoring of immunosuppressive drugs: A pharmacodynamic approach. *Ther Drug Monit* 1998; 20: 459-63.
30. Jackson RC, Weber G, Morris HP. IMP dehydrogenase, an enzyme linked with proliferation and malignancy. *Nature* 1975; 256: 331-3.
31. Natsumeda Y, Ohno S, Kawasaki H, Konno Y, Weber G, Suzuki K. Two distinct cDNAs for human IMP dehydrogenase. *J Biol Chem* 1990; 265: 5292-5.
32. Carr SF, Papp E, Wu JC, Natsumeda Y. Characterization of human type I and type II IMP dehydrogenases. *J Biol Chem* 1993; 268: 27286-90.
33. Zimmermann AG, Gu JJ, Laliberte J, Mitchell BS. Inosine-5'-monophosphate dehydrogenase: Regulation of expression and role in cellular proliferation and T lymphocyte activation. *Prog Nucleic Acid Res Mol Bio* 1998; 61: 181-209.
34. Colby TD, Vanderveen K, Strickler MD, Markham GD, Goldstein BM. Crystal structure of human type II inosine monophosphate dehydrogenase: Implications for ligand binding and drug design. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999; 96: 3531-6.
35. Hedstrom L. IMP dehydrogenase: Mechanism of action and inhibition. *Curr Med Chem* 1999; 6: 545-60.
36. Sintchak MD, Nimmesgern E. The structure of inosine 5'-monophosphate dehydrogenase and the design of novel inhibitors. *Immunopharmacology* 2000; 47: 163-84.
37. Langman LJ, Le Gatt DF, Yatscoff RW. Pharmacodynamic assessment of mycophenolic acid-induced immunosuppression by measuring IMP dehydrogenase activity. *Clin Chem* 1995; 41: 295-9.
38. Albrecht W, Storck M, Pfetsch E, Martin W, Abendroth D. Development and application of a high-performance liquid chromatography-based assay for determination of the activity of inosine 5'-monophosphate dehydrogenase in whole blood and isolated mononuclear cells. *Ther Drug Monit* 2000; 22: 283-94.
39. Langman LJ, Nakakura H, Thliveris JA, Le Gatt DF, Yatscoff RW. Pharmacodynamic monitoring of mycophenolic acid in rabbit heterotopic heart transplant model. *Ther Drug Monit* 1997; 19: 146-52.
40. Langman LJ, Shapiro AM, Lakey JR, Le Gatt DF, Kneteman NM, Yatscoff RW. Pharmacodynamic assessment of mycophenolic acid-induced immunosuppression by measurement of inosine monophosphate dehydrogenase activity in a canine model. *Transplantation* 1996; 61: 87-92.
41. Langman LJ, Le Gatt DF, Halloran PF, Yatscoff RW. Pharmacodynamic assessment of mycophenolic acid-induced immunosuppression in renal transplant recipients. *Transplantation* 1996; 62: 666-72.
42. Sanquer S, Breil M, Baron C, Dhamane D, Astier A, Lang P. Induction of inosine monophosphate dehydrogenase activity after long-term treatment with mycophenolate mofetil. *Clin Pharmacol Ther* 1999; 65: 640-8.
43. Van Gelder T, Hilbrands LB, Vanrenterghem Y, Weimar W, de Fijter JW, Squifflet JP, Hene RJ, Verpooten A, Navarro MT, Hale MD, Nicholls AJ. A randomized double-blind, multicenter plasma concentration controlled study of the safety and efficacy of oral mycophenolate mofetil for the prevention of acute rejection after kidney transplantation. *Transplantation* 1999; 68: 261-6.
44. Filler G, Zimmering M, Mai I. Pharmacokinetics of mycophenolate mofetil are influenced by concomitant immunosuppression. *Pediatr Nephrol* 2000; 14: 100-4.
45. Gregoor PJ, de Sevaux RG, Hene RJ, Hesse CJ, Hilbrands LB, Vos P, Van Gelder T, Hoitsma AJ, Weimar W. Effect of cyclosporin on mycophenolic acid trough levels in kidney transplant recipients. *Transplantation* 1999; 68:1603-6.
46. Zucker K, Rosen A, Tsaroucha A, de Faria L, Roth D, Ciancio G, Esquenazi V, Burke G, Tzakis A, Miller J. Unexpected augmentation of mycophenolic acid pharmacokinetics in renal transplant patients receiving tacrolimus and mycophenolate mofetil in combination therapy, and analogous in vitro findings. *Transplant Immunol* 1997; 5: 225-32.
47. Hubner GI, Eismann R, Sziegoleit W. Drug interaction between mycophenolate mofetil and tacrolimus detectable within therapeutic mycophenolic acid monitoring in renal transplant patients. *Ther Drug Monit* 1999; 21: 536-9.
48. Zucker K, Tsaroucha A, Olson L, Esquenazi V, Tzakis A, Miller J. Evidence that tacrolimus augments the bioavailability of mycophenolate mofetil through the inhibition of mycophenolic acid glucuronidation. *Ther Drug Monit* 1999; 21: 35-43.
49. Miller J, Mendez R, Pirsch JD, Jensik SC. Safety and efficacy of tacrolimus in combination with mycophenolate mofetil (MMF) in cadaveric renal transplant recipients FK506/MMF Dose-Ranging Kidney Transplant Study Group. *Transplantation* 2000; 69: 875-80.
50. Kreis H, Cisterne JM, Land W, Wrammer L, Squifflet JP, Abramowicz D, Campistol JM, Morales JM, Grinyo JM, Mourad G, Berthoux FC, Brattstrom C, Lebranchu Y, Vialtel P. Sirolimus in association with mycophenolate mofetil induction for the prevention of acute graft rejection in renal allograft recipients. *Transplantation* 2000; 69: 1252-60.